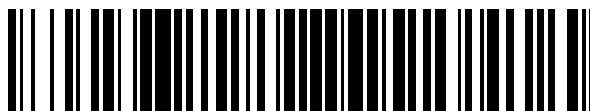


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 750 530**

51 Int. Cl.:

C12N 9/02 (2006.01)

C12N 15/82 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **03.06.2014** **PCT/EP2014/061438**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.12.2014** **WO14195287**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.06.2014** **E 14727546 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2019** **EP 3004358**

54 Título: **Medios y procedimientos para producir rendimiento en plantas**

30 Prioridad:

03.06.2013 GB 201309866

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

26.03.2020

73 Titular/es:

VIB VZW (50.0%)
Rijvisschestraat 120
9052 Gent, BE y
UNIVERSITEIT GENT (50.0%)

72 Inventor/es:

INZÉ, DIRK, GUSTAAF;
CLAEYS, HANNES;
NELISSEN, HILDE y
SUN, XIAOHUAN

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 750 530 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Medios y procedimientos para producir rendimiento en plantas

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de la biología molecular de las plantas, más particularmente al campo de la agricultura, incluso más particularmente al campo de mejora del rendimiento de las plantas. La presente invención proporciona genes y constructos quiméricos que pueden utilizarse para mejorar el rendimiento en plantas y cultivos.

10

Introducción a la invención

Desde el comienzo de la agricultura y la horticultura ha existido la necesidad de mejorar los rasgos de las plantas de cultivo. Las estrategias de cultivo potencian las propiedades de los cultivos para que resistan estreses bióticos y abióticos, para mejorar la eficacia del uso de nutrientes y para alterar otros parámetros intrínsecos específicos del cultivo, es decir, producir un aumento del rendimiento mediante la aplicación de avances técnicos. En los próximos decenios, un desafío crucial para la humanidad será satisfacer las futuras demandas de alimentos sin socavar aún más la integridad de los sistemas ambientales de la Tierra. Los sistemas agrícolas son ya los principales factores de degradación ambiental global, pero se espera que el crecimiento de la población y el aumento del consumo de dietas intensivas en calorías y carne dupliquen aproximadamente la demanda de alimentos para el año 2050. Respondiendo a estas presiones, existe un enfoque creciente sobre una "intensificación sostenible" como medio para aumentar los rendimientos en entornos de bajo rendimiento y al mismo tiempo reducir el impacto ambiental de los sistemas agrícolas. Los medios convencionales para mejorar los cultivos y la horticultura en la actualidad utilizan técnicas de mejora selectiva para identificar plantas con características deseables. Los avances en biología molecular han permitido modificar el germoplasma de plantas de una forma específica. Por ejemplo, la modificación de un único gen dio como resultado en varios casos un aumento significativo en el rendimiento o en los rasgos relacionados con el rendimiento.

Las monooxigenasas del citocromo P450 son una superfamilia de enzimas dependientes de hemo que participan en la biosíntesis y la desintoxicación de una amplia diversidad de moléculas. Una serie de reacciones mediadas por el citocromo P450 dan lugar a productos necesarios para el control de la expansión celular en las plantas. El gen CYP78A5 es una monooxigenasa del citocromo P450 (Zondlo SC e Irish VF (1999) The Plant Journal 19 (3), 259-268) que se expresa intensamente en las regiones periféricas de los meristemos apicales de los brotes vegetativos y reproductivos. La sobreexpresión de CYP78A5 afecta a múltiples tipos de células, causando torsiones y retorcimientos del tallo y defectos en el desarrollo floral. Además, la sobreexpresión constitutiva de CYP78A5 conduce a hojas más pequeñas en plantas transformadas. En la presente invención, sorprendentemente, demostramos que un constructo de gen quimérico en el que el CYP78A5 de maíz está controlado por un promotor de GA2-oxidasa del maíz conduce a un aumento del tamaño de la hoja de maíz de más del 30%. Este nuevo rasgo puede utilizarse para aumentar el rendimiento en plantas, en particular en cultivos tales como, por ejemplo, cereales.

40

Figuras

Figura 1: Secuencia del promotor de GA2-oxidasa derivado de GRMZM2G031724; los sitios attB1 y attB2 están subrayados (SEQ ID NO: 1)

45

Figura 2: Secuencia del gen KLUH (GRMZM2G167986); los sitios attB1 y attB2 unidos están subrayados (SEQ ID NO: 2).

Figura 3: Estructura del vector pBb42GW7

50

Figura 4: Estructura del clon de expresión que contiene el promotor de GA2-oxidasa y el gen KLUH.

Figura 5: Secuencia del gen quimérico resultante "promotor de GA2-oxidasa (GRMZM2G031724) unido operativamente al gen KLUH (GRMZM2G167986)" que se incorporó en el vector de expresión de la planta (SEQ ID NO: 3).

55

Figura 6: Tasa de alargamiento de la hoja en 140_04. R representa plantas transgénicas (resistentes), S representa plantas no transgénicas (sensibles).

60

Figura 7: Tasa de alargamiento de la hoja en 140_05. R representa plantas transgénicas (resistentes), S representa plantas no transgénicas (sensibles).

Figura 8: Resultados comparativos de la expresión de KLUH de la hoja 4 de 140_01. R representa plantas transgénicas, S representa plantas no transgénicas.

65

Figura 9: Resultados comparativos de la expresión de KLUH de la hoja 4 de 139_01. R representa plantas transgénicas, S representa plantas no transgénicas.

Figura 10: Cronología del tamaño de la zona de división en GA2ox::KLUH. El gráfico de barras muestra cómo ha cambiado el tamaño de la zona de división durante el crecimiento de la hoja 4. El gráfico lineal muestra la tasa de alargamiento de la hoja 4 en los mismos puntos temporales. S indica tipo silvestre (barras de la izquierda); R indica plantas resistentes de GA2ox::KLUH transgénico (barras de la derecha). Los asteriscos indican $p < 0,01$

Figura 11: Fenotipos del cruce GA2OX::KLUH x UBIL::GA2OX y sus respectivos progenitores. A. plántulas de 30 días después de la siembra. Las flechas indican la hoja 4; B. plantas completamente desarrolladas a los 115 días; C. tasa de crecimiento o LER (eje Y: mm/h y eje X: días de crecimiento de la hoja 4).

Figura 12: Crecimiento de las plantas de maíz transgénico que albergan el gen quimérico GA2ox::KLUH sometidas a estrés por sequía leve. W indica plantas en condiciones de buena irrigación; D indica plantas sometidas a estrés por sequía leve. R y S se refieren a plantas resistentes y sensibles.

Descripción detallada de la invención

La hoja de maíz en crecimiento proporciona un excelente sistema modelo para estudiar el papel de la división celular y la expansión celular en el control del tamaño de los órganos, dado que estos dos procesos tienen lugar de forma espacialmente separada dentro de la zona de crecimiento. En una plántula de maíz, la cuarta hoja crece a un ritmo máximo justo después de su emergencia a partir de la vaina de hojas más viejas que la rodean. Su zona de crecimiento se ubica en la base de la hoja, lo que significa que la hoja debe diseccionarse de la vaina para acceder a la zona de crecimiento. De esta forma, se pueden tomar muestras de la zona de crecimiento de la cuarta hoja fácilmente con una alta resolución espacial debido al tamaño relativamente grande de la hoja de maíz en crecimiento.

En la presente invención, hemos demostrado que numerosos transcritos muestran una expresión diferencial dentro de las diferentes muestras que constituyen una zona, lo que indica las distinciones dentro de la zona de crecimiento. De forma similar, las hormonas reguladoras del crecimiento auxinas y citoquininas son más numerosas en la parte basal de la zona de división en comparación con la parte más distal (Nelissen et al., 2012, Curr. Biol). El estudio del transcriptoma de alta resolución que se realizó nos permitió identificar genes con perfiles de expresión muy distintos a lo largo de la zona de crecimiento. En la presente invención construimos un gen quimérico que comprende el promotor de un gen GA2-oxidasa vegetal acoplado operativamente a la secuencia de nucleótidos del gen KLUH. En nuestra forma de realización ejemplificada demostramos que este gen quimérico, cuando se expresa en una planta, conduce a un aumento del tamaño de la hoja del 30%. Sin limitar la invención a un mecanismo particular, una forma en que creemos que este gen quimérico ejerce su acción beneficiosa, cuando se expresa en una planta, es que la expresión del gen KLUH o un homólogo funcional con al menos un 55% de identidad de aminoácidos se prolonga durante la zona de crecimiento (es decir, la expresión del gen KLUH se mantiene activa durante más tiempo que la expresión del gen KLUH bajo el control de su propio promotor en células en división). Además, según nuestra hipótesis no limitante, se cree que la expresión ampliada (o prolongada) de KLUH dentro de la zona de crecimiento (en comparación con la expresión del gen KLUH bajo el control de su propio promotor) da como resultado la estimulación de divisiones adicionales y en consecuencia un mayor rendimiento del cultivo.

En consecuencia, en una primera forma de realización, la invención proporciona un constructo de gen quimérico que comprende los elementos de ADN unidos operativamente siguientes: a) la región promotora de un gen GA2-oxidasa vegetal que es activa en la zona de crecimiento de la hoja de una planta monocotiledónea, b) una región de ADN que codifica una proteína CYP78A5 vegetal o un ortólogo funcional con una identidad de aminoácidos de al menos el 55% con respecto a la proteína codificada por la SEQ ID NO: 2 y c) una región de extremo 3' que comprende señales de terminación de la transcripción y de poliadenilación que opera en células de una planta monocotiledónea.

En un aspecto particular, la región promotora del gen GA2-oxidasa vegetal es activa en células en división. En otro aspecto particular, la región promotora de un gen GA2-oxidasa vegetal es activa en la zona de crecimiento de un órgano de la planta, tal como por ejemplo la hoja. En otra forma de realización particular más, el promotor del gen GA2-oxidasa vegetal es activo en la zona de crecimiento de la hoja monocotiledónea.

Se entiende que el promotor del gen GA2-oxidasa vegetal (por ejemplo, un órgano específico (tal como en una hoja, una mazorca, un embrión o un SAM)) es un fragmento aguas arriba del codón de inicio del gen que está constituido por aproximadamente 1000-2500 pb, preferentemente 1000-2000 pb, de forma más preferida 1000-1500 pb. La GA2-oxidasa se conoce en la técnica como la giberelina 2-oxidasa. Un ejemplo no limitante representativo de un promotor de GA2-oxidasa se representa en la figura 1. Otros ejemplos de promotores de GA2-oxidasa se representan en el ejemplo 7 de la invención.

El gen KLUH vegetal se designa en la técnica también como CYP78A5. CYP78A5 es una oxidasa del citocromo P450. En la figura 2 se representa un miembro representativo no limitante de CYP78A5 de maíz. En el ejemplo 8 de la invención se representan otros ejemplos de genes ortólogos de CYP78A5.

En la presente invención, las palabras "KLUH" o "CYP78A5" se utilizan indistintamente. Las expresiones "similar a KLUH" o "similar a CYP78A5" se utilizan para definir un ortólogo funcional de KLUH (o CYP78A5). Según la técnica (Nelson DR (2006), *Methods Mol Biol*, 320: 1-10), los ortólogos de KLUH (o CYP78A5) con una identidad de aminoácidos de al menos el 55% pertenecen al mismo grupo funcional de oxidasas del citocromo P450 y, en consecuencia, tienen la misma función en las plantas. Así, en una forma de realización particular, una región de ADN que codifica una proteína CYP78A5 de la planta o un ortólogo funcional con una identidad de aminoácidos de al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, puede utilizarse en la presente invención para construir el gen quimérico.

Se entiende que puede utilizarse un gen quimérico particular como un rasgo en diferentes especies de plantas monocotiledóneas y que un promotor de GA2-oxidasa específico vegetal es activo en más de una especie de plantas.

En la presente invención, el "promotor de GA2-oxidasa vegetal" comprende elementos reguladores, que median la expresión del segmento de secuencia de codificación de KLUH, o un ortólogo funcional con al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95% de identidad en células vegetales. Para la expresión en plantas, la molécula de ácido nucleico debe estar unida operativamente a un promotor de GA2-oxidasa vegetal adecuado que exprese el gen KLUH o un ortólogo funcional con al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95% en el punto temporal correcto y con el patrón de expresión espacial requerido en la zona de crecimiento (o la zona de división celular).

Para la identificación de promotores de GA2-oxidasa vegetal funcionalmente equivalentes (por ejemplo, en otros géneros de plantas u otras especies de plantas), se pueden analizar la fuerza del promotor y/o el patrón de expresión de un promotor de GA2-oxidasa experimental, por ejemplo, uniendo operativamente el promotor a un gen reportero y analizando el nivel y el patrón de expresión del gen reportero en la planta. Los genes reporteros bien conocidos adecuados incluyen, por ejemplo, beta-glucuronidasa; beta-galactosidasa o cualquier proteína fluorescente. La actividad del promotor se analiza midiendo la actividad enzimática de la beta-glucuronidasa o la beta-galactosidasa. Alternativamente, la fuerza del promotor también puede evaluarse cuantificando los niveles de ARNm o comparando los niveles de ARNm del ácido nucleico con niveles de ARNm de genes constitutivos tales como ARNr 18S, utilizando procedimientos conocidos en la técnica, tales como inmunotransferencia Northern con análisis densitométrico de autorradiogramas, PCR cuantitativa en tiempo real o RT-PCR (Heid et al., 1996 *Genome Methods* 6: 986-994).

La expresión "unido operativamente", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un enlace funcional entre la secuencia del promotor (en este caso el promotor de GA2-oxidasa) y el gen de interés (en este caso el gen KLUH o un homólogo funcional del mismo tal como se ha definido en el presente documento anteriormente), de forma que la secuencia del promotor de GA2-oxidasa pueda iniciar la transcripción del gen KLUH (o un homólogo funcional del mismo) de interés.

Un "gen quimérico" o "constructo quimérico" es una secuencia de ácido nucleico recombinante en la que un promotor o secuencia reguladora de ácido nucleico se encuentra unida o asociada operativamente con una secuencia de ácido nucleico que codifica un ARNm, de forma que la secuencia reguladora de ácido nucleico sea capaz de regular la transcripción o la expresión de la secuencia de codificación de ácido nucleico asociada. La secuencia reguladora de ácido nucleico del gen quimérico normalmente no se encuentra unida operativamente a la secuencia de ácido nucleico asociada como se encuentra en la naturaleza.

El término "terminador" abarca una secuencia de control que es una secuencia de ADN al final de una unidad transcripcional que señala el procesamiento 3' y la poliadenilación de un transcrito primario y la terminación de la transcripción. El terminador puede derivarse del gen natural, de una diversidad de otros genes vegetales o de ADN-T. El terminador que se va a añadir puede derivarse, por ejemplo, de los genes nopalina sintasa o octopina sintasa, o alternativamente de otro gen vegetal, o de forma menos preferida de cualquier otro gen eucariota.

En otra forma de realización más, la invención proporciona un vector recombinante que comprende un constructo de gen quimérico que comprende los elementos de ADN unidos operativamente siguientes: a) la región promotora de un gen GA2-oxidasa de una planta que es activa en la zona de crecimiento de la hoja de una planta monocotiledónea, b) una región de ADN que codifica una proteína CYP78A5 vegetal o un ortólogo funcional con una identidad de aminoácidos de al menos el 55% con respecto a la proteína codificada por SEQ ID NO: 2 y c) una región del extremo 3' que comprende señales de terminación de la transcripción y de poliadenilación que opera en células de una planta monocotiledónea.

En otra forma de realización más, la invención proporciona una planta monocotiledónea, una célula vegetal monocotiledónea o una semilla de una planta monocotiledónea que comprende un constructo de gen quimérico que comprende los elementos de ADN unidos operativamente siguientes: a) la región promotora de un gen GA2-oxidasa de una planta que es activa en la zona de crecimiento de la hoja de la planta monocotiledónea, b) una región de

ADN que codifica una proteína CYP78A5 vegetal o un ortólogo funcional con una identidad de aminoácidos de al menos el 55% con respecto a la proteína codificada por la SEQ ID NO: 2 y c) una región del extremo 3' que comprende señales de terminación de la transcripción y de poliadenilación que opera en células de una planta monocotiledónea o un vector recombinante que comprende un constructo de gen quimérico que comprende los elementos de ADN unidos operativamente siguientes: a) la región promotora de un gen GA2-oxidasa de una planta que es activa en la zona de crecimiento de la hoja de la planta monocotiledónea, b) una región de ADN que codifica una proteína CYP78A5 de la planta o un ortólogo funcional con una identidad de aminoácidos de al menos el 55% con respecto a la proteína codificada por la SEQ ID NO: 2 y c) una región del extremo 3' que comprende señales de terminación de la transcripción y de poliadenilación que opera en las células de una planta monocotiledónea.

En otra forma de realización más, la invención proporciona el uso de un gen quimérico o un vector recombinante según la invención para aumentar el rendimiento de plantas monocotiledóneas.

En otra forma de realización más, la invención proporciona el uso de un gen quimérico o un vector recombinante según la invención para aumentar el vigor de las plántulas de plantas monocotiledóneas.

En otra forma de realización más, la invención proporciona el uso de un gen quimérico o un vector recombinante según la invención para aumentar la tolerancia a la sequía de plantas monocotiledóneas. En una forma de realización específica, el gen quimérico o el vector recombinante que comprende el gen quimérico de la invención se utiliza para aumentar la tolerancia a la sequía de maíz.

En una forma de realización específica, los genes quiméricos o el vector recombinante que comprende los genes quiméricos se utilizan en cultivos monocotiledóneos.

En otra forma de realización específica, los cultivos son cereales.

En otra forma de realización específica, los cultivos son pastos.

En otra forma de realización más, la invención proporciona un procedimiento para producir una planta monocotiledónea con un rendimiento aumentado en comparación con una planta monocotiledónea de tipo silvestre correspondiente, procedimiento que comprende introducir o transformar un gen quimérico o un vector recombinante según la invención.

En otra forma de realización particular más, el gen quimérico de la invención se combina con otros genes quiméricos que aumentan favorablemente el rendimiento de plantas monocotiledóneas. Un ejemplo particular es la combinación del gen quimérico promotor de GA2ox-KLU y el gen quimérico promotor de UBIL-gen GA20 oxidasa en la misma planta de maíz. Un ejemplo específico de esta combinación favorable se describe en el ejemplo 5.

El término "rendimiento" tal como se utiliza en el presente documento generalmente se refiere a un producto medible de una planta monocotiledónea, en particular un cultivo. El rendimiento y el aumento del rendimiento (en comparación con una planta de partida no transformada o de tipo silvestre) se pueden medir de diversas formas, y se entiende que un experto será capaz de aplicar el significado correcto en vista de las formas de realización particulares, el cultivo particular en cuestión y el propósito específico o aplicación específica en cuestión. Las expresiones "rendimiento mejorado" o "rendimiento aumentado" se pueden utilizar indistintamente. Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "rendimiento mejorado" o la expresión "rendimiento aumentado" significan cualquier mejora en el rendimiento de cualquier producto vegetal medido, tal como grano, fruta, hoja, raíz, mazorca o fibra. Según la invención, los cambios en diferentes rasgos fenotípicos pueden mejorar el rendimiento. Por ejemplo, y sin limitación, parámetros tales como el desarrollo de órganos florales, iniciación de raíces, biomasa de raíces, número de semillas, peso de semillas, índice de cosecha, formación de hojas, fototropismo, dominancia apical y desarrollo de frutos son medidas adecuadas de un rendimiento mejorado. El rendimiento aumentado incluye mayores rendimientos de frutas, mayores rendimientos de semillas, mayor producción de materia fresca y/o mayor producción de materia seca. Cualquier aumento en el rendimiento es un rendimiento mejorado según la invención. Por ejemplo, la mejora en el rendimiento puede comprender un aumento del 0,1%, 0,5%, 1%, 3%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o superior en cualquier parámetro medido. Por ejemplo, un aumento en el rendimiento de fanega/acre de soja o maíz derivados de un cultivo que comprende plantas que son transgénicas para los genes quiméricos de la invención, en comparación con el rendimiento de fanega/acre de soja o maíz sin transformar cultivados en las mismas condiciones es un rendimiento mejorado según la invención. El rendimiento aumentado o mejorado se puede lograr en ausencia o en presencia de condiciones de estrés. Por ejemplo, "rendimiento" mejorado o aumentado se refiere a uno o más parámetros de rendimiento seleccionados del grupo que consiste en rendimiento de biomasa, rendimiento de biomasa seca, rendimiento de biomasa seca aérea, rendimiento de biomasa seca subterránea, rendimiento de biomasa en peso fresco, rendimiento de biomasa aérea en peso fresco, rendimiento de biomasa subterránea en peso fresco; rendimiento mejorado de partes cosechables, ya sea en peso seco o en peso fresco o ambos, ya sean aéreas o subterráneas o ambas; y rendimiento mejorado del fruto del cultivo, ya sea en peso seco o en peso fresco o ambos, ya sean aéreos o subterráneos o ambos; y rendimiento mejorado de semillas, ya sea en peso seco o en peso fresco o ambos, ya sean aéreas o subterráneas o ambas. El "rendimiento de cosecha" se define en el presente documento como el número de fanegas de producto agrícola

relevante (tal como grano, forraje o semilla) cosechado por acre. El rendimiento de los cultivos se ve afectado por estreses abióticos, tales como el estrés por sequía, por calor, por salinidad y por frío, y por el tamaño (biomasa) de la planta. El rendimiento de una planta puede depender de la planta/cultivo específico de interés, así como de su aplicación prevista (tal como la producción de alimentos, la producción de piensos, la producción de alimentos procesados, la producción de biocombustibles, biogás o alcohol o similares) de interés en cada caso particular. Por lo tanto, en una forma de realización, el rendimiento puede calcularse como el índice de cosecha (expresado como la relación del peso de las partes cosechables respectivas dividido por la biomasa total), el peso de las partes cosechables por unidad de área (acre, metro cuadrado o similar); y similares. El índice de cosecha es la relación entre el rendimiento de biomasa y la biomasa acumulada total en la cosecha. El índice de cosecha es relativamente estable en muchas condiciones ambientales, por lo que es posible una correlación sólida entre el tamaño de la planta y el rendimiento de grano. Las mediciones del tamaño de la planta en el desarrollo temprano, en condiciones normalizadas en una cámara de crecimiento o un invernadero, son prácticas estándar para medir las posibles ventajas de rendimiento conferidas por la presencia de un transgén. En consecuencia, el rendimiento de una planta puede aumentarse mejorando uno o más de los fenotipos o rasgos relacionados con el rendimiento. Dichos fenotipos o rasgos relacionados con el rendimiento de una planta cuya mejora da como resultado un rendimiento aumentado comprenden, sin limitación, el aumento de la capacidad de rendimiento intrínseco de una planta, una eficacia del uso de nutrientes mejorada y/o una tolerancia al estrés aumentada. Por ejemplo, rendimiento se refiere al rendimiento de biomasa, por ejemplo al rendimiento de biomasa en peso seco y/o el rendimiento de biomasa en peso fresco. El rendimiento de biomasa se refiere a las partes aéreas o subterráneas de una planta, dependiendo de las circunstancias específicas (condiciones de ensayo, cultivo específico de interés, aplicación de interés y similares). En una forma de realización, el rendimiento de biomasa se refiere a las partes aéreas y subterráneas. El rendimiento de biomasa se puede calcular como peso fresco, peso seco o sobre una base ajustada a la humedad. El rendimiento de biomasa puede calcularse sobre la base de una planta o con respecto a un área específica (por ejemplo, rendimiento de biomasa por acre/metro cuadrado/o similar). "Rendimiento" también puede referirse al rendimiento de semillas que puede medirse mediante uno o más de los parámetros siguientes: número de semillas o número de semillas llenas (por planta o por área (acre/metro cuadrado/o similar)); tasa de llenado de semillas (relación entre el número de semillas llenas y el número total de semillas); número de flores por planta; biomasa de semillas o peso total de semillas (por planta o por unidad de área (acre/metro cuadrado/o similar)); peso de mil granos (PMG; extrapolado a partir del número de semillas llenas contadas y su peso total; un aumento en el PMG puede venir provocado por un aumento en el tamaño de la semilla, un aumento en el peso de la semilla, un aumento en el tamaño del embrión y/o un aumento en el endospermo). También se conocen en la técnica otros parámetros que permiten medir el rendimiento de la semilla. El rendimiento de la semilla se puede determinar sobre la base del peso seco o del peso fresco, o generalmente sobre una base ajustada a la humedad, por ejemplo, al 15,5 por ciento de humedad. Por ejemplo, la expresión "rendimiento aumentado" significa que una planta muestra una mayor tasa de crecimiento, por ejemplo, en ausencia o en presencia de estrés ambiental abiótico, en comparación con la planta de tipo silvestre correspondiente. Una tasa de crecimiento aumentada puede reflejarse entre otras cosas por, o confiere, un aumento de la producción de biomasa de la totalidad de la planta, o un aumento de la producción de biomasa de las partes aéreas de una planta, o un aumento de la producción de biomasa de las partes subterráneas de una planta, o por un aumento de la producción de biomasa de partes de una planta, tales como tallos, hojas, flores, frutas y/o semillas. Un crecimiento prolongado comprende la supervivencia y/o el crecimiento continuo de la planta, en el momento en que el organismo de tipo silvestre no transformado muestra síntomas visuales de deficiencia y/o muerte. Cuando la planta de la invención es una planta de maíz, un rendimiento aumentado para las plantas de maíz significa, por ejemplo, un rendimiento aumentado de las semillas, en particular para las variedades de maíz utilizadas para piensos o para alimentación. El rendimiento aumentado de semillas de maíz se refiere a un aumento del tamaño o del peso del grano, un aumento de granos por mazorca o un aumento de mazorcas por planta. Alternativamente o adicionalmente, se puede aumentar el rendimiento de la mazorca, o se aumenta la longitud o el tamaño de la mazorca, o se mejora la relación de granos por mazorca.

Cuando la planta de la invención es una planta que pertenece a pastos, un aumento de la hoja puede significar un aumento de la biomasa de la hoja. Dicho aumento del rendimiento puede lograrse generalmente potenciando o mejorando uno o más rasgos de la planta relacionados con el rendimiento. Dichos rasgos relacionados con el rendimiento de una planta comprenden, sin limitación, el aumento de la capacidad de rendimiento intrínseco de una planta, la eficacia mejorada del uso de nutrientes y/o una tolerancia aumentada al estrés, en particular una tolerancia aumentada al estrés abiótico. La capacidad de rendimiento intrínseco de una planta puede manifestarse, por ejemplo, mediante la mejora del rendimiento de semilla específico (intrínseco) (por ejemplo, en términos de aumento del tamaño de semilla/grano, aumento del número de mazorcas, aumento del número de semillas por mazorca, mejora en el llenado de semillas, mejora de la composición de semillas, mejoras del embrión y/o endospermo, o similares); la modificación y la mejora de los mecanismos inherentes de crecimiento y desarrollo de una planta (tales como altura de la planta, tasa de crecimiento de la planta, número de vainas, posición de la vaina en la planta, número de entrenudos, incidencia de rotura de vaina, eficacia de nodulación y fijación de nitrógeno, eficacia de asimilación de carbono, mejora del vigor de las plántulas/vigor temprano, mayor eficacia de germinación (en condiciones de estrés o no estrés), mejora en la arquitectura de la planta, modificaciones del ciclo celular, modificaciones de la fotosíntesis, diversas modificaciones de la ruta de señalización, modificación de la regulación transcripcional, modificación de la regulación traduccional, modificación de actividades enzimáticas, y similares); y/o similares.

"Marcador seleccionable", "gen marcador seleccionable" o "gen reportero" incluye cualquier gen que confiera un fenotipo a una célula en la que se expresa para facilitar la identificación y/o selección de células que se transfectan o se transforman con un constructo de ácido nucleico de la invención. Estos genes marcadores permiten la identificación de una transferencia exitosa de las moléculas de ácido nucleico a través de una serie de principios diferentes. Se pueden seleccionar marcadores adecuados a partir de marcadores que confieren resistencia a antibióticos o herbicidas, que introducen un nuevo rasgo metabólico o que permiten la selección visual. Los ejemplos de genes marcadores seleccionables incluyen genes que confieren resistencia a los antibióticos (tales como nptII que fosforila la neomicina y la kanamicina, o hpt, que fosforila la higromicina, o genes que confieren resistencia a, por ejemplo, bleomicina, estreptomycin, tetraciclina, cloranfenicol, ampicilina, gentamicina, geneticina (G418), espectinomycin o blasticidina), a herbicidas (por ejemplo, bar que proporciona resistencia a Basta®; aroA o gox que proporcionan resistencia contra el glifosato, o los genes que confieren resistencia a, por ejemplo, imidazolinona, fosfinotricina o sulfonilurea), o genes que proporcionan un rasgo metabólico (tales como manA que permite a las plantas utilizar manosa como única fuente de carbono o xilosa isomerasa para la utilización de xilosa, o marcadores antinutritivos tales como la resistencia a 2-desoxiglucosa). La expresión de genes marcadores visuales da como resultado la formación de color (por ejemplo, β -glucuronidasa, GUS o β -galactosidasa con sus sustratos coloreados, por ejemplo X-Gal), luminiscencia (como el sistema luciferina/luciferasa) o fluorescencia (proteína fluorescente verde), GFP y sus derivados). Esta lista representa solo un pequeño número de marcadores posibles. El experto está familiarizado con dichos marcadores. Se prefieren diferentes marcadores según el organismo y el procedimiento de selección.

Se sabe que tras la integración estable o transitoria de los ácidos nucleicos en células vegetales, solo una minoría de las células absorbe el ADN extraño y, si lo desea, lo integra en su genoma, dependiendo del vector de expresión utilizado y la técnica de transfección utilizada. Para identificar y seleccionar estos integrantes, generalmente se introduce un gen que codifica un marcador seleccionable (tal como los descritos anteriormente) en las células huésped junto con el gen de interés. Estos marcadores pueden utilizarse, por ejemplo, en mutantes en los que estos genes no son funcionales mediante, por ejemplo, la eliminación por medio de procedimientos convencionales. Además, las moléculas de ácido nucleico que codifican un marcador seleccionable pueden introducirse en una célula huésped en el mismo vector que comprende la secuencia que codifica los polipéptidos de la invención o utilizarse en los procedimientos de la invención, o bien en un vector separado. Las células que se han transfectedo de forma estable con el ácido nucleico introducido pueden identificarse, por ejemplo, mediante selección (por ejemplo, las células que han integrado el marcador seleccionable sobreviven mientras que las otras células mueren).

Dado que los genes marcadores, particularmente los genes de resistencia a antibióticos y herbicidas, ya no son necesarios o no son deseados en la célula huésped transgénica una vez que los ácidos nucleicos se han introducido con éxito, el proceso según la invención para introducir los ácidos nucleicos emplea ventajosamente técnicas que permitir la eliminación o la escisión de estos genes marcadores. Uno de esos procedimientos es lo que se conoce como cotransformación. El procedimiento de cotransformación emplea simultáneamente dos vectores para la transformación, un vector que porta el ácido nucleico según la invención y un segundo que porta el o los genes marcadores. Una gran proporción de transformantes recibe o, en el caso de las plantas, comprende (hasta el 40% o más de los transformantes), ambos vectores. En caso de transformación con agrobacterias, los transformantes generalmente reciben solo una parte del vector, es decir, la secuencia flanqueada por el ADN-T, que generalmente representa el casete de expresión. Los genes marcadores pueden eliminarse subsiguientemente de la planta transformada realizando cruces. En otro procedimiento, los genes marcadores integrados en un transposón se utilizan para la transformación junto con el ácido nucleico deseado (conocido como la tecnología Ac/Ds). Los transformantes pueden cruzarse con una fuente de transposasa o los transformantes se transforman con un constructo de ácido nucleico que confiere expresión de una transposasa, transitoriamente o de forma estable. En algunos casos (aproximadamente el 10%), el transposón salta fuera del genoma de la célula huésped una vez que la transformación ha tenido éxito y se pierde. En un número adicional de casos, el transposón salta a una ubicación diferente. En estos casos, el gen marcador debe eliminarse realizando cruces. En microbiología se han desarrollado técnicas que posibilitan o facilitan la detección de dichos eventos. Otro procedimiento ventajoso se basa en lo que se conoce como sistemas de recombinación; la ventaja de los mismos es que se puede prescindir de la eliminación por cruce. El sistema más conocido de este tipo es el que se conoce como el sistema Cre/lox. Cre1 es una recombinasa que elimina las secuencias ubicadas entre las secuencias loxP. Si el gen marcador se integra entre las secuencias loxP, se elimina una vez que la transformación se ha realizado con éxito mediante la expresión de la recombinasa. Otros sistemas de recombinación son los sistemas HIN/HIX, FLP/FRT y REP/STB (Tribble et al., J. Biol. Chem., 275, 2000: 22255-22267; Velmurugan et al., J. Cell Biol., 149, 2000: 553-566). Es posible una integración específica del sitio en el genoma de la planta de las secuencias de ácido nucleico según la invención.

Para los fines de la invención, "transgénico", "transgén" o "recombinante" significa, con respecto a, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico, un casete de expresión, un constructo génico o un vector que comprende la secuencia de ácido nucleico o un organismo transformado con las secuencias de ácido nucleico, casetes de expresión o vectores según la invención.

Por lo tanto, una planta transgénica para los fines de la invención significa, como anteriormente, que los ácidos nucleicos utilizados en el procedimiento de la invención no están presentes en el genoma de dicha planta, ni se originan en el mismo, o están presentes en el genoma de dicha planta pero no en su locus natural en el genoma de

dicha planta, siendo posible que los ácidos nucleicos se expresen de forma homóloga o heteróloga. Sin embargo, tal como se ha mencionado, transgénico también significa que, aunque los ácidos nucleicos según la invención o que se utilizan en el procedimiento de la invención se encuentran en su posición natural en el genoma de una planta, la secuencia se ha modificado con respecto a la secuencia natural, y/o que las secuencias reguladoras de las secuencias naturales se han modificado. Preferentemente, por transgénico se entiende la expresión de los ácidos nucleicos según la invención en un locus no natural en el genoma, es decir, tiene lugar una expresión homóloga o heteróloga de los ácidos nucleicos. En el presente documento se mencionan plantas transgénicas preferidas.

Para los fines de la presente invención, los genes relacionados u ortólogos del gen KLUH tal como se han descrito anteriormente en el presente documento pueden aislarse de las bases de datos de secuencias (públicamente) disponibles. La "identidad de secuencia" de dos secuencias de nucleótidos o aminoácidos relacionadas, expresada como un porcentaje, se refiere al número de posiciones en las dos secuencias alineadas óptimamente que tienen residuos idénticos (x 100) dividido por el número de posiciones comparadas. Un hueco, es decir, una posición en un alineamiento en la que un residuo está presente en una secuencia pero no en la otra, se considera una posición con residuos no idénticos. El alineamiento de las dos secuencias se realiza mediante el algoritmo Needleman y Wunsch (Needleman y Wunsch (1970) J Mol Biol. 48: 443-453). El alineamiento de secuencias asistido informáticamente anterior se puede realizar convenientemente utilizando un programa informático estándar tal como GAP, que forma parte del paquete Wisconsin Versión 10.1 (Genetics Computer Group, Madison, Wisconsin, Estados Unidos). Utilizando la matriz de puntuación predeterminada con una penalización por creación de huecos de 50 y una penalización de extensión de hueco de 3. Las secuencias se indican como "esencialmente similares" cuando dicha secuencia tiene una identidad de secuencia de al menos aproximadamente el 75%, particularmente al menos aproximadamente el 80%, más particularmente al menos aproximadamente 85%, bastante particularmente aproximadamente el 90%, especialmente aproximadamente el 95%, más especialmente aproximadamente el 100%, siendo muy especialmente idénticas.

Alternativamente, el experto puede aislar genes de plantas KLUH ortólogos por medio de procedimientos de hibridación genética. Dichos procedimientos son bien conocidos por el biólogo molecular experto (en plantas).

El término "expresión" o la expresión "expresión génica" significan la transcripción de un gen específico o genes específicos o constructo genético específico. El término "expresión" o la expresión "expresión génica" en particular significan la transcripción de un gen o genes o constructo genético para dar ARN estructural (ARNr, ARNt) o ARNm con o sin traducción posterior de este último en una proteína. El proceso incluye la transcripción de ADN y el procesamiento del producto de ARNm resultante.

El término "introducción" o "transformación" al que se hace referencia en el presente documento abarca la transferencia de un polinucleótido exógeno a una célula huésped, independientemente del procedimiento utilizado para la transferencia. El tejido vegetal capaz de realizar una propagación clonal subsiguiente, ya sea por organogénesis o embriogénesis, puede transformarse con un constructo genético de la presente invención y una planta completa regenerada a partir del mismo. El tejido particular elegido variará dependiendo de los sistemas de propagación clonal disponibles y más adecuados para la especie particular que se está transformando. Los ejemplos de tejidos objetivo incluyen discos de hojas, polen, embriones, cotiledones, hipocotilos, megagametofitos, tejido calloso, tejido meristemático existente (por ejemplo, meristemo apical, yemas axilares y meristemas de raíz) y tejido del meristemo inducido (por ejemplo, meristemo del cotiledón e meristemo hipocotílico). El polinucleótido puede introducirse de forma transitoria o estable en una célula huésped y puede mantenerse no integrado, por ejemplo, como un plásmido. Alternativamente, puede integrarse en el genoma del huésped. La célula vegetal transformada resultante puede utilizarse después para regenerar una planta transformada de una forma conocida por los expertos en la técnica.

La transferencia de genes extraños al genoma de una planta se denomina transformación. La transformación de especies de plantas es actualmente una técnica bastante rutinaria. Ventajosamente, puede utilizarse cualquiera de diversos procedimientos de transformación para introducir el gen de interés en una célula progenitora adecuada. Los procedimientos descritos para la transformación y regeneración de plantas a partir de tejidos vegetales o células vegetales pueden utilizarse para una transformación transitoria o estable. Los procedimientos de transformación incluyen el uso de liposomas, electroporación, productos químicos que aumentan la absorción de ADN libre, inyección del ADN directamente a la planta, bombardeo con pistola de partículas, transformación con virus o polen y microproyección. Los procedimientos se pueden seleccionar del procedimiento de calcio/polietylenglicol para protoplastos (Krens, F.A. et al., (1982) Nature 296, 72-74; Negrutiu I et al. (1987) Plant Mol Biol 8: 363-373); electroporación de protoplastos (Shillito R.D. et al. (1985) Bio/Technol 3, 1099-1 102); microinyección en material vegetal (Crossway A et al., (1986) Mol. Gen Genet 202: 179-185); bombardeo de partículas recubiertas con ADN o ARN (Klein TM et al., (1987) Nature 327: 70) infección con virus (no integrativos) y similares. Las plantas transgénicas, incluidas las plantas de cultivo transgénicas, se producen preferentemente mediante transformación mediada por Agrobacterium. Un procedimiento de transformación ventajoso es la transformación *in planta*. Con este fin, es posible, por ejemplo, permitir que las agrobacterias actúen sobre las semillas de las plantas o inocular agrobacterias al meristemo de las plantas. Se ha demostrado que es particularmente conveniente según la invención permitir que una suspensión de agrobacterias transformadas actúe sobre la planta intacta o al menos sobre los primordios florales. La planta se cultiva subsiguientemente hasta que se obtienen las semillas de la planta tratada

(Clough y Bent, Plant J. (1998) 16, 735-743). Los procedimientos para la transformación de arroz mediada por *Agrobacterium* incluyen procedimientos bien conocidos para la transformación de arroz, tales como los descritos en cualquiera de los documentos siguientes: solicitud de patente europea EP1198985, Aldemita y Hodges (Planta 199: 612-617, 1996); Chan et al. (Plant Mol Biol 22 (3): 491 -506, 1993), Hiei et al. (Planta J 6 (2): 271 -282, 1994), cuyas divulgaciones se incorporan al presente documento por referencia como si se establecieran en su totalidad. En el caso de la transformación de maíz, el procedimiento preferido es tal como se describe por Ishida et al. (Nat. Biotechnol 14 (6): 745-50, 1996) o Frame et al. (Plant Physiol 129 (1): 13-22, 2002), cuyas divulgaciones se incorporan al presente documento por referencia como si se establecieran en su totalidad. Dichos procedimientos se describen adicionalmente a modo de ejemplo por B. Jenes et al., Techniques for Gene Transfer, en: Transgenic Plants, vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung y R. Wu, Academic Press (1993) 128-143 y en Potrykus Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol. 42 (1991) 205-225) Los ácidos nucleicos o el constructo que se van a expresar se clonan preferentemente en un vector que es adecuado para transformar *Agrobacterium tumefaciens*, por ejemplo pBin19 (Bevan et al. (1984) Nucl. Acidos Res. 12-8711). Las agrobacterias transformadas por dicho vector pueden utilizarse después de forma conocida para la transformación de plantas, tales como plantas utilizadas como modelo, tales como *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* se encuentra dentro del alcance de la presente invención no considerada como planta de cultivo), o plantas de cultivo tales como, por ejemplo, plantas de tabaco, por ejemplo sumergiendo hojas golpeadas u hojas trituradas en una solución agrobacteriana y cultivándolas después en medios adecuados. La transformación de plantas por medio de *Agrobacterium tumefaciens* se describe, por ejemplo, por Hofgen y Willmitzer en Nucl. Acid Res (1988) 16, 9877 o se conoce por, entre otros, F.F. Blanco, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; in Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung y R. Wu, Academic Press, 1993, páginas 15-38.

Además de la transformación de las células somáticas, que después deben regenerarse para dar plantas intactas, también es posible transformar las células de meristemos vegetales y, en particular, las células que se desarrollan dando gametos. En este caso, los gametos transformados siguen el desarrollo natural de la planta, dando lugar a plantas transgénicas. Así, por ejemplo, las semillas de *Arabidopsis* se tratan con agrobacterias y las semillas se obtienen de las plantas en desarrollo, de las cuales se transforma una determinada proporción y, por lo tanto, son transgénicas [Feldman, KA y Marks MD (1987). Mol Gen Genet 208: 1-9; Feldmann K (1992). En: C Koncz, N-H Chua y J Shell, eds, Methods in Arabidopsis Research. World Scientific, Singapur, páginas 274-289]. Algunos procedimientos alternativos se basan en la eliminación repetida de las inflorescencias y la incubación del sitio de escisión en el centro de la roseta con agrobacterias transformadas, por lo que las semillas transformadas también se pueden obtener en un punto temporal posterior (Chang (1994). Plant J. 5: 551-558; Katavic (1994). Mol Gen Genet, 245: 363-370). No obstante, un procedimiento especialmente eficaz es el procedimiento de infiltración al vacío con sus modificaciones, tal como el procedimiento de "inmersión floral". En el caso de infiltración al vacío de *Arabidopsis*, las plantas intactas se tratan bajo presión reducida con una suspensión agrobacteriana [Bechthold, N (1993). CR Acad Sci Paris Life Sci, 316: 1194-1199], mientras que en el caso del procedimiento de "inmersión floral", el tejido floral en desarrollo se incuba brevemente con una suspensión agrobacteriana tratada con tensioactivo [Clough, SJ y Bent AF (1998) The Plant J. 16, 735-743]. En ambos casos se cosecha una determinada proporción de semillas transgénicas, y estas semillas se pueden distinguir de las semillas no transgénicas mediante cultivo en las condiciones selectivas descritas anteriormente. Además, la transformación estable de plastidios es una ventaja porque los plastidios se heredan por vía materna, ya que la mayor parte de los cultivos reducen o eliminan el riesgo de flujo transgénico a través del polen. La transformación del genoma del cloroplasto generalmente se logra mediante un proceso que se ha mostrado esquemáticamente por Klaus et al., 2004 [Nature Biotechnology 22 (2), 225-229]. Brevemente, las secuencias que se van a transformar se clonan junto con un gen marcador seleccionable entre secuencias flanqueantes homólogas al genoma del cloroplasto. Estas secuencias flanqueantes homólogas dirigen la integración específica del sitio en el plastoma. La transformación plastidial se ha descrito para muchas especies de plantas diferentes y se ofrece una descripción general en Bock (2001) Transgenic plastids in basic research and plant biotechnology. J Mol Biol., 21 de septiembre de 2001; 312 (3): 425-38 o Maliga, P (2003) Progress towards commercialization of plastid transformation technology. Trends Biotechnol. 21, 20-28. Recientemente se ha informado sobre nuevos avances biotecnológicos en forma de transformantes de plástidos desprovistos de marcadores que pueden producirse por un gen marcador cointegrado transitorio (Klaus et al., 2004, Nature Biotechnology 22 (2), 225-229).

Las células vegetales genéticamente modificadas se pueden regenerar mediante todos los procedimientos con los que el experto está familiarizado. Se pueden encontrar procedimientos adecuados en las publicaciones por S.D. Kung y R. Wu, Potrykus o Hofgen y Willmitzer mencionadas anteriormente.

Generalmente después de la transformación, las células o agrupaciones celulares vegetales se seleccionan mediante la presencia de uno o más marcadores que están codificados por genes que se expresan en la planta cotransferidos con el gen de interés, después de lo cual el material transformado se regenera dando una planta completa. Para seleccionar plantas transformadas, el material vegetal obtenido en la transformación se somete, generalmente, a condiciones selectivas para que las plantas transformadas puedan distinguirse de las plantas no transformadas. Por ejemplo, las semillas obtenidas de la forma descrita anteriormente pueden plantarse y, después de un período de crecimiento inicial, someterse a una selección adecuada mediante pulverización. Una posibilidad adicional consiste en cultivar las semillas, si es apropiado después de esterilización, en placas de agar utilizando un agente de selección adecuado para que solo las semillas transformadas puedan crecer dando plantas.

Alternativamente, las plantas transformadas se seleccionan para detectar la presencia de un marcador seleccionable tal como los descritos anteriormente.

Después de la transferencia y la regeneración de ADN, las plantas supuestamente transformadas también se pueden evaluar, por ejemplo utilizando análisis Southern, para determinar la presencia del gen de interés, el número de copias y/o la organización genómica. Alternativamente o adicionalmente, los niveles de expresión del ADN recién introducido se pueden controlar utilizando análisis Northern y/u Western, siendo ambas técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica.

Las plantas transformadas generadas pueden propagarse mediante una diversidad de medios, tales como por propagación clonal o técnicas de reproducción clásicas. Por ejemplo, una planta transformada de primera generación (o T1) puede ser autofertilizable y se pueden seleccionar transformantes homocigóticos de segunda generación (o T2), y las plantas T2 pueden propagarse después a través de técnicas de cultivo clásicas. Los organismos transformados generados pueden adquirir una diversidad de formas. Por ejemplo, pueden ser quimeras de células transformadas y células no transformadas; transformantes clonales (por ejemplo, todas las células transformadas para contener el casete de expresión); injertos de tejidos transformados y no transformados (por ejemplo, en plantas, un portainjerto transformado injertado en un vástago no transformado).

Los términos "aumentar", "mejorar" o "potenciar" se utilizan indistintamente y significarán en el contexto de la solicitud al menos el 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9% o 10%, preferentemente al menos el 15% o 20%, de forma más preferida el 25%, 30%, 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o más de rendimiento y/o crecimiento en comparación con plantas de control tal como se definen en el presente documento.

El término "planta", tal como se utiliza en el presente documento, abarca plantas monocotiledóneas enteras, los ancestros y la progenie de las plantas y partes de plantas, incluyendo semillas, brotes, tallos, hojas, raíces (incluidos tubérculos), flores y tejidos y órganos, comprendiendo cada uno de los mencionados anteriormente el gen/ácido nucleico de interés. El término "planta" también abarca células vegetales monocotiledóneas, cultivos en suspensión, tejido calloso, embriones, regiones meristemáticas, gametofitos, polen y microesporas, comprendiendo de nuevo cada uno de los mencionados anteriormente el gen/ácido nucleico de interés.

Las plantas monocotiledóneas que son particularmente útiles en los procedimientos de la invención incluyen forraje o cultivos forrajeros, plantas ornamentales, cultivos alimenticios, árboles o arbustos seleccionados de la lista que comprende *Agropyron spp.*, *Agrostis stolonifera*, *Allium spp.*, *Ammophila arenaria*, *Ananas comosus*, *Asparagus officinalis*, *Avena spp.* (por ejemplo, *Avena sativa*, *Avena fatua*, *Avena byzantina*, *Avena fatua var. sativa*, *Avena hybrida*), *Bambusa sp.*, *Carex elata*, *Cocos spp.*, *Colocasia esculenta*, *Crocus sativus*, *Dioscorea spp.*, *Echinochloa spp.*, *Elaeis* (por ejemplo, *Elaeis guineensis*, *Elaeis oleifera*), *Eleusine coracana*, *Eragrostis tef*, *Erianthus sp.*, *Festuca arundinacea*, *Hemerocallis fulva*, *Hordeum spp.* (por ejemplo, *Hordeum vulgare*), *Musa spp.*, *Oryza spp.* (por ejemplo, *Oryza sativa*, *Oryza latifolia*), *Panicum miliaceum*, *Panicum virgatum*, *Pennisetum sp.*, *Phalaris arundinacea*, *Phleum pratense*, *Phoenix spp.*, *Phragmites australis*, *Sorghum bicolor*, *Tripsacum dactyloides*, *Triticosecale rimpaui*, *Triticum spp.* (por ejemplo, *Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Triticum turgidum*, *Triticum hybernum*, *Triticum macha*, *Triticum sativum*, *Triticum monococcum* o *Triticum vulgare*), *Zea mays*, *Zizania palustres*, entre otros.

La elección de plantas de control adecuadas es una parte rutinaria de una configuración experimental y puede incluir plantas de tipo silvestre correspondientes o plantas correspondientes sin el gen de interés. La planta de control es normalmente de la misma especie de planta o incluso de la misma variedad que la planta que se va a evaluar. La planta de control también puede ser un nulicigoto de la planta que se va a evaluar. Los nulicigotos son individuos que pierden el transgén por segregación. Una "planta de control", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere no solo a plantas enteras, sino también a partes de plantas, incluidas semillas y partes de semillas.

La expresión "casete de expresión" se refiere a cualquier sistema de expresión recombinante que tiene el fin de expresar una secuencia de ácido nucleico de la invención *in vitro* o *in vivo*, constitutivamente o de forma inducible, en cualquier célula, incluyendo, además de células vegetales, células procariotas, de levadura, fúngicas, de insectos o de mamíferos. La expresión incluye sistemas de expresión lineal y circular. La expresión incluye todos los vectores. Los casetes pueden permanecer episomales o integrarse en el genoma de la célula huésped. Los casetes de expresión pueden tener la capacidad de autorreplicarse o no (es decir, controlar solo la expresión transitoria en una célula). La expresión incluye casetes de expresión recombinante que contienen solo los elementos mínimos necesarios para la transcripción del ácido nucleico recombinante.

Los ejemplos no limitantes siguientes describen procedimientos y medios según la invención. A menos que se indique lo contrario en los ejemplos, todas las técnicas se llevan a cabo según protocolos estándar en la técnica. Los ejemplos siguientes se incluyen para ilustrar formas de realización de la invención. Los expertos en la técnica deberían apreciar, a la luz de la presente descripción, que se pueden realizar muchos cambios en las formas de realización específicas que se divulgan y obtener aún un resultado parecido o similar sin apartarse del concepto, el espíritu y el alcance de la invención. Más específicamente, será evidente que determinados agentes que están

relacionados químicamente y fisiológicamente pueden sustituirse por los agentes descritos en el presente documento, obteniéndose también los mismos resultados o resultados similares.

EJEMPLOS

1. Construcción de un gen quimérico: promotor de GA2-oxidasa unido operativamente a una secuencia de codificación de KLUH

El promotor de GA2-oxidasa de maíz derivado del gen GRMZM2G031724 de *Zea mays* se aisló (2046 pb) y se fusionó con los sitios attB4 y attB1r, y se combinó con el vector de entrada pDONR P4-P1r mediante reacción BP (véase la figura 1).

También se aisló un gen representativo de maíz KLUH (GRMZM2G167986). El gen tiene un intrón y conduce a dos patrones de transcripción en maíz. Aislamos la secuencia del genoma (1834 pb) que incluye el intrón y la secuencia de codificación (CDS). La secuencia KLUH se fusionó con los sitios attB1 y attB2, y se combinó con el vector de entrada pDONR 221 mediante reacción BP (véase la figura 2). El vector de expresión pBb42GW7 es un vector intermediario de MultiSite Gateway diseñado para monocotiledóneas ((Karimi et al., 2013); véase la figura 3). El promotor de GA2-oxidasa unido operativamente al gen KLUH se insertó en el vector de expresión pBb42GW7 por medio de reacción LR entre attR4 y attR2. El gen bar dirigido por el promotor 35S se utilizó para seleccionar plantas transgénicas durante el proceso de transformación (véase la figura 4). La secuencia del gen quimérico del promotor de GA2-oxidasa unido operativamente al gen KLUH en el vector de expresión pBb42GW7 se muestra en la figura 5.

La transformación del maíz se realizó según (Coussens et al., 2012).

En total, se obtuvieron 10 líneas T0 independientes después de la transformación. Aproximadamente 35 semillas T1 generadas a partir de T0 retrocruzadas con B104 de tipo silvestre se sembraron en el suelo para el análisis de segregación y el fenotipado. El ensayo de amonio (De Block et al., 1995) se utilizó para detectar plantas transgénicas, se utilizó una pintura de hoja para confirmar determinadas plantas para la ampliación.

Se seleccionaron cuatro líneas independientes, 139_01, 140_01, 140_04, 140_05, que tenían una inserción de ADN-T y mostraron un fenotipo para su posterior análisis (véase la tabla 1).

Tabla 1: Ensayo de Chi cuadrado y resultados del fenotipado de plantas T1. * indica líneas de locus individuales. Las plantas NA no pudieron genotiparse debido a una germinación tardía o a un crecimiento retardado.

	Plantas de resistencia	Plantas sensibles	Plantas NA	Valor de Chi ²	Fenotipo
139_01	14	13	8	0,037*	Sí
139_04	20	10	5	3,33	
139_05	17	13	5	0,53*	
139_07	19	9	7	3,57	Sí
140_01	15	12	8	0,33*	Sí
140_04	19	10	3	2,79*	Sí
140_05	11	19	2	2,13*	Sí
140_07	20	12	0	2*	
140_09	13	8	9	1,19*	
140_11	22	6	2	9,14	Sí

2. Análisis fenotípico y molecular de los transformantes de maíz que comprenden el gen quimérico

La longitud de las hojas de las plantas se midió desde la parte superior del suelo hasta la punta de la hoja. La longitud de la hoja y el área de la hoja 2 se midieron cuando crecieron completamente (dos días después de aparecer la hoja 4). La longitud de la hoja 4 se midió diariamente desde la aparición de la hoja 4 hasta que crecieron completamente (aproximadamente 10 días). A partir de los datos registrados de la hoja 4, se calcula la LER como la diferencia en la longitud de la hoja en dos puntos temporales sucesivos divididos por el intervalo de tiempo entre los mismos (en mm/h). El área de la hoja 4 se midió cuando la hoja creció completamente. Se escaneó el limbo de la hoja y se calculó el área de la hoja utilizando Image J. El análisis cinemático se realizó tal como se describe por (Nelissen et al., 2013).

Por ahora, parte de las mediciones de las hojas se han realizado en cuatro líneas seleccionadas. La longitud final de la hoja y el área foliar de la hoja 2 se calcularon en 140_01 y 139_01 (Tabla 2). La tasa de alargamiento de la hoja y parámetros más detallados de la hoja 4 se calcularon en 140_04 y 140_05 (figura 6, tabla 3, figura 7, tabla 4).

5 2.1 Los parámetros de la hoja 2 para las líneas 140_01 y 139_01 muestran mayor longitud y área de la hoja

Para la línea 140_01 y 139_01, hasta ahora solo se realizaron mediciones en la hoja 2 completamente desarrollada. Sin embargo, estas muestran que el área y la longitud final de la hoja aumentan significativamente en las dos líneas independientes. Ahora se miden en estas dos líneas los parámetros de la hoja 4.

10 Tabla 2: Parámetros de la hoja 2 de dos líneas T1 140_01 y 139_01. R representa plantas transgénicas (resistentes), S representa plantas no transgénicas (sensibles).

	140-01				139-01			
	R	S	$\Delta\%$	Valor de P	R	S	$\Delta\%$	Valor de P
área de la hoja (mm ²)	1807,7	1276,9	29,4	0	1932,9	1236,3	36	0,006
entrenudo (mm)	105	90,5	13,8	0,003	105	97,5	7,1	0,19
longitud de hoja (mm)	293,8	223,5	23,9	0,0008	298,3	234,8	21,3	0,021
anchura de hoja (mm)	13,8	12,5	9,2	0,006	13	11,7	10	0,11

15 2.2 Los parámetros de la hoja 4 para las líneas 140_04 y 140_05 muestran un aumento de LER, longitud de la hoja y tamaño de la zona de división

20 Para las líneas 140_04 y 140_05, se realizó un seguimiento de la longitud de la hoja 4 durante su crecimiento, lo que demuestra que la tasa de alargamiento de la hoja (LER) fue mayor durante el estado estacionario en las plantas transgénicas frente a las plantas de control y que la duración del crecimiento aumentó en la línea transgénica (figuras 6 y 7).

25 Además, cuando se realizaron mediciones en 2 plantas por línea se evidenció que el área aumentó en un 34 - 45% (tablas 3 y 4). Para determinar la longitud de la hoja y el tamaño de la zona de división se analizaron más plantas, lo que permitió un análisis estadístico: la longitud foliar final de la hoja 4 aumentó significativamente en ambas líneas transgénicas (variando del 15,3 al 24,2%). Para la línea 140_04, se realizó una medición preliminar del tamaño de la zona de división que muestra que el aumento en la longitud foliar en esa línea se debió, al menos en parte, a un mayor tamaño de la zona de división (15,7%) y, por lo tanto, al número de células en división (tabla 3).

30 Tabla 3: Parámetros de la hoja 4 de 140_04. R representa plantas transgénicas (resistentes), S representa plantas no transgénicas (sensibles).

140_04	Área de la hoja 4	Longitud de la hoja 4	Anchura de la hoja 4	Tamaño de la ZD
R	53,6	65,3	2,3	1,8
S	35,5	49,5	1,9	1,5
$\Delta\%$	33,9	24,2	17,2	15,7
Valor de p		0,005		0,02

35 Tabla 4: Parámetros de la hoja 4 de 140_05. R representa plantas transgénicas (resistentes), S representa plantas no transgénicas (sensibles).

140_05	Área de la hoja 4	Longitud de la hoja 4	Anchura de la hoja 4
R	77,1	64,5	2,3
S	41,9	54,6	1,8
$\Delta\%$	45,6	15,3	22,4
Valor de p		0,04	

2.3 El análisis qPCR muestra una mayor expresión de KLUH en la zona de crecimiento de la hoja de maíz

La hoja 4 se cosechó dos días después de que aparecieran para analizar el nivel de sobreexpresión de KLUH bajo el promotor de GA2-oxidasa. La hoja 4 se cortó en 10 piezas desde la base de la hoja hacia la punta de la hoja a una escala de 0,5 cm. Del análisis qPCR, dos líneas mostraron un fenotipo de hoja 2 más grande, 140_01 y 139_01, y tienen un mayor nivel de expresión de KLUH en comparación con cualquier planta transgénica (figura 8, figura 9).

2.4 Conclusión

De los 10 eventos de transformación, se eligieron 4 líneas en las que se insertó el ADN-T en un único locus en el genoma. Las cuatro líneas muestran una mejora en el crecimiento de las hojas, lo que da como resultado hojas más largas con una mayor área del limbo. Esta mayor área del limbo foliar permite capturar más luz solar, lo que puede dar lugar, como resultado, a una mayor fotosíntesis neta. El análisis celular de una línea mostró que el aumento de la longitud de la hoja se debe, al menos en parte, a un aumento en el tamaño de la zona de división, por lo tanto más células en división. Si bien no se pretende limitar la invención a un mecanismo particular, una hipótesis es que, dado que se demostró que KLUH estimula la división celular en las plantas y, por lo tanto, extiende la expresión de KLUH dentro de la zona de crecimiento, se obtiene como resultado la estimulación de divisiones adicionales (en un órgano vegetal particular).

Las cuatro líneas se cultivan ahora una al lado de la otra y se realizarán cuatro mediciones detalladas de la hoja. En el mismo experimento, tomamos muestras para comparar los niveles de "sobreexpresión" de KLUH en la zona de crecimiento. Las plantas también se cultivan hasta la madurez para evaluar la altura final de la planta, el tiempo de floración, el intervalo entre antesis y floración femenina (ASI), el rendimiento de semilla, la biomasa y la longitud del entrenudo.

3. Las plantas de maíz genéticamente transformadas con el gen quimérico GA2ox::KLUH tienen una zona de división estable durante al menos un día adicional

Se aplicó un análisis cinemático detallado a lo largo del tiempo sobre la hoja 4. De varias plantas transformadas independientes, la hoja 4 se cosechó todos los días desde que emergió de la hoja 3 hasta que creció por completo. El tamaño de la zona de división se determinó por tinción DAPI. El ANOVA mostró una interacción significativa entre el tamaño de la zona de división y el tiempo de crecimiento de la hoja, mostrando que el tamaño de la zona de división en GA2ox::KLUH permaneció un día más en el tamaño máximo que el tipo silvestre (véase el día 5 en la figura 10).

4. Las plantas de maíz transgénico que albergan el gen quimérico GA2ox::KLUH tienen un intervalo entre antesis y floración femenina más corto que el tipo silvestre

Se observó un intervalo promedio entre antesis y floración femenina (ASI) 3 días más corto en las plantas de maíz transgénicas que albergan el gen quimérico GA2ox::KLUH en comparación con las plantas de maíz de tipo silvestre. ASI es el tiempo entre el desprendimiento de polen y la aparición de las flores femeninas. El ASI más corto permite que el polen más viable entre en las flores femeninas para facilitar la eficacia de la polinización y también está documentado en la técnica que puede ayudar a las plantas a mantener el rendimiento en condiciones de estrés por sequía.

5. Las plantas de maíz transgénicas híbridas que albergan un gen quimérico GA2ox::KLUH y un gen quimérico UBIL::GA20ox tienen un mayor rendimiento de biomasa que sus progenitores

Anteriormente se ha demostrado que en las plantas de maíz transgénicas que albergan el gen quimérico UBIL::GA20Ox, los altos niveles de GA afectan principalmente a los niveles máximos de tasa de crecimiento (LER), pero no a la cronología de crecimiento (véase Nelissen et al., 2012). En la presente invención, mostramos ahora que las plantas de maíz que albergan el gen quimérico GA2OX::KLUH afectan mínimamente a la tasa de crecimiento máxima, pero que la presencia de este gen quimérico mantiene la tasa de crecimiento máxima durante un día adicional, es decir, manteniendo el tamaño de la zona de división máximo durante un período más largo. Para examinar si los dos genes quiméricos se influyen sinérgicamente entre sí y si la combinación de ambos genes quiméricos aumenta aún más la longitud de la hoja, realizamos un cruce entre las dos líneas transgénicas.

El LER de la hoja 4 del cruce resultante GA2ox::KLUH x UBIL::GA20ox mostró una tasa de crecimiento igual de elevada que UBIL::GA20ox; y en el día 7 del crecimiento de la hoja 4, el cruce mostró la misma tasa de crecimiento que GA2ox::KLUH, cuando la tasa de crecimiento de UBIL::GA20ox ya había disminuido a un nivel más bajo. Esta combinación de genes quiméricos en el híbrido conduce al aumento aditivo de la longitud final de la hoja y el área de la hoja. Además, también medimos la longitud foliar final y el área de la hoja 2, que es similar a lo que vemos de la hoja 4. No se observó heterosis significativa del fenotipo de plantas maduras GA2ox::KLUH x UBIL::GA20ox, aunque la combinación mostró una mayor altura y un mayor peso de la planta (véase la figura 11B; tabla 5). En conclusión,

mostramos que la combinación de genes quiméricos (GA2ox::KLUH x UBIL::GA20ox) tomó el fenotipo mejorado de cada planta progenitora, es decir, la altura de UBIL::GA20ox y el área foliar más grande de GA2ox::KLUH.

Tabla 5. Parámetros de planta del cruce GA2OX::KLUH x UBIL::GA20Ox y sus respectivos progenitores

	Tipo silvestre	GA2ox::KLUH	UBIL::GA20ox	GA2ox::KLUH x UBIL::GA20ox
Área de la hoja 2	11,01 *	15,75 *	14,09 *	20,11
Longitud de la hoja 4	551,3 *	636 *	733,7	840
Área de la hoja 4	73,4 *	93,28 *	87,93 *	129,76
Altura de planta	218,3 *	23,6 *	283,9	341,6
Peso de la planta	530	537,3	438,2	552,6
Longitud de la raíz	12,3	7,07	40,1 *	10,3
Nº de raíces de la corona	2,3	2	3,25 *	2,3
Longitud de la flor	25,3 *	26,6	33,5	34,35
Ramas de la panícula	10 *	12	13,6	13

Los asteriscos indican diferencias significativas en comparación con GA2ox::KLUH x UBIL::GA20ox con $p < 0,05$.

6. Crecimiento de las plantas de maíz transgénicas que albergan el gen quimérico GA2ox::KLUH en condiciones de estrés

Cuando las plantas de maíz transgénicas que albergan el gen quimérico GA2ox::KLUH se sometieron a un estrés por sequía leve, no observamos diferencias significativas en la longitud final de la hoja (valor de $P = 0,95$), sino una mayor reducción de la LER (valor de $P = 0,035$) y un período de crecimiento más largo (valor de $P = 0$) se han encontrado en plantas resistentes bajo sequía leve (véase la figura 12).

7. Ejemplos no limitantes de promotores de GA2-oxidasa adecuados (derivados de *Zea mays*) que pueden utilizarse para construir genes quiméricos de la invención

- SEQ ID NO: 4: promotor ZmGA2ox1 (GRMZM2G127757; 2489 pb), este promotor es activo en la hoja en crecimiento

- SEQ ID NO: 5: promotor ZmGA2ox2.1 (GRMZM2G078798_T01; GRMZM2G078798_T02; GRMZM2G078798_T04; 2505 pb); tres patrones de transcripción GRMZM2G078798_T01; GRMZM2G078798_T02; GRMZM2G078798_T04 comienzan en la misma posición. Por lo tanto, se puede utilizar el mismo promotor. Este promotor es activo en hojas en crecimiento.

- SEQ ID NO: 6: promotor ZmGA2ox2.1 (GRMZM2G078798_T03; 2404 pb); GRMZM2G078798_T03 comienza más tarde en el genoma que las tres transcripciones anteriores (tres patrones de transcripción GRMZM2G078798_T01; GRMZM2G078798_T02; GRMZM2G078798_T04). Este promotor es activo en hojas en crecimiento.

- SEQ ID NO: 7: promotor ZmGA2ox2.2 (GRMZM2G176963_T01; 2500 pb). Este promotor es activo en la mazorca de maíz.

- SEQ ID NO: 8: promotor ZmGA2ox3.1 (GRMZM2G022679_T01; 2494 pb). Este promotor es activo en hojas en crecimiento.

- SEQ ID NO: 9: promotor ZmGA2ox3.2 (GRMZM2G031724; 2046 pb). Este promotor es activo en hojas en crecimiento y se usó en el ejemplo 1.

- SEQ ID NO: 10: promotor ZmGA2ox4 (GRMZM2G427618_T01; 2120 pb). Este promotor es activo en hojas en crecimiento.

- SEQ ID NO: 11: promotor ZmGA2ox6.2 (GRMZM2G153359_T01; 2467 pb). Este promotor es activo en hojas en crecimiento.

- SEQ ID NO: 12: promotor ZmGA2ox7.1 (GRMZM2G051619_T01; 2456 pb). Este promotor es activo en hojas en crecimiento y en el embrión.

- SEQ ID NO: 13: promotor ZmGA2ox7.2 (GRMZM2G152354_T01; 2500 pb). Este promotor es activo en la mazorca.

• SEQ ID NO: 14: promotor ZmGA2ox7.3 (GRMZM2G031432_T01; 2472 pb). Este promotor es activo en las hojas y en el SAM.

5 8. Ejemplos no limitantes de genes ortólogos de KLUH que pueden utilizarse para construir genes quiméricos de la invención

• SEQ ID NO: 15: >CYP78A5 (AtKLUH) AT1G13710

10 • SEQ ID NO: 16: >CYP78A1 (ZmKLUH) GRMZM2G167986

• SEQ ID NO: 17: >ZmKLUH-LIKE - GRMZM2G054603

15 • SEQ ID NO: 18: >CYP78A11 (OsPLA1) Os10g0403000

• SEQ ID NO: 19: >CYP78A7 - AT5G09970

• SEQ ID NO: 20: >CYP78A27 (PpKLUH1) PP00504G00010.1

20 • SEQ ID NO: 21: >CYP78A28 (PpKLUH2) PP00134G00010.1

Referencias

25 Anastasiou, E., Kenz, S., Gerstung, M., MacLean, D., Timmer, J., Fleck, C. y Lenhard, M. (2007). Control of Plant Organ Size by KLUH/CYP78A5-Dependent Intercellular Signaling. *Developmental Cell* 13, 843-856.

Coussens, G., Aesaert, S., Verelst, W., Demeulenaere, M., De Buck, S., Njuguna, E., Inzé, D. y Van Lijsebettens, M. (2012). Brachypodium distachyon promoters as efficient building blocks for transgenic research in maize. *Journal of Experimental Botany* 63, 4263-4273.

30 De Block, M., Sonville, A. y Debrouwer, D. (1995). The selection mechanism of phosphinothricin is influenced by the metabolic status of the tissue. *Planta* 197, 619-626.

35 Karimi, M., Inzé, D., Van Lijsebettens, M. y Hilsen, P. (2013). Gateway vectors for transformation of cereals. *Trends in Plant Science* 18, 1-4.

Kazama, T., Ichihashi, Y., Murata, S. y Tsukaya, H. (2010). The Mechanism of Cell Cycle Arrest Front Progression Explained by a KLUH/CYP78A5-dependent Mobile Growth Factor in Developing Leaves of *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology* 51, 1046-1054.

40 Nelissen, H., Rymen, B., Coppens, F., Dhondt, S., Fiorani, F. y Beemster, G.S. (2013). Kinematic Analysis of Cell Division in Leaves of Mono- and Dicotyledonous Species: A Basis for Understanding Growth and Developing Refined Molecular Sampling Strategies. In *Plant Organogenesis*, I. De Smet, ed (Humana Press), páginas 247-264.

45 Nelissen, H., Rymen, B., Jikumaru, Y., Demuyne, K., Van Lijsebettens, M., Kamiya, Y., Inzé, D. y Beemster, Gerrit T.S. (2012). A Local Maximum in Gibberellin Levels Regulates Maize Leaf Growth by Spatial Control of Cell Division. *Current Biology* 22, 1183-1187.

Listado de secuencias

50 <110> VIB VZW
UNIVERSITEIT GENT

55 <120> Medios y procedimientos para producir rendimiento en plantas

<130> DI/KLUH/457

<150> GB 1309866.0

<151> 03/06/2013

60 <160> 21

<170> PatentIn versión 3.5

65 <210> 1
<211> 2101

ES 2 750 530 T3

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>

5 <223> Promotor de GA2-oxidasa derivado de GRMZM2G031724

<400> 1

```

ggggacaact ttgtatagaa aagttgccga ggattgcagc tcctggatca tatcagaatg      60
tctgtcgcgc gccaccccg ggcactgca ttatatctct gccaggtgcg caatacaata      120
tggcatgggg ggcacgtagt acgtactgc cgtacagctg cgtcagcaaa tgccaacttg      180
tgtggtacag ctataatcta tagaaaaaag aatattatag aagtagtaga agttggcgcg      240
tatggattaa ggaaggtttg gtttctagt actaatttag tctctctatt ttattcaatt      300
ttgttcctaa attatcaaac taaaatgaag ttttgttttt tttatatagg ataatttaga      360
gactaaaata gaataaaaat gaatggatga aaaattagtt cctaccaacc aaacaccct      420
taagagctac ttcgagaacc tcaaatctcc ttcgagactg gaggagatga aggtaaaaat      480
aaactaatth tcccttcaat ctttttaatt cacaaggggg tgcgggtacg gaaatgttta      540
ctactatact ggaaaggtgt ctgaaaccgg gagaaaagct ttgaccaggg tggacctgtt      600
tatgggatcg aagcgcccg tgcaccaact ggcgactggc gagccaccat tgcgcggacc      660
cgagattaac tatactacag gactactgtc gggttggtac caatacgtgg cttgggcaaa      720
aagtctggca ggcgccgctg cttgtctgcg gtttctatgt gccgatgcca tcgcaccgga      780
ccggatcggg atgggatcag cggaacatgc gagagcgagc ctgcaactga ctgcatggcc      840
gcgaccgctg cgtccatcga gccgcctatc attagttggt tccactgtct cgccgccgaa      900
gcaaggcagc acagcacaca tcagcattgc ttcccagttc ccaatgcccc gtcgtcctag      960
ccgagcgagg ctacgtacca acccagctga aactacgaga gatgcgctgt gggcaggaca     1020
gtggtcgagc gaggagtgt cctgtagtta acgaggattt tatcttacta gtgcgtacgt     1080
acgtactgta cgtactatga tctctcacgt gctctggtct tatcactcgc ttgattatac     1140

```

10

ES 2 750 530 T3

tatgatcttt	ttttccctcc	acctgctctg	gtcttatcgc	tggcacgtgc	ttttacacgg	1200
ccacttagga	ctactcacct	cgtctcgtca	tgcttatcta	cttcagagcg	tcacggacac	1260
agcaaggagg	agtacgcaca	cgcagcatgg	actgcctgga	gcggggtgtg	gtgcactaac	1320
gccccgctaa	ttcccggagc	tgcctgtgcc	ttggacgccc	atctctgggt	tcgcggggag	1380
aataataata	atttaggcga	aacacgggaa	cgggtcgtga	ggaaaagcct	gacatgctgc	1440
attacggccg	gtgccgttcg	gaccccagtt	attgatgagc	cgagtcaccg	acctgccaag	1500
aaaaggatgc	cggatcaagg	gcagggtcac	ctcatcttag	cgcattgcaag	cgtcgtccct	1560
aacccaaaaca	tcattcttcat	gtctggccgc	ccgcgcagcg	gtcccagtcg	cggcgtgggt	1620
aacgggaggg	actgggactg	gcagggccgg	ctaattggccg	acgtgcagtc	gcctcgtatg	1680
cgtttcccg	ttagccatgc	atgcagcaga	gcagcgcggg	cggccgggtc	tgccaccggg	1740
ggatcgcggc	cgggcacgtc	acggcccggg	ccccgactgc	tctggctcca	tcgccgccac	1800
catgcaccca	aagcgatcca	ccccgatgc	atcccttttc	tctccctgtc	agctgggccc	1860
atctcgcgtc	accgtagcca	ggcgccgccc	cgtcgccccc	ccccccgatc	tatatatgct	1920
gccacgggg	tctccactt	ctccccaca	tgcacttget	gcagcagccg	taggacacac	1980
gcacaccgcc	tcgacctcga	gtccaccact	gactccacca	cctccccctg	ttttttttcg	2040
acctcgtct	gctcatccgc	acggccagac	agccgcaagt	ttgtacaaaa	aagcagtccc	2100
c						2101

<210> 2

<211> 1895

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia KLU fusionada con sitios attB1 y attB2

10

<400> 2

ggggacaagt	ttgtacaaaa	aagcaggctc	catggcgatg	gcctccgctg	cttgcctcatg	60
cacggacggc	acgtgggtggg	tgtacgcgct	cccggcgctg	ctcggtctcg	acaccctgtg	120
cgcaccaccc	gccctcctgg	ctggcctgat	ctttctggcc	accgtctcgg	tggctctgct	180
ggcgtgggcc	acgtcgccgg	gcggtccggc	gtggacgaac	ggccgcggcc	gcctcggcgt	240
cactcctatc	gtgggacccc	gtggtctgcc	cgtgttcggc	agcatcttcg	cgtgtctccg	300
cgggctgccg	caccgcgccc	tcgccgagat	ggccgcgccc	gcagggcccc	gggccaagga	360
gctcatggcg	ttctccgtcg	gtgacacgcc	cgcggctcgtg	tcgtcctgcc	cggccacggc	420
acgtgaggtg	ctcgcgcacc	cgtcattcgc	cgaccgccct	gtgaagcggg	cggcccgagg	480
gctcatgttc	gcgcgtgcc	tcgggttcgc	gcccacgggc	gagtactggc	gccgcctccg	540
ccgcgtcgcg	tccacgcacc	tattctcccc	gcgcgggggc	gcctcgcacg	agccgggacg	600

ES 2 750 530 T3

```

ccaaggtgac gcggaggcca tgctccgctc catcgccgcc gaacagtcgg cctctggcgc 660
cgtcgccctc cgcccgccacc tccaggccgc cgctctcaac aacatcatgg gcagcgtctt 720
cggcacgcgg tacgacgtca catcaggcgc cgggcccgcg gaggccgagc atctcaagag 780
catggtgcgc gaggggttcg agctcctcgg cgccttcaac tggtcgacc acctcccctg 840
gctcgcccac ctgtacgacc caagcaacgt caccgcgcgg tgcgcgcgc tcgtgcgcgc 900
cgtccagacc ttggtccgtg gcgtcatcga cgagcaccgg cgccgcgcgc aaaactccgc 960
cgccctcaac gacaatgctg acttcgtcga cgtgctcctc tccctcgagg gtgacgagaa 1020
gctcggcgac gacgacatgg tcgccatcct ctgggtaaaag ttcaaatacga tcgctttcct 1080
agcttggtta actgcgcata cttctcagtt ctcaactgcg catacctgtc ggttctacag 1140
ttttgtgtcg ggctgtcggg tgttcccgga agggaaaaaa aagaacaaag ctctgtcgct 1200
gaaaaaaaca tactgtacat gcatataatt tgtttttgca ggagatggtc ttccgcggta 1260
cggacacgac ggcgcttctg accgagtggt gcatggcgga gctggtgcgc caccgcgcgg 1320
tgcaggcgag ggtgcgcgcc gaggtcgacg cggtgtcgg tgcgggaggt tgccccaccg 1380
acgccgacgt ggcgcgcgtg ccgtacctgc aggcggttgt gaaggagacg ctgcgcgcgc 1440
acccgcctgg ccgctgtctg agctgggctc gcctcgccac cgccgacgtg ccactctgca 1500
acggcatggt ggtcccggct ggcaccacgg cgatggtgaa tatgtgggcc ataaccacg 1560
atgccgccgt gtgggcccgc ccggacgcgt tcgcgcggga gcggttcctg ccctccgagg 1620
gcggcgccga cgtggacgtc cgcggcgtcg acctccgcct ggccccgttc ggcgcggggc 1680
gtcgcgtctg ccccggaag aacctgggcc tcaccaccgt gggcctctgg gttgcccgc 1740
tcgtgcacgc cttccagtgg gccctgcctg acggcgcggc ggccgtttgc ctcgacgagg 1800
tcctcaagct tcctcgagg atgaagacgc cgctcgtcgc cgagccatc cccgcgaccg 1860
cctgagaccc agctttcttg taaaaagtgg tcccc 1895

```

<210> 3

<211> 3926

5 <212> ADN

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Gen quimérico "promotor de GA2-oxidasa (GRMZM2G031724) unido operativamente al gen KLU (GRMZM2G167986)

<400> 3

```

caactttgta tagaaaagtt gccgaggatt gcagctcctg gatcatatca gaatgtctgt 60
cgctcgccac cccgggcgca ctgcattata tttctggcag gtgcgcaata caatatggca 120
tgggggggcac gtagtacggt actgccgtac agctgcgtca gcaaatgcc aattgtgtgg 180
tacagctata atctatagaa aaaagaatat tatagaagta gtagaagttg gcgcgtatgg 240

```

15

ES 2 750 530 T3

attaaggaag gtttggtttc tagtgactaa tttagtctct ctatatttatt caattttggt	300
cctaaattat caaactaaaa tgaagttttg ttttttttat ataggataat ttagagacta	360
aaatagaata aaaatgaatg gatgaaaaat tagttcctac caaccaaaca ccccttaaga	420
gctacttcga gaacctcaaa tctccttcga gactggagga gatgaaggta aaaataaact	480
aattttccct tcaatccttt taattcacaa gggggtgcgg gtacggaaat gtttactact	540
atactggaaa ggtgtctgaa accgggagaa aagctttgac cagggtggac ctgtttatgg	600
gatcgaagcg gccgttgccc caactggcga ctggcgagcc accattgcgc ggacccgaga	660
ttaactatac tacaggagta ctgtcgggtt ggtaccaata cgtggcttgg gcaaaaagtc	720
tggcaggcgc cgctgcttgt ctgcggtttc tatgtgccga tgccatcgca ccggaccgga	780
tccggatggg atcagcggaa catgcgagag cgagcctgca ctgcactgca tggccgcgac	840
cgcgctgctc atcgagccgc ctatcattag ttggttccac tgtctcgccg ccgaagcaag	900
gcagcacagc acacatcagc attgcttccc agttcccaat gcccgcgtcgt cctagccgag	960
gcgggctcag taccaacca gctgaaacta cgagagatgc gctgtgggca ggacagtgggt	1020
cgagcgagga gtgtacctgt agttaacgag gattttattt tactagtgcg tacgtacgta	1080
ctgtacgtac tatgatctct cacgtgctct ggtcttatca ctcgcttgat tatactatga	1140
tctttttttc cctccacctg ctctggtctt atcgctggca cgtgctttta cacggccact	1200
taggactact cacctcgtct cgtcatgctt atctacttca gagcgtcacg gacacagcaa	1260
ggaggagtac gcacacgcag catggactgc ctggagcggg gtgtgggtgca ctaacgcccg	1320
cctaattccc ggagctgcct gtgccttggg cggccatctc tggtttcgcg gggagaataa	1380
taataattta ggcgaaacac gggaaacgggt cgtgaggaaa agcctgacat gctgcattac	1440
ggccggtgcc gttcggaccc cagttattga tgagccgagt caccgacctg ccaagaaaag	1500
gatgccggat caagggcagc ttcacctcat cttagcgcac gcaagcgtcg tccctaacca	1560
aaacatcatc ttcattgtctg gccgcccgcg cagcgggtccc agtgccggcg tggttaacgg	1620
gagggactgg gactggcagg gccggctaata ggccgacgtg cagtgcctc gtatgcgttt	1680
cccgttgagc catgcatgca gcagagcagc cggggcggcc ggtcctgccca ccggtggatc	1740
gcggccgggc acgtcacggc ccggtccccg actgctctgg ctccatcgcc gccaccatgc	1800
acccaaagcg atccaccccc gatgcatccc ttttctctcc ctgtcagctg ggcccatctc	1860
gcgtcacctg agccaggtgc cggcccgctc ccccgcccc cgtatctatat atgtgcccc	1920
cgggctctcc cacttctccc ccacatgcac ttgctgcagc agccgtagga cacacgcaca	1980
ccgcctcgac ctcgagtcca cactgactc caccacctcc ccctgttttt tttcgacctc	2040
gctctgctca tccgcacggc cagacagccg caagtttgta caaaaaagca ggctccatgg	2100

ES 2 750 530 T3

cgatggcctc cggggttgc tcatgcacgg acggcacgtg gtgggtgtac gcgctcccgg 2160
cgctgctcgg ctccgacacc ctgtgcgccc acccggccct cctggctggc ctgatctttc 2220
tggccaccgt ctgggtggct ctgtggcgt gggccacgtc gccgggcggt ccggcgtgga 2280
cgaacggccg cggccgcctc gggtcactc ctatcgtggg acccgtgggt ctgcccgtgt 2340
tcggcagcat cttcgcgctg tcccgcgggc tgccgcaccg cgcctcgcg gagatggccc 2400
gcgccgcagg gccccgggcc aaggagctca tggcgttctc cgtcgggtgac acgcccgcgg 2460
tcgtgtcgtc ctgcccggcc acggcacgtg aggtgctcgc gcaccctca ttcgccgacc 2520
gccctgtgaa gcggtcggcc cgggagctca tgttcgcgog tgccatcggg ttcgcgcca 2580
acggcgagta ctggcgccgc ctccgcgcg tcgctccac gcacctattc tccccgcgcc 2640
gggtcgcctc gcacgagccg ggacgccaag gtgacgcgga ggccatgctc cgctccatcg 2700
ccgccgaaca gtccgctctt ggcccgctc ccctccgcc gcacctccag gccgccgctc 2760
tcaacaacat catgggcagc gtcttcggca cgcggtacga cgtcacatca ggcccgggcg 2820
ccgcggaggc cgagcatctc aagagcatgg tgcgcgaggg gttcagctc ctccgcgcct 2880
tcaactggtc cgaccacctc ccctggctcg ccacactgta cgaccaagc aacgtcacc 2940
gccgtgctgc cgcgctcgtg ccgcgcgtcc agacctcgt cgtggcgctc atcgacgagc 3000
accggcgccg ccgccaaaac tccgcgcgcc tcaacgacaa tgctgacttc gtcgacgtgc 3060
tcctctccct cgaggggtgac gagaagctcg gcgacgacga catggtcgcc atcctctggg 3120
taaagttaa atcgatcgct ttcctagctt gtttaactgc gcatacttct cagtctcaa 3180
ctgcgcatac ctgtcgggtc tacagttttg tgtcgggctg tcggttgctc ccggaaggga 3240
aaaaaaagaa caaagctctg tcgtgaaaa aaacatactg tacatgcata taatttggtt 3300
ttgcaggaga tggctctccg cggtagggac acgacggcgc ttctgaccga gtggtgcatg 3360
gcggagctgg tgcgcccccc ggcggtgcag gcgaggggtg gcgccgaggt cgacgcggct 3420
gtcggtgccc gaggttgccc caccgacgcc gacgtggcgc gcatgccgta cctgcaggcg 3480
gttgtgaagg agacgctcgc cgcgccccc cctggccgc tgctgagctg ggctcgcctc 3540
gccaccgccg acgtgccact ctgcaacggc atggtggtcc cggctggcac caccgcatg 3600
gtgaatatgt gggccataac ccacgatgcc gccgtgtggg ccgaccgga cgcgttcgcg 3660
ccggagcggg tcctgccctc cgagggcggc gccgacgtgg acgtccgcgg cgtcgacctc 3720
cgcctggccc cgttcggcgc cggcgctcgc gtctgccccg gcaagaacct gggcctcacc 3780
accgtgggccc tctgggttgc ccgcctcgtg cacgccttcc agtggggcct gcctgacggc 3840
gcggcgggccg tttgcctcga cgaggtcctc aagctctccc tggagatgaa gacgccgctc 3900
gtcgcgcgag ccatcccccg caccgc 3926

<210> 4
<211> 2489
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 4

ES 2 750 530 T3

tatatatttat gctctaaatt agatttttttg tgacgggtca cgagtcgggt tgcgagccct	60
aagccgagcc tgatttttga gcttgcaata cgaccgagtc gagccgagcc tggctcacta	120
ggtaatcgaa tcgcaccgag tcgatccagc cctagtttaa atgcactgga gctaatagtt	180
agctggctaa aaatagctag gtttagttag gttgaaccag ctaataaact aataaatagt	240
tgatggtgca gctaatagtt agttatacta ttagctagag tgttgggatg tctccagcta	300
aaagcatcta atagttaaac tattagctaa gctattttaga tttcttagtt tagatatctt	360
ccgatgatct tagcaactaa atattaactc tagttttattc aagcggggcc taaaacctct	420
aaaattaata gttagctact aaaattagct aggc aaattc taaacatccc tagttaatac	480
tttaactaat tgtaactag tttacggcta actattagtt agtttattag atggctcaac	540
ctagccaaca atttgttagc cgacaaacta ttagctatag agaaaccaga ggtcttatgg	600
ggtgtttggt tcttaggact aatttttagt ctattcgttt tattctattt tattgactaa	660
attgccaaat acagaaacta atattttcat atttattaat ctagagatta aaatagaata	720
aaatagagag actaaaaaat agtctataga aaccaaacag ccccttacat gttgaatcag	780
gggtgtgttg gtttcatggg actaaacttt agtctctccc ttttagtcta ttttagtcca	840
taaattacta aatataggaa ataaaaggga atagatcaga tttcctccct atcttttagtc	900
ctatttttgg taatttaggg actaaaaaag agagactaaa gtttagtctc atggaaccaa	960
acatgccttc attcggccag acaactataa atggaaatac aaaaagtact gaacacaaga	1020
acgcttcagc aaagatggac aaacaaaaac cctgcccttg ttatatattg gcagatagga	1080
tgcgtcgttg ctatatattg atagctcttt gtctctgtta ccaaatttg cccaggccaa	1140
cgtactactc tccagtccat tctcaattc agacattcgt tgcgtcagta cgagaaacag	1200
tgaaaaaaat cgcataccat aaatagaaag cacccataat aacattcata cagcatcaac	1260
atcaagagcc aaatacagga aattaaagct ctctctagct agctagtacc acagctactg	1320
tacacttgca ttggcaccac gaagcatggg aagaggaaga atccaaccga acagagagca	1380
cacctgtccc cgtatggcag tatccatcca accctaccca cctacccta ctgtcctaca	1440
tagcaagccg tacggccagc ctttcttact ggtccgtgaa gcaatcagta ctggtggcct	1500
ccagtgatct ccggagggcg gggggcacac accagagcag cggtgttggg gccggtctat	1560
ggcagagaga ggcatctgcg cgtacgaacc taccagctct cgacaggttg cgggtgacta	1620
gatgcggaag ggtccaggc ggttgtctcc gagccgcgag cggtaggcag ctttcttgta	1680
gtcgcccat gtgaagtccc tgtacaggct ctgcttgccg tgcccagca gctgcggcaa	1740

ES 2 750 530 T3

tggcgcgata	cgctgcgcgc	gcgccgggtcc	cgcgaaagtag	atcatggaca	cccgcggctt	1800
caggctgttg	gccaccaccc	ggtgccgcac	acttttcagc	ctcccattcg	tcaggaccta	1860
ttatcgcacg	cacgagacgt	acaaaccccg	tcaattatat	tcattgcctg	ctgcatctgc	1920
atcgctgtc	gtgtcgtctc	ggcgcgccg	gcgacccatg	catgccatga	gcaaaccacg	1980
ccttggcagg	tacgtacgga	tgatatgctg	atgtgcgcgc	gcccgcaatg	taacgtgcta	2040
cgggttatat	tatacctgca	gcgagtcgcc	gacgatgacg	aagaaggcgt	cgcggtcggg	2100
aggcacgggc	accagcgcc	cgctcgtcgcc	gtggagcgcc	agctgcaggc	cgggcgtgcc	2160
gttgagcgcc	agcacggaca	ccagctgcgg	gtccgtgtgc	tcgccgaagc	cgggtgacgcc	2220
gcacgagtc	ggcaggcgct	gcagcagcgg	gcacgcaggg	tagtggttga	tccggaacac	2280
ctggtcgctc	gccgcgtccg	ccaccatgcc	gctcagcgcg	tccctcggcg	ccacgccgag	2340
cccctccgcc	accgcctcca	gcaccgacgt	cgccaggccc	ctcacggagg	ccacgtactg	2400
gttcaccgcg	tccctgcacg	ccggaccgga	cctacccatc	gttagaaacg	cacgcgcgtg	2460
gggcgcaata	atggcttcgc	tgacactgc				2489

<210> 5
 <211> 2507
 <212> ADN
 <213> Zea mays

<400> 5

aaaaaagata	gtttattcaa	gattcttact	cataattttt	caactttact	agtttttcta	60
gtaattaata	tgctagcttt	tatccatgac	tatgatagct	ttagggggat	gttcctgtac	120
agttcgtggt	agaattagta	ccctttgctg	tcatagtcag	gaaggccccc	catcaaataa	180
attgcgcaaa	tgcataacta	catggttttc	aagacaataa	ttatcgcaat	aatggcacia	240
ttgatgccac	aatatgcagg	gcaatgatat	gttagttcca	acaattcaag	agcatacatg	300
gtagtagcta	gtttctaaag	caaaagaaaa	ggcaciaaact	gatgggacat	aagaaaacttg	360
acagtcccgc	agaatggtct	tggaacgattt	tctgatgaaa	gtttggtata	attgccttgc	420
caaaagaaca	ttcgaaaggc	ttgcaatcgg	ctgctatcat	tttgcaattga	aaaatggctt	480
aaacattttg	cttgtgatag	ggaagccctt	gtccatgcat	gctgggaaaa	acattgaaat	540
gcctaacagt	tctttttttt	gtgaccgagt	aaattcttaa	taacaattga	ctgaacataa	600
cagatgagat	atctttaaca	caccacacag	gccacaggca	tgcaagggcc	taattcaata	660
gagttggctg	agagcaaata	aatgaaagg	gacaagaaaa	ccctcctctc	tcgctctaag	720
gtagttagaa	gaccatctcg	gtgtcaggtc	cctctccaac	aaactatata	tgtgtatttt	780
gcatgtcaat	cagtctcaca	tatctgcggt	gcagtggtct	tcaattaatg	gccgtaccca	840
accaccaatt	gatgcggcta	gcaacagaac	ccatggctat	tggaatagctc	ttacagcttt	900

ES 2 750 530 T3

```

ttttcagcca agtacactaa gttccataca gaaaacgatg ttttttagatg gccacacagg      960
atgtacatca catacatgaa cttcgaaatg aactcccttt gttctctgtc aactagtcat      1020
gaatcattaa tatattgcca gtgttccaat actcataatg tagcaccaaa ctaattaaga      1080
agtaggaggt tgttcattgc cttgatcaca ttaatataat tgtaaaatgc ttggcaacaa      1140
gaacaaaaac agaaatggca tcagaatctt tgcaagtagcc attttgccat ggaacacaca      1200
cacacacaca ggtataggta acagcaagta ggggccacag aagtacaaaa gcttgatagg      1260
aaataaaatg ctccccaggg cccctaaag agcatatcca tgctatccat ataaagccaa      1320
gcaattgaaa aggaggcaca catgcaacgg gtctctttta tggcaagatg aatgagatgt      1380
cccggaggag ggaggtggga gtggcagcag gggcagtgat gagtgattcc aaacactgat      1440
gggtctatcc atggagcagt ggaaagagca tgccaatcc tgtcgagaga aaccatttg      1500
cccgctggaa aatcggtgac accaagctat ccatgcatgc atcacaagaa cctatagcat      1560
gtgactggat tctgcttctg ctgcatagcc cagcagatgc atcaagcagc taccgtcttt      1620
tcaatgctgc agcttttgag ttatgctgca tattcatata tacgtcaatc agtcaaaacc      1680
ttctcatctt tcttctgtct cttttttttc tctgtcatgg gctcatggca cacatccaac      1740
tggctcttct gataaatcca ttcttttgat ccaattggtc ttctcacatg ctgatgcttt      1800
tttttttttc cttcactggt gctgcagcaa tgtggtgaac gagtatgtgg gagcgatgag      1860
gcagctcgca tgtgagatcc tggacctgct cggagagggg ctagggctca aggaccccag      1920
atccttcagc aggtcatcg ctgacacaga cagcgactca ctctgcgga taaaccacta      1980
ccctccacca tgcgccattc acaagcttga ccacgacagt cagtgcagga tgaagaacag      2040
tttcaggatc gtggcaggca atggcgcgaa ccagtcggca ggtgcacgga tcggattcgg      2100
ggagcactca gaccgcgaga tccttagctt gctccgatca aacgatgttg acggccttca      2160
ggtgcttctg aacagcgacg gcagagaggt gtgggttcag gtgccagccg atccatcagc      2220
gttctttgtc aatgttgggt atctcctcca ggtaaaataa acaggcactg cggctagtag      2280
attaggtaaa tgagaattgc ttctatatat gagctaccaa cgactgtgtc ttctaacag      2340
acaaccaggt taattagcaa ttgctccttt ttttgtgaaa agatgggtca gcactgatgt      2400
tttttggaca gcatatgcac caagtacatc gtaccaactg acaaggattt ctgtttttgt      2460
cttgtaggtt gttaccacat ctgaatctaa caacattaat ccattcc      2507

```

<210> 6
 <211> 2404
 <212> ADN
 <213> Zea mays

<400> 6

```

aaccaccaag actttgttga tgaactcaga aatgttaggt tcacagtgag tactgatgga      60

```

ES 2 750 530 T3

atgaatctat ttgctgagaa gagcagcaag catagcacat gaccggtgat cctcaccatc	120
tacaaccttc ctccatgatt gatgtagaaa cgaaagtata ttttgtaac catccttatt	180
tttgaccta cataaccttg agttgacata gatgtat ttttggagccctt aatggaggat	240
ataaaaatat tgtaggaaac atgtgttcaa atgttgatg agtatcgtaa agattcattc	300
atgttgaggg caattc tttt tgttatgatc aacgattacc cttctttctt cacattatca	360
agccagttta agggaaaggt tggttccaca gtatgcattg atggaactgc ttacgtgtcc	420
ctttctgcat ctaagaagat aatgtacatg aggcacatac gctttttatt ggaatgacat	480
aggtatcgca tgcaaaagat ggataagtac ttcgacaata atgatgaatt gcattccact	540
gctccatcgg gtaacaataa aggtcaaaga gtttttaaaa tagtcacgaa tatcaaattt	600
gttttcagaa agaagacaaa agacagaaac aaaaggaagg atgccaaacc agctccgggg	660
gctacattca ataagaagtc tattttcttc gactatttgc cttactagaa agagttagat	720
gtgcgcgaca cgatcgatgg tatgcatgtt cagaagaacg tgtttgaaaa cataattggc	780
accttgctag acataaaggg caaaataaaa aaagggctca attcacgcat ggacttgata	840
aatttagata taaaaaagaa cttgatcctg tttttcaaga aaatgggaag tactatctca	900
cagcagcaag ctacaatctc aatgtacatg agaaacatgc gatgtgtgtt tggctcaaga	960
atgtgaaaga cccatccaga ttttgctcta gcatacggag tattgtatca atgaaagacc	1020
taacagtcac caactacaac tcacatgatt gtcatgtcat gctgactaca ttcctgccta	1080
ttgccatcag ggcaatgaat cctttgttct taaagatgga aatcatacgg ttgtgctact	1140
ttttcaacag gattccacaa aagataattg atcgtgatgg gttgacatct cttcaggaat	1200
tcacagtggg gacaatatca cagttttaga tgtgtttttc tccatcattc tttgatatta	1260
tgttgcacct tgtggtgcac ttggtgccac agatggaggc actgggtccc atatacttgc	1320
atgaaatgta gacgtatgag cgtttcatgt taataatgaa tggctatgta tcagctcgtg	1380
ctcgtcctga ggcataatg atagaggggt actgtaccga agaggccatt gagtccagag	1440
gtccattctg caatagtatc ctaaaagatc aggttgcaaa atgcaataag tttgcctccg	1500
tcacgacacg agggtaaact gtatggaagt gggtgatga gacataaatc tttcatccca	1560
ccggattaca atacagtact tgaggcacat cacaacatca tacatcagct agcgataatg	1620
gagtcattta tgcaacaaca catcagtgg cttcgcgagc aaaatcatag gcataaggat	1680
gattgggtaa tgaatcaaca caagcagtgg ttcaacacat gactaatggt gaaaaacatt	1740
ccacatggag aaacaataga agaacaaacc atcaaggagt tgacatctag accttcacat	1800
caggtcacga catggcaaac ccatgtcatt agtgattca ctttctgcat caaaattgag	1860
atgatttaga tttgttagaa gctgccatac aagacttaag gaaataatga taaaataagt	1920

ES 2 750 530 T3

ctcgtgccaa tcttatatctt tatagttttac agtgaagttg tagttgggtgt atatctcagc	1980
accttatcat ctatcttatac ttgatttagc acctacttta gtagttagaa tgtgctaaaa	2040
cttgggtttat aagtttttag aatatgctaa aacttacttg gtttataagt tatatgtatc	2100
taaccctgcc atgtttttata tgttgtggct tataagaaat aaaagatctg ttcaaaaagg	2160
tgtcactaac acgtataagg acaccgctac tctccctca gctggctccc agcccactat	2220
acagtatata cacacatcat cccactcctt atcgctatat atagcagtggt tgtgtgtcca	2280
tctctctgct acattgcacc gcatcgctca agctcgctg ccttttacag cagcttacta	2340
ctacaaagac gacaacacag cgcgcgcgcg ccaagctgag ctcagctcgt caccacacgc	2400
cagc	2404

<210> 7

<211> 2500

<212> ADN

<213> Zea mays

<400> 7

gatgatgagc aggggcgtcg gcgtggtaag ctctcgcgag agagagagaa tagggcatgt	60
ggttgggtga gctcggaggc aagggaaccg cctccatggg gccgcaacta gaatttatac	120
ggaggagggg agtgtagagg ttgtcggggg gagagggaga gccggtcgac agccattaat	180
ggcggcggtt acctccttca atggagagat gaggagagtg ggagtgaatg gagagggtgt	240
cggttttggg tgtagggaac cgagtggctg gatgaggagg cgaggagggg gccgagaaag	300
ggatgcgaca ggtgagccag cgcggtcgag catggatgcc gatgaggccg gccggcaagg	360
gcacacgagg gacgcgcgcg cgtccgcacg gtgtgggaag ggaaggacc gcaaagacgg	420
acccgcctgt aagggtctgat ttggtgatta gggatcccga ggggatccat ggggagaaat	480
ccccttgcaa ttcaattttg aataacaaga ggatttttct ccccatgaat catctcgga	540
tccccgatca ccaaatacaga cctaagttag aaaggagggg gaaatgagag gaagagaggc	600
gcagctgggc ccttgggtggg ccgaattcag cggacgatta gggtttcaat ttttttctt	660
tttgcttttc tcttttttga ataggttatc cattaaaaat ataaataatt atatttttaa	720
atatttttaa cattataata aatctaataa taatatttat aattaaaata ccaaataatt	780
atcttttagac caaagtctaa tatattttaa atttgattt cgcataaacg aagactataa	840
ataaaatctt caacaatgat ttgcaaaca aattcatgcc ccatgaatga atgaatatga	900
aattaaacac ttgtttcaaa ttttaataata ctcttacta agtttaacaa ctactaatac	960
attattttta ttgaaggatt taagggtgta cactcaagag gctcaacggg aaaggcacgg	1020
gaagaagaga atgaatgaga aagccttgag aaaggctaaa gttacaaccg gtattaaaga	1080
cttaagggta ggggtgtaaac gaatccgata cggtatggata ttactccttc tatattttatt	1140

ES 2 750 530 T3

```

ttcatatttt ctcttttagat tcgaaacaaa tttggatatt atcaagttgt gtcgaataag 1200
atgtgaatga atatcgatat ttcaaatatc caactttaag aaaacggata tggataaaga 1260
acagatttaa tctgaaactg agtacctaga ctcgataca gatcggttct catctctctt 1320
agacgaattg aaattaaata cgaatgtata atatcagtag catttatatt cctactagta 1380
agctagaact gaaagttctg ggatggaacc aaagttacaa agaggcattt tagacttttt 1440
agtgtcgggt cgtacgaaca aggttcaga agaaaaaaa acctttaata tctgttcttt 1500
taaggaacgt ctttaataca tgctaattat ttaaccgtat gtagtaacag gtaggtgatg 1560
aatggaaat gtcgatgcac gctacggcgg ccagcacatt caggcaagaa gcagacaatg 1620
tttctctttc tgggcggtgc acgttcctga tgctccaacg gtgagttttc cgttttgggc 1680
actggcatca tctgccgata caagacatgc atgcatggtc gatgaaccag gtgctgtcag 1740
aatgaactta actaaacaaa gacgactaaa ctaattcagg acggcaatgc atcgagctgt 1800
actgaatgga acgcttttgc accctccggg agcatcggat cctctgtgcc acactatgct 1860
gtgtgctgtt ccaactgctca attggacgat gacgacgatc tagcgcgctc gctgctttcc 1920
tctaactctc taaccatcta taattacttt ttatctttaa ctattaaata tattagatgt 1980
caagagctgg tattattcta accatctagt atttaaatg cacatcacca ggtggggcgg 2040
aaaggttgtc accaggcccc tcatcaacat gacaaccaca gaagatctgc tctcccgtac 2100
ccaacacagg cccagcaaat aaaattacat cgcggcctgc aattccaaga aaaggagggg 2160
atcgcccgcc agctgcttcg ttgaatcatc cgtagcaaat actactaata actcgaggcc 2220
aggacaccag gtcaaaaacca gaacaaactg tcagcattcc aagcggaatc ttcaactcca 2280
ccccaccgt gtaccattta tacgtgcgct gccgcgggt gccacacca cccccgacc 2340
ggccgcccgg cggcatcatc atcctcactg ccaactctaaa actctctctc gcgcgcgcgc 2400
gcgctccaca agtacgcaac acggtacacg tgcaatcata ttcataccac gcaataatca 2460
tctagccatg gtagcgccgt cggcggcggc aggcggggac 2500

```

<210> 8
<211> 2494
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 8

```

cttccatcca cggcgacgct ctgccccgc acctcacgcc gctcacaacc atgtcaagac 60
gggcatgcc ctggtagccg cgcctaggcg agctgtgcct gaatacccg agaattttag 120
tccctacgat cccctactat ctctacaatg gacgtgttct ctttgtgcat tgataaaact 180
agccttttta cattatatat ttagcatgcg taagataaaa ttagtataag ctattttttc 240
ggattttatt catactacat ccctatctat ctatgaagac aaaaaagaat ttgattaaaa 300

```

ES 2 750 530 T3

tgcattccca gtcttccata tattgtgtcg cttgatccct aaactctcaa aaccataaaa	360
gcgagtacta aaaattggcc gaaccatcca aaatatatat gagcatctac gtcggtggaa	420
tttagataga ccggtcattt ccccgatttc tagagttag aaattcaata acataaccgt	480
aaacgccccg gcagctgcgt taggtcacgc cgctcacaac catgaaccat gtcaagacgg	540
gccatgccct ggtacggtgg ccgtgcctag gcaagctgtg cctgaatacc cgtggaattt	600
ggatagtcca aatccggatt agatggaccg gccaagtttt agtgtccatt tttctgattt	660
ctagagttaa gaaatccaat aacataacat atcaagttca aggaccacaa aatatatttt	720
tacttaataa ttacatatgc aatagatcta ctattattat aactatcaac atgagaattc	780
atatgactta caaaaaaaaa tactagaatc ataagattta tttacaagtt gtacctcatg	840
gtaacttgac tatctgtaat acttttatgg tgtgataact tggtagccct atagacaatg	900
aattttgacc atattactga tttttatagc gacacattgt aaaatagcaa gcaagatctc	960
aaggaaatca aaactagatg caatcaccct tttgggctaa atgcaacaat aatggatgta	1020
gtgctctcat atacagagga gatgattttt atcctagttg gaaacaactt tagaaaaaca	1080
tttagtaagt ttcctactta aaccccgatt aaaaataaac caattcggaa tctacgaaaa	1140
tccgcctaata tagctttgaa actcggtttg gccgaatttt tgtagtgtag ccggcctgac	1200
aatagaaggt ggacttgtct gccatgcgag accgtgtgac tgactttaac gactcaatgt	1260
ttagttgttg acatgatgtg cttctatgtt cggacacttt ttgagtgtca gccgagcggg	1320
aatggttgct ccagcgtcca gcgtcccgag cacaggccgt tcttgcccaa cctggtgcgc	1380
cggccccatc agccatcaag cgaaacaggc cgttcttgcc caacctggtg cggcagctgt	1440
ggtgcagatc caatctacgt tttgttcgat tcagatgtgt attaaatcgt gatgtaacca	1500
ttatttagat tagaagagat ttttgttttc tgttttcaat agtttttagcg acttatgaga	1560
aacttttttt ttgtatgctc aactgagcgc atataccgta gggaccgatg gacccggccg	1620
gagaggcaca acacatgatg acatgaccgc ctttctttcc gacgacacag ccgcctaata	1680
tccggacctg ccttcgacgc cgatctctgg tctcagtggc tcacggcaac agggagaata	1740
atttagcgag acacgggaac gggcgtgag gaaaaaagc ctggcagcat catggccggt	1800
gccgttcgga ccccgagcat ggcagttatt gatgagccga gtcaccgacc tgccaagaaa	1860
ggataccgga tcaagggcag gtccatctca tcttagctat agctcagtca gacgtcgtcc	1920
ctaaccaaac atcatcttca ctgcctcact cttatctgaa cagtgaccag ccggctggga	1980
ctgggacgag ggccggggcg ccgtgggaca cggctattgg ccgacgtgca atcgccgggc	2040
atgcgttccc cgttgagcca tgcattgcgc gcggccggcc ggtcctgcca ccggtggatc	2100
gcgtccggac acgtcacggc ccggccccgg actgccctgg ctccatcggc accatgcacc	2160
caaagcgatg caccgccggc ctgatgcata attttcttct ccctgtcaga tgggaccca	2220

ES 2 750 530 T3

tcccggcagc	gcagccagcc	agccagccag	gtcaggtgca	gtcccttccc	ttctcgcttc	2280
gcccccggt	agacctcagg	ctgatctata	tatacacccc	cacgagctct	cccacttctc	2340
ccccccacat	gcacttgctg	caggagcagc	cgtagtacac	acgcacaccg	cctcgactcg	2400
actcccacct	cccctgttct	caccgtgctt	gccctgttcc	gacctctgcc	catccgcgct	2460
cgcgtagccg	ccgtacagta	caggccagac	agcc			2494

<210> 9
 <211> 2046
 <212> ADN
 <213> Zea mays

<400> 9

gaggattgca	gctcctggat	catatcagaa	tgtctgtcgc	tcgccacccc	gggcgcactg	60
cattatattt	ctggcagggtg	cgcaatacaa	tatggcatgg	ggggcacgta	gtacggtact	120
gccgtacagc	tgcgtcagca	aatgccaaact	tgtgtgtgtac	agctataatc	tatagaaaaa	180
agaatattat	agaagtagta	gaagttggcg	cgtatggatt	aaggaagggt	tggtttctag	240
tgactaattt	agtctctcta	ttttattcaa	ttttgttcct	aaattatcaa	actaaaatga	300
agttttgttt	tttttatata	ggataattta	gagactaaaa	tagaataaaa	atgaatggat	360
gaaaaattag	ttcctaccaa	ccaaacaccc	cttaagagct	acttcgagaa	cctcaaactc	420
ccttcgagac	tggaggagat	gaaggtaaaa	ataaactaat	tttcccttca	atccttttaa	480
ttcacaaggg	ggtgcgggta	cggaatgtt	tactactata	ctggaaaggt	gtctgaaacc	540
gggagaaaag	ctttgaccag	ggtggacctg	tttatgggat	cgaagcggcc	gttgccccaa	600
ctggcgactg	gcgagccacc	attgcgcgga	cccagagatta	actatactac	aggagtactg	660
tcgggttggt	accaatacgt	ggcttgggca	aaaagtctgg	caggcgccgc	tgcttgtctg	720
cggtttctat	gtgccgatgc	catcgcaccg	gaccggatcg	ggatgggatc	agcggaacat	780
gcgagagcga	gcctgcactg	cactgcatgg	ccgcgaccgc	gtcgtccatc	gagccgccta	840
tcattagttg	gttccactgt	ctcgcgcg	aagcaaggca	gcacagcaca	catcagcatt	900
gcttcccagt	tcccaatgcc	ccgtcgtcct	agccgaggcg	ggctcagtag	caaccagct	960
gaaactacga	gagatgcgct	gtgggcagga	cagtggtcga	gcgaggagtg	tacctgtagt	1020
taacgaggat	tttatcttac	tagtgcgtag	gtacgtactg	tacgtactat	gatctctcac	1080
gtgctctggt	cttatcactc	gcttgattat	actatgatct	ttttttccct	ccacctgctc	1140
tggctttatc	gctggcacgt	gcttttacac	ggccacttag	gactactcac	ctcgtctcgt	1200
catgcttatc	tacttcagag	cgtcacggac	acagcaagga	ggagtacgca	cacgcagcat	1260
ggactgcctg	gagcgggggtg	tggtgcacta	acgcccgcct	aattcccgga	gctgcctgtg	1320
ccttggacgc	ccatctctgg	tttcgcgggg	agaataataa	taatttaggc	gaaacacggg	1380

ES 2 750 530 T3

aacgggtcgt gaggaagaagc ctgacatgct gcattacggc cggtgccgtt cggaccccag 1440
 ttattgatga gccgagtcac cgacctgcca agaaaaggat gccggatcaa gggcagggttc 1500
 acctcatctt agcgcagtcac agcgtcgtcc ctaacaaaaa catcatcttc atgtctggcc 1560
 gccgcgcgag cgggtcccagt gccggcgtgg ttaacgggag ggactgggac tggcagggcc 1620
 ggctaataggc cgacgtgcag tcgcctcgta tgcgtttccc gttgagccat gcatgcagca 1680
 gagcagcgcg gggggccggt cctgccaccg gtggatcgcg gccgggcacg tcacggcccg 1740
 gtccccgact gctctggctc catcgccgcc accatgcacc caaagcgatc ccccccgat 1800
 gcatcccttt tctctccctg tcagctgggc ccatctcgcg tcaccgtagc cagggtgccg 1860
 cccgtcgccc cgcccccca tctatatatg ctgccacggc gctctccac ttctcccca 1920
 catgcacttg ctgcagcagc cgtaggacac acgcacaccg cctcgacctc gagtccacca 1980
 ctgactccac cacctcccc tggttttttt cgacctcgct ctgctcatcc gcacggccag 2040
 acagcc 2046

<210> 10
 <211> 2120
 <212> ADN
 <213> Zea mays

<400> 10

gacgaactt acctctactg ctcttttcac gagcatggtc cctttcagtt ttctccctcc 60
 aacgaccatc atatgtacaa caaaaaagg ctatcacatc ctaaaacata catggtatta 120
 gtaggatgaa aaatgtcata attgtgaata aataagatac ttgaaacatg atcgaagcga 180
 agatgcactg gaacatactt ccctccagtc acaaaactct tttttgtaa tgaagatcca 240
 tctctgaatt ggcatactta taaagctcca tctaactaaa ttggaatatc tagtctagaa 300
 agctataaaa ttactctaac tgaacactca acgtctaaaa cagactccat cagactgcac 360
 aaaaaaatt gagtgtacaa caacaaatgt atcgccaga tagaaaacat gattgaattt 420
 catgcttaca taactatttc acagctcttg taagcaatga catagggcga aatcatgcaa 480
 atcactaaac caaatcacag atctaggcat tttaggaaaa tacatgaaaa gcagagctac 540
 ctttcgacga ttcaagcctt ctctacgggt tggactgcag cctccaccgc ccaacaacga 600
 cggtgactca ggaaagctcc tccatcgctg gtgccaacct tctatcgaac gaccggatct 660
 aggacggtgt ccaaatacgtc catgcccccg cgtgccgaga ctgttgagc tacccttcc 720
 ctgcagcca cactgacgcc ggacaccaag taactgcctc ctcttgctc accagttcac 780
 tgacaatgcc ggtaatggta gaggaagagc aacgactgga tatgaggagt gccactcaca 840
 ccacatttgc gatgaggagg gggcgagatc gagatgggat taaagggagg gggcgacact 900
 tggcggcgat cttgggcggg agggcccggt taacgcgcga gcggggcagg gggagacgac 960

ES 2 750 530 T3

ggctcgtctca acgatgtgga ggatggacgc ggtgtctgtc ggagcagggt gggggagtgg 1020
 gtgcgtcgtc ttccctcctcc aggcctccac cctcgtctct gctcgtcat cgctcgtcgt 1080
 caccgccaca ccagcgggga gggggaaggc gagacgcggc gggctagggt ggcctagggt 1140
 ttcccgtcct cgatatTTTT cagtggttgt aagagccgca gcgggggtgg cggcggggat 1200
 ggctcctggg ctatccgcca gcggcgtcgt cgtgtagggt tttagggtgt tgtcggagca 1260
 ggggtggggg agcgggcacg gcgagcgggg cggacgcgac gtcgggagga cggggcgcg 1320
 cacgcagggg aggaaggcga caatgtcggg atggcgggcg gggattgcgc ggatcgcggc 1380
 ggccggcggg gattgcggcg cggggatcgc ggagggcgca tggcgggcg ggcggcgctc 1440
 gggagggggg ggcagtctac agtagggtct taatagttag tagagattag agtgcgggcc 1500
 caaagcaccg cacgcacact gctcgcctat tcaaaaagct ctctcatgat ccacactga 1560
 tggaggtcgc ctggtcattg tacccttgca ggaatccgtc aacagaaaca ttatctgaga 1620
 tgaacagcac ccggacgctt atcgccccgc cctccgaccc cactgcaccg gcggatcgcg 1680
 tcgggacacg tcggcgatat ctcccccccg gggggccgtg cgtagggcg cgctactgcc 1740
 accaccacg aatcaagctc ggatctgccg cgctcgaccc aaatcaaaag gcccggccga 1800
 gggggataaa aagttcagaa acacgcgcga tgcagaaata cagacaaaga aaggtgggac 1860
 ggggacgacg atgaacagct cgtaactaac gttgttcgtc ccctccccgc tcgtttcgta 1920
 tcgccgcgtg gggccccgpc gccccgtccg tcctcctccc cctatataaa tacgcgccat 1980
 gaagccttct tcgttcgcca ccacatgcac tcgagctcga gctccagtca ccagcgggtga 2040
 cacgagctcc gggcactcct ccacctgttc cgcttggtgc cgtacattgc tctgcttctt 2100
 cttggcaata tatatatata 2120

<210> 11
 <211> 2467
 <212> ADN
 <213> Zea mays

<400> 11

aacctgacat ctgctcaaaa gcggtcagga gaagtttcac atttcgtgct tgatccaagt 60
 tatgatccag aaaaacaacg gtatcatccg cataccggag gatagaaagg ccaccatcca 120
 ctagatgagg aaccacaccc gtgaattggg tatttacctt tgctcttaaa aatagaattg 180
 gcaacatgtc cgcaactata ttaaagagaa tcggagagag aggatcacct tgacggagac 240
 ccttatgagt agaaaagaaa gggccaattt catcattaac ttttaacccc acatgtcctc 300
 cagagacaat tgactaaacc caatcacacc atttctgcga gaaacctttc attcgcatag 360
 cttgttgagg gaagggccat ttaccttat cataagcttt ttcaaaatcc aactttagaa 420
 tcactccatt catTTTTTtc ctatgaagtt catgtagatg gaatcaaatc tctgacactg 480

ES 2 750 530 T3

aatcaagtat ttttaatttac taacaccatt ccctatatgc tcggcagttt gtccattaat	540
caagaacata ctctgggcaa gagttttttt ttttcttcca aaaacaaaaa aaaaacaaca	600
tcagcccctg aagacaagga gcagtatata tatcgaataa tcgtgtgcaa acaggatgac	660
gcgaggccgg cgatgacgga ggatggattc gtaatcgtca tatacgcagg ccgaaccaac	720
ggtatggcgt gtattatata tatattctgg agaaagagga gcagccaact ttttaagttca	780
caaaatattt catgctcgtt aaagagaaac agtgccatgc atgcgcggcg ttgtgtgcct	840
gtgtactagc tagttgatga cgaacctgca gttgcaatgc aaccaccacc aaatcaacta	900
gtctagctcc tcaagccacc atgccccac ctagccatgg tgccccaaaa ggagcagcat	960
caagccggga cggcatggcc ccttgtctac tcagggcacc gttatattat acgtatagct	1020
ttgtttctgt ggctctctcg gattaagcag cttcaaacac aacattcccc cttctttggt	1080
tcttttatat ataatacagg ttgcgacaac acacaatcat atttaatagt attggtttgg	1140
gtagagtaga ccctaataata gcagtgcaat gattgagcca cacacgacag acgagggtct	1200
agtaagctaa tatggtggac cccacaaaac atactcacga taaacaaatt taatatcaaa	1260
atgagcatat ggtacacata ctagatatta aacagacaag aacaaatata ctactttatc	1320
ttagcgaaga gatcgagaaa ggtataagtt gaaaaggagt ataacccttt tttatagctc	1380
gtccggtcgt tcgttcttct ttagttaacg ttgtggtact atatatgaga gcgctacggt	1440
gtatacgact tcctgtcgtg ttgaacttga gtggtttttc atggtccttc tgtatggtaa	1500
caaaccactg gtaaatgaga agtgagattg agagagagga acatatctac gccctattat	1560
gttgggcttg ggtggctttg gattggtttc tcagagtcca actgtgatgg gttaacaaac	1620
cactggtaga cgagaagcga aagaggaaaa aaaaacagat gttgcaaaaa aaaaatctgt	1680
acgtggttaa aaccggtgct ttaaaagagt agatatatat ttaaatttaa attaaataaa	1740
taataaacct cgatcgaccg accaatcgga atgcatccct actccggttt acgagcggcg	1800
agaatgtgcc acagacgaga cgacaggacc atgacatcac agcagggttt ggcaactgct	1860
gtagcaactg tggggcgcgc ccgtttgcct ccgatcaggg cggccatcat ctgctgctgg	1920
ggcgcacctg cgggggtgtc tgacaacgct gtacaaccgc acccttagct tccagagaat	1980
tcaggcacgc tatattattt atcatggtcg taccgcactc tctagtctct acaccggtcc	2040
cgtactaaac tctagactgt ccacatcgct ggcctggtca aaacacgcgc gcgccgcgtc	2100
caagtgtcgg cctgcgccgg cgcgcctcga ctaaccacca tcagtagcgg ctaattaacg	2160
cgggagagat tcggccggac ccgtgcactg tagaagccat gccacgagc gtacgtgcgt	2220
gcgtgcccaa gctgcgtgcg tgtacgggta cgatggtgca ggcattgccg agcgagaacg	2280
tgcagccagc ccaagccacc gcgtcgatgg ccaactgctat atatatgcag cacgcggtcg	2340

ES 2 750 530 T3

cacaggcagg cagacaagca cacagctagg tagtccccca tcagctagag ctcagcttcc 2400
gcgtgcctgc actgcacata cgcacgcaca gctccagaca cagctacgac tcgaccacaa 2460
gccagcc 2467

<210> 12
<211> 2456
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 12

ccaagaacga tggtttcctt cctaaaaatg ggggaagtct ttagggttga tttggtgacc 60
ggagatctca agggaaagaa atcctcttgc tattcaaaat tgaattgcaa gtggatttct 120
ctccatggat cccttaggga tccgtaatca ccaaatcagc ccttatagac cagatgcaaa 180
ccgagatttt tacaatacaa ccctcataa actaaagaat agatctcact tgcaagtcca 240
ccatcaattt cagaatggtg ttctggttct tgttgttgct gctgcatata gggctctacct 300
tcctgtttat gaggggccat aggaatcttg gtttgtatat agatatggtg atgaatgacg 360
atccaaatat ttattcctaa attgttatga tcttaaatta ttttttgttt aaaaataaat 420
agaattagag tttgatcctt acattttata gtgtaaaatt taaagtctat tatcacttct 480
atgtgtatct agactgtaga ctgtaggatg actgccgcgc gcacgcgcta cgatgtttgc 540
agttaagccc caaatcacaa acaagctggt cggttgggtct gctcttccgc tgggtgctgtt 600
cggcttgctg atgttctata gccacggagc tgtaacattt ggtagaaca tgaaaaaccg 660
cctaaaacgg tcaccatcca tttggattca tcatacatgt cattaataag gtatgttcgt 720
ttccttagtg ctaaagctta gcacctgcta aaatttaaca tgtgtaggtt gtttgatga 780
agcgctaaac tttagcactt acggcccgcg aggagcacgt ggccaatggt gagcgaggga 840
gaaagaaagg gatattaaat gcaaaatag gctggaggac cacttttagg tgatgtttgg 900
tttctaaga ctaatttgta gtcactctat tttatcttgt tttattctct aaatcatcga 960
atacgaaaac taaaactcta ttttagtttc gcaatttagg gaataaaaaat ggagagagta 1020
aaaattagtc tctataaacc aaacattccc ttagcacagt ttagcatatt tagtagaact 1080
aaagtgctaa ttagtgctaa acttttagcg ataatacttg tagtcatcat gtttatttct 1140
ttagtagcta ctaaaattta gcaaaaaatg cagcaagagg aaacaagtag tctctaagac 1200
agacatttat aaattctgcg tgtgtccttg gtttcgtacg ctagctaaaa ctaaaactaa 1260
cataagttgg ataccttgag gatcagattc tgaaataggt cgccagattg gcagaaaccg 1320
cgcgcacgca aatcaaatac aacgtgcgca ggtagcgccc ggccgaccgg tgtccccgcg 1380
cccgtggtc gatggagagg cctagggcct agcggatgcg gtccatcccg attcccatca 1440
gcactgcctg ccaacgcggc agcggccgcg ccgaccgca cccgcagcga gcacggggcg 1500

ES 2 750 530 T3

```

cccagggagg ccacgtccca cccacctctc ccatggccgt tccccgggg ggcgacgcgt 1560
tcgcccacca gcagccggcc gaccggtgtt ggccccaccc caagcaccca cctctggcgt 1620
ggcaacgtgc cgcaattcgg ccacccaggc acggtgggca aaggatggga caggcatggg 1680
cggccgagca acctcgctgt ctcgggcacg cacgactct cccgccagct ttcgcgctgc 1740
gtccagcccc ggccgctata tggaccacgc cagccccctg actgacgccc gccagccgat 1800
tcccccggtg ggctgggctg gctggggcgc gcacacgcgg cggccctcgc ctgccgcggg 1860
ctgcgggcgc ccacgccacg cggcggttcg cccttgcgcg cgacctgcgc cagccaggcg 1920
ggagatagag agagagagcc gctgagctga ggacgtccaa ccgccagtgg ctctgtctga 1980
cttgactcaa gatgccgtgg gcgtcgccgt tgaattgcat ggccaggaac atagagacgg 2040
gtttcgcttt gcttcggttt ggggctcggc tcgttcgctg gctgctacag ttgatttgag 2100
gctccaaccc tcccttttta gctactcact ctgtcatgac tcatgactca gcaactcggca 2160
aatatctcaa ctttgattg catcctacta cagcaccgga gagcagaatc aggctactcc 2220
gtcagccgcg tcagggtgtg gtaatagtag tacatcatat acacctctcc gagactccga 2280
ccactccctt cccatgccta tataaacaga ggccacctcc ttcgctccctc ccgcccccat 2340
caagattccg acccaaatcc ctctcggagc tcgacaaaaa accacccctcc cagtacgtac 2400
attcccacca cctcccagtg cagcgccagt ctgtaaccca taaccataac catacc 2456

```

<210> 13
 <211> 2500
 <212> ADN
 <213> Zea mays

<400> 13

```

tctccttttc tttgtttcac atcttttcgt atcacgtcat tgaatcaatc gcgcgcttcg 60
atcctccggt ttgctcgag ttgctgtcga aatctaattg cgatggcgag aggctggaac 120
gggagtcggt ccacgttgca atctgaccca caggtgtag atggctactg actgtgtgac 180
atgtaataaa agaacgaaag cgcacacgcg cgcacaaaaa aaaaactgca gctagcacgt 240
actggtgcaa tgcaacgaac gagcctcgat cgatcgaca tgaacatggt catggtgttg 300
gcgactttga tcctttgagt agatgatctg ctgtacgtac gtcaagttat cgagtagatc 360
aattggtcct tatcatacca acattcatal attgggttag caatctgttt agcgccggcc 420
actatggagg cgcgcgggca tcatcttgac atgtgcatgg agggatttat ctaggtaaca 480
acacatcaac ttggtgctcc caagataggg aaggagctga acatgccata tgatataatt 540
gatcttcgtg aggcgaatga taaataacat catgatgtat tggaatagga gcaaagggtg 600
tgggtcataa ggacgacatc atgatgtatt ggaacagaaa cggaggtagg tcatatttga 660
catggtggat ggaaatgagg aagaagtatg gatggcaatg ggtcagggtt tagacgggtg 720

```

ES 2 750 530 T3

gagcaaaaac cgcgccatga tgcacactgt gatgtctacc taaaaaacca cccgcaatag 780
caccacgag caccattcta gaccgcact caaacacgtc ggatttccgg tcaccagcgg 840
gtttctaccc gataaacaat tttaacaat aattcggcta taaacaatta agtaccggta 900
ataattgagt tatatctata gattttttaa gccttggtac gttgagcagc cacaaaacat 960
ttcatgaatg attagctaag ttacttattc aaaacatttt tctattgtat cttaatcatt 1020
tttgcacata ataaagaatg aactaaatth cggatcggtg tggatcacc cggggttaaa 1080
atagaaacat gtactcacgc cttcaaaact ctgggtcaag tgcgggacac cgatgggtta 1140
aaataaaaac tcgtatccac atccacgaaa cttcatatta ggtgcgggggt actcgcgatt 1200
caaaaccttc acacttacc gcacccgtcg gtgctgcaag ttaaattgtc attcctagga 1260
agaaggaatg gaagtatatg tagagatatt ctaaaaatgt ttccttagct ttggtatcat 1320
gttaattgaa ttgctaaaag actatcgatc gaccctacga gttaaaacct attctttata 1380
tagatcactg attttatctc ctatttcaaa gggggagagc tcctgaaatc aagatgttgc 1440
taaaggaaaa cataatatta ttctatcata ttttatctcc tatttcaaac aatattttcc 1500
actgccatat acatacaggc ccgtgccaga ggacgtgagg gtgcgggctg tgcaccggaa 1560
cagggccctt aaatathtag ggcctccaaa tgtgtaaatt tacagtacat ttatataata 1620
gtctatthtt gtactatata aaaacacaag ttgttttggg tccacctgt cttcacatta 1680
aaattgaaaa aatgttaata taatgtcggg tcaatttgcc aattagtatg aatgcaatag 1740
agataatagt tagctgttaa aattagctaa agacattcaa acaatatagc taatagctcg 1800
gctattaacc tcttttagta aattaactaa tggtagcta gctatttgtt agctagcaat 1860
tttcagtcaa ttaattatta gctttaatgc attcaaacat ctctaattct ttattaatat 1920
gtctgtacgt atgctthttat tccatgacgt gaggaatgag tttagccata acccgcatat 1980
ctgcaattht acgatgttht gttcaccgat atctaacgtc ctgactagt aaagaggtct 2040
tattttaaaa tctgtacagg gcctcggatt ttgtcggcac ggccctgtat acataaaatc 2100
tgtagacat ttagacacag ccttagagac ttaactatgt tcaagaagac gttgtttcat 2160
gaaaaagaat aatgttgtac catctagaca taatgttaac aatagcaaac attctcttgt 2220
caaactaagt tatggttcat cttgcgtgta actaacttct gtttctacat tgtagatcag 2280
acgtacggcc agtgatctcg gccagcgatg cttgatcgta cggccagaat taccacacca 2340
cgctgcgggtg aggactgagg acttccccgc gcgccactgc tccgcccgcg tccgcgtcta 2400
tacaaaggct gtcgcgctcg gcaactctgc tgcgcgctc tgtgcacaga cgaccttctt 2460
cccatccctt ccctctgcta gtctgcttcg ttcctcggcc 2500

<210> 14
<211> 2472
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 14

ES 2 750 530 T3

acccattttc gactactgtg aacctcttgc ttcccgtcat ctaatcttag aaacatttgt	60
accaccctta gagtcaatct ctcaactctat ttcaactcatt tatatgatga gttatacaac	120
taggactcctt aaattgggtat ggattatcac aaaaaaatga tctatgacta tgacaaccta	180
ttagaaaacc tgtggcacat aaaagagatt agcctagaca catgtcttaa caaccctcct	240
tagtcacaac ttcctaagtt gatactgtac tcaaagtttt atagctgata tgcaactgaaa	300
catctttaat gagaccatcg acaatctaac cttcagtgaa tacatataag atcaacctta	360
agaagcttat ttataactct ttatatatct caaaaaatgg ctatatatca acttatatat	420
gttttagttcc aggaaggaaa gcttccatat gtttcttcta atatggaaat ttgccacctt	480
caaagatgag aggaggtcca tttaactctgg acatggtaaa ccaaaatagt taaactaaac	540
aatgagcac aaggatttca tacaatcgat ttatgtaaag aatagatcat gacgacccat	600
ataatcaaca gagtctttga gcaataattc aatcaacacg cggttgttaa gaatgaatag	660
caaagtaata gtatatatac gtactttgca tatatatgat tttcttctaa ttgggtacac	720
tctttttttt cttttattttc tatcagccac aagctaacag cattggaaaa ctcagctgca	780
tgcgattaca gagaccgaaa ttttttcatt ttctagaaaa acatatcgat ctttaactcaa	840
ttaacacaac cattacacaa tggacatttt atgaaagggt tagatataac ttggcgaaag	900
tcatgaagcg agccatgtgg cctgacagcc tatatacaga ctcaccacta acagtatcta	960
acaaaacata tacatatgac ctcaaacctt atatatcaat cggttgctca cggcaactaa	1020
ggctctattt aatttaatac tcttcgttct aaaaataaat ttgttttaga ctaaacatat	1080
attcattaat taaactacga aagatgttgc ctataatagc tcatatataa aggtctgttt	1140
ggttatatta tgactgtaaa aaaaattgtt gtgggggtgtg agttattaaa aagataaaaa	1200
ccgtttgata caaaccacta aaagcagtta aaagttcttc gatatatgtt gtcacacca	1260
tctgaaaagc cactaaaagc aggtctagag gtgttttttag ttttgcaagt cgagaaagtc	1320
ggcttttaga agaaaaaat gtttcctgga tccagccctt tggtttggtt tttggctttt	1380
agagtgcaaa agctaaacca aacacaccct aatataagct actatagatg tccaacaagt	1440
ctgaagctcg aaaggccgac cccaagcacg tttttttttg gctcggtagc agcacgcccc	1500
cgtctgttta aaaacggtcc aagccgaccc gatacgaata tgtatgctag gtccggacag	1560
agaattaagc acgtcgtgct ggcccacac ggctattttt ttactgagct gtgcttttctg	1620
acctgttaag cccgcttttt tcgtgcttct gggccggccc gatccgttta agcccgtagc	1680
gtgttagacc cgttcaggga aataagcttg tgggtctacc aaacctggcc cggttttcta	1740
acgtgcctga cgggcctggc ctgaactgag tcgtgtttca ccggaccag ccagacgccg	1800

ES 2 750 530 T3

gtttgaacat cactacaagc aactctaaaa gatgtttgat gtgtaactat tagtcagcta 1860
acaattatta gcaggttttt gttattttctc catatctatt agctgcaatt atctgacctc 1920
gtcgaactag taggatagtt attattatct atgagtctag ctaacgtgtt tggattgaag 1980
acagataatt attgccagat aaccaatatc tattggagat ccaaaccggg cctaaccaac 2040
acacaaaagc aacgagagag taaagctgtc tcttcggcaa cgccaacttg catacaaaag 2100
attgaggtcc caatcctaag gatcaattat tgcaaattta actggagtca tggaatttct 2160
tggaggaaac cacagattgt tggcaacagc ggcaagcaaa ggcttacggc cctgatctcg 2220
gccagtgatg cttgatcaga cggctagaat taccagatcg cgctgtgcta ggtcgctgac 2280
ggtctgtcta gtcattccacc gactccccgc ccgcccacc actgctcggc gtgtctactc 2340
actcggctac tcctatataa gacgctcgct cgcggcacta ctgctctcgc gctcgcgctc 2400
tgtgcacaga cgagagacga ccttcccttc ccgttcctct gtttttatct ctgctccatt 2460
cctcgatcgg cc 2472

<210> 15
<211> 1554
<212> ADN
<213> Arabidopsis thaliana

<400> 15

atgtctccgg aagcttacgt tctgttcttt aacagtttta acctcgtaac cttcgaagcc 60
tttgcttcag tctcacttat catagccaca gttgctttct tgctctcacc aggtgggctc 120
gcattgggct ggaccgggtc atccaagagt cgggtttcga ttccaggacc atctggttct 180
ctttccgtct tctccggctc caatccccac cgtgttctcg ccgctcttg taaacgcttc 240
aaggcctctc cggtgatggc gttctcagtt gggttttcgc gtttcggtat ctctagtga 300
ccggagacgg ctaaagagat tttgagcagc tctgcttttg ctgaccggcc ggttaaggag 360
tcagcttacg agcttttggt tcaccgtgcc atgggattcg caccgtatgg tgagtattgg 420
aggaatctga ggagaatctc ctccactcat cttttcagtc caagaagaat cgcgagtttt 480
gagggtgta gagttggcat cggatgaag atggtcaaga agattaaaag ccttggtacg 540
tctgatgctt gtgggtgaagt tgaagtgaag aagatcgctt actttgggtt tttgaataat 600
gtaatgacga cagtgttttg tgaaagctac gatcttgatg aagttaatgg aaaagggtgt 660
tttttggaaga ggctgggtgag tgaaggctac gagttgcttg ggatttttaa ctggagtgat 720
cacttttggg ttcttcgttg gtttgacttc caaggagtga ggaagagggt tagagctttg 780
gtctctgaag tcaacacttt tgcggcgga ataattgaga aacacaagat gaagaagggt 840
aataatctca atggagagga aaatgacttc gttgatgtct tgcttggtt gcaaaaggat 900
gaaaagttgt ctgattctga catgattgct gttctttggg aaatgatatt tagagggaca 960

ES 2 750 530 T3

gatacagttg cgattctagt ggaatgggtg cttgcaagaa tggttttgca tcaagacatc 1020
caagataaac tctacagaga gatagcttct gctacaagta acaatattag atccttgtct 1080
gattccgaca tcccaaaact gccgtacctt caagctattg tcaaagaaac cctaaggctc 1140
cacccccctg gtccacttct ctcttgggct cgtctcgcta tccatgacgt ccacgtaggt 1200
cctaaccttg tccctgctgg aaccatagct atgggtcaaca tgtggtccat cacacacaac 1260
gctaaaaatct ggaccgaccc tgaagcgttt atgcctgaaa ggttcattag tgaggatgtg 1320
agcatcatgg gctcggatct tagattggct ccattcggat ccggtcgtcg ggtttgtccc 1380
ggtaaagcaa tgggtctagc tactgttcat ctctggattg gtcaactaat tcagaatttt 1440
gaatgggtga agggttcttg tgatgttgag ctcgctgagg ttctgaagct gtctatggag 1500
atgaagaatc cgttgaagtg caaggctgtt ccaaggaatg ttggtttcgc ttga 1554

<210> 16
<211> 1647
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 16

atggcgatgg cctccgcggc ttgctcatgc acggacggca cgtgggtgggt gtacgcgctc 60
ccggcgctgc tcggctccga caccctgtgc gccaccggc ccctcctggc tggcctgac 120
tttctggcca ccgtctcggg ggctctgctg gcgtgggcca cgtcgccggg cgggtccggc 180
tggaagcaac gccgcggccg cctcggcgct actcctatcg tgggaccccg tgggtctgcc 240
gtgttcggca gcatcttcgc gctgtcccgc ggggtgccgc accgcgccct cggcgagatg 300
gcccgcgccg cagggccccc ggccaaggag ctcatggcgt tctccgtcgg tgacacgcc 360
gcggctcgtg cgtcctgccc ggccacggca cgtgaggtgc tcgcgcaccc gtcattcgcc 420
gaccgccctg tgaagcggtc ggcccgggag ctcatgttcg cgcgtgccat cgggttcggc 480
cccaacggcg agtactggcg ccgcctccgc cgcgtcgcgt ccacgcacct attctccccg 540
cgccgggtcg cctcgcacga gccgggacgc caaggtgacg cggaggccat gctccgctcc 600
atcgccgccg aacagtcggc ctctggcgcc gtcgccctcc gcccgacct ccaggccgcc 660
gctctcaaca acatcatggg cagcgtcttc ggcacgcggt acgacgtcac atcaggcgcc 720
ggcgccggcg aggcgagca tctcaagagc atgggtgcgc aggggttcga gctcctcgcc 780
gccttcaact ggtccgacca cctcccctgg ctgcccacc tgtacgaccc aagcaacgctc 840
acccgcgggt gcgcgcgct cgtgccgcgc gtccagacct tcgtccgtgg cgtcatcgac 900
gagcaccggc gccgcggcca aaactccgcc gccctcaacg acaatgctga cttcgtcgac 960
gtgctcctct ccctcgaggg tgacgagaag ctcggcgacg acgacatggt cgccatcctc 1020
tgggagatgg tcttcgcggg tacggacacg acggcgcttc tgaccgagtg gtgcatggcg 1080

ES 2 750 530 T3

gagctggtgc gccacccggc ggtgcaggcg aggggtgcgcg ccgaggtcga cgcggctgtc 1140
 ggtgccggag gttgccccac cgacgccgac gtggcgcgca tgccttacct gcaggcgggt 1200
 gtgaaggaga cgctgcgcgc ccacccgcct ggcccgtctg tgagctgggc tcgcctcgcc 1260
 accgccgacg tgccactctg caacggcatg gtggtcccgg ctggcaccac ggcgatggtg 1320
 aatatgtggg ccataaccca cgatgccgcc gtgtggggcg acccggacgc gttcgcgcgc 1380
 gagcggttcc tgccctccga gggcgggcgc gacgtggacg tccgcggcgt cgacctccgc 1440
 ctggccccgt tcggcgccgg gcgtcgcgtc tgccccggca agaacctggg cctcaccacc 1500
 gtgggcctct gggttgcccc cctcgtgcac gccttccagt gggccctgcc tgacggcgcg 1560
 gcggccggtt gcctcgacga ggtcctcaag ctctccctgg agatgaagac gccgctcgtc 1620
 gccgcagcca tccccgcac cgcctga 1647

<210> 17
 <211> 1458
 <212> ADN
 <213> Zea mays

<400> 17

atggcgatgg cctccgcggc ttgctcatgc acggacggca cgtggtgggt gtacgcgctc 60
 ccggcgctgc tcggctccga caccctgtgc gccacccgg ccctcctggc tggcctgac 120
 tttctggcca ccgtctcggg ggctctgctg gcgtgggcca cgtcgccggg cggctccggc 180
 tggacgaacg gccgcggcgc cctcggcgtc actcctatcg tgggaccccg tggctctgcc 240
 gtgttcggca gcatcttcgc gctgtcccgc gggctgcgc accgcgccct cgccgagatg 300
 gcccgcgccg cagggccccc ggccaaggag ctcatggcgt tctccgtcgg tgacacgcc 360
 gcggtcgtgt cgtcctgccc ggccacggca cgtgaggtgc tcgcgcaccc gtcattcgcc 420
 gaccgccctg tgaagcggtc ggcccgggag ctcatgttcg cgcgtgccat cgggttcggc 480
 cccaacggcg agtactggcg ccgcctccgc cgcgtcgctt ccacgcacct attctccccg 540
 cgccgggtcg cctcgcacga gccgggacgc caagggtgacg cggaggccat gctccgctcc 600
 atcgccgccg aacagtcggc ctctggcgcc gtcgccctcc gcccgcacct ccaggccgcc 660
 gctctcaaca acatcatggg cagcgtcttc ggcacgcggt acgacgtcac atcaggcgcc 720
 ggcgcgcgcg aggcggagca tctcaagagc atggtgcgcg aggggttcga gctcctcgcc 780
 gccttcaact ggtccgacca cctcccctgg ctgcgccacc tgtacgaccc aagcaacgtc 840
 acccgccggt gcgcgcgct cgtgcgcgcg gtccagacct tcgtccgtgg cgtcatcgac 900
 gagcacccgc gccgcgcga aaactccgcc gccctcaacg acaatgctga cttcgtcgac 960
 gtgctcctct ccctcgaggg tgacgagaag ctcggcgacg acgacatggt cgccatcctc 1020
 tgggtaaagt tcaaatcgat cgctttccta gcttggttaa ctgcgcatac ttctcagttc 1080

ES 2 750 530 T3

tcaactgcg	atacctgtcg	gttctacagt	tttgtgtcgg	gctgtcgggt	gttcccggaa	1140
gggaaaaaaa	agaacaaaagt	gtgggccc	ccagacgcgt	tcgcaccgga	gcggttcctg	1200
ccctccgaag	ggcgggccc	gacgaggacg	tcccgcggcg	tcgacctccg	cctggccccg	1260
ttcggcgccg	ggcgctcgct	ctgccccggc	aagaacctgg	gcctcaccac	cgtgggcctc	1320
tgggttgccc	gcctcgtgca	cgccttcag	tgggccctgc	ctgacggcgc	ggcggccggt	1380
tgcctcgacg	aggtcctcaa	gctctccctg	gagatgaaga	cgccgctcgt	cgccgcagcc	1440
atcccccgca	ccgcctga					1458

<210> 18

<211> 1668

<212> ADN

<213> Oryza sativa

<400> 18

atggcaatgg	ccaccgccac	cgcctcctcc	tgcgtcgacg	ccacgtgggt	ggcgtagccc	60
ctccccggcg	tcctcggcgc	cgacacctc	tgcgcccacc	cggcgctgct	cgccggcgcc	120
gtcctcctgg	ccttcgccac	cgccgcgggt	ctcgctggg	ccgcgtcccc	cgccggggccg	180
gcgtggggcg	acggccgcgg	ccgcctcggc	gcgacgccc	tcgagggggc	ccgggggctc	240
cccgtgttcg	gcagcatctt	cgcgtctctc	cggggcctcc	cgacccgcgc	gctcgacgcg	300
atgtcgcgcg	acgcggggcg	gccacggggc	agggagctca	tggcgttctc	cgtcggggag	360
acgccggcgg	tgggtgtcgt	gtgcccggcg	acggcgaggg	aggtgctcgc	gcacccgtcg	420
ttcggccgacc	gcccgctgaa	gcgctcggcg	cgggagctgc	tgttcgcgcg	cgccatcggg	480
ttcgccccca	gcggcgagta	ctggcgcctc	ctccgccgca	tcgcctccac	ccacctcttc	540
tcccctcgcc	gcgtcgccgc	gcacgagccg	gggcgccagg	ccgacgccac	ggcgatgctg	600
tccgcatatg	ccgcgcgagca	gtccgccacc	ggcgccgctg	tgctccgccc	ccacctccag	660
gccgccgcgc	tcaacaacat	catgggcagc	gtgttcggcc	ggcgctacga	cgtctcctcc	720
tcctccggcg	ccgcgcgcga	cgaggccgag	cagctcaaga	gcatgggtgcg	cgaggggttc	780
gagctcctcg	gcgcgttcaa	ctggtcgcac	cacctcccat	ggctcgccca	cctctacgac	840
cccaaccacg	tcgcccgcgg	ctgcgcgcgc	ctcgtccccc	gcgtccaggc	gttcgtccgc	900
ggcgtagctc	gcgaccaccg	cctccgcgcg	gactcctcct	ccaccgcgcg	cgacaatgcc	960
gacttcgtcg	acgtcctcct	ctccctcgag	gccacgaga	acctcgccga	ggacgacatg	1020
gtcgccgtcc	tctgggagat	gataatttcgt	gggacggaca	cgacggcggt	ggtgacggag	1080
tgggtgcatgg	cggaggtggt	gaggaacccg	gcggtgcagg	cgaggctgag	ggcgaggggtg	1140
gacgcggcgg	tgggcggcga	cggtgtccc	agcgacggcg	acgtggcgcg	gatgccgtac	1200
ctgcaggcgg	tgggtgaagga	gacgctgagg	gcgcacccgc	cggggccgct	gctgagctgg	1260

ES 2 750 530 T3

gcgcggctgg ccaccgccga cgtggggctc gccaacggca tgggtggtgcc ggcgggcacg 1320
acggcgatgg tgaacatgtg ggccatcacc cacgacggcg aggtgtgggc cgacccggag 1380
gcgttcgcgc cggagcgggt catcccgtcg gagggcggcg ccgacgtcga cgtccgcgac 1440
ggcgacctcc gcctggcgcc gttcggcgcc gggcgccgcg tctgcccccg caagaacctc 1500
ggcctcgcca ccgtctccct ctgggtcgcc cgcctcgcc acgccttcga ctggttcctc 1560
cccgacggct cgccgcccgt gtccctcgac gaggtcctca agctctccct cgagatgaag 1620
acccctctcg ccgcgcgcgc cccccccgc cgccgcgcgc ccgcctga 1668

<210> 19

<211> 1611

<212> ADN

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 19

atggagttga tgaatttgcc ttcaaaagaa acaagctatt ggatgattgc actgcctgcc 60
ggttttggat cccaaaacct acatgatgtt tccaccctag gctatctatt ccttgccgtc 120
gtttttctct ctatagtcac gtgggctctc gccggaggcg gtggtgtcgc ttggaagaac 180
ggccgtaacc gggtgggtcg tgtcgcgac cctggctcctc gtggcatacc agtattcggc 240
agtcttttca ctctcagccg aggcttggct catcggacgt tagcagccat ggcttggagc 300
cgagccaaca ctgagattat ggcttttagc cttgggtcaa cgccgggttat cgtggcttct 360
gaaccaaaaca tagctcgtga gattctgatg tcgcctcact tcgcggaccg gccggttaag 420
cagtctgcta agagcctcat gttagcgcga gccataggtt tcgccccaaa cgggacttac 480
tggcgcatgt taagaaggat cgcacgcact cacctatttg ctctcggcg tatcttagca 540
cacgaagctg ggcgcagct agactgcgct gaaatggtga aagctgtgtc agtggagcaa 600
aacggcgctg gatcagtcgt tttaaggaaa cacttacaac tagccgcctt gaacaacatc 660
atgggaagtg tttttgggag aagatacgat cctctggctc agaaagagga tcttgatgag 720
cttacatcaa tggtaggga agggttcgag cttttgggtg cttttaattg gtctgattat 780
cttccatggc tcggttattt ctacgactca attcgtttaa accaacgttg ctgagatctc 840
gtccctcgaa ttagaacctc cgtcaagaaa atcatcgacg aacatcgagt tagtaactct 900
gagaagaaaa gagacattgg agattttgtt gatgtcttat tgtctttaga cggatgatgag 960
aaacttcaag aagatgacat gatcgccgtt ttatgggaga tgatttttcg agggacagat 1020
acaacggcgt tattaacgga gtggaccatg gccgagctag tactgaacct taacgtgcaa 1080
accaagttag gagacgagat tttaactgct gtgggcgacg gcgccgacgg agacgtggca 1140
gatgtgaccc tggcaaaact cccgtacctt aacgcagtg tgaaggaaac tctaaggctg 1200
catcctctcg gaccactgct ttcatgggct cgtctttcca cgtcagacgt ccagctcagc 1260

ES 2 750 530 T3

aatggcatgg tgattccaaa gggaaactaca gcgatgggtca acatgtgggc tataacccac 1320
gaccagactg tatgggtccga cccgctaaag tttagaccgg agagattcac tgggaatgct 1380
gacatggata ttogtgggtg ggatctaagg cttgcaccgt ttggagccgg taggagagtg 1440
tgtccgggga agaacatggg gctagctact gtgactcggg gggaggctga gttggtacga 1500
cggttcgagt ggggtcagga tcagaccgag ccagttgatc ttggtgaggt cttgaagctt 1560
tcttgtaga tggagcatcc gttacgtgcc gttgtaacgg aaatatttta a 1611

<210> 20

<211> 1650

<212> ADN

<213> Physcomitrella patens

<400> 20

atggattcaa ccacgtgtga agtaggagga ttgtggctgt ttgctttgcc tatgctcgcc 60
aaacaaggga gatcttcttt ggaagaggct ttgggatgca caaacttcag cagcattctt 120
tgtattgtgg gtgtgataag tgcttgtgcc ctggttggtg gctgggcttc gcctggcggc 180
tcctcgtggg gccgcttgag atgtgtgaaa accatcccag ggccccgagg gtttcctgtc 240
atcggttcac tggttgagat gggaggactg gccacaggc gccttgctca acttgctgta 300
acgtacaaag ctacagcatt gatggcgttg agcttaggag aaacgcgtgt ggtgattgct 360
agccaaccgg atacgcgcg cgagattcta catagtagg cattcgaga tcgaccctg 420
aagcagtcag cccagcagct cttgttcggg cgcgctattg ggtttgctcc ttacggaggt 480
tattggcgta acttaagacg aattgcccgt aatcatttgt tcgctcccaa gcgattgca 540
gctcatggga agacgcgtct cgatgagtta gccctcatgc tcaatgccat ccagagagaa 600
gttgagacta cagggtcacgt gtcattcga ccgcacttgc agagagcctc tctcaacaat 660
atcatgggca gtgtgttttg gcgtaggtat gacttcgtct tgggttctga ggaggcgaat 720
gagttagggg cccttgtaaa agaaggattt gaactactgg gtgcgttcaa tttggccgat 780
cacctgccag ttttgaagtg tctcgacgcc cagaatattc tccagagggt cgcggctctt 840
gttcctcgag tcacagcgtt tgtgaagaag atcattgatg aacaccggca gaggagggat 900
gtacgtgcta cactggaga gagctatgag gaggacttcg tggatgtctt gctcgtctc 960
accggggagg agaagctgtc cgaggaagac atgatcgccg tgctttggga gatgatcttc 1020
agagggactg atactactgc cattctcacg gagtggatca tggcggaaat ggtgctgaac 1080
cctgaaattc agtgcaatgt ccaacgcgag ctcgactctg ctttcagaaa gaagaatata 1140
accgatttca cgtcattgga aagcgagttg tccaggttgc cctacctcca ggccgtgatt 1200
aaggaaaccc tccgacttca ccctcctggg ccgctcctct catggggcag actctccacc 1260
caggatgttt gtatcgctgg gcatctaata cctaaacaca ccaccgcaat ggtgaacatg 1320

ES 2 750 530 T3

tgggcaatta cgcacgaccc gaagttgtgg gctaaccgga acgaattcat tccagagaga	1380
tttcttcctt cacatggcgg tcaggacggt gacgttcgtg gaaacgacct acgcctggcg	1440
cctttcggcg ctggccgacg cgtctgtccg ggacgcgcgc ttggattggc cacagtgcaa	1500
ctttgggtag cacagttatt gtataacttc aaatggaccg cagttccagg gtgcgatgtt	1560
gacctcaccg agattttgaa gttgtcatcc gagatgggta agccattgca atctgtcgct	1620
actcgccgcc tggtagatcc gtcaagctag	1650

<210> 21

<211> 1653

5 <212> ADN

<213> Physcomitrella patens

<400> 21

atggattcag ctcccactca agtcggaggg tgggtgtggt ttgctgtgcc cttgctggcc	60
aagcagggaa gatcctcgct ggaggaggcg gcgggatata caaacctcaa cgggctggtg	120
attatgctcg tattgggtgt gataagtgtc tgtgctatat tcgtttgttg gatttctccc	180
ggaggttcgt catggggacg tttgagaggt aagagaacca tccccgggcc tcgagggttt	240
cccatcatcg gttccctggt ggatatgggt ggattggccc acaggcgtct cgctcagctt	300
gctgtagcct acaaagctat gccgctgatg gctttaagcc taggagagac ccgtgtggtg	360
attgctagtc aacccgatac tgcccgtgag attttgcata gtgcgggttt cgccgaccgg	420
ccgctgaagc agtcgcgtga tcagctcatg ttctcacgcg ccattgggtt tgcttctcat	480
gggaaatact ggcgaagttt aagacgaatt gcagccaacc atttgttttc gcccaagagg	540
attgctgagc acgaggattc gcgtgttgct gaatctgagt tcatgctaca atctattgag	600
aatgaccttc tcgtattggg cagcgtccag attcgtggtc acctgcaaag agcgtccctg	660
aacaatatca tgcgtagtgt gtttgggctg cggtatgact tcgtcactgg atctgaggag	720
gcaacccagt tgagggccat ggtggatgaa ggatttgatt tgcttgggtc tttcaattgg	780
gctgatcact tgccagccct gaagtttctg gacgcacaga agatacatca aagatgcgct	840
gatctcgttc ccagagtcag aacatttggt cagaaaatca ttgatgaaca ccgcaatgaa	900
aataactctc gtgtgggctg tgacgagagg cgtgaaactg attttgtaga cgtcttgctc	960
tccttgaaag gtgatgagca gcttgccgac gaggatatga tcgctgtgct ttgggagatg	1020
atatttagag gaactgatac caccgctatc ctgaccgagt ggattatggc ggaaatggtg	1080
ctgcaccccg aaattcagcg caaggttcaa ttcgagctgg actccgtttt tccactgggt	1140
atctgcaact gcgcatcttt tgaaaatatg ctttccagat taccctacct aaaggccgtg	1200
gtcaaagaaa ctctccgtct gcacccctcc ggtcccctcc tctcatgggc aaggctatca	1260
gttcaagatg tttgcgtagc tggacacaca attcctgcgg gcacgacagc aatggtaaac	1320

10

ES 2 750 530 T3

atgtgggcaa tcacccacga tcctgaagtg tgggctaata cgagtgtatt ctctcccgag	1380
agatttctgc ctctcatgg tggccaggat gtggatgtcc gtggcaacga tcttcgcctg	1440
gctcctttcg gggctggccg tcgtgtctgt ccagggcgtg cactoggatt agccactgtg	1500
cacctgtggg tggcgagct gttgcacaac ttcgaatgga ccccggcacc agtgtgcgaa	1560
gtggacctta ccgaggtatt gaagctgtct tcagagatgg tgaaccact gcagtccgtt	1620
gctactagtc gccgagtatc cacatcgggc taa	1653

REIVINDICACIONES

1. Un constructo de gen quimérico que comprende los elementos de ADN unidos operativamente siguientes: a) la región promotora de un gen GA2-oxidasa vegetal que es activa en la zona de crecimiento de la hoja de una planta monocotiledónea, b) una región de ADN que codifica una proteína CYP78A5 vegetal o un ortólogo funcional con una identidad de aminoácidos de al menos el 55% con respecto a la proteína codificada por la SEQ ID NO: 2 y c) una región del extremo 3' que comprende señales de terminación de la transcripción y de poliadenilación que opera en células de una planta monocotiledónea.
2. Un vector recombinante que comprende el gen quimérico de la reivindicación 1.
3. Una planta, una célula de una planta o una semilla de una planta monocotiledónea que comprende un gen quimérico según la reivindicación 1 o un vector recombinante según la reivindicación 2.
4. Uso de un gen quimérico según la reivindicación 1 o un vector recombinante según la reivindicación 2 para aumentar el rendimiento de plantas monocotiledóneas.
5. Uso de un gen quimérico según la reivindicación 1 o un vector recombinante según la reivindicación 2 para aumentar el vigor de plántulas de plantas monocotiledóneas.
6. Uso de un gen quimérico según la reivindicación 1 o un vector recombinante según la reivindicación 2 para aumentar la tolerancia a la sequía de plantas monocotiledóneas.
7. Uso según las reivindicaciones 5 o 6 en el que las plantas son de cultivos.
8. Uso según la reivindicación 7 en el que los cultivos son de cereales.
9. Uso según la reivindicación 7 en donde los cultivos son de pastos.
10. Un procedimiento para producir una planta monocotiledónea con un mayor rendimiento en comparación con una planta monocotiledónea de tipo silvestre correspondiente, comprendiendo el procedimiento transformar una planta monocotiledónea con un gen quimérico según la reivindicación 1 o un vector recombinante según la reivindicación 2 y seleccionar una planta monocotiledónea con una expresión estable de dicho gen quimérico.

Figura 1

GGGGACAACTTTGTATAGAAAAGTTGCCGAGGATTGCAGCTCCTGGATCATATCAGAATGT
 CTGTCGCTCGCCACCCCGGGCGCACTGCATTATATTTCTGGCAGGTGCGCAATACAATATG
 GCATGGGGGGGCACGTAGTACGGTACTGCCGTACAGCTGCGTCAGCAAATGCCAACTTGTG
 TGGTACAGCTATAATCTATAGAAAAAAGAATATTATAGAAGTAGTAGAAGTTGGCGCGTAT
 GGATTAAGGAAGGTTTGGTTTCTAGTGACTAATTTAGTCTCTCTATTTTATTCAATTTTGTTC
 CTAAATTATCAAACATAAATGAAGTTTTGTTTTTTTTATATAGGATAATTTAGAGACTAAAAT
 AGAATAAAAATGAATGGATGAAAAATTAGTTCCTACCAACCAAACACCCCTTAAGAGCTAC
 TTCGAGAACCTCAAATCTCCTTCGAGACTGGAGGAGATGAAGGTAAAAATAAACTAATTTT
 CCCTTCAATCCTTTTAATTACAAAGGGGGTGCGGGTACGGAAATGTTTACTACTATACTGG
 AAAGGTGTCTGAAACCGGGAGAAAAGCTTTGACCAGGGTGGACCTGTTTATGGGATCGAA
 GCGGCCGTTGCCCCAACTGGCGACTGGCGAGCCACCATTGCGCGGACCCGAGATTAAC
 AACTACAGGAGTACTGTCGGGTTGGTACCAATACGTGGCTTGGGCAAAAAGTCTGGCAG
 GCGCCGCTGCTTGTCTGCGGTTTCTATGTGCCGATGCCATCGCACCGGACCGGATCGGGA
 TGGGATCAGCGGAACATGCGAGAGCGAGCCTGCACTGCACTGCATGGCCGCGACCGCGT
 CGTCCATCGAGCCGCCTATCATTAGTTGGTTCCACTGTCTCGCCGCCGAAGCAAGGCAGC
 ACAGCACACATCAGCATTGCTTCCCAGTTCCCAATGCCCGTCGTCTAGCCGAGGCGGG
 CTCAGTACCAACCCAGCTGAAACTACGAGAGATGCGCTGTGGGCAGGACAGTGGTTCGAG
 CGAGGAGTGTACCTGTAGTTAACGAGGATTTTATTTTACTAGTGCGTACGTACGTACTGTA
 CGTACTATGATCTCTCACGTGCTCTGGTCTTATCACTCGCTTGATTATACTATGATCTTTTTT
 TCCCTCCACCTGCTCTGGTCTTATCGCTGGCACGTGCTTTTACACGGCCACTTAGGACTAC
 TCACCTCGTCTCGTCATGCTTATCTACTTCAGAGCGTCACGGACACAGCAAGGAGGAGTAC
 GCACACGCAGCATGGACTGCCTGGAGCGGGGTGTGGTGCCTAACGCCCGCCTAATTCCC
 GGAGCTGCCTGTGCCTTGGACGCCCATCTCTGGTTTCGCGGGGAGAATAATAATAATTTAG
 GCGAAACACGGGAACGGGTCTGTAGGAAAAGCCTGACATGCTGCATTACGGCCGGTGCC
 GTTCGGACCCAGTTATTGATGAGCCGAGTCACCGACCTGCCAAGAAAAGGATGCCGGAT
 CAAGGGCAGGTTACCTCATCTTAGCGCATGCAAGCGTCGTCCCTAACCAAAACATCATCT
 TCATGTCTGGCCGCCCGCGCAGCGGTCCCAGTGCCGGCGTGGTTAACGGGAGGGACTGG
 GACTGGCAGGGCCGGCTAATGGCCGACGTGCAGTCGCCTCGTATGCGTTTCCCGTTGAGC
 CATGCATGCAGCAGAGCAGCGCGGGCGGCCGGTCTGCCACCGGTGGATCGCGGCCGG
 GCACGTACGGCCCCGGTCCCCGACTGCTCTGGCTCCATCGCCGCCACCATGCACCCAAAG
 CGATCCACCCCCGATGCATCCCTTTTCTCTCCCTGTCAGCTGGGCCCATCTCGCGTCACCG
 TAGCCAGGTGCCGCCCGCTCGCCCCGCCCGCCGATCTATATGCTGCCACGGGCTCTC
 CCACTTCTCCCCCACATGCACTTGCTGCAGCAGCCGTAGGACACACGCACACCGCCTCGA
 CCTCGAGTCCACCACTGACTCCACCACCTCCCCCTGTTTTTTTTTCGACCTCGCTCTGCTCAT
 CCGCACGGCCAGACAGCCGCAAGTTTGTACAAAAAAGCAGTCCCC

Figura 2

GGGGACAAGTTTGTACAAAAAGCAGGCTCCATGGCGATGGCCTCCGCGGCTTGCTCATG
CACGGACGGCACGTGGTGGGTGTACGCGCTCCCGGCGCTGCTCGGCTCCGACACCCTGT
GCGCCACCCGGCCCTCCTGGCTGGCCTGATCTTTCTGGCCACCGTCTCGGTGGCTCTGC
TGGCGTGGGCCACGTCGCCGGGCGGTCCGGCGTGGACGAACGGCCGCGGCCGCTCGG
CGTCACTCCTATCGTGGGACCCCGTGGTCTGCCCCTGTTTCGGCAGCATCTTCGCGCTGTCC
CGCGGGCTGCCGCACCGCGCCCTCGCCGAGATGGCCCGCGCCGCAGGGCCCCGGGCCA
AGGAGCTCATGGCGTTCTCCGTCCGTGACACGCCCGCGGTCTGTGTCGTCTGCCCCGGCCA
CGGCACGTGAGGTGCTCGCGCACCCGTCAATCGCCGACCGCCCTGTGAAGCGGTGGGCC
CGGGAGCTCATGTTTCGCGCGTGCATCGGGTTCGCGCCCAACGGCGAGTACTGGCGCCG
CCTCCGCGCGTCCGCGTCCACGCACCTATTCTCCCCGCGCCGGGTGCGCTCGCACGAGCC
GGGACGCCAAGGTGACGCGGAGGCCATGCTCCGCTCCATCGCCGCCGAACAGTCGGCCT
CTGGCGCCGTCGCCCTCCGCCCCGACCTCCAGGCGCCGCTCTCAACAACATCATGGGCA
GCGTCTTCGGCACGCGGTACGACGTACATCAGGCGCCGGCGCCGCGGAGGCCGAGCAT
CTCAAGAGCATGGTGCGCGAGGGGTTTCGAGCTCCTCGGCGCCTTCAACTGGTCCGACCAC
CTCCCCTGGCTCGCCACCTGTACGACCCAAGCAACGTACCCGCCGGTGCGCCGCGCTC
GTGCCGCGCGTCCAGACCTTCGTCCGTGGCGTCATCGACGAGCACCGGCGCCGCCGCCA
AAACTCCGCGCCCTCAACGACAATGCTGACTTCGTGACGTGCTCCTCTCCCTCGAGGG
TGACGAGAAGCTCGGCGACGACGACATGGTCGCCATCCTCTGGGTAAAGTTCAAATCGAT
CGCTTTCCTAGCTTGTTAACTGCGCATACTTCTCAGTTCTCAACTGCGCATACCTGTCCGT
TCTACAGTTTTGTGTCGGGCTGTCCGTTGTTCCCGGAAGGGAAAAAAGAACAAAGCTCT
GTCGCTGAAAAAACATACTGTACATGCATATAATTTGTTTTTGCAGGAGATGGTCTTCCGC
GGTACGGACACGACGGCGCTTCTGACCGAGTGGTGCATGGCGGAGCTGGTGCGCCACCC
GGCGGTGCAGGCGAGGGTGCGCCGCCGAGGTGCACGCGGCTGTCCGTGCCGGAGGTTGC
CCCACCGACGCCGACGTGGCGCGCATGCCGTACCTGCAGGCGGTTGTGAAGGAGACGCT
GCGCGCCACCCGCCTGGCCCGCTGCTGAGCTGGGCTCGCCTCGCCACCGCCGACGTGC
CACTCTGCAACGGCATGGTGGTCCCGGCTGGCACACGGCGATGGTGAATATGTGGGCCA
TAACCCACGATGCCGCCGTGTGGGCCGACCCGGACGCGTTCGCGCCGGAGCGGTTCTGT
CCCTCCGAGGGCGGCGCCGACGTGGACGTCCGCGGCGTCGACCTCCGCCTGGCCCCGTT
CGGCGCCGGGCGTCCGCTGTCCCCGGCAAGAACCTGGGCCTACCAACCGTGGGCCTCT
GGGTTGCCCGCCTCGTGACGCCTTCCAGTGGGCCCTGCCTGACGGCGCGGCGGCCGTTT
GCCTCGACGAGGTCCTCAAGCTCTCCCTGGAGATGAAGACGCCGCTCGTCGCCGACGCCA
TCCCCCGCACCGCCTGAGACCCAGCTTTCTTGTACAAAGTGGTCCCC

Figura 3

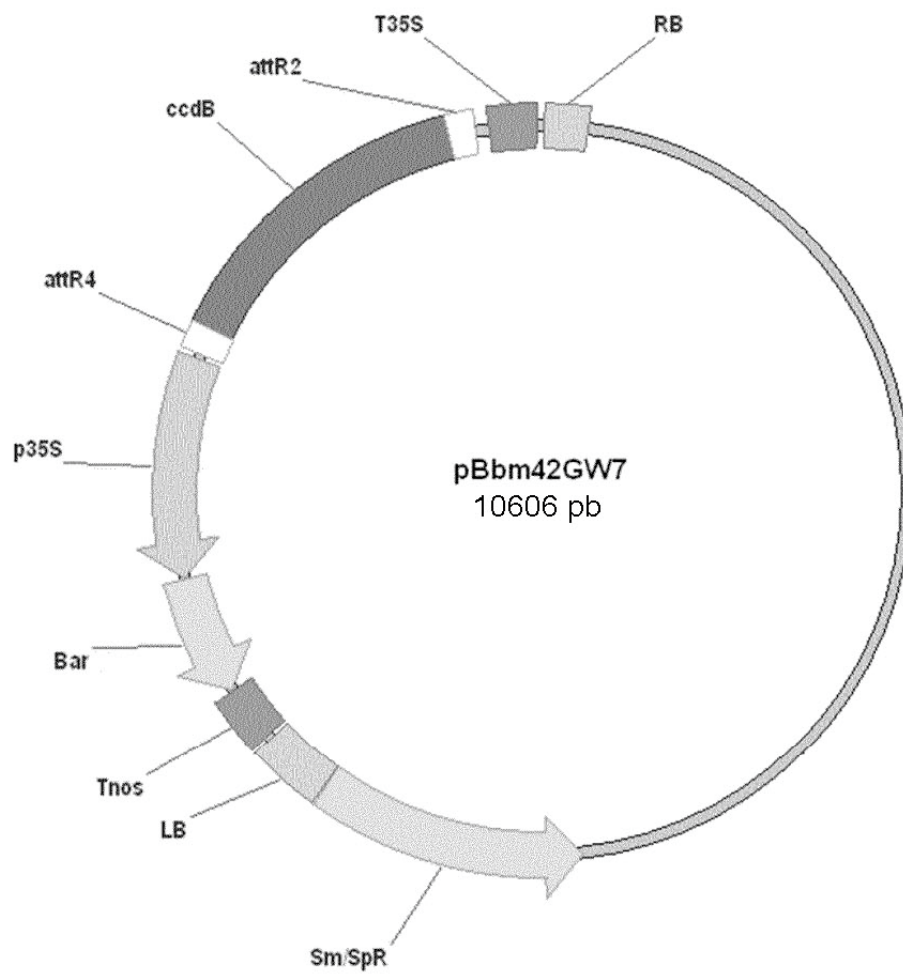


Figura 4

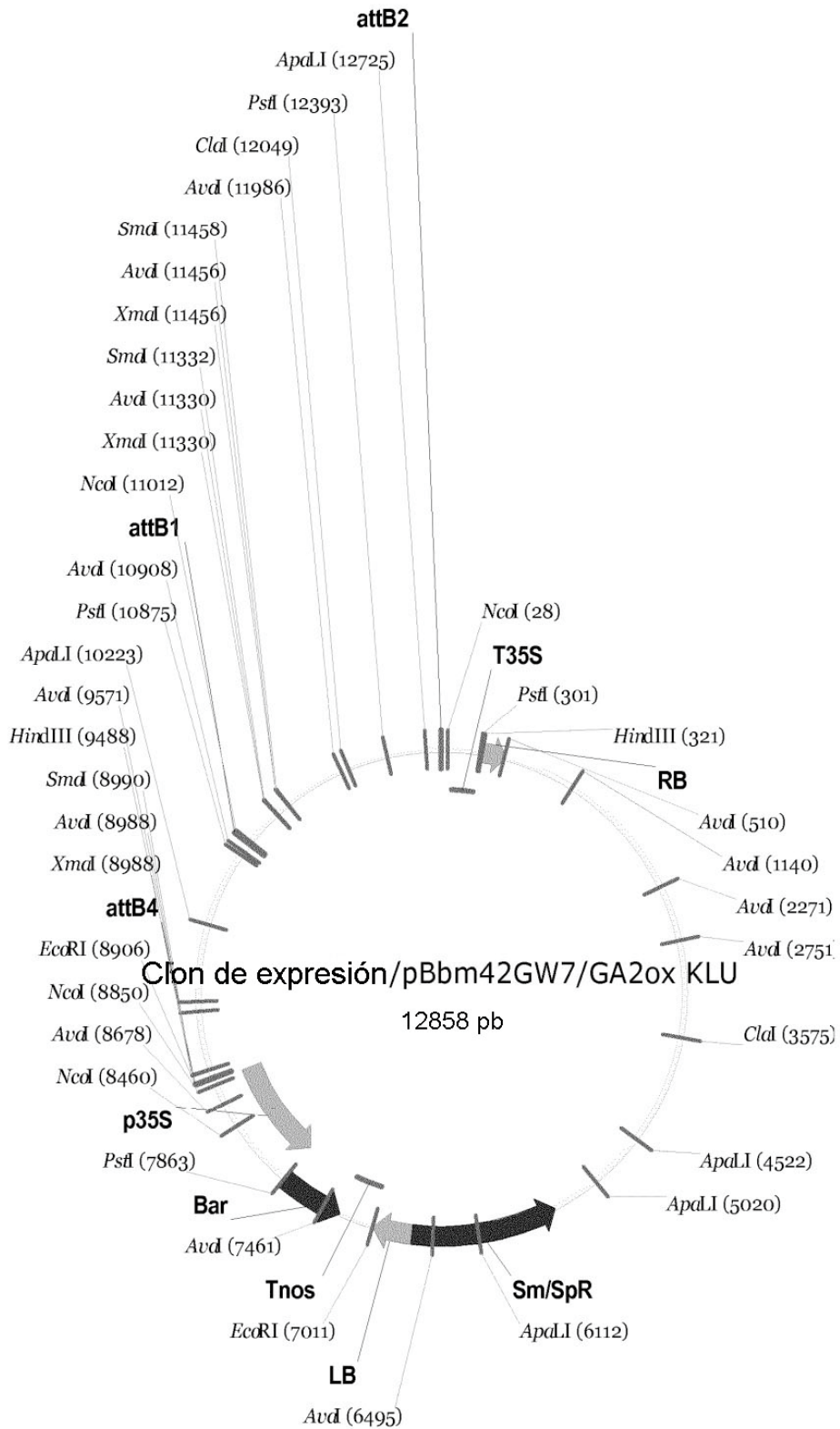


Figura 5

caactttagatagaaaaagttgccgaggattgcagctcctggatcatatcagaatgtctgtcgctcgccaccccgggcgcaactgcattatattt
ctggcaggtgcgcaatacaatatggcatggggggcacgtagtacggtagctgccgtacagctgctgcagcaaatgccaaactgtgtggtta
cagctataatctatagaaaaaagaatattatagaagtagtagaagttggcgcgatggattaaggaaggtttggtttctagtactaatttag
tctctctattttattcaattttgttcttaaatatcaaactaaaatgaagttttgttttttatataggataatttagagactaaaatagaataaaaaat
gaatggatgaaaaaattagttctaccaaccaaacaccccttaagagctacttcgagaacctcaaactcctctcgagactggaggagatg
aaggtaaaaaataaactaattttcccttcaatccttttaattcacaaggggggtgcgggtacggaaatgttactactatactggaaagggtgtct
gaaacccgggagaaaaagctttgaccaggggtggacctgtttatgggatcgaagcggccgttgccccaactggcgactggcgagccacca
ttgcgcggaccccgagtaactatactacaggagtagctgcgggttggtaccaatacgtggttgggcaaaaagtctggcaggcgccgc
tgcttctgtcgggtttctatgtgccgatgccatgcacccgacccgatcgggatgggatcagcggacatgcgagagcgcgacctgcact
gcactgcatggccgcgacccgcgtcgtccatcgagccgcctatcattagtgttccactgtctcgcgcgcgaagcaaggcagcacagca
cacatcagcattgcttcccagttcccaatgcccgcgtcgtcctagccgaggcgggctcagtaccaaccagctgaaactacgagagatgc
gctgtgggcaggacagtggtcgagcgcgaggagtgtacctgtagttaacgaggattttattttactagtgcgtacgtactgtactgtactat
gatctctcacgtgctctggtcttatcactcgttgattatactatgatcttttttccctccacctgctctggtcttatcgttgccagctgcttttac
ggccacttaggactactcacctcgtcgtcatgcttatctacttcagagcgtcacggacacagcaaggaggagtacgcacacgcagca
tggactgcttgagcgggggtgtggtgcactaacgccgcctaattcccggaactgcctgtgccttgagcggccatctctggttgcgggg
agaataataataatttaggcgaaacacgggaacgggtcgtgaggaaaagcctgacatgctgcattacggccgggtgccgttcggaccc
cagttattgatgagccgagtcaccgacctgccaagaaaaggatgccggatcaagggcagggtcacctcatcttagcgcagtgaagcgt
cgtccctaaccaaaacatcatcttcatgtctggccgccgcgcgacgggtcccagtgccggcgtggttaacgggagggactgggactgg
caggggccggctaattggccgacgtgcagtcgctcgtatgcgtttcccggttagccatgcatgcagcagagcagcgcggggcgccgggtc
ctgccaccgggtggatcgcggccgggcacgtcacggcccggtccccgactgctctggtccatcgcgcgcaccatgacccaaagcgga
tccacccccgatgcatcccttttctcctgtcagctggggccatctcgcgtcacccgtagccaggtgccgccccgtcggccccccccg
atctatatagtctgccacggggtctcccacttctccccacatgcacttgcgtgcagcagccgtaggacacacgcacaccgcctcgacct
cgagtccaccactgactccaccacctcccctgttttttgcacctcgtctgctcatccgcacggccagacagccgcaagttgtacaaa
aaagcagggtccatggcgatggcctccgcgggtgtctatgcacggacggcacgtggtgggtgtacgcgctcccgcgctgctcggt
ccgacacctgtgcgcccacccggccctcctgggtggcctgatcttctggccaccgtctcgggtggtctgctggcggtggggccacgtcgc
ggggcggtccggcgtggacgaacggccgcggccgcctcggcgtcactcctatcgtgggaccccggtggtctgcccgtgttcggcagcatct
tcgcgctgtcccgggggtgcgcgacccgcgcctcgcgcgagatggccgcgcgcgagggccccgggccaaggagctcatggcggtct
ccgtcgggtgacacgcccgcggtcgtgctcgtcctcggggccacggcacgtgaggtgctcgcgcacccgtattcgcgcacccgcctgtg
aagcgggtcggccgggagctcatgttcgcgcgtgccatcgggttcgcgcaccaacggcgagtagtggcgcgcctccgcgcgctcgcgt
ccacgcacctatttccccgcgcgggtgcctcgcgcagagccgggacgccaaggtagcgcggaggccatgctccgctccatcgccg
ccgaacagtcggcctctggcgccgtgcctcgcgcacctccagccgcgcgtctcaacaacatcatgggcagcgtcttcggcac
gcggtacgacgtcacatcaggcgcggcgccgcgggagggcgagcatctcaagagcatggtgcgcgagggggttcgagctcctcggcg
ccttaactggtccgaccacctcccctggctcgcacacctgtacgaccaagcaacgtcacccgcgggtgcgcgcgctcgtgcgcg
cgtccagacctcgtccgtggcgtcatgcagagcaccggcgccgcgcgcaaaaactccgcgcctcaacgacaatgctgactcgtc
gacgtgctcctctccctcgagggtgacgagaagctcggcgacgacgacatggtgccatcctctgggttaaagttcaaatcgtatcgcttc
ctagcttgttaactgcgcatacttctcagtttcaactgcgcatacctgtcgggttctacagttttgttcgggctgtcgggtgttccccgaaggg
aaaaaaaaagaacaaagctctgtcgtgtaaaaaaacatactgtacatgcataataattgtttttgcaggagatggtcttccgcgggtacgga

cacgacggcgcttctgaccgagtggtgcatggcggagctggtgcccacccggcggtgcaggcgaggggtgcgcgccgaggtcgac
 gcggctgtcggtgccggaggtgtccccaccgacgccgacgtggcgcgcatgccgtacctgcaggcggtgtgaaggagacgtgcgc
 gccacccgcctggcccgtgtgagctgggctcgctcgccaccgccgacgtgccactctgcaacggcatggtggtcccggctggca
 ccacggcgatggtgaatatgtgggccataaccacgatgccgcccgtgtgggcccgaaccggacgcgttcgcgccggagcggttctgc
 cctccgagggcgccgacgtggacgtccgcggtcgacctccgctggccccgttcggcgccggcgctcgctgtccccggca
 agaacctgggctcaccacgtgggctctgggtgcccgctctgcacgcctccagtgggccctgcctgacggcgccggcgccggt
 tgctcgacgaggtcctcaagctctccctggagatgaagacgccgctcgctcgccgagccatccccgcaccgc

Figura 6

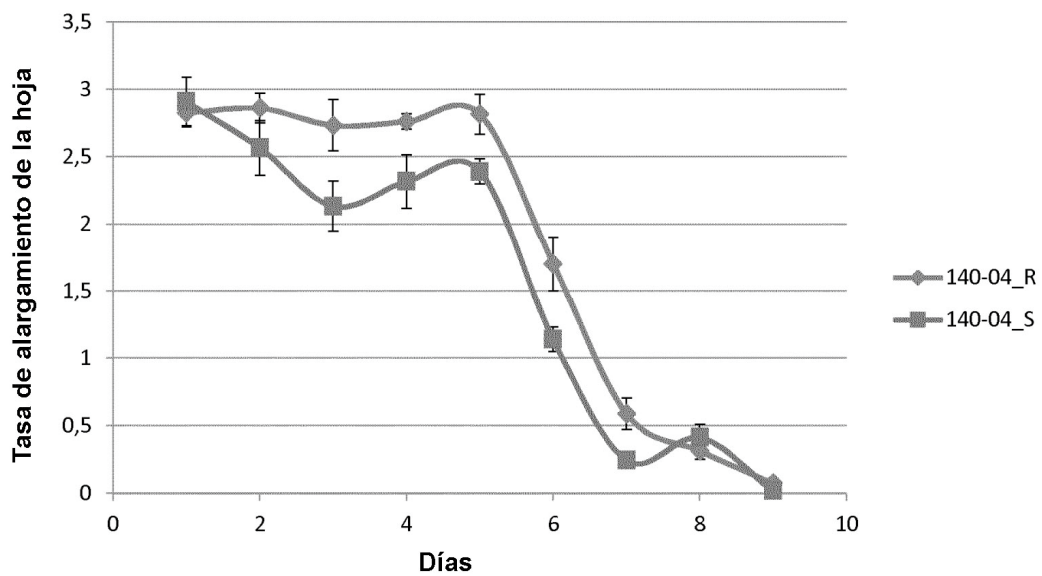


Figura 7

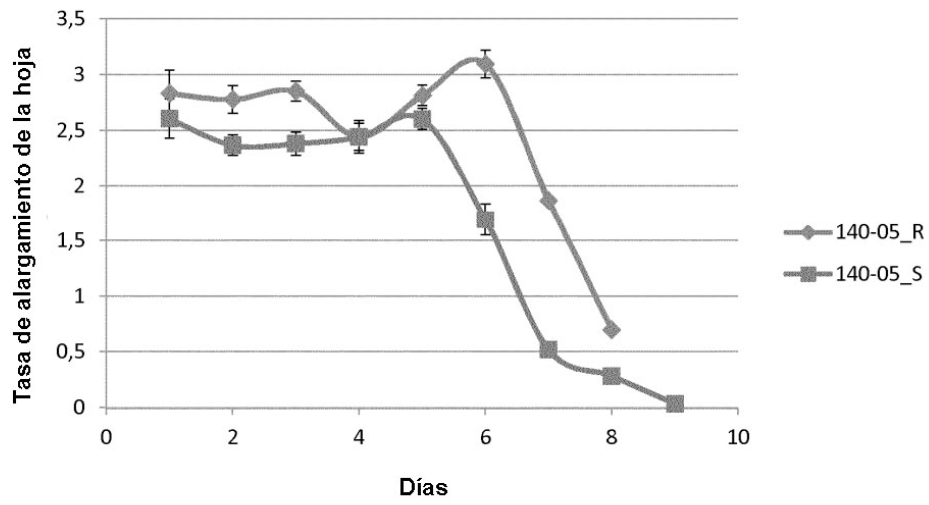


Figura 8

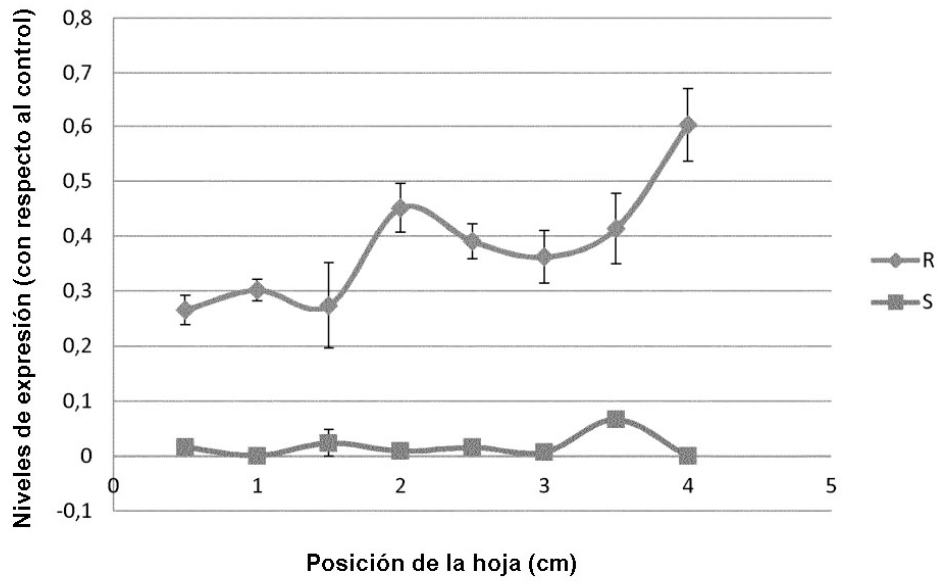


Figura 9

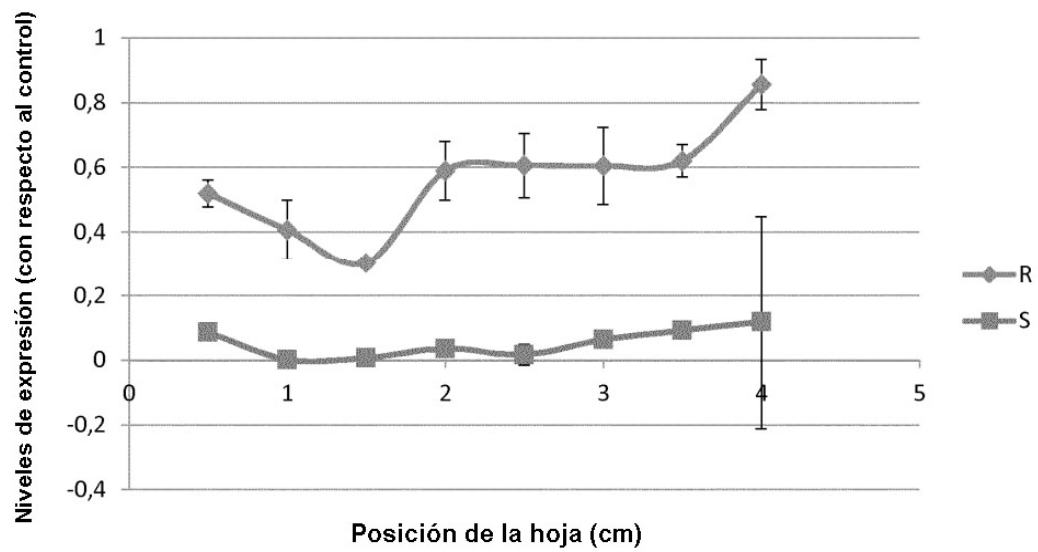


Figura 10

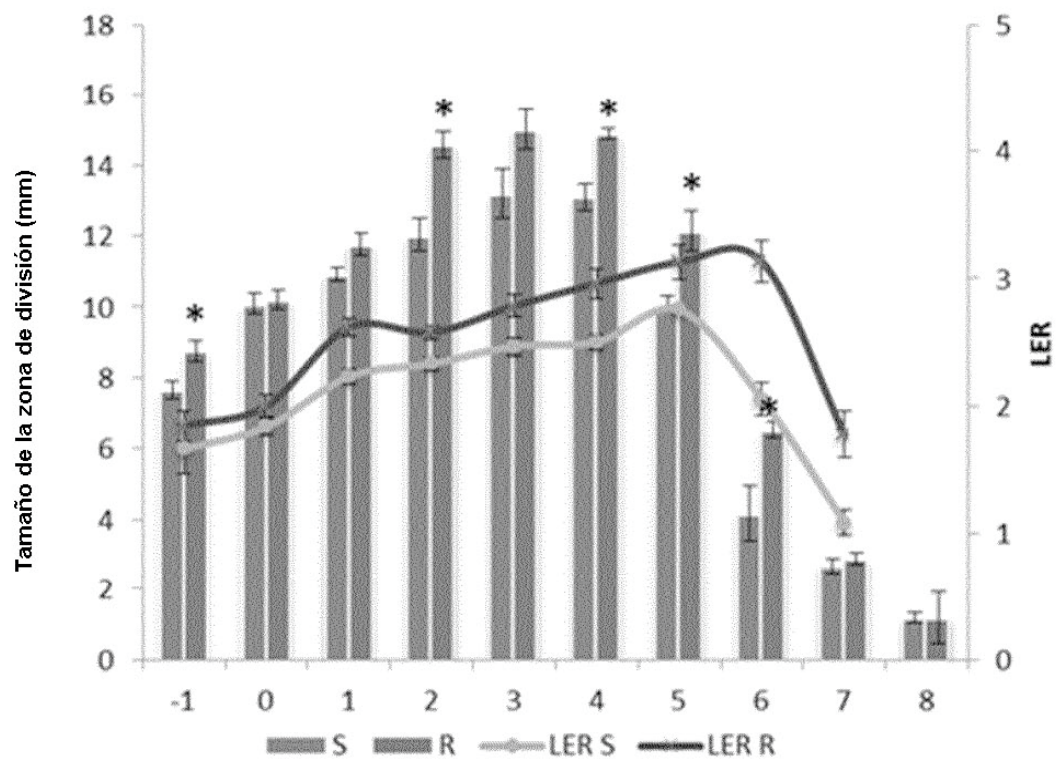
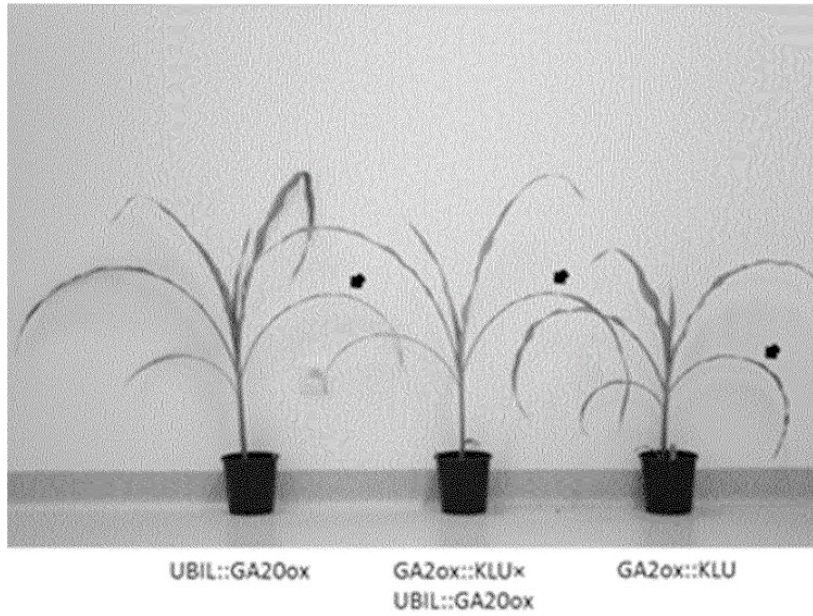


Figura 11

A



B

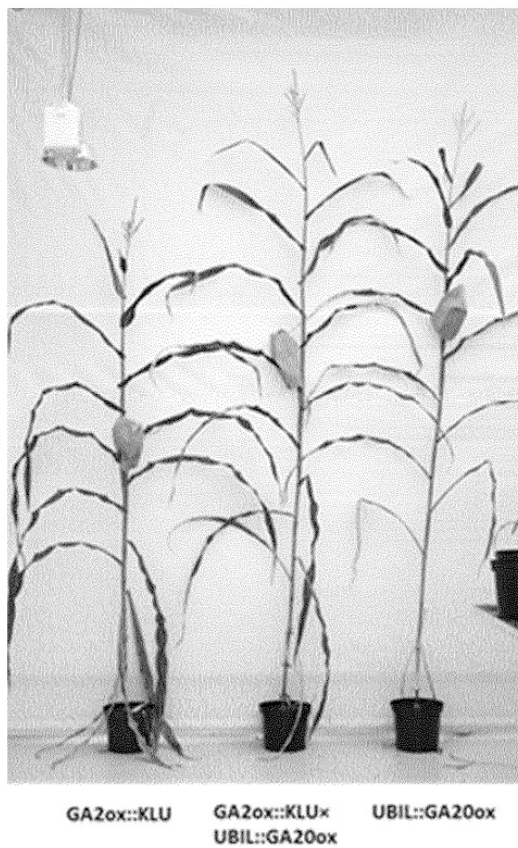


Figura 11 (continuación)

C

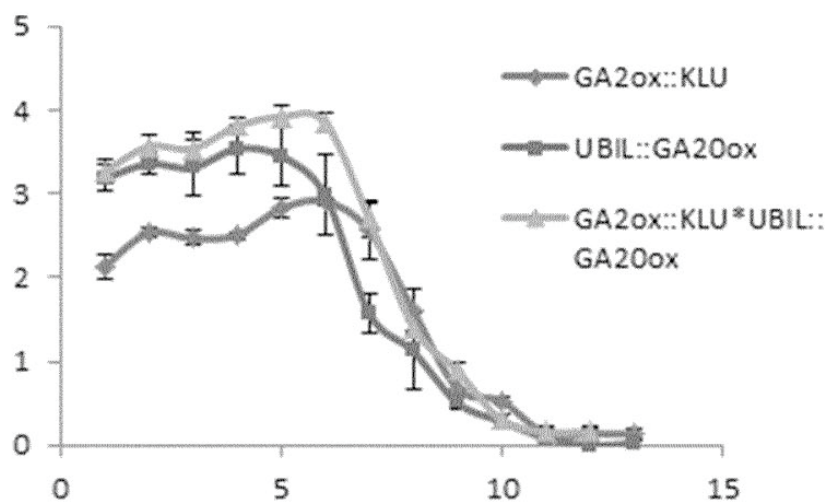


Figura 12

