(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 651 621**

(51) Int. CI.:

C12N 15/53 (2006.01)
C12N 15/82 (2006.01)
C12N 9/02 (2006.01)
C07K 16/40 (2006.01)
A01H 5/00 (2006.01)
A01H 5/10 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.05.2007 PCT/IB2007/001384**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **06.12.2007 WO07138444**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.05.2007 E 07789404 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.09.2017 EP 2021477**

(54) Título: **Marcadores genéticos para el alto contenido de ácido oleico en plantas**

(30) Prioridad:

29.05.2006 EP 06290855

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.01.2018

(73) Titular/es:

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA) (100.0%)
147, rue de l'Université
75007 Paris, FR

(72) Inventor/es:

FALENTIN, CYRIL;
BREGEON, MICHEL;
LUCAS, MARIE ODILE y
RENARD, MICHEL

(74) Agente/Representante:

SALVA FERRER, Joan

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

Marcadores genéticos para el alto contenido de ácido oleico en plantas

[0001] La presente invención se refiere a nuevos marcadores genéticos y de proteínas útiles para la selección de plantas que tiene un alto contenido de ácido oleico.

[**0002**] El alto contenido de ácido oleico de aceites vegetales es un rasgo deseable tanto debido a los beneficios de la salud como a la estabilidad a la oxidación y el calor del ácido oleico. En particular, se ha demostrado que el ácido oleico es eficaz en la reducción de los niveles de colesterol en plasma (Bonanome et al, 1988; Liu et al, 2002). Además, su único enlace insaturado hace del ácido oleico (C18:1) un ácido graso mucho menos vulnerable que sus homólogos con multiples insaturaciones. Por ejemplo, la velocidad de oxidación de ácido linolénico (C18:3) es 100 veces la del ácido oleico (Debruyne, 2004).

[**0003**] Uno de los caminos más prometedores hacia tales plantas es seleccionar plantas esencialmente privadas de actividad de FAD2. De hecho, la FAD2 (delta12 oleato desaturasa) cataliza la transformación de ácido oleico (C18:1) a ácido linoleico (C18:2); las plantas que tienen una actividad de FAD2 disminuida disfrutan así de mayor contenido de ácido oleico gracias al catabolismo limitado de esta última.

[0004] Por tanto, el documento WO 2004/072259 proporciona una planta de *Brassica napus* que tiene un alto contenido de ácido oleico, en la que su gen *fad2* presenta un codón de parada en lugar de un codón de glutamina (Q) en la posición 185 de FAD2.

[0005] Además, el documento US 2005/0039233 proporciona una planta *Brassica juncea* que tiene un alto contenido de ácido oleico, en la que su gen *fad2* presenta un codón de parada en lugar de un codón de triptófano (W) en la posición 101 de FAD2.

[0006] *Brassica napus* (colza) es un anfidiploide que contiene los genomas de dos ancestros diploides, *Brassica rapa* (el genoma A) y *Brassica oleracea* (el genoma C) (Pires et al., 2004). El contenido de ácido oleico es del 61% para el aceite tradicional de semillas de colza (Stan Skrypetz, 2005).

[**0007**] La presente invención surge en particular del descubrimiento, por los inventores, de cinco mutaciones no reconocidas previamente en los genes *fad2* de plantas *Brassica napus*:
- sustitución de G a A en la posición 269 del gen *fad2A* (gen *fad2* del genoma de *B. rapa*), correspondiente a una sustitución de codón de W a parada en la posición 90 de la proteína fAD2A,
- sustitución de C a T en la posición 346 del gen *fad2A* (gen *fad2* del genoma de *B. rapa*), correspondiente a una sustitución de codón de Q a parada en la posición 116 de la proteína FAD2A,
- sustitución de C a T en la posición 646 del gen *fad2C* (gen *fad2* del genoma de *B. oleracea*), correspondiente a una sustitución de P a S en la posición 216 de la proteína FAD2C,
- sustitución de C a T en la posición 775 del gen *fad2A* (gen *fad2* del genoma de *B. rapa*), correspondiente a una sustitución de P a S en la posición 259 de la proteína FAD2A,
- sustitución de C a T en la posición 827 del gen *fad2A* (gen *fad2* del genoma de *B. rapa*), correspondiente a una sustitución de T a M en la posición 276 de la proteína FAD2A,

que se correlacionan con un alto contenido de ácido oleico de las plantas que los albergan. En particular, el contenido de ácido oleico de estas semillas de colza mutadas varía del 66% al 82%, según las condiciones de cultivo ambientales.

[**0008**] Por lo tanto, la presente solicitud describe una secuencia de ácido nucleico mutada de un ácido nucleico que codifica una enzima delta-12 oleato desaturasa (FAD2) de una planta, en particular una planta *Cruciferae*, en la que dicha secuencia de ácido nucleico mutada comprende la mutación no conservativa de al menos un nucleótido de al menos un codón que representa un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en:
- el aminoácido en la posición 90 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2,
- el aminoácido en la posición 116 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2,
- el aminoácido en la posición 216 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 215 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos,
- el aminoácido en la posición 259 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 258 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos,
- el aminoácido en la posición 276 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 275 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos,

o una secuencia de ácido nucleico homóloga derivada de dicha secuencia de ácido nucleico mutada por sustitución, inserción o deleción de al menos un nucleótido, y que presenta al menos un 90% de homología con dicha secuencia de ácido nucleico mutada, siempre que dicha secuencia de ácido nucleico homóloga presente dicha mutación y no codifice una FAD2 funcional,

o una secuencia de ácido nucleico de hibridación que hibrida en condiciones rigurosas con dicha secuencia de ácido nucleico mutada, siempre que la secuencia complementaria de dicha secuencia de ácido nucleico de hibridación presente dicha mutación y no codifique una FAD2 funcional,
o las secuencias complementarias de dichas secuencia de ácido nucleico mutada, homóloga o de hibridación.

[0009] De este modo, la presente invención se refiere a un ácido nucleico mutado que codifica una enzima delta-12 oleato desaturasa (FAD2) de una planta *Cruciferae*, en el que dicho ácido nucleico mutado consiste en (i) una secuencia que comprende la mutación no conservativa de al menos un nucleótido de al menos un codón que representa un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en:
- el aminoácido en la posición 259 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 258 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, o (ii) la secuencia complementaria de dicha secuencia,
codificando dicho ácido nucleico mutado una FAD2 que tiene una actividad menor que la de la FAD2 natural correspondiente medida en las mismas condiciones.

[0010] La presente invención también se refiere a una planta que tiene una mayor contenido de ácido oleico en comparación con plantas que son genéticamente idénticas excepto por la mutación que se ha definido anteriormente, o una parte de dicha planta, en la que la planta o dicha parte de la planta comprende al menos un ácido nucleico según la invención, que codifica una enzima FAD2 que tiene una actividad menor que la de la correspondiente FAD2 natural medida en las mismas condiciones.

[0011] La presente invención también se refiere al uso de un ácido nucleico según la invención para la selección de plantas, o parte de las plantas, que tiene un mayor contenido de ácido oleico en comparación con plantas que son genéticamente idénticas excepto por la mutación que se ha definido anteriormente.

[**0012**] La presente invención también se refiere a un procedimiento para seleccionar plantas que tienen un mayor contenido de ácido oleico en comparación con plantas que son genéticamente idénticas excepto por la mutación que se ha definido anteriormente, por mutagénesis, que comprende las siguientes etapas:
- someter una planta o parte de una planta a un tratamiento mutagénico,
- regenerar plantas, o parte de las plantas, a partir de dicha planta o parte de una planta tratadas,
- seleccionar a partir de las plantas regeneradas las que comprenden al menos un ácido nucleico según la invención.

[0013] La presente invención también se refiere a un kit para la selección de plantas que tienen un alto contenido de ácido oleico, que comprende:
i) al menos una planta, o parte de planta, que comprende un ácido nucleico según la invención, y
ii) al menos un ácido nucleico seleccionado del grupo que consiste en:
- un fragmento de ácido nucleico de un ácido nucleico mutado según la invención que comprende al menos 10 nucleótidos y comprende al menos un nucleótido contiguo a al menos un codón que representa el aminoácido en la posición 259 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 258 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, o la secuencia complementaria de dicho fragmento de ácido nucleico,
- un fragmento de ácido nucleico de un ácido nucleico mutado según la invención que comprende al menos 10 nucleótidos incluyendo el nucleótido mutado, y comprende al menos un nucleótido contiguo a al menos un codón que representa el aminoácido en la posición 259 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 258 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, o la secuencia complementaria de dicho fragmento de ácido nucleico,
- un fragmento de ácido nucleico seleccionado del grupo constituido por SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 3.

[**0014**] La presente invención también se refiere a una enzima FAD2 mutada de la planta codificada por una secuencia de ácido nucleico mutada según la invención.

[0015] La presente invención también se refiere a un anticuerpo específico para una enzima FAD2 mutada de una planta según la invención.

[0016] La presente invención también se refiere a un ácido nucleico seleccionado del grupo constituido por SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 38.

[**0017**] El porcentaje de homología de una secuencia de ácido nucleico dada con respecto a la secuencia de ácido nucleico mutada se calcula contando el número de nucleótidos idénticos entre dicha secuencia de ácido nucleico dada y la secuencia de ácido nucleico mutada para todas las posiciones de una alineación de secuencias óptimo de dichoa secuencia de ácido nucleico dada y la secuencia de ácido nucleico mutada y dividiendo este número por el número total de nucleótidos de dicha secuencia dada.

[0018] La alineación de secuencias óptima se pueden producir manualmente, opcionalmente mediante la introducción de huecos entre los nucleótidos, o mediante el uso de herramientas de alineación basadas en ordenador, tales como BLAST (Altschul et al (1997) Nucleic Acids Res. 25: 3389-402).

[0019] "Condiciones rigurosas" para una secuencia de ácido nucleico dada pueden determinarse fácilmente por el experto en la técnica, por ejemplo, tal como se describe en Sambrook et al. (2001). Las condiciones rigurosas particulares comprenden en particular 15 mM NaCl/1,5 mM citrato de sodio (0,1 X SSC) y lauril sulfato de sodio (SDS) al 0,1% a 50-65ºC.

[0020] Tal como se pretende en el presente documento, FAD2 de *Cruciferae* normalmente está constituida por 383 o 384 aminoácidos. Sin embargo, está dentro de la capacidad de un experto en la materia adaptar las posiciones dadas para las mutaciones definidas anteriormente a FAD2 que tiene más o menos de 383 o 384 aminoácidos.

[0021] Una alineación de ejemplo de secuencias de FAD2 de diversas especies de *Cruciferae* se proporciona en la figura 14.

[0022] Tal como se pretende en el presente documento, una secuencia de ácido nucleico que "no codifica una FAD2 funcional" se refiere a una secuencia de ácido nucleico que codifica una FAD2 que tiene una actividad menor que la de la FAD2 natural correspondiente medida en las mismas condiciones, en particular la FAD2 codificada no tiene actividad.

[0023] Ventajosamente, las plantas mutantes que llevan ácidos nucleicos con las mutaciones definidas anteriormente tienen un mayor contenido de ácido oleico en comparación con plantas de otro modo genéticamente idénticas (es decir, plantas que son genéticamente idénticas, excepto por dichas mutaciones) y a las correspondientes plantas de tipo silvestre. Preferiblemente, las plantas mutantes que llevan ácidos nucleicos con las mutaciones definidas anteriormente tienen un contenido de ácido oleico de al menos 65%, más preferiblemente de al menos 70%.

[0024] La solicitud también describe una secuencia de ácido nucleico mutada como se define anteriormente, en la que dicha secuencia de ácido nucleico mutada comprende al menos una mutación seleccionada de:
- una sustitución del codón que representa el aminoácido en la posición 90 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 por un codón de parada,
- una sustitución del codón que representa el aminoácido en la posición 116 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 por un codón de parada,
- una sustitución del codón que representa el aminoácido en la posición 216 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 215 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, por un codón que representa cualquier aminoácido diferente de P,
- una sustitución del codón que representa el aminoácido en la posición 259 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 258 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, por un codón que representa cualquier aminoácido diferente de P,
- una sustitución del codón que representa el aminoácido en la posición 276 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 275 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, por cualquier aminoácido diferente de T.

[0025] La solicitud también describe una secuencia de ácido nucleico mutada tal como se define anteriormente, en la que:
- el codón que representa el aminoácido en la posición 216 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 215 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, está sustituido por un codón que representa S,
- el codón que representa el aminoácido en la posición 259 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 258 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, está sustituido por un codón que representa S,
- el codón que representa el aminoácido en la posición 276 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o por lo la posición 275 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, está sustituido por un codón que representa M.

[0026] En una realización preferida de la secuencia de ácido nucleico mutada anteriormente definida, la planta es del género *Brassica*.

[0027] Como se describe en el presente documento, la secuencia de ácido nucleico mutada puede ser representada por la SEQ ID NO: 22 y comprende al menos una mutación seleccionada del grupo constituido por:
- sustitución G a A en la posición 269 de la SEQ ID NO: 22,
- sustitución C a T en la posición 346 de la SEQ ID NO: 22,
- sustitución C a T en la posición 646 de la SEQ ID NO: 22,
- sustitución C a T en la posición 775 de la SEQ ID NO: 22,
- sustitución C a T en la posición 827 de la SEQ ID NO: 22,

[**0028**] Tal como se describe en el presente documento, la secuencia de ácido nucleico mutada se puede seleccionar del grupo constituido por:
SEQ ID NO: 24;
SEQ ID NO: 26;
SEQ ID NO: 28;
SEQ ID NO: 30;
SEQ ID NO: 32.
SEQ ID NO: 24 representa el gen *fad2A* de *B. napus* (es decir, el gen *fad2* del genoma de *B. rapa*) que alberga una sustitución de G a A en la posición 269, que corresponde a una sustitución de codón de W a parada en la posición 90 de la proteína FAD2A. Esta mutación se encuentra en particular en la línea de semilla de colza sobreproductora de ácido oleico indicada como 'HOR4' en el siguiente Ejemplo. 'HOR4' ha sido depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41403.
SEQ ID NO: 26 representa el gen *fad2A* de B. napus que alberga una sustitución de C a T en la posición 346, que corresponde a una sustitución de codón Q a parada en la posición 116 de la proteína FAD2A. Esta mutación se encuentra en particular en la línea de semilla de colza sobreproductora de ácido oleico indicada como 'HOR3' en el siguiente Ejemplo. 'HOR3' ha sido depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41402.
SEQ ID NO: 28 representa el gen *fad2C* de *B. napus* (es decir, el gen *fad2* del genoma de *B. oleracea*) que alberga una sustitución de C a T en la posición 646, que corresponde a una sustitución de P a S en la posición 216 de la proteína FAD2C. Esta mutación se encuentra en particular en la línea de semilla de colza sobreproductora de ácido oleico indicada como 'HOR1' en el siguiente Ejemplo. 'HOR1' ha sido depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41400.
SEQ ID NO: 30 representa el gen *fad2A* de *B. napus* que alberga una sustitución de C a T en la posición 775, que corresponde a una sustitución de P a S en la posición 259 de la proteína FAD2A. Esta mutación se encuentra en particular en la línea de semilla de colza sobreproductora de ácido oleico indicada como 'HOR1' en el siguiente Ejemplo.
SEQ ID NO: 32 representa el gen *fad2A* de *B. napus* que alberga una sustitución de C a T en la posición 827, que corresponde a una sustitución de T a M en la posición 276 de la proteína FAD2A. Esta mutación se encentra en particular en la línea de semilla de colza sobreproductora de ácido oleico indicada como 'HOR2' en el siguiente Ejemplo. 'HOR2' ha sido depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41401.

[0029] La presente solicitud también describe un fragmento de ácido nucleico de un ácido nucleico mutado, tal como se define anteriormente, comprendiendo dicho fragmento al menos 10, preferiblemente al menos 100, más preferiblemente al menos 1000 nucleótidos, y que comprende al menos un nucleótido contiguo a al menos un codón que representa un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en:
- el aminoácido en la posición 90 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2,
- el aminoácido en la posición 116 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2,
- el aminoácido en la posición 216 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 215 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos,
- el aminoácido en la posición 259 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 258 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos,
- el aminoácido en la posición 276 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 275 cuando dichoa secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos,
o la secuencia complementaria de dicho fragmento de ácido nucleico.

[0030] Como se describe en el presente documento, el fragmento de ácido nucleico definido anteriormente puede comprender el nucleótido mutado.

[0031] Como se describe en el presente documento, el fragmento de ácido nucleico definido anteriormente puede ser seleccionado del grupo constituido por SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 34 y SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 7.

[**0032**] La presente solicitud también describe una planta, preferiblemente una planta *Cruaferae*, más preferiblemente una planta del género *Brassica*, y aún más preferiblemente una planta de la especie *Brassica napus*, que tiene un mayor contenido de ácido oleico, o una parte de dicha planta, en la que la planta comprende al menos una secuencia de ácido nucleico mutada, tal como se define anteriormente, o un fragmento de ácido nucleico, tal como se define anteriormente, que comprende el nucleótido mutado.

[0033] Tal como se pretende en el presente documento, una parte de la planta se refiere en particular a una célula, una semilla, un meristemo, una cal, una inflorescencia, un brote o una hoja de planta.

[**0034**] En una realización particular de la planta anteriormente definida, o parte de la planta, al menos una copia del

gen *fad2* que está comprendido en el genoma de dicha planta está representada por un ácido nucleico mutado tal como se define anteriormente.

[0035] En otra realización particular de la planta anteriormente definida, o parte de la planta, cada copia del gen *fad2* que está comprendido en el genoma de dicha planta está representada por un ácido nucleico mutado tal como se define anteriormente.

[0036] La solicitud también describe la planta anteriormente definida, o parte de la planta, en la que:
- una copia del gen *fad2A* está representada por la SEQ ID NO: 30 y una copia del gen fad2C está representada por la SEQ ID NO: 28, o
- una copia del gen *fad2A* está representada por la SEQ ID NO: 32, o
- una copia del gen *fad2A* está representada por la SEQ ID NO: 26, o
- una copia del gen *fad2A* está representada por la SEQ ID NO: 24.

[0037] Tal como se describe en el presente documento, la planta anteriormente definida, o parte de la planta, puede ser una planta de la especie *Brassica napus*, en la que ambas copias del gen *fad2A* están representadas de forma independiente por la SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 30 o SEQ ID NO: 32, y/o ambas copias del gen *fad2C* están representadas por la SEQ ID NO: 28.

[0038] Tal como se describe en el presente documento, la planta anteriormente definida, o parte de la planta, puede seleccionarse del grupo constituido por:
- la planta depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41403;
- la planta depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41402;
- la planta depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41400;
- la planta depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41401.

[**0039**] La presente solicitud también describe el uso de un ácido nucleico, tal como se define anteriormente, para la selección de plantas, o parte de las plantas, que tiene un mayor contenido de ácido oleico.

[0040] La presente solicitud también describe un procedimiento para la selección de plantas que tienen un mayor contenido de ácido oleico por mutagénesis, que comprende las siguientes etapas:
- someter una planta o parte de una planta a un tratamiento mutagénico,
- regenerar plantas, o parte de las plantas, a partir de dicha planta o parte de una planta tratadas,
- seleccionar a partir de las plantas regeneradas las que comprenden al menos una secuencia de ácido nucleico mutada, tal como se define anteriormente, o un fragmento de ácido nucleico, tal como se define anteriormente, que comprende el nucleótido mutado.

[**0041]** La mutagénesis puede llevarse a cabo según procedimientos bien conocidos por el experto en la técnica, tales como los descritos en McCallum et al. (2000). En particular, la mutagénesis se lleva a cabo usando metanosulfonato de etilo (EMS).

[0042] La regeneración de plantas a partir de partes de la planta, tales como células, puede llevarse a cabo según procedimientos bien conocidos por el experto en la técnica, tales como los descritos en Herman (2005).

[0043] La presente solicitud también describe un procedimiento para la selección de plantas que tienen un mayor contenido de ácido oleico mediante cruzamiento, que comprende las siguientes etapas:
- cruzar una planta, o parte de una planta, con una planta parental, o parte de una planta parental, que comprende al menos una secuencia de ácido nucleico mutada, tal como se define anteriormente, o un fragmento de ácido nucleico, tal como se define anteriormente, que comprende el nucleótido mutado,
- seleccionar a partir de las plantas de la progenie, o parte de las plantas, obtenidas mediante cruzamiento, las que comprenden al menos una secuencia de ácido nucleico mutada, tal como se define anteriormente, o un fragmento de ácido nucleico, tal como se define anteriormente, que comprende el nucleótido mutado.

[0044] El cruzamiento puede llevarse a cabo según procedimientos bien conocidos por el experto en la técnica, tales como los descritos en Gallais (1997).

[**0045**] Tal como se pretende en el presente documento, "progenie" se refiere en particular a las plántulas de las plantas cruzadas. Se describe un procedimiento para seleccionar plantas que tienen un mayor contenido de ácido oleico mediante cruzamiento, la planta parental se obtiene según el procedimiento anteriormente definido para la selección de plantas que tienen un mayor contenido de ácido oleico mediante mutagénesis.

[**0046**] En un aspecto del procedimiento anteriormente definido para la selección de plantas que tienen un mayor contenido de ácido oleico mediante cruzamiento, la planta parental, o parte de la planta parental, se selecciona del grupo constituido por:
- la planta depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41403;
- la planta depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41402;

- la planta depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41400;
- la planta depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41401.

[**0047]** En particular, las siguientes técnicas pueden usarse en la etapa de selección de los procedimientos de selección anteriormente definidos: técnicas de PCR, tales como ensayo TaqMan® (PCR de tiempo real) o PCR específica de alelo, transferencia Northern o Southern, micro-array o macro-array de ADN, balizas moleculares, DASH (hibridación dinámica específica de alelo), extensión del cebador, ligadura de oligonucleótidos y escisión por endonucleasa.

[0048] En una realización de los procedimientos definidos anteriormente para la selección de las plantas, la etapa de selección se realiza por reacción en cadena de la polimerasa (PCR), preferiblemente con al menos de uno de los siguientes pares de cebadores:
- SEQ ID NO: 12 y SEQ ID NO: 13 ,
- SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15,
- SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17,
- SEQ ID NO: 34 y SEQ ID NO: 36,
- SEQ ID NO: 35 y SEQ ID NO: 36,
- SEQ ID NO: 37 y SEQ ID NO: 13,
- SEQ ID NO: 38 y SEQ ID NO: 14,
- SEQ ID NO: 39 y SEQ ID NO: 36.

[0049] La presente solicitud también describe una planta obtenible según los procedimientos anteriormente definidos para la selección de plantas.

[0050] La presente solicitud también describe un kit para la selección de plantas que tienen un alto contenido de ácido oleico, que comprende:
- al menos una planta, o parte de una planta, que comprende al menos una secuencia de ácido nucleico mutada, tal como se define anteriormente, o un fragmento de ácido nucleico, tal como se define anteriormente, que comprende el nucleótido mutado,
- al menos un fragmento de ácido nucleico, tal como se define anteriormente.

[0051] Tal como se describe en el presente documento, el kit definido anteriormente puede comprender:
• al menos una planta, o parte de una planta, seleccionada del grupo constituido por
- la planta depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41403;
- la planta depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41402;
- la planta depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41400;
- la planta depositada en la NCIMB (Aberdeen, Escocia) el 17 de mayo de 2006 bajo el número de acceso 41401;
• al menos uno de los siguientes pares de cebadores:
- SEQ ID NO: 12 y SEQ ID NO: 13,
- SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15,
- SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17.
- SEQ ID NO: 34 y SEQ ID NO: 36,
- SEQ ID NO: 35 y SEQ ID NO: 36,
- SEQ ID NO: 37 y SEQ ID NO: 13,
- SEQ ID NO: 38 y SEQ ID NO: 14,
- SEQ ID NO: 39 y SEQ ID NO: 36.

[0052] La presente solicitud también describe una FAD2 mutada de la planta codificada por una secuencia de ácido nucleico mutada, tal como se define anteriormente.

[0053] La presente solicitud también describe un ácido nucleico seleccionado del grupo constituido por SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO : 38, SEQ ID NO: 39.

[0054] La presente solicitud también describe a un anticuerpo específico para una enzima delta-12 oleato desaturasa (FAD2) mutada de la planta, tal como se define anteriormente.

[**0055**] Tal como se pretende en el presente documento, "anticuerpo" también abarca fragmentos de anticuerpos, tales como Fab, $F(ab)'_2$, o fragmentos scFv. Dicho anticuerpo se puede preparar fácilmente por el experto en la técnica a partir de las enzimas delta-12 oleato desaturasa mutadas según la invención mediante los siguientes procedimientos estándar. En una realización preferida de la invención, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. Los anticuerpos según la invención son especialmente útiles para detectar las enzimas delta-12 oleato desaturasa mutadas según la invención, en particular en los extractos celulares de las plantas.

Breve descripción de los dibujos

[0056]

La **figura 1** muestra secuencias de nucleótidos genómicas parciales del gen *fad2A* (gen *fad2* del genoma de *B. rapa*) clonadas de líneas “LLR1” (líneas “LLR1#S007” y “LLR1#PR-2601”) y líneas “HOR1” (líneas “HOR1#S005”, “HOR1#B005” y “HOR1#NPZ-12”). La parte superior es la secuencia "LLR1" (SEQ ID NO: 1) y la parte inferior es la secuencia "HOR1" (SEQ ID NO: 3). La flecha indica una mutación de un único nucleótido de C a T, que da como resultado una modificación de aminoácido. Los cebadores directo e inverso para el marcador específico de alelo mutante basado en PCR están en negrita y subrayados.

La **figura 2** muestra secuencias de nucleótidos genómicas parciales del gen *fad2C* (gen *fad2* del genoma de *B. oleracea*) clonadas de líneas “LLR1” (líneas “LLR1#S007” y “LLR1#PR-2601”) y líneas “HOR1” (líneas “HOR1#S005”, “HOR1#B005” y “HOR1#NPZ-12”). La parte superior es la secuencia "LLR1" (SEQ ID NO: 2) y la parte inferior es la secuencia "HOR1" (SEQ ID NO: 4). La flecha indica una mutación de un único nucleótido de C a T, que da como resultado una modificación de aminoácido. Los cebadores directo e inverso para el marcador específico de alelo mutante basado en PCR están en negrita y subrayados.

La **figura 3** muestra secuencias de nucleótidos genómicas parciales del gen *fad2A* (gen *fad2* del genoma de *B. rapa*) clonadas de líneas “LLR1” (líneas “LLR1#S007” y “LLR1#PR-2601”) y líneas “HOR2”. La parte superior es la secuencia "LLR1" (SEQ ID NO: 1) y la parte inferior es la secuencia "HOR2" (SEQ ID NO: 5). La flecha indica una mutación de un único nucleótido de C a T, que da como resultado una modificación de aminoácido. Los cebadores directo e inverso para el marcador específico de alelo mutante basado en PCR están en negrita y subrayados.

La **figura 4** muestra secuencias de nucleótidos genómicas parciales del gen *fad2A* (gen *fad2* del genoma de *B. rapa*) clonadas de líneas “LLR1” (líneas “LLR1#S007” y “LLR1#PR-2601”) y líneas “HOR3”. La parte superior es la secuencia "LLR1" (SEQ ID NO: 1) y la parte inferior es la secuencia "HOR3" (SEQ ID NO: 6). La flecha indica una mutación de un único nucleótido de C a T, que da como resultado un codon de parade (TAG) sombreado en gris. Los cebadores directo e inverso para el marcador específico de alelo mutante basado en PCR están en negrita y subrayados.

La **figura 5** muestra secuencias de nucleótidos genómicas parciales del gen *fad2A* (gen *fad2* del genoma de *B. rapa*) clonadas de líneas “LLR1” (líneas “LLR1#S007” y “LLR1#PR-2601”) y líneas “HOR4”. La parte superior es la secuencia "LLR1" (SEQ ID NO: 1) y la parte inferior es la secuencia "HOR4" (SEQ ID NO: 7). La flecha indica una mutación de un único nucleótido de G a A, que da como resultado un codon de parade (TAG) sombreado en gris. Los cebadores directo e inverso para el marcador específico de alelo mutante basado en PCR están en negrita y subrayados.

La **figura 6** proporciona secuencias de aminoácidos de los genes *fad2A*, degeneradas a partir de la secuencia de nucleótidos genómica clonada de líneas “LLR1”, “HOR1”, un gen *fad2* de *B. rapa* publicado y un gen *fad2* de *B. napus* publicado. La flecha indica la posición de la sustitución de aminoácido (P a S) que resulta de una mutación de un único nucleótido (C a T) en la línea “HOR1”.

La **figura 7** proporciona secuencias de aminoácidos de los genes *fad2C*, degeneradas a partir de la secuencia de nucleótidos genómica clonada de líneas “LLR1”, líneas “HOR1”, un gen fad2 de B. oleracea publicado y un gen fad2 de B. napus publicado. La flecha indica la posición de la sustitución de aminoácido (P a S) que resulta de una mutación de un único nucleótido (C a T) en la línea “HOR1”.

La **figura 8** proporciona secuencias de aminoácidos de los genes *fad2A*, degeneradas a partir de la secuencia de nucleótidos genómica clonada de líneas “LLR1”, líneas “HOR2”, un gen *fad2* de *B. rapa* publicado y un gen *fad2* de *B. napus* publicado. La flecha indica la posición de la sustitución de aminoácidos (T a M) que resulta de una mutación de un único nucleótido (C a T) en la línea “HOR2”.

La **figura 9** proporciona secuencias de aminoácidos de los genes *fad2A*, degeneradas a partir de la secuencia de nucleótidos genómica clonada de líneas “LLR1”, líneas “HOR3”, un gen *fad2* de *B. rapa* publicado y un gen *fad2* de *B. rapa* publicado. La flecha indica la posición del codón de parada resultante de una mutación de un único nucleótido (C a T) en la línea “HOR3”.

La **figura 10** proporciona secuencias de aminoácidos de los genes *fad2A*, degeneradas a partir de la secuencia de nucleótidos genómica clonada de líneas “LLR1”, líneas “HOR4”, un gen *fad2* de *B. rapa* publicado y un gen *fad2* de *B. rapa* publicado. La flecha indica la posición del codón de terminación resultante de una mutación de un único nucleótido (G a A) en la línea “HOR4”.

La **figura 11** proporciona resultados de electroforesis de productos de PCR amplificados a partir de marcadores mutantes específicos de alelo para el gen *fad2A* (194 pb) y del gen *fad3* (control de PCR interno, 57 pb) de una de las 6 poblaciones de DH. M, escalera de ADN de 25 pb; carril 1, “LLR1#S007”; carril 2, “HOR1#S005”; carril 3-23, líneas DH del cruzamiento de “LLR1#S007” y “HOR1#S005”; carril 24: control del agua. Los productos de PCR se separaron por electroforesis en un gel de agarosa al 2,5% y se tiñeron con bromuro de etidio.

La **figura 12** proporciona resultados de electroforesis de productos de PCR amplificados a partir de marcadores mutantes específicos de alelo para el gen *fad2C* (123 pb) y del gen *fad3* (control de PCR interno, 57 pb) de una de las 6 poblaciones de DH. M, escalera de ADN de 25 pb; carril 1, “LLR1#S007”; carril 2, “HOR1#S005”; carril 3-23, líneas DH del cruzamiento de “LLR1#S007” y “HOR1#S005”; carril 24: control del agua. Los productos de PCR se separaron por electroforesis en un gel de agarosa al 2,5% y se tiñeron con bromuro de etidio.

La **figura 13** proporciona un histograma que muestra la correlación de los marcadores específicos de alelo mutantes y el contenido de ácido oleico en ensayos de campo e invernadero.

La **figura 14** proporciona una alineación de secuencias de FAD2 de diferentes especies de *Brassica* y de *Arabidopsis thaliana*. Las especies, números de acceso y nombres communes se indicant a continuación:

	Género y especie	Número de acceso de secuencia	Nombre común
1	*Brassica rapa*	CAG26981	Nabo salvaje
2	*Brassica rapa*	CAD30827	Nabo salvaje
3	*Brassica napus*	AAS92240	Semilla de colza
4	*Brassica rapa*	AAC99622	Nabo salvaje
5	*Brassica napus*	AAT02411	Semilla de colza
6	*Brassica napus*	AAF78778	Semilla de colza
7	*Brassica oleracea*	AAF14564	Col
8	*Brassica carinata*	AAD19742	Mostaza etíope
9	*Arabidopsis thaliana*	NP8187819	Arabis

EJEMPLO

Material y procedimientos

1. Material Vegetal

[**0057]** En este estudio se utilizaron líneas de semillas de colza de invierno “LLR1#S007” (tipo salvaje), “LLR1#PR-2601” (tipo salvaje), “HOR1#S005” (de tipo mutante), “HOR1#B005” (de tipo mutante), “HOR1#NPZ-12” (de tipo mutante), “HOR2” (de tipo mutante), “HOR3” (de tipo mutante) y “HOR4” (de tipo mutante) para la clonación de alelos de *fad2* (ácido graso desaturasa-2) .

[**0058]** “HOR1#S005”, “HOR1#B005” y “HOR1#NPZ-12” se han obtenido mediante el cruzamiento de una línea mutante con metanosulfonato de etilo (EMS) de “HOR1” con tres líneas de semillas de colza clásicos (S005, B005 y NPZ-12); estas tres líneas mutantes tienen un contenido de ácido oleico en aproximadamente 80 a 90%.

[**0059**] “LLR1#S007” y “LLR1#PR-2601” son líneas de semilla de colza con contenido de ácido oleico a aproximadamente 60%.

[**0060**] “HOR2”, “HOR3” y “HOR4” son tres líneas mutantes con EMS más independientes con contenido de ácido oleico a aproximadamente 75 a 85%.

[**0061**] Se desarrollaron seis poblaciones de dobles haploides (DH) mediante cultivo de microsporas de plantas F1 de cruzamientos entre (Coventry et al., 1988):
(1) las líneas de semilla de colza “LLR1#S007” y “HOR1#S005”,
(2) las líneas de semilla de colza “LLR1#PR-2601” y “HOR1#NPZ-12”,
(3) las líneas de semilla de colza “LLR1#S007” y “HOR1#B005”,
(4) las líneas de semilla de colza “LLR1#S007” y “HOR1#NPZ-12”,
(5) las líneas de semilla de colza “LLR1#PR-2601” y “HOR1#B005”,
(6) las líneas de semilla de colza “LLR1#PR-2601” y “HOR1#S005”.

[0062] Cada población de DH comprendía 64, 32, 115, 72, 63 y 53 líneas respectivamente. Un análisis de ácidos grasos completo de las semillas de las líneas DH y sus respectivos padres se implementó mediante el uso de cromatografía de gases. Todas las 399 líneas de DH se utilizaron para análisis de marcador y estadístico. No se ha producido población de DH con las líneas mutantes “HOR2”, “HOR3” y “HOR4”.

2. Extracción y cuantificación de ADN genómico

[0063] Se extrajo el ADN de ambas líneas parentales y 399 líneas DH de hojas de plantas de 2 semanas de vida cultivadas en el campo utilizando un procedimiento basado en CTAB modificado de Dellaporta et al. (1983). Se utilizó la absorbancia a 260 nm para la cuantificación de ADN. En una placa de microtitulación para UV, se añadieron 195 µl de agua ultrapura estéril en cada pocillo y después se añadieron 5 µl de cada muestra de ADN. A continuación, la placa se agitó brevemente y se leyó usando el espectrofotómetro de microplacas Spectra Max M2 de Molecular Devices.

3. Amplificación por PCR

[**0064**] Las reacciones de amplificación por PCR utilizados para la clonación de alelos de *fad2* contenían 3-4 ng/µl de ADN genómico, 1,25 µM de cada cebador, 2,5 mM de $MgCl_2$, 0,3 mM de cada dNTP, 1 X tampón PCR y 0,12U/µl de Taq ADN polimerasa. Las amplificaciones se realizaron en un sistema PCR PTC-225 MJResearch programado para

30 ciclos de 30 segundos a 94ºC, 30 s a 60ºC, 30 s a 72ºC y terminando con 5 min a 72ºC.

[0065] Para el genotipado de las 399 DH, se ha desarrollado un marcador interno de PCR para controlar la eficiencia de la PCR. Se han diseñado un par de cebadores (SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11) en el gen *fad3* para amplificar un fragmento de 57 pb. Las reacciones de amplificación por PCR utilizadas para el genotipado de las 399 líneas de DH contenían 3-4 ng/µl de ADN genómico, 0,625 µM de cada cebador (SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11), 1,5 mM de $MgCl_2$, 0,3 mM de cada dNTP, 1 X tampón PCR y 0,06 U/µl de Taq ADN polimerasa. Las amplificaciones se realizaron en un sistema PCR PTC-225 MJResearch programado para 30 ciclos de 30 segundos a 94ºC, 30 segundos a 60ºC, 10 segundos a 72ºC y terminando con 5 min a 72ºC.

4. Clonación de alelos de *fad2*

[0066] Los fragmentos *fad2* de las líneas parentales "LLR1#S007", "LLR1#PR-2601", "HOR1#S005", "HOR1#B005", "HOR1#NPZ-12", "HOR2", "HOR3" y "HOR4" se amplificaron mediante el uso de cebadores diseñados con el software Primer 3 en la secuencia de genes *fad2* de acceso de GenBank AY577313. Los fragmentos *fad2* amplificados a partir de cada uno de los parentales por los cebadores FAD2BnF1 y FAD2BnR1 se ligaron al vector de clonación pGEM®-T Easy utilizando un kit pGEM®-T Easy Vector System (Promega Corp., Madison, EE.UU.) según las instrucciones del fabricante. Los productos ligados se transformaron en células competentes y las células se emplacaron en placas con LB-agar que contenían ampicilina, X-GAL y IPTG para permitir la selección blanco/azul. Las colonias blancas en las placas de transformación se seleccionaron y se verificó la identificación de la productos de la PCR clonados mediante PCR usando cebadores directo e inverso M13 universales que flanqueaban el fragmento de inserto. La PCR reveló el fragmento de inserto del tamaño esperado. Los clones positivos que contenían el inserto se secuenciaron mediante Genome Express (Meylan, Francia).

5. Identificación de mutaciones en los genes *fad2*

[0067] Haciendo referencia a las **figuras 1-5**, se utilizaron los cebadores diseñados con el software Primer 3 en la secuencia de genes *fad2* de acceso de GenBank AY577313 para amplificar fragmentos de ADN genómico del gen *fad2* de las líneas de *B. napus* "LLR1#S007", "LLR1#PR-2601", "HOR1#S005", "HOR1#B005", "HOR1#NPZ-12", "HOR2", "HOR3" y "HOR4". El par de cebadores FAD2BnF1: AGTGTCTCCTCCCTCCAAAAA (SEQ ID NO: 8) y FAD2BnR1: TCTTCTCACCTTGCCTGTCC (SEQ ID NO: 9) amplificó un fragmento *fad2* de la misma longitud (1.100 pb) a partir de cada uno de los seis parentales Los fragmentos amplificados se clonaron a continuación y se secuenciaron para investigar las diferencias en la secuencia del gen *fad2* entre los cinco parentales.

6. Análisis de secuencias y de datos

[**0068**] Se analizaron las secuencias y se alinearon utilizando el software Clustal W (Kyoto University Bioinformatics Center) y Genedoc (Nicholas et al., 1997). La asociación de ligamiento entre los marcadores y el rasgo de alto contenido de oleico se determinó mediante análisis de la prueba t.

Resultados

[0069] En este estudio, se secuenciaron 7 clones de "LLR1" ("LLR1#S007" y "LLR1#PR-2601"), 12 clones de "HOR1" ("HOR1#S005", "HOR1#B005" y "HOR1#NPZ-12"), 12 clones de "HOR2", 20 clones de "HOR3" y 20 clones de "HOR4". Se identificó la alineación de la secuencia de estos clones con secuencias *fad2* de *B. rapa* y *B. oleracea* encontradas en bases de datos públicas:
(1) dos genes *fad2* procedentes de *B. rapa* (*fad2A*) y *B. oleracea* (*fad2C*) para las líneas "HOR1",
(2) un gen *fad2* procedente de *B. rapa* (*fad2A*) para la línea "HOR2",
(3) un gen *fad2* procedente de *B. rapa* (*fad2A*) para la línea "HOR3" y
(4) un gen *fad2* procedente de *B. rapa* (*fad2A*) para la línea "HOR4".

[**0070**] Para las líneas "HOR1", el análisis de la secuencia identificó una mutación de un único nucleótido en cada gen *fad2*.

[**0071**] La mutación de un único nucleótido en el gen *fad2A*, C a T, en la posición 752 del fragmento amplificado (es decir, la posición 775 en el gen fad2A de longitud completa) apareció en la secuencia del gen *fad2A* de todos los clones de "HOR1" ("HOR1#S005", "HOR1#B005" y "HOR1#NPZ-12") (SEQ ID NO: 3), pero no los 'clones "LLR1" ("LLR1#S007" y "LLR1#PR-2601") (SEQ. ID NO: 1) (véase la **figura 1**).

[**0072**] La mutación de un único nucleótido en el gen *fad2C*, C a T, en la posición 623 del fragmento amplificado (es decir, la posición 646 en el gen fad2C de longitud completa) apareció en la secuencia del gen *fad2C* de todos los clones de "HOR1" ("HOR1#S005", "HOR1#BO05" y "HOR1#NPZ-12") (SEQ ID NO: 4), pero no los clones "LLR1" ("LLR1#S007" y "LLR1#PR-2601") (SEQ . ID NO: 2) (véase la **figura 2**).

[0073] El análisis adicional indicó que estas mutaciones de un único nucleótido aparecieron en la secuencia de codificación de ambos genes *fad2A* y *fad2C* (véanse las **figuras 6-7**). Como se muestra además en las **figuras 1-2** y

las **figuras 6-7**, las mutaciones de C a T en los genes *fad2A* y *fad2C* aparecieron en el primer nucleótido de un codón que daba como resultado la sustitución de una prolina (P) a serina (S) en el aminoácido 259 y 216, respectivamente. Después de anotación de la proteína usando TMHMM server v. 2.0 (predicción de dominios transmembrana, dominios extracelulares e intracelulares), la sustitución de prolina (P) a serina (S) en la proteína FAD2A ha sido localizada en un dominio extracelular, mientras que la sustitución de prolina (P) a serina (S) en la proteína FAD2C se ha encontrado en un dominio transmembrana. La prolina es un aminoácido no polar que tiende a residir en el centro de la proteína, mientras que la serina es un aminoácido polar y relativamente hidrófobo que tiende a estar presente en la superficie de una proteína. Estas propiedades diferentes podrían conducir a una modificación estructural de las proteínas FAD2A y FAD2C resultantes en una delta 12 oleato desaturasa no activa.

[**0074**] Para la línea de "HOR2", el análisis adicional identificó una mutación de un único nucleótido en el gen *fad2A*. La mutación de un único nucleótido en el gen *fad2A*, C a T, en la posición 804 del fragmento amplificado (es decir, la posición 827 en el gen fad2A de longitud completa) apareció en la secuencia del gen *fad2A* de todos los clones de "HOR2" (SEQ ID NO: 5), pero no los clones de "LLR1" ("LLR1#S007" y "LLR1#PR-2601") (SEQ ID NO: 1.) (véase la **figura 3**). El análisis adicional indicó que esta mutación de un único nucleótido apareció en la secuencia de codificación del gen *fad2A* (véase la **figura 8**). Como se muestra además en la **figura 3** y la **figura 8**, la mutación de C a T en el gen *fad2A* apareció en el segundo nucleótido de un codón que daba como resultado la sustitución de una treonina (T) a metionina (M) en el aminoácido 276. Después de anotación de la proteína usando TMHMM server v. 2.0 (predicción de dominios transmembrana, dominios extracelulares e intracelulares), la sustitución de treonina (T) a metionina (M) en la proteína FAD2A ha sido localizada en un dominio extracelular. La metionina (M) es un aminoácido no polar que tiende a residir en el centro de la proteína, mientras que la treonina (T) es un aminoácido polar y relativamente hidrófobo que tiende a estar presente en la superficie de una proteína. Estas propiedades diferentes podrían conducir a una modificación estructural de las proteína FAD2A resultante en una delta 12 oleato desaturasa no activa.

[**0075**] Para la línea de "HOR3", el análisis adicional identificó una mutación de un único nucleótido en el gen *fad2A*. La mutación de un único nucleótido en el gen *fad2A*, C a T, en la posición 323 del fragmento amplificado (es decir, la posición 346 en el gen fad2A de longitud completa) apareció en la secuencia del gen *fad2A* de todos los clones de "HOR3" (SEQ ID NO: 6), pero no los clones de "LLR1" ("LLR1#S007" y "LLR1#PR-2601") (SEQ ID NO: 1.) (véase la **figura 4**). El análisis adicional indicó que esta mutación de un único nucleótido apareció en la secuencia de codificación del gen *fad2A* (véase la **figura 9**). Como se muestra además en la **figura 4** y la **figura 9**, la mutación de C a T en el gen *fad2A* apareció en el primer nucleótido de un codón que creaba un codón de parada (TAG) que causa la terminación temprana de la cadena del polipéptido durante la traducción. El codón de parada da lugar a la incorporación de solamente 115 aminoácidos en el polipéptido en lugar de los 384 aminoácidos del polipéptido de longitud completa.

[**0076**] Para la línea de "HOR4", el análisis adicional identificó una mutación de un único nucleótido en el gen *fad2A*. La mutación de un único nucleótido en el gen *fad2A*, G a A, en la posición 246 del fragmento amplificado (es decir, la posición 269 en el gen fad2A de longitud completa) apareció en la secuencia del gen *fad2A* de todos los clones de "HOR4" (SEQ ID NO: 7), pero no los clones de "LLR1" ("LLR1#S007" y "LLR1#PR-2601") (SEQ ID NO: 1.) (véase la **figura 5**). El análisis adicional indicó que esta mutación de un único nucleótido apareció en la secuencia de codificación del gen *fad2A* (véase la **figura 10**). Como se muestra además en la **figura 5** y la **figura 10**, la mutación de G a A en el gen *fad2A* apareció en el primer nucleótido de un codón que creaba un codón de parada (TAG) que causa la terminación temprana de la cadena del polipéptido durante la traducción. El codón de parada da lugar a la incorporación de solamente 89 aminoácidos en el polipéptido en lugar de los 384 aminoácidos del polipéptido de longitud completa.

[0077] Se desarrollaron pruebas moleculares para el genotipado de las 6 poblaciones de dobles haploides. Para las pruebas dominantes, se ha desarrollado un marcador interno de PCR para controlar la eficiencia de la PCR. Se han diseñado un par de cebadores (SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 11) en el gen *fad3* para amplificar un fragmento a 57 pb. Se han utilizado los cebadores directos e inversos de PCR (SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15, respectivamente) para la detección de la mutación C752T para las líneas de genotipado DH del cruzamiento de "LLR1#S007" y "HOR1#S005" (véase la **figura 11**), el cruzamiento de "LLR1#PR-2601" y "HOR1#NPZ-12" (datos no mostrados), el cruzamiento de "LLR1#S007" y "HOR1#B005" (datos no mostrados), el cruzamiento de "LLR1#S007" y "HOR1#NPZ-12" (datos no mostrados), el cruzamiento de "LLR1#PR-2601" y "HOR1#B005" (datos no mostrados) y el cruzamiento de "LLR1#PR-2601" y "HOR1#S005" (datos no mostrados). Se han utilizado los cebadores directos e inversos de PCR (SEQ ID NO: 12 y SEQ ID NO: 13, respectivamente) para la detección de la mutación C623T para el genotipado de las líneas DH del cruzamiento de "LLR1#S007" y "HOR1#S005" (véase la **figura 12**), el cruzamiento de "LLR1#PR-2601" y "HOR1#NPZ-12" (datos no mostrados), el cruzamiento de "LLR1#S007" y "HOR1#B005" (datos no mostrados), el cruzamiento de "LLR1#S007" y "HOR1#NPZ-12" (datos no mostrados), el cruzamiento de "LLR1#PR-2601" y "HOR1#B005" (datos no mostrados) y el cruzamiento de "LLR1#PR-2601" y "HOR1#S005" (datos no mostrados). Se han utilizado los cebadores directos e inversos de PCR (SEQ ID NO: 16 y SEQ ID NO: 17, respectivamente) para la detección de la mutación C804T para las pruebas de "HOR2" y líneas de tipo salvaje (datos no mostrados).

[0078] Además, se han utilizado cebadores directo e inverso de PCR para las pruebas de "HOR3" (SEQ ID NO: 34 y

SEQ ID NO: 36), “HOR4” (SEQ ID NO: 35 y SEQ ID NO: 36) y líneas de tipo salvaje.

[0079] Después del genotipado, todas las 399 líneas DH, se encontró que la distribución de alelos fue altamente correlacionada con C18:1 elevado (véase la **figura 13, Tabla 1**).

Tabla 1. Correlación de los marcadores específicos de alelo mutante y el contenido de ácido oleico en ensayos de campo y de invernadero de diferentes categorías de líneas DH.

	Número de líneas ensayadas invernadero/campo	Contenido promedio de ácido oleico (%)	
		Invernadero	Campo
Tipo salvaje	119/133	63,1 ± 5,8	62,6 ± 3,0
Con marcador FAD2 1C “HOR1” solo	83/102	66,2 ± 5,5	66,3 ± 3,0
Con marcador FAD2 2A “HOR1” solo	66/79	71,5 ± 4,2	71 ± 3,3
Con marcador FAD2 1C “HOR1” + FAD2 2A “HOR1”	57/67	77,1 ± 3,1	77,7 ± 2,4

[0080] Además, los cebadores de PCR se han diseñado con el fin de proporcionar marcadores codominantes para determinar si las mutaciones se encuentran en sólo uno (heterocigoto) o en los dos alelos (homocigoto) de un gen *fad2*.

[0081] Para la mutación C646 (que se encuentra en “HOR1”) se utilizan los siguientes cebadores de PCR:
cebador directo 5' ATT TCC ACC CCA ACC GCT 3' (SEQ ID NO: 37)
cebador inverso 5' AGG CCA CTC CCT GCG 3' (SEQ ID NO: 13)

[0082] Aprovechando la introducción de un sitio de restricción *Bsr*BI por el cebador directo en el fragmento amplificado correspondiente al gen de tipo salvaje *fad2C*, el producto de amplificación por PCR se corta por la enzima *Bsr*BI, que produce el siguiente perfil de restricción diferenciado:
- homocigoto de tipo salvaje: 16 pb + 108 pb
- homocigoto mutado: 124 pb
- heterocigoto: 16 pb + 108 pb + 124 pb

[**0083**] Para la mutación C775T (que se encuentra en “HOR1”) se utilizan los siguientes cebadores de PCR:
- cebador directo 5' TCT ACC GCT ACG CTG CTG TC 3' (SEQ ID NO: 38)
- cebador inverso 5' GTG CGT GTC CGT GAT ATT GT 3' (SEQ ID NO: 15)

[0084] Aprovechando la supresión de un sitio de restricción *Mn*I en el gen *fad2A* mutado que alberga la mutación C775T, el producto de amplificación PCR se corta por la enziam *Mn*I, que produce el siguiente perfil de restricción diferenciado:
- homocigoto de tipo salvaje: 14 pb + 26 pb + 41 pb + 66 pb + 83 pb
- homocigoto mutado: 14 pb + 41 pb + 83 pb + 92 pb
- heterocigoto: 14 pb + 26 pb + 41 pb + 66 pb + 83 pb + 92 pb

[0085] Para las mutaciones C346T y G269A (que se encuentran, respectivamente, en “HOR3” y “HOR4”) se utilizan los siguientes cebadores de PCR:
- cebador directo 5' AGT GTC TCC TCC CTC CAA AAA 3' (SEQ ID NO: 39)
- cebador inverso 5' ATC GAG GCA ACT CCT TGG A 3' (SEQ ID NO: 36)

[**0086]** El producto de amplificación por PCR se corta por la enzima *Bfa*I, que produce el siguiente perfil de restricción diferenciado:
- C346T
- homocigoto de tipo salvaje: 732bp
- homocigoto mutado: 410bp + 322bp
- heterocigoto: 732bp + 410bp + 322bp
- G269A
- homocigoto de tipo salvaje: 732bp
- homocigoto mutado: 244bp + 488bp
- heterocigoto: 732bp + 244bp + 488bp

SEQ ID NO:	**Descripción**
1	secuencia parcial de nucleótidos parcial de “LLR1” de *fad2A*
2	secuencia parcial de nucleótidos parcial de “LLR1” de *fad2C*

3	secuencia parcial de nucleótidos parcial de “HOR1” de *fad2A*
4	secuencia parcial de nucleótidos parcial de “HOR1” de *fad2C*
5	secuencia parcial de nucleótidos parcial de “HOR2” de *fad2A*
6	secuencia parcial de nucleótidos parcial de “HOR3” de *fad2A*
7	secuencia parcial de nucleótidos parcial de “HOR4” de *fad2A*
8	cebador de PCR para amplificar un fragmento de *fad2* de 1.100 pb
9	cebador de PCR para amplificar un fragmento de *fad2* de 1.100 pb
10	cebador de PCR para amplificar un fragmento de *fad3* de 57 pb
11	cebador de PCR para amplificar un fragmento de *fad3* de 57 pb
12	Cebador de PCR directo para la detección de la mutación C646T (“HOR1”)
13	Cebador de PCR inverso para la detección de la mutación C646T (“HOR1”)
14	Cebador de PCR directo para la detección de la mutación C775T (“HOR1”)
15	Cebador de PCR inverso para la detección de la mutación C775T (“HOR1”)
16	Cebador de PCR directo para la detección de la mutación C827T (“HOR2”)
17	Cebador de PCR inverso para la detección de la mutación C827T (“HOR2”)
18	Secuencia de nucleótidos de *fad2A* de *B. napus* de tipo salvaje de ejemplo
19	Secuencia de proteína FAD2A de *B. napus* de tipo salvaje de ejemplo
20	Secuencia de nucleótidos de *fad2C* de *B. napus* de tipo salvaje de ejemplo
21	Secuencia de proteína FAD2C de *B. napus* de tipo salvaje de ejemplo
22	Secuencia de consenso para fad2 mutado
23	Secuencia de consenso para FAD2 mutada
24	Secuencia de nucleótidos para *fad2* mutado con G269A
25	Secuencia de proteína para FAD2 mutada con W90STOP
26	Secuencia de nucleótidos para *fad2* mutado con C346T
27	Secuencia de proteína para FAD2 mutada con Q116STOP
28	Secuencia de nucleótidos para *fad2* mutado con C646T
29	Secuencia de proteína para FAD2 mutada con P216S
30	Secuencia de nucleótidos para *fad2* mutado con C775T
31	Secuencia de proteína para FAD2 mutada con P259S
32	Secuencia de nucleótidos para *fad2* mutado con C827T
33	Secuencia de proteína para FAD2 mutada con T276M
34	Cebador de PCR directo para la detección de la mutación C346T (“HOR3”)
35	Cebador de PCR directo para la detección de la mutación G269A (“HOR4”)
36	Cebador de PCR inverso para la detección de la mutación C346T o G269A (“HOR3/4”)
37	Cebador de PCR directo para la detección de la mutación C646T (codominante)
38	Cebador de PCR directo para la detección de la mutación C775T (codominante)
39	Cebador de PCR directo para la detección de la mutación C346T o G269A (codominante)

Referencias

[0087]

Bonanome A, Grundy SM. Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels. N Engl J Med. 1988 May 12; 318(19):1244-8.

Liu, Q., Singh, S., Green, A. (2002). High-Oleic and High-Stearic Cottonseed Oils: Nutritionally Improved Cooking Oils Developed Using Gene Silencing. J Am Coll Nutr 21: 205S-211.

Debruyne I. Soybean Oil Processing: Quality Criteria and Flavor Reversion. Oil Mill Gazetteer. Volumen 110, Julio 2004.

McCallum, C.M., Comai, L., Greene, E.A., and Henikoff, S. (2000). Targeting induced local lesions IN genomes (TILLING) for plant functional genomics. Plant Physiol. 123, 439-442.

Herman E.B. (2005). Media and Techniques for Growth, Regeneration and Storage 2002-2005. Volumen 9 de Recent Advances in Plant Tissue Culture. Agricell Report.

Gallais A. (1997). Theorie de la sélection en amélioration des plantes. Editions Masson.

Coventry,J; L Kott and W Beversdorf: 1988. Manual for microspore culture of Brassica napus. University of Guelph Technical Bulletin, OAC Publication 0489

Dellaporta SL, Wood J, and Hicks JB (1983) A plant DNA minipreparation: version II. Plant Mol Biol Rep 1: 19-21.

Nicholas K.B., Nicholas Jr H.B. & Deerfield II D.W. (1997) GeneDoc: Analysis and Visualization of Genetic Variation. http://www.psc.edu/biomed/genedoc [acceso el 6 de abril de 2005].

Sambrook J and Russell DW (2001) Molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York.

J. C. Pires, J. Zhao, M. E. Schranz, E. J. Leon, P. A. Quijada, L. N. Lukens and T. C. Osborn (2004). Flowering time divergence and genomic rearrangements in resynthesized Brassica polyploids (Brassicaceae). Volumen 82 Página 675 Fascículo 4. Biological Journal of the Linnean Society.

Stan Skrypetz, 2005. Le Bulletin bimensuel. Agriculture et Agroalimentaire Canada. Volumen 18 Número 17.

Konieczny A, Ausubel FM (1993) A procedure for mapping Arabidopsis mutations using co-dominant ecotypespecific

PCR-based marker. Plant J 4: 403-410

LISTADO DE SECUENCIAS

[0088]

<110> INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE (INRA)

<120> MARCADORES GENÉTICOS PARA EL ALTO CONTENIDO DE ÁCIDO OLEICO EN PLANTAS

<130> BET 07P0644

<160> 39

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1
<211> 1100
<212> ADN
<213> Brassica napus

<400> 1
agtgtctcct ccctccaaaa agtctgaaac cgacaacatc aagcgcgtac cctgcgagac 60

accgcccttc actgtcggag aactcaagaa agcaatccca ccgcactgtt tcaaacgctc 120

gatccctcgc tctttctcct acctcatctg ggacatcatc atagcctcct gcttctacta 180

cgtcgccacc acttacttcc ctctcctccc tcaccctctc tcctacttcg cctggcctct 240

ctactgggcc tgccagggct gcgtcctaac cggcgtctgg gtcatagccc acgagtgcgg 300

ccaccacgcc ttcagcgact accagtggct ggacgacacc gtcggcctca tcttccactc 360

cttcctcctc gtcccttact tctcctggaa gtacagtcat cgacgccacc attccaacac 420

tggctccctc gagagagacg aagtgtttgt ccccaagaag aagtcagaca tcaagtggta 480

cggcaagtac ctcaacaacc ctttgggacg caccgtgatg ttaacggttc agttcactct 540

cggctggcct ttgtacttag ccttcaacgt ctcggggaga ccttacgacg gcggcttcgc 600

ttgccatttc caccccaacg ctcccatcta caacgaccgt gagcgtctcc agatatacat 660

ctccgacgct ggcatcctcg ccgtctgcta cggtctctac cgctacgctg ctgtccaagg 720

agttgcctct atggtctgct tctacggagt tcctcttctg attgtcaacg ggttcttagt 780

tttgatcact tacttgcagc acacgcatcc ttccctgcct cactatgact cgtctgagtg 840

ggattggttg aggggagctt tggccaccgt tgacagagac tacggaatct tgaacaaggt 900

cttccacaat atcacggaca cgcacgtggc gcatcacctg ttctcgacca tgccgcatta 960

tcatgcgatg gaagctacga aggcgataaa gccgatactg ggagagtatt atcagttcga 1020

tgggacgccg gtggttaagg cgatgtggag ggaggcgaag gagtgtatct atgtggaacc 1080

ggacaggcaa ggtgagaaga 1100

<210> 2
<211> 1100
<212> ADN
<213> Brassica napus

<400> 2
agtgtctcct ccctccaaaa agtctgaaac cgacaccatc aagcgcgtac cctgcgagac 60

accgcccttc actgtcggag aactcaagaa agcaatccca ccgcactgtt tcaaacgctc 120

gatccctcgc tctttctcct acctcatctg ggacatcatc atagcctcct gcttctacta 180

cgtcgccacc acttacttcc ctctcctccc tcaccctctc tcctacttcg cctggcctct 240

ctactgggcc tgccaagggt gcgtcctaac cggcgtctgg gtcatagccc acgagtgcgg 300

ccaccacgcc ttcagcgact accagtggct tgacgacacc gtcggtctca tcttccactc 360

cttcctcctc gtcccttact tctcctggaa gtacagtcat cgacgccacc attccaacac 420

tggctccctc gagagagacg aagtgtttgt ccccaagaag aagtcagaca tcaagtggta 480

cggcaagtac ctcaacaacc ctttgggacg caccgtgatg ttaacggttc agttcactct 540

cggctggccg ttgtacttag ccttcaacgt ctcgggaaga ccttacgacg gcggcttcgc 600

ttgccatttc caccccaacg ctcccatcta caacgaccgc gagcgtctcc agatatacat 660

ctccgacgct ggcatcctcg ccgtctgcta cggtctcttc cgttacgccg ccgcgcaggg 720

agtggcctcg atggtctgct tctacggagt cccgcttctg attgtcaatg gtttcctcgt 780

gttgatcact tacttgcagc acacgcatcc ttccctgcct cactacgatt cgtccgagtg 840

ggattggttg aggggagctt tggctaccgt tgacagagac tacggaatct tgaacaaggt 900

cttccacaat attaccgaca cgcacgtggc gcatcatctg ttctccacga tgccgcatta 960

tcacgcgatg gaagctacca aggcgataaa gccgatactg ggagagtatt atcagttcga 1020

tgggacgccg gtggttaagg cgatgtggag ggaggcgaag gagtgtatct atgtggaacc 1080

ggacaggcaa ggtgagaaga 1100

<210> 3
<211> 1100
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de mutante de fad2A de Brassica napus (HOR1)

<400> 3
agtgtctcct ccctccaaaa agtctgaaac cgacaacatc aagcgcgtac cctgcgagac 60

accgcccttc actgtcggag aactcaagaa agcaatccca ccgcactgtt tcaaacgctc 120

gatccctcgc tctttctcct acctcatctg ggacatcatc atagcctcct gcttctacta 180

cgtcgccacc acttacttcc ctctcctccc tcaccctctc tcctacttcg cctggcctct 240

ctactgggcc tgccagggct gcgtcctaac cggcgtctgg gtcatagccc acgagtgcgg 300

ccaccacgcc ttcagcgact accagtggct ggacgacacc gtcggcctca tcttccactc 360

cttcctcctc gtcccttact tctcctggaa gtacagtcat cgacgccacc attccaacac 420

tggctccctc gagagagacg aagtgtttgt ccccaagaag aagtcagaca tcaagtggta 480

cggcaagtac ctcaacaacc ctttgggacg caccgtgatg ttaacggttc agttcactct 540

cggctggcct ttgtacttag ccttcaacgt ctcggggaga ccttacgacg gcggcttcgc 600

ttgccatttc caccccaacg ctcccatcta caacgaccgt gagcgtctcc agatatacat 660

ctccgacgct ggcatcctcg ccgtctgcta cggtctctac cgctacgctg ctgtccaagg 720

agttgcctct atggtctgct tctacggagt ttctcttctg attgtcaacg ggttcttagt 780

tttgatcact tacttgcagc acacgcatcc ttccctgcct cactatgact cgtctgagtg 840

ggattggttg aggggagctt tggccaccgt tgacagagac tacggaatct tgaacaaggt 900

cttccacaat atcacggaca cgcacgtggc gcatcacctg ttctcgacca tgccgcatta 960

tcatgcgatg gaagctacga aggcgataaa gccgatactg ggagagtatt atcagttcga 1020

tgggacgccg gtggttaagg cgatgtggag ggaggcgaag gagtgtatct atgtggaacc 1080

ggacaggcaa ggtgagaaga 1100

<210> 4
<211> 1100
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de mutante de fad2C de Brassica napus (HOR1)

<400> 4
agtgtctcct ccctccaaaa agtctgaaac cgacaccatc aagcgcgtac cctgcgagac 60

accgcccttc actgtcggag aactcaagaa agcaatccca ccgcactgtt tcaaacgctc 120

gatccctcgc tctttctcct acctcatctg ggacatcatc atagcctcct gcttctacta 180

cgtcgccacc acttacttcc ctctcctccc tcaccctctc tcctacttcg cctggcctct 240

ctactgggcc tgccaagggt gcgtcctaac cggcgtctgg gtcatagccc acgagtgcgg 300

ccaccacgcc ttcagcgact accagtggct tgacgacacc gtcggtctca tcttccactc 360

cttcctcctc gtcccttact tctcctggaa gtacagtcat cgacgccacc attccaacac 420

tggctccctc gagagagacg aagtgtttgt ccccaagaag aagtcagaca tcaagtggta 480

cggcaagtac ctcaacaacc ctttgggacg caccgtgatg ttaacggttc agttcactct 540

cggctggccg ttgtacttag ccttcaacgt ctcgggaaga ccttacgacg gcggcttcgc 600

ttgccatttc caccccaacg cttccatcta caacgaccgc gagcgtctcc agatatacat 660

ctccgacgct ggcatcctcg ccgtctgcta cggtctcttc cgttacgccg ccgcgcaggg 720

agtggcctcg atggtctgct tctacggagt cccgcttctg attgtcaatg gtttcctcgt 780

gttgatcact tacttgcagc acacgcatcc ttccctgcct cactacgatt cgtccgagtg 840

ggattggttg aggggagctt tggctaccgt tgacagagac tacggaatct tgaacaaggt 900

cttccacaat attaccgaca cgcacgtggc gcatcatctg ttctccacga tgccgcatta 960

tcacgcgatg gaagctacca aggcgataaa gccgatactg ggagagtatt atcagttcga 1020

tgggacgccg gtggttaagg cgatgtggag ggaggcgaag gagtgtatct atgtggaacc 1080

ggacaggcaa ggtgagaaga 1100

<210> 5
<211> 1100

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de mutante de fad2A de Brassica napus (HOR2)

<400> 5
agtgtctcct ccctccaaaa agtctgaaac cgacaacatc aagcgcgtac cctgcgagac 60

accgcccttc actgtcggag aactcaagaa agcaatccca ccgcactgtt tcaaacgctc 120

gatccctcgc tctttctcct acctcatctg ggacatcatc atagcctcct gcttctacta 180

cgtcgccacc acttacttcc ctctcctccc tcaccctctc tcctacttcg cctggcctct 240

ctactgggcc tgccagggct gcgtcctaac cggcgtctgg gtcatagccc acgagtgcgg 300

ccaccacgcc ttcagcgact accagtggct ggacgacacc gtcggcctca tcttccactc 360

cttcctcctc gtcccttact tctcctggaa gtacagtcat cgacgccacc attccaacac 420

tggctccctc gagagagacg aagtgtttgt ccccaagaag aagtcagaca tcaagtggta 480

cggcaagtac ctcaacaacc ctttgggacg caccgtgatg ttaacggttc agttcactct 540

cggctggcct ttgtacttag ccttcaacgt ctcggggaga ccttacgacg gcggcttcgc 600

ttgccatttc caccccaacg ctcccatcta caacgaccgt gagcgtctcc agatatacat 660

ctccgacgct ggcatcctcg ccgtctgcta cggtctctac cgctacgctg ctgtccaagg 720

agttgcctcg atggtctgct tctacggagt tcctcttctg attgtcaacg ggttcttagt 780

tttgatcact tacttgcagc acatgcatcc ttccctgcct cactatgact cgtctgagtg 840

ggattggttg aggggagctt tggccaccgt tgacagagac tacggaatct tgaacaaggt 900

cttccacaat atcacggaca cgcacgtggc gcatcacctg ttctcgacca tgccgcatta 960

tcatgcgatg gaagctacga aggcgataaa gccgatactg ggagagtatt atcagttcga 1020

tgggacgccg gtggttaagg cgatgtggag ggaggcgaag gagtgtatct atgtggaacc 1080

ggacaggcaa ggtgagaaga 1100

<210> 6
<211> 1100
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de mutante de fad2A de Brassica napus (HOR3)

<400> 6
agtgtctcct ccctccaaaa agtctgaaac cgacaacatc aagcgcgtac cctgcgagac 60

accgcccttc actgtcggag aactcaagaa agcaatccca ccgcactgtt tcaaacgctc 120

gatccctcgc tctttctcct acctcatctg ggacatcatc atagcctcct gcttctacta 180

cgtcgccacc acttacttcc ctctcctccc tcaccctctc tcctacttcg cctggcctct 240

ctactgggcc tgccagggct gcgtcctaac cggcgtctgg gtcatagccc acgagtgcgg 300

ccaccacgcc ttcagcgact actagtggct ggacgacacc gtcggcctca tcttccactc 360

cttcctcctc gtcccttact tctcctggaa gtacagtcat cgacgccacc attccaacac 420

tggctccctc gagagagacg aagtgtttgt ccccaagaag aagtcagaca tcaagtggta 480

cggcaagtac ctcaacaacc ctttgggacg caccgtgatg ttaacggttc agttcactct 540

cggctggcct ttgtacttag ccttcaacgt ctcggggaga ccttacgacg gcggcttcgc 600

ttgccatttc caccccaacg ctcccatcta caacgaccgt gagcgtctcc agatatacat 660

ctccgacgct ggcatcctcg ccgtctgcta cggtctctac cgctacgctg ctgtccaagg 720

agttgcctcg atggtctgct tctacggagt tcctcttctg attgtcaacg ggttcttagt 780

tttgatcact tacttgcagc acacgcatcc ttccctgcct cactatgact cgtctgagtg 840

ggattggttg aggggagctt tggccaccgt tgacagagac tacggaatct tgaacaaggt 900

cttccacaat atcacggaca cgcacgtggc gcatcacctg ttctcgacca tgccgcatta 960

tcatgcgatg gaagctacga aggcgataaa gccgatactg ggagagtatt atcagttcga 1020

tgggacgccg gtggttaagg cgatgtggag ggaggcgaag gagtgtatct atgtggaacc 1080

ggacaggcaa ggtgagaaga 1100

<210> 7
<211> 1100
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia parcial de mutante de fad2A de Brassica napus (HOR4)

<400> 7
agtgtctcct ccctccaaaa agtctgaaac cgacaacatc aagcgcgtac cctgcgagac 60

accgcccttc actgtcggag aactcaagaa agcaatccca ccgcactgtt tcaaacgctc 120

gatccctcgc tctttctcct acctcatctg ggacatcatc atagcctcct gcttctacta 180

cgtcgccacc acttacttcc ctctcctccc tcaccctctc tcctacttcg cctggcctct 240

ctactaggcc tgccagggct gcgtcctaac cggcgtctgg gtcatagccc acgagtgcgg 300

ccaccacgcc ttcagcgact accagtggct ggacgacacc gtcggcctca tcttccactc 360

cttcctcctc gtcccttact tctcctggaa gtacagtcat cgacgccacc attccaacac 420

tggctccctc gagagagacg aagtgtttgt ccccaagaag aagtcagaca tcaagtggta 480

cggcaagtac ctcaacaacc ctttgggacg caccgtgatg ttaacggttc agttcactct 540

cggctggcct ttgtacttag ccttcaacgt ctcggggaga ccttacgacg gcggcttcgc 600

ttgccatttc caccccaacg ctcccatcta caacgaccgt gagcgtctcc agatatacat 660

ctccgacgct ggcatcctcg ccgtctgcta cggtctctac cgctacgctg ctgtccaagg 720

agttgcctcg atggtctgct tctacggagt tcctcttctg attgtcaacg ggttcttagt 780

tttgatcact tacttgcagc acacgcatcc ttccctgcct cactatgact cgtctgagtg 840

ggattggttg aggggagctt tggccaccgt tgacagagac tacggaatct tgaacaaggt 900

cttccacaat atcacggaca cgcacgtggc gcatcacctg ttctcgacca tgccgcatta 960

tcatgcgatg gaagctacga aggcgataaa gccgatactg ggagagtatt atcagttcga 1020

tgggacgccg gtggttaagg cgatgtggag ggaggcgaag gagtgtatct atgtggaacc 1080

ggacaggcaa ggtgagaaga 1100

<210> 8
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 8
agtgtctcct ccctccaaaa a 21

<210> 9
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 9
tcttctcacc ttgcctgtcc 20

<210> 10
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 10
cttggtggtc gatcatgttg 20

<210> 11
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 11
ctggaccaac gaggaatgat 20

<210> 12
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 12
atttccaccc caacgctt 18

<210> 13
<211> 15

<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 13
aggccactcc ctgcg 15

<210> 14
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 14
tggtctgctt ctacggagtt t 21

<210> 15
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 15
gtgcgtgtcc gtgatattgt 20

<210> 16
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 16
tctaccgcta cgctgctgtc 20

<210> 17
<211> 17
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 17
aggcagggaa ggatgca 17

<210> 18
<211> 1155
<212> ADN
<213> Brassica napus

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1155)

<400> 18

```
atg ggt gca ggt gga aga atg caa gtg tct cct ccc tcc aaa aag tct       48
Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1               5                  10                  15

gaa acc gac aac atc aag cgc gta ccc tgc gag aca ccg ccc ttc act       96
Glu Thr Asp Asn Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
            20                  25                  30

gtc gga gaa ctc aag aaa gca atc cca ccg cac tgt ttc aaa cgc tcg      144
Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
        35                  40                  45

atc cct cgc tct ttc tcc tac ctc atc tgg gac atc atc ata gcc tcc      192
Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
    50                  55                  60

tgc ttc tac tac gtc gcc acc act tac ttc cct ctc ctc cct cac cct      240
Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65                  70                  75                  80

ctc tcc tac ttc gcc tgg cct ctc tac tgg gcc tgc cag ggc tgc gtc      288
Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Trp Ala Cys Gln Gly Cys Val
                85                  90                  95

cta acc ggc gtc tgg gtc ata gcc cac gag tgc ggc cac cac gcc ttc      336
Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
            100                 105                 110

agc gac tac cag tgg ctg gac gac acc gtc ggc ctc atc ttc cac tcc      384
Ser Asp Tyr Gln Trp Leu Asp Asp Thr Val Gly Leu Ile Phe His Ser
        115                 120                 125

ttc ctc ctc gtc cct tac ttc tcc tgg aag tac agt cat cga cgc cac      432
Phe Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Lys Tyr Ser His Arg Arg His
    130                 135                 140

cat tcc aac act ggc tcc ctc gag aga gac gaa gtg ttt gtc ccc aag      480
His Ser Asn Thr Gly Ser Leu Glu Arg Asp Glu Val Phe Val Pro Lys
145                 150                 155                 160

aag aag tca gac atc aag tgg tac ggc aag tac ctc aac aac cct ttg      528
Lys Lys Ser Asp Ile Lys Trp Tyr Gly Lys Tyr Leu Asn Asn Pro Leu
                165                 170                 175

gga cgc acc gtg atg tta acg gtt cag ttc act ctc ggc tgg cct ttg      576
Gly Arg Thr Val Met Leu Thr Val Gln Phe Thr Leu Gly Trp Pro Leu
            180                 185                 190

tac tta gcc ttc aac gtc tcg ggg aga cct tac gac ggc ggc ttc gct      624
Tyr Leu Ala Phe Asn Val Ser Gly Arg Pro Tyr Asp Gly Gly Phe Ala
        195                 200                 205

tgc cat ttc cac ccc aac gct ccc atc tac aac gac cgt gag cgt ctc      672
Cys His Phe His Pro Asn Ala Pro Ile Tyr Asn Asp Arg Glu Arg Leu
    210                 215                 220

cag ata tac atc tcc gac gct ggc atc ctc gcc gtc tgc tac ggt ctc      720
Gln Ile Tyr Ile Ser Asp Ala Gly Ile Leu Ala Val Cys Tyr Gly Leu
225                 230                 235                 240

tac cgc tac gct gct gtc caa gga gtt gcc tct atg gtc tgc ttc tac      768
Tyr Arg Tyr Ala Ala Val Gln Gly Val Ala Ser Met Val Cys Phe Tyr
                245                 250                 255

gga gtt cct ctt ctg att gtc aac ggg ttc tta gtt ttg atc act tac      816
Gly Val Pro Leu Leu Ile Val Asn Gly Phe Leu Val Leu Ile Thr Tyr
            260                 265                 270
```

ttg cag cac acg cat cct tcc ctg cct cac tat gac tcg tct gag tgg 864
Leu Gln His Thr His Pro Ser Leu Pro His Tyr Asp Ser Ser Glu Trp
275 280 285

gat tgg ttg agg gga gct ttg gcc acc gtt gac aga gac tac gga atc 912
Asp Trp Leu Arg Gly Ala Leu Ala Thr Val Asp Arg Asp Tyr Gly Ile
290 295 300

ttg aac aag gtc ttc cac aat atc acg gac acg cac gtg gcg cat cac 960
Leu Asn Lys Val Phe His Asn Ile Thr Asp Thr His Val Ala His His
305 310 315 320

ctg ttc tcg acc atg ccg cat tat cat gcg atg gaa gct acg aag gcg 1008
Leu Phe Ser Thr Met Pro His Tyr His Ala Met Glu Ala Thr Lys Ala
325 330 335

ata aag ccg ata ctg gga gag tat tat cag ttc gat ggg acg ccg gtg 1056
Ile Lys Pro Ile Leu Gly Glu Tyr Tyr Gln Phe Asp Gly Thr Pro Val
340 345 350

gtt aag gcg atg tgg agg gag gcg aag gag tgt atc tat gtg gaa ccg 1104
Val Lys Ala Met Trp Arg Glu Ala Lys Glu Cys Ile Tyr Val Glu Pro
355 360 365

gac agg caa ggt gag aag aaa ggt gtg ttc tgg tac aac aat aag tta 1152
Asp Arg Gln Gly Glu Lys Lys Gly Val Phe Trp Tyr Asn Asn Lys Leu
370 375 380

tga 1155

<210> 19
<211> 384
<212> PRT
<213> Brassica napus

<400> 19

Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1 5 10 15

Glu Thr Asp Asn Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
20 25 30

Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
35 40 45

Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
50 55 60

Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65 70 75 80

Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Trp Ala Cys Gln Gly Cys Val
85 90 95

Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
100 105 110

Ser Asp Tyr Gln Trp Leu Asp Asp Thr Val Gly Leu Ile Phe His Ser

115 120 125

Phe Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Lys Tyr Ser His Arg Arg His
130 135 140

His Ser Asn Thr Gly Ser Leu Glu Arg Asp Glu Val Phe Val Pro Lys
145 150 155 160

Lys Lys Ser Asp Ile Lys Trp Tyr Gly Lys Tyr Leu Asn Asn Pro Leu
165 170 175

Gly Arg Thr Val Met Leu Thr Val Gln Phe Thr Leu Gly Trp Pro Leu
180 185 190

Tyr Leu Ala Phe Asn Val Ser Gly Arg Pro Tyr Asp Gly Gly Phe Ala
195 200 205

Cys His Phe His Pro Asn Ala Pro Ile Tyr Asn Asp Arg Glu Arg Leu
210 215 220

Gln Ile Tyr Ile Ser Asp Ala Gly Ile Leu Ala Val Cys Tyr Gly Leu
225 230 235 240

Tyr Arg Tyr Ala Ala Val Gln Gly Val Ala Ser Met Val Cys Phe Tyr
245 250 255

Gly Val Pro Leu Leu Ile Val Asn Gly Phe Leu Val Leu Ile Thr Tyr
260 265 270

Leu Gln His Thr His Pro Ser Leu Pro His Tyr Asp Ser Ser Glu Trp
275 280 285

Asp Trp Leu Arg Gly Ala Leu Ala Thr Val Asp Arg Asp Tyr Gly Ile
290 295 300

Leu Asn Lys Val Phe His Asn Ile Thr Asp Thr His Val Ala His His
305 310 315 320

Leu Phe Ser Thr Met Pro His Tyr His Ala Met Glu Ala Thr Lys Ala
325 330 335

Ile Lys Pro Ile Leu Gly Glu Tyr Tyr Gln Phe Asp Gly Thr Pro Val
340 345 350

Val Lys Ala Met Trp Arg Glu Ala Lys Glu Cys Ile Tyr Val Glu Pro
355 360 365

Asp Arg Gln Gly Glu Lys Lys Gly Val Phe Trp Tyr Asn Asn Lys Leu
370 375 380

<210> 20

<211> 1155
<212> ADN
<213> Brassica napus

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1155)

<400> 20

```
atg ggt gca ggt gga aga atg caa gtg tct cct ccc tcc aaa aag tct       48
Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1               5                   10                  15

gaa acc gac acc atc aag cgc gta ccc tgc gag aca ccg ccc ttc act       96
Glu Thr Asp Thr Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
            20                  25                  30

gtc gga gaa ctc aag aaa gca atc cca ccg cac tgt ttc aaa cgc tcg      144
Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
        35                  40                  45

atc cct cgc tct ttc tcc tac ctc atc tgg gac atc atc ata gcc tcc      192
Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
    50                  55                  60

tgc ttc tac tac gtc gcc acc act tac ttc cct ctc ctc cct cac cct      240
Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65                  70                  75                  80

ctc tcc tac ttc gcc tgg cct ctc tac tgg gcc tgc caa ggg tgc gtc      288
Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Trp Ala Cys Gln Gly Cys Val
                85                  90                  95

cta acc ggc gtc tgg gtc ata gcc cac gag tgc ggc cac cac gcc ttc      336
Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
            100                 105                 110

agc gac tac cag tgg ctt gac gac acc gtc ggt ctc atc ttc cac tcc      384
Ser Asp Tyr Gln Trp Leu Asp Asp Thr Val Gly Leu Ile Phe His Ser
        115                 120                 125

ttc ctc ctc gtc cct tac ttc tcc tgg aag tac agt cat cga cgc cac      432
Phe Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Lys Tyr Ser His Arg Arg His
    130                 135                 140

cat tcc aac act ggc tcc ctc gag aga gac gaa gtg ttt gtc ccc aag      480
His Ser Asn Thr Gly Ser Leu Glu Arg Asp Glu Val Phe Val Pro Lys
145                 150                 155                 160

aag aag tca gac atc aag tgg tac ggc aag tac ctc aac aac cct ttg      528
Lys Lys Ser Asp Ile Lys Trp Tyr Gly Lys Tyr Leu Asn Asn Pro Leu
                165                 170                 175

gga cgc acc gtg atg tta acg gtt cag ttc act ctc ggc tgg ccg ttg      576
Gly Arg Thr Val Met Leu Thr Val Gln Phe Thr Leu Gly Trp Pro Leu
            180                 185                 190

tac tta gcc ttc aac gtc tcg gga aga cct tac gac ggc ggc ttc gct      624
Tyr Leu Ala Phe Asn Val Ser Gly Arg Pro Tyr Asp Gly Gly Phe Ala
        195                 200                 205

tgc cat ttc cac ccc aac gct ccc atc tac aac gac cgc gag cgt ctc      672
Cys His Phe His Pro Asn Ala Pro Ile Tyr Asn Asp Arg Glu Arg Leu
    210                 215                 220

cag ata tac atc tcc gac gct ggc atc ctc gcc gtc tgc tac ggt ctc      720
Gln Ile Tyr Ile Ser Asp Ala Gly Ile Leu Ala Val Cys Tyr Gly Leu
```

225 230 235 240

ttc cgt tac gcc gcc gcg cag gga gtg gcc tcg atg gtc tgc ttc tac 768
Phe Arg Tyr Ala Ala Ala Gln Gly Val Ala Ser Met Val Cys Phe Tyr
245 250 255

gga gtc ccg ctt ctg att gtc aat ggt ttc ctc gtg ttg atc act tac 816
Gly Val Pro Leu Leu Ile Val Asn Gly Phe Leu Val Leu Ile Thr Tyr
260 265 270

ttg cag cac acg cat cct tcc ctg cct cac tac gat tcg tcc gag tgg 864
Leu Gln His Thr His Pro Ser Leu Pro His Tyr Asp Ser Ser Glu Trp
275 280 285

gat tgg ttg agg gga gct ttg gct acc gtt gac aga gac tac gga atc 912
Asp Trp Leu Arg Gly Ala Leu Ala Thr Val Asp Arg Asp Tyr Gly Ile
290 295 300

ttg aac aag gtc ttc cac aat att acc gac acg cac gtg gcg cat cat 960
Leu Asn Lys Val Phe His Asn Ile Thr Asp Thr His Val Ala His His
305 310 315 320

ctg ttc tcc acg atg ccg cat tat cac gcg atg gaa gct acc aag gcg 1008
Leu Phe Ser Thr Met Pro His Tyr His Ala Met Glu Ala Thr Lys Ala
325 330 335

ata aag ccg ata ctg gga gag tat tat cag ttc gat ggg acg ccg gtg 1056
Ile Lys Pro Ile Leu Gly Glu Tyr Tyr Gln Phe Asp Gly Thr Pro Val
340 345 350

gtt aag gcg atg tgg agg gag gcg aag gag tgt atc tat gtg gaa ccg 1104
Val Lys Ala Met Trp Arg Glu Ala Lys Glu Cys Ile Tyr Val Glu Pro
355 360 365

gac agg caa ggt gag aag aaa ggt gtg ttc tgg tac aac aat aag tta 1152
Asp Arg Gln Gly Glu Lys Lys Gly Val Phe Trp Tyr Asn Asn Lys Leu
370 375 380

tga 1155

<210> 21
<211> 384
<212> PRT
<213> Brassica napus

<400> 21

Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1 5 10 15

Glu Thr Asp Thr Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
20 25 30

Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
35 40 45

Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
50 55 60

Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65 70 75 80

```
Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Trp Ala Cys Gln Gly Cys Val
                85                  90                  95

Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
            100                 105                 110

Ser Asp Tyr Gln Trp Leu Asp Asp Thr Val Gly Leu Ile Phe His Ser
        115                 120                 125

Phe Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Lys Tyr Ser His Arg Arg His
    130                 135                 140

His Ser Asn Thr Gly Ser Leu Glu Arg Asp Glu Val Phe Val Pro Lys
145                 150                 155                 160

Lys Lys Ser Asp Ile Lys Trp Tyr Gly Lys Tyr Leu Asn Asn Pro Leu
                165                 170                 175

Gly Arg Thr Val Met Leu Thr Val Gln Phe Thr Leu Gly Trp Pro Leu
            180                 185                 190

Tyr Leu Ala Phe Asn Val Ser Gly Arg Pro Tyr Asp Gly Gly Phe Ala
        195                 200                 205

Cys His Phe His Pro Asn Ala Pro Ile Tyr Asn Asp Arg Glu Arg Leu
    210                 215                 220

Gln Ile Tyr Ile Ser Asp Ala Gly Ile Leu Ala Val Cys Tyr Gly Leu
225                 230                 235                 240

Phe Arg Tyr Ala Ala Ala Gln Gly Val Ala Ser Met Val Cys Phe Tyr
                245                 250                 255

Gly Val Pro Leu Leu Ile Val Asn Gly Phe Leu Val Leu Ile Thr Tyr
            260                 265                 270

Leu Gln His Thr His Pro Ser Leu Pro His Tyr Asp Ser Ser Glu Trp
        275                 280                 285

Asp Trp Leu Arg Gly Ala Leu Ala Thr Val Asp Arg Asp Tyr Gly Ile
    290                 295                 300

Leu Asn Lys Val Phe His Asn Ile Thr Asp Thr His Val Ala His His
305                 310                 315                 320

Leu Phe Ser Thr Met Pro His Tyr His Ala Met Glu Ala Thr Lys Ala
                325                 330                 335

Ile Lys Pro Ile Leu Gly Glu Tyr Tyr Gln Phe Asp Gly Thr Pro Val
            340                 345                 350
```

Val Lys Ala Met Trp Arg Glu Ala Lys Glu Cys Ile Tyr Val Glu Pro
355 360 365

Asp Arg Gln Gly Glu Lys Lys Gly Val Phe Trp Tyr Asn Asn Lys Leu
370 375 380

<210> 22
<211> 1155
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mutantes de fad2 de Brassica napus

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1155)

<220>
<221> misc_feature
<222> (59)..(59)
<223> A o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (269)..(269)
<223> G o A

<220>
<221> misc_feature
<222> (279)..(279)
<223> G o A

<220>
<221> misc_feature
<222> (282)..(282)
<223> C o G

<220>
<221> misc_feature
<222> (346)..(346)
<223> C o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (354)..(354)
<223> G o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (369)..(369)
<223> C o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (573)..(573)
<223> T o G

<220>
<221> misc_feature
<222> (600)..(600)
<223> G o A

<220>
<221> misc_feature

<222> (646)..(646)
<223> C o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (663)..(663)
<223> T o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (722)..(722)
<223> A o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (726)..(726)
<223> C o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (732)..(732)
<223> T o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (735)..(735)
<223> T o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (737)..(737)
<223> T o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (738)..(738)
<223> C o G

<220>
<221> misc_feature
<222> (741)..(741)
<223> A o G

<220>
<221> misc_feature
<222> (747)..(747)
<223> T o G

<220>
<221> misc_feature
<222> (753)..(753)
<223> T o G

<220>
<221> misc_feature
<222> (774)..(774)
<223> T o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (775)..(775)
<223> C o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (777)..(777)
<223> T o G

<220>
<221> misc_feature
<222> (792)..(792)
<223> C o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (795)..(795)
<223> G o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (799)..(799)
<223> T o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (801)..(801)
<223> A o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (804)..(804)
<223> T o G

<220>
<221> misc_feature
<222> (827)..(827)
<223> C o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (849)..(849)
<223> T o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (852)..(852)
<223> C o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (858)..(858)
<223> T o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (888)..(888)
<223> C o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (936)..(936)
<223> C o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (939)..(939)
<223> G o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (960)..(960)
<223> C o T

<220>
<221> misc_feature
<222> (969)..(969)

<223> G o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (972)..(972)
<223> C o G

<220>
<221> misc_feature
<222> (987)..(987)
<223> T o C

<220>
<221> misc_feature
<222> (1002)..(1002)
<223> G o C

<400> 22

```
atg ggt gca ggt gga aga atg caa gtg tct cct ccc tcc aaa aag tct       48
Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1               5                   10                  15

gaa acc gac anc atc aag cgc gta ccc tgc gag aca ccg ccc ttc act       96
Glu Thr Asp Xaa Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
            20                  25                  30

gtc gga gaa ctc aag aaa gca atc cca ccg cac tgt ttc aaa cgc tcg      144
Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
        35                  40                  45

atc cct cgc tct ttc tcc tac ctc atc tgg gac atc atc ata gcc tcc      192
Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
    50                  55                  60

tgc ttc tac tac gtc gcc acc act tac ttc cct ctc ctc cct cac cct      240
Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65                  70                  75                  80

ctc tcc tac ttc gcc tgg cct ctc tac tng gcc tgc can ggn tgc gtc      288
Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Xaa Ala Cys Xaa Gly Cys Val
                85                  90                  95

cta acc ggc gtc tgg gtc ata gcc cac gag tgc ggc cac cac gcc ttc      336
Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
            100                 105                 110

agc gac tac nag tgg ctn gac gac acc gtc ggn ctc atc ttc cac tcc      384
Ser Asp Tyr Xaa Trp Xaa Asp Asp Thr Val Gly Leu Ile Phe His Ser
        115                 120                 125

ttc ctc ctc gtc cct tac ttc tcc tgg aag tac agt cat cga cgc cac      432
Phe Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Lys Tyr Ser His Arg Arg His
    130                 135                 140

cat tcc aac act ggc tcc ctc gag aga gac gaa gtg ttt gtc ccc aag      480
His Ser Asn Thr Gly Ser Leu Glu Arg Asp Glu Val Phe Val Pro Lys
145                 150                 155                 160

aag aag tca gac atc aag tgg tac ggc aag tac ctc aac aac cct ttg      528
Lys Lys Ser Asp Ile Lys Trp Tyr Gly Lys Tyr Leu Asn Asn Pro Leu
                165                 170                 175

gga cgc acc gtg atg tta acg gtt cag ttc act ctc ggc tgg ccn ttg      576
Gly Arg Thr Val Met Leu Thr Val Gln Phe Thr Leu Gly Trp Pro Leu
            180                 185                 190

tac tta gcc ttc aac gtc tcg ggn aga cct tac gac ggc ggc ttc gct      624
Tyr Leu Ala Phe Asn Val Ser Gly Arg Pro Tyr Asp Gly Gly Phe Ala
```

```
         195                 200                 205

tgc cat ttc cac ccc aac gct ncc atc tac aac gac cgn gag cgt ctc      672
Cys His Phe His Pro Asn Ala Xaa Ile Tyr Asn Asp Arg Glu Arg Leu
    210                 215                 220

cag ata tac atc tcc gac gct ggc atc ctc gcc gtc tgc tac ggt ctc      720
Gln Ile Tyr Ile Ser Asp Ala Gly Ile Leu Ala Val Cys Tyr Gly Leu
225                 230                 235                 240

tnc cgn tac gcn gcn gnn can gga gtn gcc tcn atg gtc tgc ttc tac      768
Xaa Arg Tyr Ala Ala Xaa Xaa Gly Val Ala Xaa Met Val Cys Phe Tyr
                245                 250                 255

gga gtn ncn ctt ctg att gtc aan ggn ttc ntn gtn ttg atc act tac      816
Gly Val Xaa Leu Leu Ile Val Xaa Gly Phe Xaa Val Leu Ile Thr Tyr
            260                 265                 270

ttg cag cac ang cat cct tcc ctg cct cac tan gan tcg tcn gag tgg      864
Leu Gln His Xaa His Pro Ser Leu Pro His Xaa Xaa Ser Xaa Glu Trp
        275                 280                 285

gat tgg ttg agg gga gct ttg gcn acc gtt gac aga gac tac gga atc      912
Asp Trp Leu Arg Gly Ala Leu Ala Thr Val Asp Arg Asp Tyr Gly Ile
    290                 295                 300

ttg aac aag gtc ttc cac aat atn acn gac acg cac gtg gcg cat can      960
Leu Asn Lys Val Phe His Asn Xaa Thr Asp Thr His Val Ala His Xaa
305                 310                 315                 320

ctg ttc tcn acn atg ccg cat tat can gcg atg gaa gct acn aag gcg     1008
Leu Phe Xaa Thr Met Pro His Tyr Xaa Ala Met Glu Ala Thr Lys Ala
                325                 330                 335

ata aag ccg ata ctg gga gag tat tat cag ttc gat ggg acg ccg gtg     1056
Ile Lys Pro Ile Leu Gly Glu Tyr Tyr Gln Phe Asp Gly Thr Pro Val
            340                 345                 350

gtt aag gcg atg tgg agg gag gcg aag gag tgt atc tat gtg gaa ccg     1104
Val Lys Ala Met Trp Arg Glu Ala Lys Glu Cys Ile Tyr Val Glu Pro
        355                 360                 365

gac agg caa ggt gag aag aaa ggt gtg ttc tgg tac aac aat aag tta     1152
Asp Arg Gln Gly Glu Lys Lys Gly Val Phe Trp Tyr Asn Asn Lys Leu
    370                 375                 380

tga                                                                1155


<210>  23
<211>  384
<212>  PRT
<213>  Secuencia artificial

<220>
<221>  misc_feature
<222>  (20)..(20)
<223>  El 'Xaa' en la posición 20 representa Asn o Thr.

<220>
<221>  misc_feature
<222>  (90)..(90)
<223>  El 'Xaa' en la posición 90 representa Trp o STOP.

<220>
<221>  misc_feature
<222>  (93)..(93)
<223>  El 'Xaa' en la posición 93 representa Gln.
```

<220>
<221> misc_feature
<222> (116)..(116)
<223> El 'Xaa' en la posición 116 representa Gln o STOP.

<220>
<221> misc_feature
<222> (118)..(118)
<223> El 'Xaa' en la posición 118 representa Leu.

<220>
<221> misc_feature
<222> (216)..(216)
<223> El 'Xaa' en la posición 216 representa Pro o Ser.

<220>
<221> misc_feature
<222> (241)..(241)
<223> El 'Xaa' en la posición 241 representa Tyr o Phe.

<220>
<221> misc_feature
<222> (246)..(246)
<223> El 'Xaa' en la posición 246 representa Ala o Val.

<220>
<221> misc_feature
<222> (247)..(247)
<223> El 'Xaa' en la posición 247 representa Gln.

<220>
<221> misc_feature
<222> (251)..(251)
<223> El 'Xaa' en la posición 251 representa Ser.

<220>
<221> misc_feature
<222> (259)..(259)
<223> El 'Xaa' en la posición 259 representa Pro o Ser.

<220>
<221> misc_feature
<222> (264)..(264)
<223> El 'Xaa' en la posición 264 representa Asn.

<220>
<221> misc_feature
<222> (267)..(267)
<223> El 'Xaa' en la posición 267 representa Leu.

<220>
<221> misc_feature
<222> (276)..(276)
<223> El 'Xaa' en la posición 276 representa Thr o Met.

<220>
<221> misc_feature
<222> (283)..(283)
<223> El 'Xaa' en la posición 283 representa Tyr.

<220>
<221> misc_feature
<222> (284)..(284)
<223> El 'Xaa' en la posición 284 representa Asp.

<220>
<221> misc_feature

<222> (286)..(286)
<223> El 'Xaa' en la posición 286 representa Ser.

<220>
<221> misc_feature
<222> (312)..(312)
<223> El 'Xaa' en la posición 312 representa Ile.

<220>
<221> misc_feature
<222> (320)..(320)
<223> El 'Xaa' en la posición 320 representa His.

<220>
<221> misc_feature
<222> (323)..(323)
<223> El 'Xaa' en la posición 323 representa Ser.

<220>
<221> misc_feature
<222> (329)..(329)
<223> El 'Xaa' en la posición 329 representa His.

<220>
<223> Mutantes de fad2 de Brassica napus

<400> 23

Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1 5 10 15

Glu Thr Asp Xaa Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
20 25 30

Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
35 40 45

Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
50 55 60

Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65 70 75 80

Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Xaa Ala Cys Xaa Gly Cys Val
85 90 95

Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
100 105 110

Ser Asp Tyr Xaa Trp Xaa Asp Asp Thr Val Gly Leu Ile Phe His Ser
115 120 125

Phe Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Lys Tyr Ser His Arg Arg His
130 135 140

His Ser Asn Thr Gly Ser Leu Glu Arg Asp Glu Val Phe Val Pro Lys
145 150 155 160

Lys Lys Ser Asp Ile Lys Trp Tyr Gly Lys Tyr Leu Asn Asn Pro Leu
165 170 175

Gly Arg Thr Val Met Leu Thr Val Gln Phe Thr Leu Gly Trp Pro Leu
180 185 190

Tyr Leu Ala Phe Asn Val Ser Gly Arg Pro Tyr Asp Gly Gly Phe Ala
195 200 205

Cys His Phe His Pro Asn Ala Xaa Ile Tyr Asn Asp Arg Glu Arg Leu
210 215 220

Gln Ile Tyr Ile Ser Asp Ala Gly Ile Leu Ala Val Cys Tyr Gly Leu
225 230 235 240

Xaa Arg Tyr Ala Ala Xaa Xaa Gly Val Ala Xaa Met Val Cys Phe Tyr
245 250 255

Gly Val Xaa Leu Leu Ile Val Xaa Gly Phe Xaa Val Leu Ile Thr Tyr
260 265 270

Leu Gln His Xaa His Pro Ser Leu Pro His Xaa Xaa Ser Xaa Glu Trp
275 280 285

Asp Trp Leu Arg Gly Ala Leu Ala Thr Val Asp Arg Asp Tyr Gly Ile
290 295 300

Leu Asn Lys Val Phe His Asn Xaa Thr Asp Thr His Val Ala His Xaa
305 310 315 320

Leu Phe Xaa Thr Met Pro His Tyr Xaa Ala Met Glu Ala Thr Lys Ala
325 330 335

Ile Lys Pro Ile Leu Gly Glu Tyr Tyr Gln Phe Asp Gly Thr Pro Val
340 345 350

Val Lys Ala Met Trp Arg Glu Ala Lys Glu Cys Ile Tyr Val Glu Pro
355 360 365

Asp Arg Gln Gly Glu Lys Lys Gly Val Phe Trp Tyr Asn Asn Lys Leu
370 375 380

<210> 24
<211> 1155
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mutante de fad2A por G269A de Brassica napus

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(270)

<400> 24
atg ggt gca ggt gga aga atg caa gtg tct cct ccc tcc aaa aag tct 48
Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1 5 10 15

gaa acc gac aac atc aag cgc gta ccc tgc gag aca ccg ccc ttc act 96
Glu Thr Asp Asn Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
20 25 30

gtc gga gaa ctc aag aaa gca atc cca ccg cac tgt ttc aaa cgc tcg 144
Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
35 40 45

atc cct cgc tct ttc tcc tac ctc atc tgg gac atc atc ata gcc tcc 192
Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
50 55 60

tgc ttc tac tac gtc gcc acc act tac ttc cct ctc ctc cct cac cct 240
Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65 70 75 80

ctc tcc tac ttc gcc tgg cct ctc tac tag gcctgccagg gctgcgtcct 290
Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr
85

aaccggcgtc tgggtcatag cccacgagtg cggccaccac gccttcagcg actaccagtg 350

gctggacgac accgtcggcc tcatcttcca ctccttcctc ctcgtccctt acttctcctg 410

gaagtacagt catcgacgcc accattccaa cactggctcc ctcgagagag acgaagtgtt 470

tgtccccaag aagaagtcag acatcaagtg gtacggcaag tacctcaaca acccttggg 530

acgcaccgtg atgttaacgg ttcagttcac tctcggctgg cctttgtact tagccttcaa 590

cgtctcgggg agaccttacg acggcggctt cgcttgccat ttccacccca acgctcccat 650

ctacaacgac cgtgagcgtc tccagatata catctccgac gctggcatcc tcgccgtctg 710

ctacggtctc taccgctacg ctgctgtcca aggagttgcc tctatggtct gcttctacgg 770

agttcctctt ctgattgtca acgggttctt agttttgatc acttacttgc agcacacgca 830

tccttccctg cctcactatg actcgtctga gtgggattgg ttgaggggag ctttggccac 890

cgttgacaga gactacggaa tcttgaacaa ggtcttccac aatatcacgg acacgcacgt 950

ggcgcatcac ctgttctcga ccatgccgca ttatcatgcg atggaagcta cgaaggcgat 1010

aaagccgata ctgggagagt attatcagtt cgatgggacg ccggtggtta aggcgatgtg 1070

gagggaggcg aaggagtgta tctatgtgga accggacagg caaggtgaga agaaaggtgt 1130

gttctggtac aacaataagt tatga 1155

<210> 25
<211> 89
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mutante de fad2A por G269A de Brassica napus

<400> 25

Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser

1 5 10 15

Glu Thr Asp Asn Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
20 25 30

Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
35 40 45

Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
50 55 60

Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65 70 75 80

Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr
85

<210> 26
<211> 1155
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mutante de fad2A por C346T de Brassica napus

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(348)

<400> 26

atg ggt gca ggt gga aga atg caa gtg tct cct ccc tcc aaa aag tct 48
Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1 5 10 15

gaa acc gac aac atc aag cgc gta ccc tgc gag aca ccg ccc ttc act 96
Glu Thr Asp Asn Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
20 25 30

gtc gga gaa ctc aag aaa gca atc cca ccg cac tgt ttc aaa cgc tcg 144
Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
35 40 45

atc cct cgc tct ttc tcc tac ctc atc tgg gac atc atc ata gcc tcc 192
Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
50 55 60

tgc ttc tac tac gtc gcc acc act tac ttc cct ctc ctc cct cac cct 240
Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65 70 75 80

ctc tcc tac ttc gcc tgg cct ctc tac tgg gcc tgc cag ggc tgc gtc 288
Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Trp Ala Cys Gln Gly Cys Val
85 90 95

cta acc ggc gtc tgg gtc ata gcc cac gag tgc ggc cac cac gcc ttc 336
Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
100 105 110

agc gac tac tag tggctggacg acaccgtcgg cctcatcttc cactccttcc 388
Ser Asp Tyr
115

tcctcgtccc ttacttctcc tggaagtaca gtcatcgacg ccaccattcc aacactggct 448

ccctcgagag agacgaagtg tttgtcccca agaagaagtc agacatcaag tggtacggca 508

agtacctcaa caacccttg ggacgcaccg tgatgttaac ggttcagttc actctcggct 568

ggcctttgta cttagccttc aacgtctcgg ggagacctta cgacggcggc ttcgcttgcc 628

atttccaccc caacgctccc atctacaacg accgtgagcg tctccagata tacatctccg 688

acgctggcat cctcgccgtc tgctacggtc tctaccgcta cgctgctgtc caaggagttg 748

cctctatggt ctgcttctac ggagttcctc ttctgattgt caacgggttc ttagttttga 808

tcacttactt gcagcacacg catccttccc tgcctcacta tgactcgtct gagtgggatt 868

ggttgagggg agctttggcc accgttgaca gagactacgg aatcttgaac aaggtcttcc 928

acaatatcac ggacacgcac gtggcgcatc acctgttctc gaccatgccg cattatcatg 988

cgatggaagc tacgaaggcg ataaagccga tactgggaga gtattatcag ttcgatggga 1048

cgccggtggt taaggcgatg tggagggagg cgaaggagtg tatctatgtg gaaccggaca 1108

ggcaaggtga gaagaaaggt gtgttctggt acaacaataa gttatga 1155

<210> 27
<211> 115
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mutante de fad2A por C346T de Brassica napus

<400> 27

Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1 5 10 15

Glu Thr Asp Asn Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
20 25 30

Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
35 40 45

Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
50 55 60

Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65 70 75 80

Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Trp Ala Cys Gln Gly Cys Val
85 90 95

Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
100 105 110

Ser Asp Tyr
115

<210> 28
<211> 1155
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mutante de fad2C por C646T de Brassica napus

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1155)

<400> 28

```
atg ggt gca ggt gga aga atg caa gtg tct cct ccc tcc aaa aag tct       48
Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1               5                   10                  15

gaa acc gac acc atc aag cgc gta ccc tgc gag aca ccg ccc ttc act       96
Glu Thr Asp Thr Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
            20                  25                  30

gtc gga gaa ctc aag aaa gca atc cca ccg cac tgt ttc aaa cgc tcg      144
Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
        35                  40                  45

atc cct cgc tct ttc tcc tac ctc atc tgg gac atc atc ata gcc tcc      192
Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
    50                  55                  60

tgc ttc tac tac gtc gcc acc act tac ttc cct ctc ctc cct cac cct      240
Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65                  70                  75                  80

ctc tcc tac ttc gcc tgg cct ctc tac tgg gcc tgc caa ggg tgc gtc      288
Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Trp Ala Cys Gln Gly Cys Val
                85                  90                  95

cta acc ggc gtc tgg gtc ata gcc cac gag tgc ggc cac cac gcc ttc      336
Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
            100                 105                 110

agc gac tac cag tgg ctt gac gac acc gtc ggt ctc atc ttc cac tcc      384
Ser Asp Tyr Gln Trp Leu Asp Asp Thr Val Gly Leu Ile Phe His Ser
        115                 120                 125

ttc ctc ctc gtc cct tac ttc tcc tgg aag tac agt cat cga cgc cac      432
Phe Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Lys Tyr Ser His Arg Arg His
    130                 135                 140

cat tcc aac act ggc tcc ctc gag aga gac gaa gtg ttt gtc ccc aag      480
His Ser Asn Thr Gly Ser Leu Glu Arg Asp Glu Val Phe Val Pro Lys
145                 150                 155                 160

aag aag tca gac atc aag tgg tac ggc aag tac ctc aac aac cct ttg      528
Lys Lys Ser Asp Ile Lys Trp Tyr Gly Lys Tyr Leu Asn Asn Pro Leu
                165                 170                 175

gga cgc acc gtg atg tta acg gtt cag ttc act ctc ggc tgg ccg ttg      576
Gly Arg Thr Val Met Leu Thr Val Gln Phe Thr Leu Gly Trp Pro Leu
            180                 185                 190

tac tta gcc ttc aac gtc tcg gga aga cct tac gac ggc ggc ttc gct      624
Tyr Leu Ala Phe Asn Val Ser Gly Arg Pro Tyr Asp Gly Gly Phe Ala
        195                 200                 205
```

```
tgc cat ttc cac ccc aac gct tcc atc tac aac gac cgc gag cgt ctc      672
Cys His Phe His Pro Asn Ala Ser Ile Tyr Asn Asp Arg Glu Arg Leu
    210                 215                 220

cag ata tac atc tcc gac gct ggc atc ctc gcc gtc tgc tac ggt ctc      720
Gln Ile Tyr Ile Ser Asp Ala Gly Ile Leu Ala Val Cys Tyr Gly Leu
225                 230                 235                 240

ttc cgt tac gcc gcc gcg cag gga gtg gcc tcg atg gtc tgc ttc tac      768
Phe Arg Tyr Ala Ala Ala Gln Gly Val Ala Ser Met Val Cys Phe Tyr
                245                 250                 255

gga gtc ccg ctt ctg att gtc aat ggt ttc ctc gtg ttg atc act tac      816
Gly Val Pro Leu Leu Ile Val Asn Gly Phe Leu Val Leu Ile Thr Tyr
            260                 265                 270

ttg cag cac acg cat cct tcc ctg cct cac tac gat tcg tcc gag tgg      864
Leu Gln His Thr His Pro Ser Leu Pro His Tyr Asp Ser Ser Glu Trp
        275                 280                 285

gat tgg ttg agg gga gct ttg gct acc gtt gac aga gac tac gga atc      912
Asp Trp Leu Arg Gly Ala Leu Ala Thr Val Asp Arg Asp Tyr Gly Ile
    290                 295                 300

ttg aac aag gtc ttc cac aat att acc gac acg cac gtg gcg cat cat      960
Leu Asn Lys Val Phe His Asn Ile Thr Asp Thr His Val Ala His His
305                 310                 315                 320

ctg ttc tcc acg atg ccg cat tat cac gcg atg gaa gct acc aag gcg     1008
Leu Phe Ser Thr Met Pro His Tyr His Ala Met Glu Ala Thr Lys Ala
                325                 330                 335

ata aag ccg ata ctg gga gag tat tat cag ttc gat ggg acg ccg gtg     1056
Ile Lys Pro Ile Leu Gly Glu Tyr Tyr Gln Phe Asp Gly Thr Pro Val
            340                 345                 350

gtt aag gcg atg tgg agg gag gcg aag gag tgt atc tat gtg gaa ccg     1104
Val Lys Ala Met Trp Arg Glu Ala Lys Glu Cys Ile Tyr Val Glu Pro
        355                 360                 365

gac agg caa ggt gag aag aaa ggt gtg ttc tgg tac aac aat aag tta     1152
Asp Arg Gln Gly Glu Lys Lys Gly Val Phe Trp Tyr Asn Asn Lys Leu
    370                 375                 380

tga                                                                1155


<210>  29
<211>  384
<212>  PRT
<213>  Secuencia artificial

<220>
<223>  Mutante de fad2C por C646T de Brassica napus

<400>  29

Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1               5                   10                  15

Glu Thr Asp Thr Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
            20                  25                  30

Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
        35                  40                  45
```

```
Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
 50                  55                  60

Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65                  70                  75                  80

Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Trp Ala Cys Gln Gly Cys Val
                85                  90                  95

Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
            100                 105                 110

Ser Asp Tyr Gln Trp Leu Asp Asp Thr Val Gly Leu Ile Phe His Ser
        115                 120                 125

Phe Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Lys Tyr Ser His Arg Arg His
    130                 135                 140

His Ser Asn Thr Gly Ser Leu Glu Arg Asp Glu Val Phe Val Pro Lys
145                 150                 155                 160

Lys Lys Ser Asp Ile Lys Trp Tyr Gly Lys Tyr Leu Asn Asn Pro Leu
                165                 170                 175

Gly Arg Thr Val Met Leu Thr Val Gln Phe Thr Leu Gly Trp Pro Leu
            180                 185                 190

Tyr Leu Ala Phe Asn Val Ser Gly Arg Pro Tyr Asp Gly Gly Phe Ala
        195                 200                 205

Cys His Phe His Pro Asn Ala Ser Ile Tyr Asn Asp Arg Glu Arg Leu
    210                 215                 220

Gln Ile Tyr Ile Ser Asp Ala Gly Ile Leu Ala Val Cys Tyr Gly Leu
225                 230                 235                 240

Phe Arg Tyr Ala Ala Ala Gln Gly Val Ala Ser Met Val Cys Phe Tyr
                245                 250                 255

Gly Val Pro Leu Leu Ile Val Asn Gly Phe Leu Val Leu Ile Thr Tyr
            260                 265                 270

Leu Gln His Thr His Pro Ser Leu Pro His Tyr Asp Ser Ser Glu Trp
        275                 280                 285

Asp Trp Leu Arg Gly Ala Leu Ala Thr Val Asp Arg Asp Tyr Gly Ile
    290                 295                 300

Leu Asn Lys Val Phe His Asn Ile Thr Asp Thr His Val Ala His His
305                 310                 315                 320
```

Leu Phe Ser Thr Met Pro His Tyr His Ala Met Glu Ala Thr Lys Ala
325 330 335

Ile Lys Pro Ile Leu Gly Glu Tyr Tyr Gln Phe Asp Gly Thr Pro Val
340 345 350

Val Lys Ala Met Trp Arg Glu Ala Lys Glu Cys Ile Tyr Val Glu Pro
355 360 365

Asp Arg Gln Gly Glu Lys Lys Gly Val Phe Trp Tyr Asn Asn Lys Leu
370 375 380

<210> 30
<211> 1155
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mutante de fad2A por C775T de Brassica napus

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1155)

<400> 30
atg ggt gca ggt gga aga atg caa gtg tct cct ccc tcc aaa aag tct 48
Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1 5 10 15

gaa acc gac aac atc aag cgc gta ccc tgc gag aca ccg ccc ttc act 96
Glu Thr Asp Asn Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
20 25 30

gtc gga gaa ctc aag aaa gca atc cca ccg cac tgt ttc aaa cgc tcg 144
Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
35 40 45

atc cct cgc tct ttc tcc tac ctc atc tgg gac atc atc ata gcc tcc 192
Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
50 55 60

tgc ttc tac tac gtc gcc acc act tac ttc cct ctc ctc cct cac cct 240
Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65 70 75 80

ctc tcc tac ttc gcc tgg cct ctc tac tgg gcc tgc cag ggc tgc gtc 288
Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Trp Ala Cys Gln Gly Cys Val
85 90 95

cta acc ggc gtc tgg gtc ata gcc cac gag tgc ggc cac cac gcc ttc 336
Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
100 105 110

agc gac tac cag tgg ctg gac gac acc gtc ggc ctc atc ttc cac tcc 384
Ser Asp Tyr Gln Trp Leu Asp Asp Thr Val Gly Leu Ile Phe His Ser
115 120 125

ttc ctc ctc gtc cct tac ttc tcc tgg aag tac agt cat cga cgc cac 432
Phe Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Lys Tyr Ser His Arg Arg His
130 135 140

cat tcc aac act ggc tcc ctc gag aga gac gaa gtg ttt gtc ccc aag 480

```
His Ser Asn Thr Gly Ser Leu Glu Arg Asp Glu Val Phe Val Pro Lys
145                 150                 155                 160

aag aag tca gac atc aag tgg tac ggc aag tac ctc aac aac cct ttg      528
Lys Lys Ser Asp Ile Lys Trp Tyr Gly Lys Tyr Leu Asn Asn Pro Leu
                165                 170                 175

gga cgc acc gtg atg tta acg gtt cag ttc act ctc ggc tgg cct ttg      576
Gly Arg Thr Val Met Leu Thr Val Gln Phe Thr Leu Gly Trp Pro Leu
            180                 185                 190

tac tta gcc ttc aac gtc tcg ggg aga cct tac gac ggc ggc ttc gct      624
Tyr Leu Ala Phe Asn Val Ser Gly Arg Pro Tyr Asp Gly Gly Phe Ala
        195                 200                 205

tgc cat ttc cac ccc aac gct ccc atc tac aac gac cgt gag cgt ctc      672
Cys His Phe His Pro Asn Ala Pro Ile Tyr Asn Asp Arg Glu Arg Leu
    210                 215                 220

cag ata tac atc tcc gac gct ggc atc ctc gcc gtc tgc tac ggt ctc      720
Gln Ile Tyr Ile Ser Asp Ala Gly Ile Leu Ala Val Cys Tyr Gly Leu
225                 230                 235                 240

tac cgc tac gct gct gtc caa gga gtt gcc tct atg gtc tgc ttc tac      768
Tyr Arg Tyr Ala Ala Val Gln Gly Val Ala Ser Met Val Cys Phe Tyr
                245                 250                 255

gga gtt tct ctt ctg att gtc aac ggg ttc tta gtt ttg atc act tac      816
Gly Val Ser Leu Leu Ile Val Asn Gly Phe Leu Val Leu Ile Thr Tyr
            260                 265                 270

ttg cag cac acg cat cct tcc ctg cct cac tat gac tcg tct gag tgg      864
Leu Gln His Thr His Pro Ser Leu Pro His Tyr Asp Ser Ser Glu Trp
        275                 280                 285

gat tgg ttg agg gga gct ttg gcc acc gtt gac aga gac tac gga atc      912
Asp Trp Leu Arg Gly Ala Leu Ala Thr Val Asp Arg Asp Tyr Gly Ile
    290                 295                 300

ttg aac aag gtc ttc cac aat atc acg gac acg cac gtg gcg cat cac      960
Leu Asn Lys Val Phe His Asn Ile Thr Asp Thr His Val Ala His His
305                 310                 315                 320

ctg ttc tcg acc atg ccg cat tat cat gcg atg gaa gct acg aag gcg     1008
Leu Phe Ser Thr Met Pro His Tyr His Ala Met Glu Ala Thr Lys Ala
                325                 330                 335

ata aag ccg ata ctg gga gag tat tat cag ttc gat ggg acg ccg gtg     1056
Ile Lys Pro Ile Leu Gly Glu Tyr Tyr Gln Phe Asp Gly Thr Pro Val
            340                 345                 350

gtt aag gcg atg tgg agg gag gcg aag gag tgt atc tat gtg gaa ccg     1104
Val Lys Ala Met Trp Arg Glu Ala Lys Glu Cys Ile Tyr Val Glu Pro
        355                 360                 365

gac agg caa ggt gag aag aaa ggt gtg ttc tgg tac aac aat aag tta     1152
Asp Arg Gln Gly Glu Lys Lys Gly Val Phe Trp Tyr Asn Asn Lys Leu
    370                 375                 380

tga                                                                1155


<210>  31
<211>  384
<212>  PRT
<213>  Secuencia artificial

<220>
```

<223> Mutante de fad2A por C775T de Brassica napus

<400> 31

```
Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1               5                   10                  15

Glu Thr Asp Asn Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
            20                  25                  30

Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
        35                  40                  45

Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
    50                  55                  60

Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65                  70                  75                  80

Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Trp Ala Cys Gln Gly Cys Val
                85                  90                  95

Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
            100                 105                 110

Ser Asp Tyr Gln Trp Leu Asp Asp Thr Val Gly Leu Ile Phe His Ser
        115                 120                 125

Phe Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Lys Tyr Ser His Arg Arg His
    130                 135                 140

His Ser Asn Thr Gly Ser Leu Glu Arg Asp Glu Val Phe Val Pro Lys
145                 150                 155                 160

Lys Lys Ser Asp Ile Lys Trp Tyr Gly Lys Tyr Leu Asn Asn Pro Leu
                165                 170                 175

Gly Arg Thr Val Met Leu Thr Val Gln Phe Thr Leu Gly Trp Pro Leu
            180                 185                 190

Tyr Leu Ala Phe Asn Val Ser Gly Arg Pro Tyr Asp Gly Gly Phe Ala
        195                 200                 205

Cys His Phe His Pro Asn Ala Pro Ile Tyr Asn Asp Arg Glu Arg Leu
    210                 215                 220

Gln Ile Tyr Ile Ser Asp Ala Gly Ile Leu Ala Val Cys Tyr Gly Leu
225                 230                 235                 240

Tyr Arg Tyr Ala Ala Val Gln Gly Val Ala Ser Met Val Cys Phe Tyr
                245                 250                 255
```

Gly Val Ser Leu Leu Ile Val Asn Gly Phe Leu Val Leu Ile Thr Tyr
260 265 270

Leu Gln His Thr His Pro Ser Leu Pro His Tyr Asp Ser Ser Glu Trp
275 280 285

Asp Trp Leu Arg Gly Ala Leu Ala Thr Val Asp Arg Asp Tyr Gly Ile
290 295 300

Leu Asn Lys Val Phe His Asn Ile Thr Asp Thr His Val Ala His His
305 310 315 320

Leu Phe Ser Thr Met Pro His Tyr His Ala Met Glu Ala Thr Lys Ala
325 330 335

Ile Lys Pro Ile Leu Gly Glu Tyr Tyr Gln Phe Asp Gly Thr Pro Val
340 345 350

Val Lys Ala Met Trp Arg Glu Ala Lys Glu Cys Ile Tyr Val Glu Pro
355 360 365

Asp Arg Gln Gly Glu Lys Lys Gly Val Phe Trp Tyr Asn Asn Lys Leu
370 375 380

<210> 32
<211> 1155
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mutante de fad2A por C827T de Brassica napus

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1155)

<400> 32
atg ggt gca ggt gga aga atg caa gtg tct cct ccc tcc aaa aag tct 48
Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1 5 10 15

gaa acc gac aac atc aag cgc gta ccc tgc gag aca ccg ccc ttc act 96
Glu Thr Asp Asn Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
20 25 30

gtc gga gaa ctc aag aaa gca atc cca ccg cac tgt ttc aaa cgc tcg 144
Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
35 40 45

atc cct cgc tct ttc tcc tac ctc atc tgg gac atc atc ata gcc tcc 192
Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
50 55 60

tgc ttc tac tac gtc gcc acc act tac ttc cct ctc ctc cct cac cct 240
Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65 70 75 80

ctc tcc tac ttc gcc tgg cct ctc tac tgg gcc tgc cag ggc tgc gtc 288
Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Trp Ala Cys Gln Gly Cys Val

```
                    85                  90                  95

    cta acc ggc gtc tgg gtc ata gcc cac gag tgc ggc cac cac gcc ttc      336
    Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
5               100                 105                 110

    agc gac tac cag tgg ctg gac gac acc gtc ggc ctc atc ttc cac tcc      384
    Ser Asp Tyr Gln Trp Leu Asp Asp Thr Val Gly Leu Ile Phe His Ser
            115                 120                 125
10
    ttc ctc ctc gtc cct tac ttc tcc tgg aag tac agt cat cga cgc cac      432
    Phe Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Lys Tyr Ser His Arg Arg His
        130                 135                 140

15  cat tcc aac act ggc tcc ctc gag aga gac gaa gtg ttt gtc ccc aag      480
    His Ser Asn Thr Gly Ser Leu Glu Arg Asp Glu Val Phe Val Pro Lys
    145                 150                 155                 160

    aag aag tca gac atc aag tgg tac ggc aag tac ctc aac aac cct ttg      528
20  Lys Lys Ser Asp Ile Lys Trp Tyr Gly Lys Tyr Leu Asn Asn Pro Leu
                    165                 170                 175

    gga cgc acc gtg atg tta acg gtt cag ttc act ctc ggc tgg cct ttg      576
    Gly Arg Thr Val Met Leu Thr Val Gln Phe Thr Leu Gly Trp Pro Leu
25              180                 185                 190

    tac tta gcc ttc aac gtc tcg ggg aga cct tac gac ggc ggc ttc gct      624
    Tyr Leu Ala Phe Asn Val Ser Gly Arg Pro Tyr Asp Gly Gly Phe Ala
            195                 200                 205
30
    tgc cat ttc cac ccc aac gct ccc atc tac aac gac cgt gag cgt ctc      672
    Cys His Phe His Pro Asn Ala Pro Ile Tyr Asn Asp Arg Glu Arg Leu
        210                 215                 220

35  cag ata tac atc tcc gac gct ggc atc ctc gcc gtc tgc tac ggt ctc      720
    Gln Ile Tyr Ile Ser Asp Ala Gly Ile Leu Ala Val Cys Tyr Gly Leu
    225                 230                 235                 240

    tac cgc tac gct gct gtc caa gga gtt gcc tct atg gtc tgc ttc tac      768
40  Tyr Arg Tyr Ala Ala Val Gln Gly Val Ala Ser Met Val Cys Phe Tyr
                    245                 250                 255

    gga gtt cct ctt ctg att gtc aac ggg ttc tta gtt ttg atc act tac      816
    Gly Val Pro Leu Leu Ile Val Asn Gly Phe Leu Val Leu Ile Thr Tyr
45              260                 265                 270

    ttg cag cac atg cat cct tcc ctg cct cac tat gac tcg tct gag tgg      864
    Leu Gln His Met His Pro Ser Leu Pro His Tyr Asp Ser Ser Glu Trp
            275                 280                 285
50
    gat tgg ttg agg gga gct ttg gcc acc gtt gac aga gac tac gga atc      912
    Asp Trp Leu Arg Gly Ala Leu Ala Thr Val Asp Arg Asp Tyr Gly Ile
        290                 295                 300

55  ttg aac aag gtc ttc cac aat atc acg gac acg cac gtg gcg cat cac      960
    Leu Asn Lys Val Phe His Asn Ile Thr Asp Thr His Val Ala His His
    305                 310                 315                 320

    ctg ttc tcg acc atg ccg cat tat cat gcg atg gaa gct acg aag gcg     1008
60  Leu Phe Ser Thr Met Pro His Tyr His Ala Met Glu Ala Thr Lys Ala
                    325                 330                 335

    ata aag ccg ata ctg gga gag tat tat cag ttc gat ggg acg ccg gtg     1056
    Ile Lys Pro Ile Leu Gly Glu Tyr Tyr Gln Phe Asp Gly Thr Pro Val
65              340                 345                 350

    gtt aag gcg atg tgg agg gag gcg aag gag tgt atc tat gtg gaa ccg     1104
    Val Lys Ala Met Trp Arg Glu Ala Lys Glu Cys Ile Tyr Val Glu Pro
```

355 360 365

gac agg caa ggt gag aag aaa ggt gtg ttc tgg tac aac aat aag tta 1152
Asp Arg Gln Gly Glu Lys Lys Gly Val Phe Trp Tyr Asn Asn Lys Leu
370 375 380

tga 1155

<210> 33
<211> 384
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Mutante de fad2A por C827T de Brassica napus

<400> 33

Met Gly Ala Gly Gly Arg Met Gln Val Ser Pro Pro Ser Lys Lys Ser
1 5 10 15

Glu Thr Asp Asn Ile Lys Arg Val Pro Cys Glu Thr Pro Pro Phe Thr
20 25 30

Val Gly Glu Leu Lys Lys Ala Ile Pro Pro His Cys Phe Lys Arg Ser
35 40 45

Ile Pro Arg Ser Phe Ser Tyr Leu Ile Trp Asp Ile Ile Ile Ala Ser
50 55 60

Cys Phe Tyr Tyr Val Ala Thr Thr Tyr Phe Pro Leu Leu Pro His Pro
65 70 75 80

Leu Ser Tyr Phe Ala Trp Pro Leu Tyr Trp Ala Cys Gln Gly Cys Val
85 90 95

Leu Thr Gly Val Trp Val Ile Ala His Glu Cys Gly His His Ala Phe
100 105 110

Ser Asp Tyr Gln Trp Leu Asp Asp Thr Val Gly Leu Ile Phe His Ser
115 120 125

Phe Leu Leu Val Pro Tyr Phe Ser Trp Lys Tyr Ser His Arg Arg His
130 135 140

His Ser Asn Thr Gly Ser Leu Glu Arg Asp Glu Val Phe Val Pro Lys
145 150 155 160

Lys Lys Ser Asp Ile Lys Trp Tyr Gly Lys Tyr Leu Asn Asn Pro Leu
165 170 175

Gly Arg Thr Val Met Leu Thr Val Gln Phe Thr Leu Gly Trp Pro Leu
180 185 190

Tyr Leu Ala Phe Asn Val Ser Gly Arg Pro Tyr Asp Gly Gly Phe Ala

195 200 205

Cys His Phe His Pro Asn Ala Pro Ile Tyr Asn Asp Arg Glu Arg Leu
210 215 220

Gln Ile Tyr Ile Ser Asp Ala Gly Ile Leu Ala Val Cys Tyr Gly Leu
225 230 235 240

Tyr Arg Tyr Ala Ala Val Gln Gly Val Ala Ser Met Val Cys Phe Tyr
245 250 255

Gly Val Pro Leu Leu Ile Val Asn Gly Phe Leu Val Leu Ile Thr Tyr
260 265 270

Leu Gln His Met His Pro Ser Leu Pro His Tyr Asp Ser Ser Glu Trp
275 280 285

Asp Trp Leu Arg Gly Ala Leu Ala Thr Val Asp Arg Asp Tyr Gly Ile
290 295 300

Leu Asn Lys Val Phe His Asn Ile Thr Asp Thr His Val Ala His His
305 310 315 320

Leu Phe Ser Thr Met Pro His Tyr His Ala Met Glu Ala Thr Lys Ala
325 330 335

Ile Lys Pro Ile Leu Gly Glu Tyr Tyr Gln Phe Asp Gly Thr Pro Val
340 345 350

Val Lys Ala Met Trp Arg Glu Ala Lys Glu Cys Ile Tyr Val Glu Pro
355 360 365

Asp Arg Gln Gly Glu Lys Lys Gly Val Phe Trp Tyr Asn Asn Lys Leu
370 375 380

<210> 34
<211> 19
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 34
cacgccttca gcgactact 19

<210> 35
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 35

ttcgcctggc ctctctacta 20

<210> 36
<211> 19
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 36
atcgaggcaa ctccttgga 19

<210> 37
<211> 18
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 37
atttccaccc caaccgct 18

<210> 38
<211> 20
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 38
tctaccgcta cgctgctgtc 20

<210> 39
<211> 21
<212> ADN
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Cebador de PCR

<400> 39
agtgtctcct ccctccaaaa a 21

REIVINDICACIONES

1. Ácido nucleico mutado que codifica una enzima delta-12 oleato desaturasa (FAD2) de una planta *Cruciferae*, en el que dicho ácido nucleico mutado consiste en (i) una secuencia que comprende la mutación no conservativa de al menos un nucleótido de al menos un codón que representa un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en:
- el aminoácido en la posición 259 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 258 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos,
o (ii) la secuencia complementaria de dicha secuencia,
codificando dicho ácido nucleico mutado una FAD2 que tiene una actividad menor que la de la correspondiente FAD2 natural medida en las mismas condiciones.

2. Ácido nucleico mutado, según la reivindicación 1, en el que la secuencia de dicho ácido nucleico mutado comprende al menos una mutación que es una sustitución del codón que representa el aminoácido en la posición 259 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 258 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, por un codón que representa cualquier aminoácido diferente de P.

3. Ácido nucleico mutado, según la reivindicación 2, en el que:
- el codón que representa el aminoácido en la posición 259 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 258 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, está sustituido por un codón que representa S.

4. Ácido nucleico mutado, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la planta es del género *Brassica*.

5. Ácido nucleico mutado, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que dicha secuencia de FAD2 es la secuencia de FAD2A.

6. Ácido nucleico mutado, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la secuencia está representada por la SEQ ID NO: 22 y comprende al menos una mutación que es una sustitución de C a T en la posición 775 de la SEQ ID NO: 22.

7. Ácido nucleico mutado, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la secuencia es SEQ ID NO: 30.

8. Planta que tiene un mayor contenido de ácido oleico en comparación con plantas que son genéticamente idénticas, excepto por la mutación definida en la reivindicación 1, o una parte de dicha planta, en la que la planta o dicha parte de la planta comprende al menos un ácido nucleico, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que codifica una enzima FAD2 que tiene una actividad menor que la de la FAD2 natural correspondiente medida en las mismas condiciones.

9. Planta o parte de planta, según la reivindicación 8, en el que dicha planta o dicha parte de la planta comprende además al menos otro ácido nucleico en la que la secuencia de dicho ácido nucleico comprende la mutación no conservativa de al menos un nucleótido de al menos un codón que representa un aminoácido en la posición 216 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 215 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos.

10. Planta o parte de planta, según la reivindicación 9, en la que una copia de un gen de FAD2A es la SEQ ID NO: 30 y una copia de un gen de FAD2C es la SEQ ID NO: 28.

11. Utilización de un ácido nucleico, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para la selección de plantas, o parte de las plantas, que tienen un mayor contenido de ácido oleico en comparación con plantas que son genéticamente idénticas, excepto por la mutación definida en la reivindicación 1.

12. Procedimiento para seleccionar plantas que tienen un mayor contenido de ácido oleico en comparación con plantas que son genéticamente idénticas, excepto por la mutación definida en la reivindicación 1, mediante mutagénesis, que comprende las siguientes etapas:
- someter una planta o parte de una planta a un tratamiento mutagénico,
- regenerar plantas, o parte de las plantas, a partir de dicha planta o parte de una planta tratadas,
- seleccionar a partir de las plantas regeneradas las que comprenden al menos un ácido nucleico, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

13. Procedimiento, según la reivindicación 12, en el que la etapa de selección se realiza mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

14. Procedimiento, según la reivindicación 13, en el que la PCR se lleva a cabo con al menos uno de los siguientes pares de cebadores:

- SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15,
- SEQ ID NO: 38 y SEQ ID NO: 14.

15. Kit para la selección de plantas que tienen un alto contenido de ácido oleico, que comprende:
i) al menos una planta, o parte de una planta, que comprende un ácido nucleico, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y
ii) al menos un nucleico ácido seleccionado del grupo que consiste en:
- un fragmento de ácido nucleico de un ácido nucleico mutado, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende al menos 10 nucleótidos y comprende al menos un nucleótido contiguo a al menos un codón que representa el aminoácido en la posición 259 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 258 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, o la secuencia complementaria de dicho fragmento de ácido nucleico,
- un fragmento de ácido nucleico de un ácido nucleico mutado, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que comprende al menos 10 nucleótidos, incluyendo el nucleótido mutado, y comprende al menos un nucleótido contiguo a al menos un codón que representa el aminoácido en la posición 259 de la secuencia de aminoácidos de dicha FAD2 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 384 aminoácidos, o en la posición 258 cuando dicha secuencia de FAD2 está constituida por 383 aminoácidos, o la secuencia complementaria de dicho fragmento de ácido nucleico,
- un fragmento de ácido nucleico seleccionado del grupo constituido por SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 3.

16. Kit, según la reivindicación 15, que comprende
- al menos una planta o parte de una planta, que comprende un ácido nucleico, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y
- al menos uno de los siguientes pares de cebadores:
- SEQ ID NO: 14 y SEQ ID NO: 15,
- SEQ ID NO: 38 y SEQ ID NO: 14.

17. Enzima FAD2 mutada de la planta codificada por una secuencia de ácido nucleico mutada, tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

18. Anticuerpo específico para una enzima FAD2 mutada de la planta, según la reivindicación 17.

19. Ácido nucleico seleccionado del grupo constituido por SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 38.

```
                    *        20         *        40         *        60         *        80
fad2A'LLR1' : AGTGTCTCCTCCCTCCAAAAAGTCTGAAACCGACAACATCAAGCGCGTACCCTGCGAGACACCGCCCTTCACTGTCGGAGAA :   82
fad2A'HOR1' : AGTGTCTCCTCCCTCCAAAAAGTCTGAAACCGACAACATCAAGCGCGTACCCTGCGAGACACCGCCCTTCACTGTCGGAGAA :   82

                   *       100         *       120         *       140         *       160
fad2A'LLR1' : CTCAAGAAAGCAATCCCACCGCACTGTTTCAAACGCTCGATCCCTCGCTCTTTCTCCTACCTCATCTGGGACATCATCATAG :  164
fad2A'HOR1' : CTCAAGAAAGCAATCCCACCGCACTGTTTCAAACGCTCGATCCCTCGCTCTTTCTCCTACCTCATCTGGGACATCATCATAG :  164

                 *       180         *       200         *       220         *       240
fad2A'LLR1' : CCTCCTGCTTCTACTACGTCGCCACCACTTACTTCCCTCTCCTCCCTCACCCTCTCTCCTACTTCGCCTGGCCTCTCTACTG :  246
fad2A'HOR1' : CCTCCTGCTTCTACTACGTCGCCACCACTTACTTCCCTCTCCTCCCTCACCCTCTCTCCTACTTCGCCTGGCCTCTCTACTG :  246

                   *       260         *       280         *       300         *       320
fad2A'LLR1' : GGCCTGCCAGGGCTGCGTCCTAACCGGCGTCTGGGTCATAGCCCACGAGTGCGGCCACCACGCCTTCAGCGACTACCAGTGG :  328
fad2A'HOR1' : GGCCTGCCAGGGCTGCGTCCTAACCGGCGTCTGGGTCATAGCCCACGAGTGCGGCCACCACGCCTTCAGCGACTACCAGTGG :  328

                  *       340         *       360         *       380         *       400         *
fad2A'LLR1' : CTGGACGACACCGTCGGCCTCATCTTCCACTCCTTCCTCCTCGTCCCTTACTTCTCCTGGAAGTACAGTCATCGACGCCACC :  410
fad2A'HOR1' : CTGGACGACACCGTCGGCCTCATCTTCCACTCCTTCCTCCTCGTCCCTTACTTCTCCTGGAAGTACAGTCATCGACGCCACC :  410

                        420         *       440         *       460         *       480         *
fad2A'LLR1' : ATTCCAACACTGGCTCCCTCGAGAGAGACGAAGTGTTTGTCCCCAAGAAGAAGTCAGACATCAAGTGGTACGGCAAGTACCT :  492
fad2A'HOR1' : ATTCCAACACTGGCTCCCTCGAGAGAGACGAAGTGTTTGTCCCCAAGAAGAAGTCAGACATCAAGTGGTACGGCAAGTACCT :  492

                     500         *       520         *       540         *       560         *
fad2A'LLR1' : CAACAACCCTTTGGGACGCACCGTGATGTTAACGGTTCAGTTCACTCTCGGCTGGCCTTTGTACTTAGCCTTCAACGTCTCG :  574
fad2A'HOR1' : CAACAACCCTTTGGGACGCACCGTGATGTTAACGGTTCAGTTCACTCTCGGCTGGCCTTTGTACTTAGCCTTCAACGTCTCG :  574

                   580         *       600         *       620         *       640         *
fad2A'LLR1' : GGGAGACCTTACGACGGCGGCTTCGCTTGCCATTTCCACCCCAACGCTCCCATCTACAACGACCGTGAGCGTCTCCAGATAT :  656
fad2A'HOR1' : GGGAGACCTTACGACGGCGGCTTCGCTTGCCATTTCCACCCCAACGCTCCCATCTACAACGACCGTGAGCGTCTCCAGATAT :  656
```

Figura 1 (inicio)

```
                660         *       680         *       700         *       720         *       7
fad2A'LLR1' : ACATCTCCGACGCTGGCATCCTCGCCGTCTGCTACGGTCTCTACCGCTACGCTGCTGTCCAAGGAGTTGCCTCTATGGTCTG :  738
fad2A'HOR1' : ACATCTCCGACGCTGGCATCCTCGCCGTCTGCTACGGTCTCTACCGCTACGCTGCTGTCCAAGGAGTTGCCTCTATGGTCTG :  738

                40          *  ▼    760         *       780         *       800         *       820
fad2A'LLR1' : CTTCTACGGAGTTCCTCTTCTGATTGTCAACGGGTTCTTAGTTTTGATCACTTACTTGCAGCACACGCATCCTTCCCTGCCT :  820
fad2A'HOR1' : CTTCTACGGAGTTTCTCTTCTGATTGTCAACGGGTTCTTAGTTTTGATCACTTACTTGCAGCACACGCATCCTTCCCTGCCT :  820
              Cebador directo
                        *       840         *       860         *       880         *       900
fad2A'LLR1' : CACTATGACTCGTCTGAGTGGGATTGGTTGAGGGGAGCTTTGGCCACCGTTGACAGAGACTACGGAATCTTGAACAAGGTCT :  902
fad2A'HOR1' : CACTATGACTCGTCTGAGTGGGATTGGTTGAGGGGAGCTTTGGCCACCGTTGACAGAGACTACGGAATCTTGAACAAGGTCT :  902

                      *       920         *       940         *       960         *       980
fad2A'LLR1' : TCCACAATATCACGGACACGCACGTGGCGCATCACCTGTTCTCGACCATGCCGCATTATCATGCGATGGAAGCTACGAAGGC :  984
fad2A'HOR1' : TCCACAATATCACGGACACGCACGTGGCGCATCACCTGTTCTCGACCATGCCGCATTATCATGCGATGGAAGCTACGAAGGC :  984
                    Cebador inverso
                       *      1000         *      1020         *      1040         *      1060
fad2A'LLR1' : GATAAAGCCGATACTGGGAGAGTATTATCAGTTCGATGGGACGCCGGTGGTTAAGGCGATGTGGAGGGAGGCGAAGGAGTGT : 1066
fad2A'HOR1' : GATAAAGCCGATACTGGGAGAGTATTATCAGTTCGATGGGACGCCGGTGGTTAAGGCGATGTGGAGGGAGGCGAAGGAGTGT : 1066

                   *      1080         *      1100
fad2A'LLR1' : ATCTATGTGGAACCGGACAGGCAAGGTGAGAAGA : 1100
fad2A'HOR1' : ATCTATGTGGAACCGGACAGGCAAGGTGAGAAGA : 1100
```

Figura 1 (final)

```
                        *         20          *         40          *         60          *         80
fad2C'LLR1' : AGTGTCTCCTCCCTCCAAAAAGTCTGAAACCGACACCATCAAGCGCGTACCCTGCGAGACACCGCCCTTCACTGTCGGAGAA :   82
fad2C'HOR1' : AGTGTCTCCTCCCTCCAAAAAGTCTGAAACCGACACCATCAAGCGCGTACCCTGCGAGACACCGCCCTTCACTGTCGGAGAA :   82

                      *        100          *        120          *        140          *        160
fad2C'LLR1' : CTCAAGAAAGCAATCCCACCGCACTGTTTCAAACGCTCGATCCCTCGCTCTTTCTCCTACCTCATCTGGGACATCATCATAG :  164
fad2C'HOR1' : CTCAAGAAAGCAATCCCACCGCACTGTTTCAAACGCTCGATCCCTCGCTCTTTCTCCTACCTCATCTGGGACATCATCATAG :  164

                   *        180          *        200          *        220          *        240
fad2C'LLR1' : CCTCCTGCTTCTACTACGTCGCCACCACTTACTTCCCTCTCCTCCCTCACCCTCTCTCCTACTTCGCCTGGCCTCTCTACTG :  246
fad2C'HOR1' : CCTCCTGCTTCTACTACGTCGCCACCACTTACTTCCCTCTCCTCCCTCACCCTCTCTCCTACTTCGCCTGGCCTCTCTACTG :  246

                      *        260          *        280          *        300          *        320
fad2C'LLR1' : GGCCTGCCAAGGGTGCGTCCTAACCGGCGTCTGGGTCATAGCCCACGAGTGCGGCCACCACGCCTTCAGCGACTACCAGTGG :  328
fad2C'HOR1' : GGCCTGCCAAGGGTGCGTCCTAACCGGCGTCTGGGTCATAGCCCACGAGTGCGGCCACCACGCCTTCAGCGACTACCAGTGG :  328

                    *        340          *        360          *        380          *        400          *
fad2C'LLR1' : CTTGACGACACCGTCGGTCTCATCTTCCACTCCTTCCTCCTCGTCCCTTACTTCTCCTGGAAGTACAGTCATCGACGCCACC :  410
fad2C'HOR1' : CTTGACGACACCGTCGGTCTCATCTTCCACTCCTTCCTCCTCGTCCCTTACTTCTCCTGGAAGTACAGTCATCGACGCCACC :  410

                         420          *        440          *        460          *        480          *
fad2C'LLR1' : ATTCCAACACTGGCTCCCTCGAGAGAGACGAAGTGTTTGTCCCCAAGAAGAAGTCAGACATCAAGTGGTACGGCAAGTACCT :  492
fad2C'HOR1' : ATTCCAACACTGGCTCCCTCGAGAGAGACGAAGTGTTTGTCCCCAAGAAGAAGTCAGACATCAAGTGGTACGGCAAGTACCT :  492

                      500          *        520          *        540          *        560          *
fad2C'LLR1' : CAACAACCCTTTGGGACGCACCGTGATGTTAACGGTTCAGTTCACTCTCGGCTGGCCGTTGTACTTAGCCTTCAACGTCTCG :  574
fad2C'HOR1' : CAACAACCCTTTGGGACGCACCGTGATGTTAACGGTTCAGTTCACTCTCGGCTGGCCGTTGTACTTAGCCTTCAACGTCTCG :  574

                   580          *        600          *        620 ▼        *        640          *
fad2C'LLR1' : GGAAGACCTTACGACGGCGGCTTCGCTTGCCATTTCCACCCCAACGCTCCCATCTACAACGACCGCGAGCGTCTCCAGATAT :  656
fad2C'HOR1' : GGAAGACCTTACGACGGCGGCTTCGCTTGCCATTTCCACCCCAACGCTTCCATCTACAACGACCGCGAGCGTCTCCAGATAT :  656
                                                 Cebador directo
```

Figura 2 (inicio)

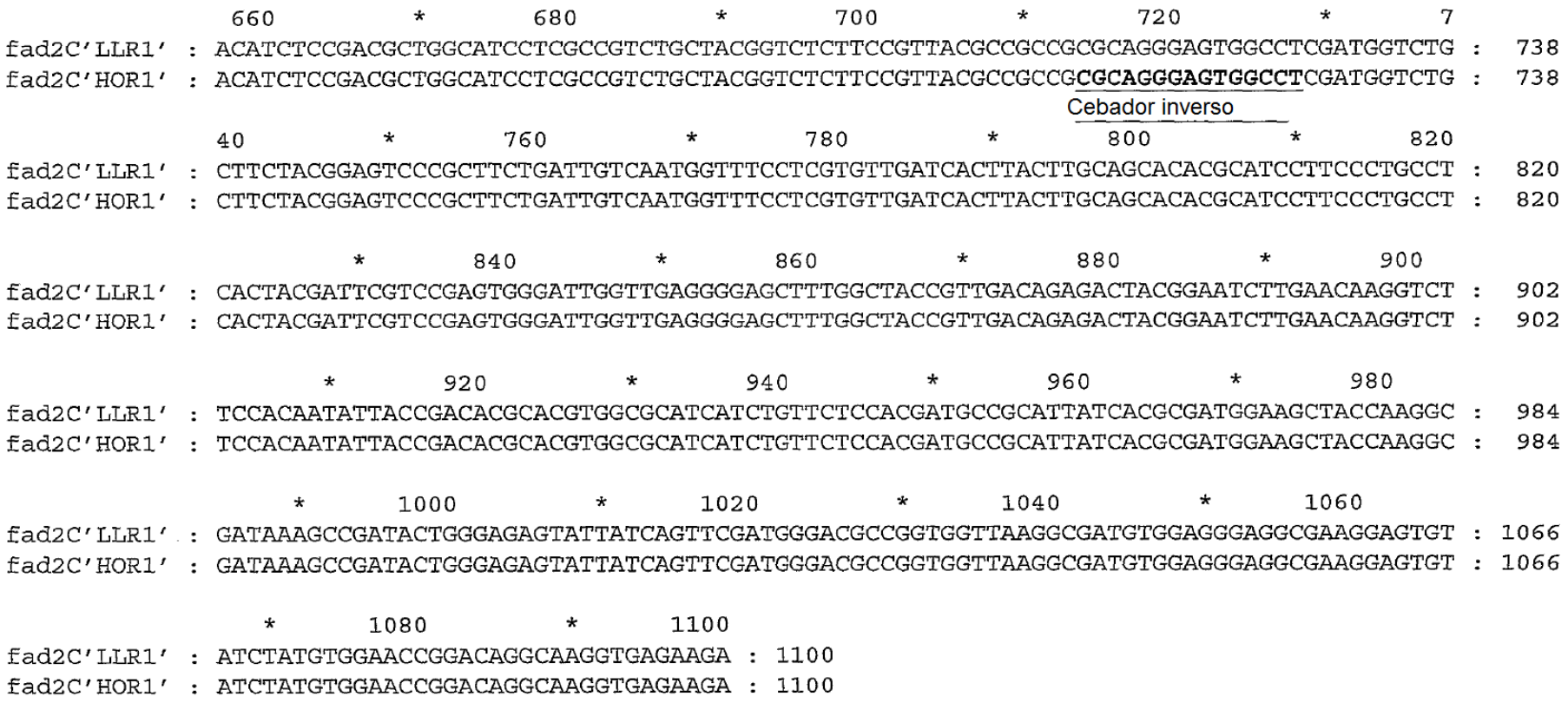

Figura 2 (final)

```
                    *        20         *        40         *        60         *        80
fad2A'LLR1' : AGTGTCTCCTCCCTCCAAAAAGTCTGAAACCGACAACATCAAGCGCGTACCCTGCGAGACACCGCCCTTCACTGTCGGAGAA :   82
fad2A'HOR2' : AGTGTCTCCTCCCTCCAAAAAGTCTGAAACCGACAACATCAAGCGCGTACCCTGCGAGACACCGCCCTTCACTGTCGGAGAA :   82

                   *       100         *       120         *       140         *       160
fad2A'LLR1' : CTCAAGAAAGCAATCCCACCGCACTGTTTCAAACGCTCGATCCCTCGCTCTTTCTCCTACCTCATCTGGGACATCATCATAG :  164
fad2A'HOR2' : CTCAAGAAAGCAATCCCACCGCACTGTTTCAAACGCTCGATCCCTCGCTCTTTCTCCTACCTCATCTGGGACATCATCATAG :  164

                 *       180         *       200         *       220         *       240
fad2A'LLR1' : CCTCCTGCTTCTACTACGTCGCCACCACTTACTTCCCTCTCCTCCCTCACCCTCTCTCCTACTTCGCCTGGCCTCTCTACTG :  246
fad2A'HOR2' : CCTCCTGCTTCTACTACGTCGCCACCACTTACTTCCCTCTCCTCCCTCACCCTCTCTCCTACTTCGCCTGGCCTCTCTACTG :  246

                    *       260         *       280         *       300         *       320
fad2A'LLR1' : GGCCTGCCAGGGCTGCGTCCTAACCGGCGTCTGGGTCATAGCCCACGAGTGCGGCCACCACGCCTTCAGCGACTACCAGTGG :  328
fad2A'HOR2' : GGCCTGCCAGGGCTGCGTCCTAACCGGCGTCTGGGTCATAGCCCACGAGTGCGGCCACCACGCCTTCAGCGACTACCAGTGG :  328

                  *       340         *       360         *       380         *       400         *
fad2A'LLR1' : CTGGACGACACCGTCGGCCTCATCTTCCACTCCTTCCTCCTCGTCCCTTACTTCTCCTGGAAGTACAGTCATCGACGCCACC :  410
fad2A'HOR2' : CTGGACGACACCGTCGGCCTCATCTTCCACTCCTTCCTCCTCGTCCCTTACTTCTCCTGGAAGTACAGTCATCGACGCCACC :  410

                        420         *       440         *       460         *       480         *
fad2A'LLR1' : ATTCCAACACTGGCTCCCTCGAGAGAGACGAAGTGTTTGTCCCCAAGAAGAAGTCAGACATCAAGTGGTACGGCAAGTACCT :  492
fad2A'HOR2' : ATTCCAACACTGGCTCCCTCGAGAGAGACGAAGTGTTTGTCCCCAAGAAGAAGTCAGACATCAAGTGGTACGGCAAGTACCT :  492

                      500         *       520         *       540         *       560         *
fad2A'LLR1' : CAACAACCCTTTGGGACGCACCGTGATGTTAACGGTTCAGTTCACTCTCGGCTGGCCTTTGTACTTAGCCTTCAACGTCTCG :  574
fad2A'HOR2' : CAACAACCCTTTGGGACGCACCGTGATGTTAACGGTTCAGTTCACTCTCGGCTGGCCTTTGTACTTAGCCTTCAACGTCTCG :  574

                    580         *       600         *       620         *       640         *
fad2A'LLR1' : GGGAGACCTTACGACGGCGGCTTCGCTTGCCATTTCCACCCCAACGCTCCCATCTACAACGACCGTGAGCGTCTCCAGATAT :  656
fad2A'HOR2' : GGGAGACCTTACGACGGCGGCTTCGCTTGCCATTTCCACCCCAACGCTCCCATCTACAACGACCGTGAGCGTCTCCAGATAT :  656
```

Figura 3 (inicio)

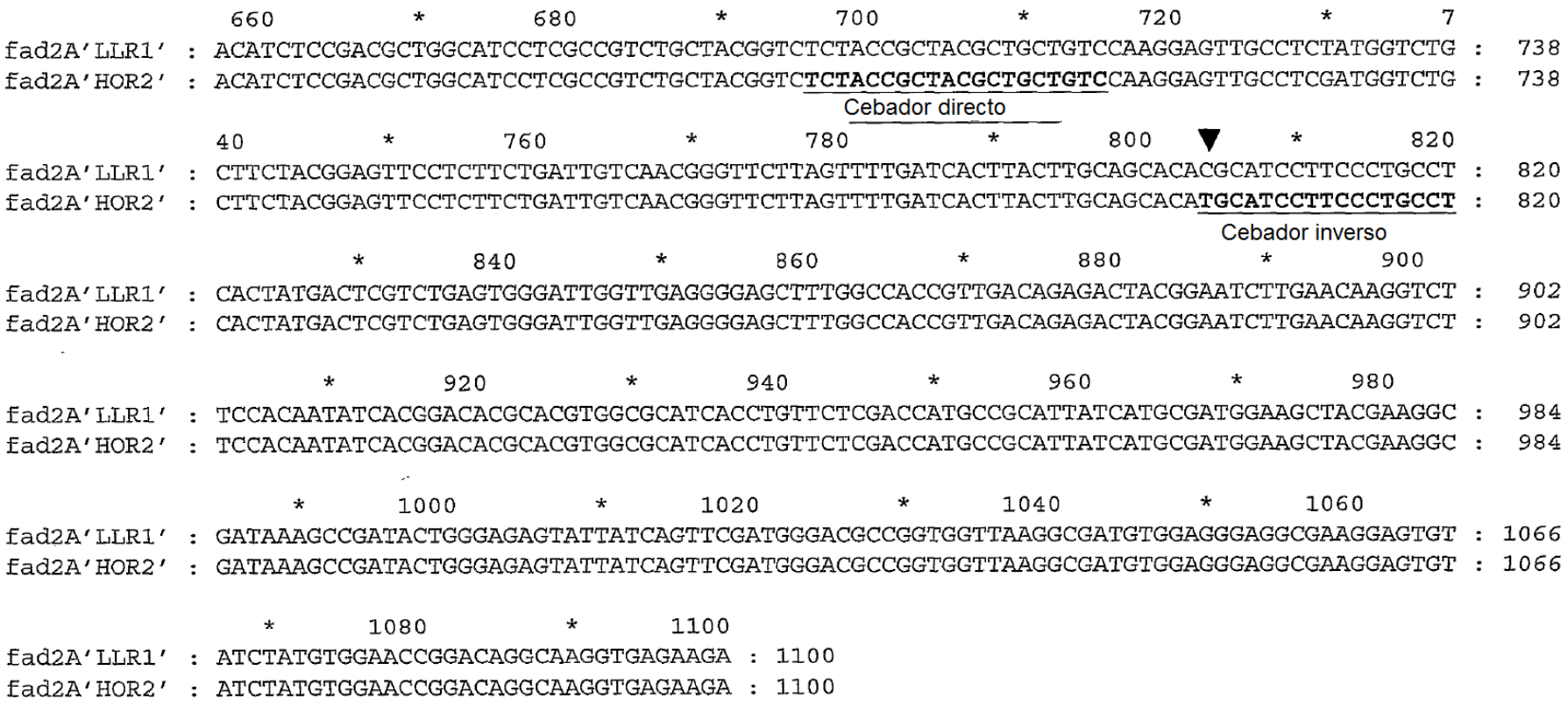

Figura 3 (final)

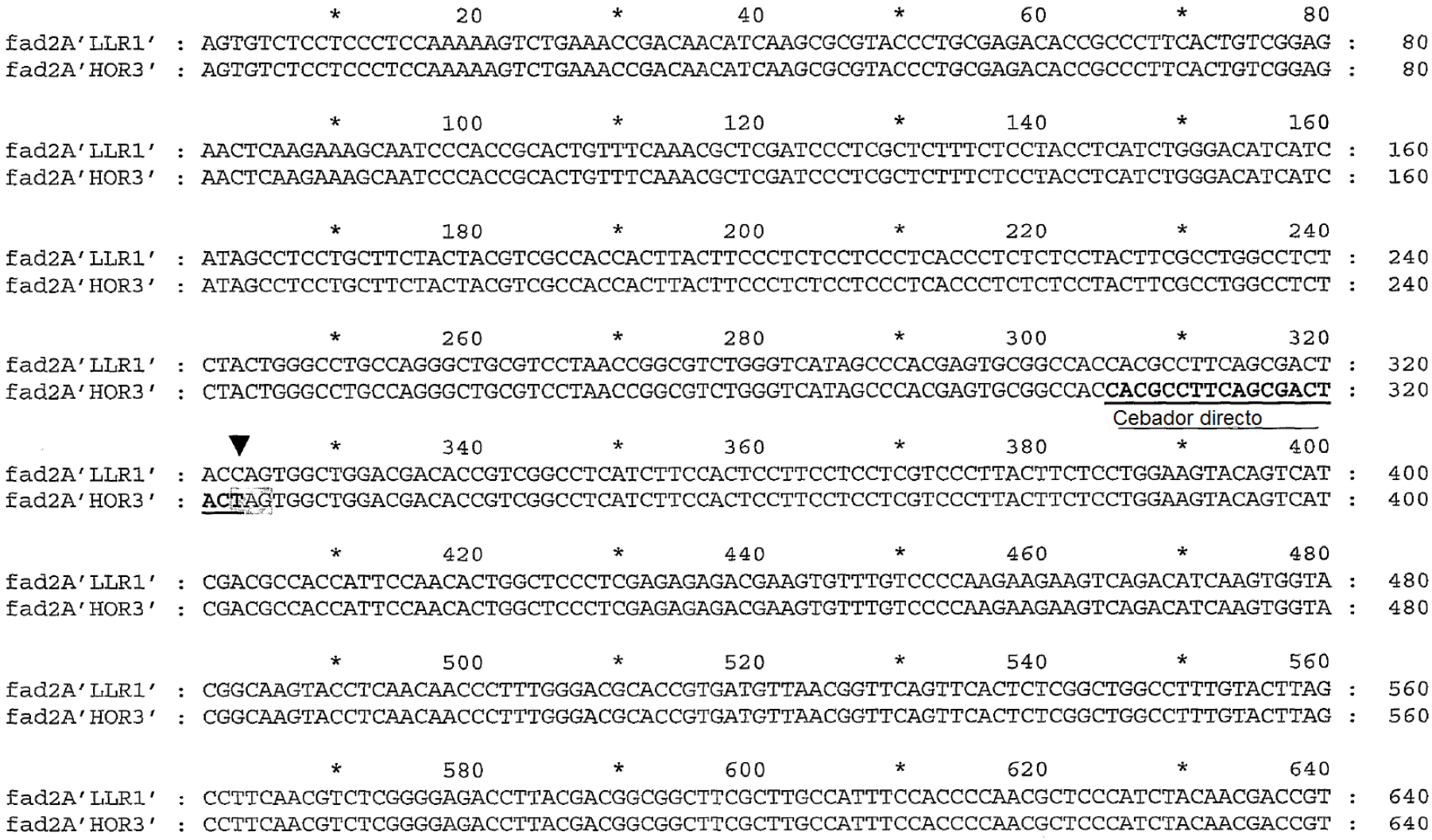

Figura 4 (inicio)

```
                    *       660         *       680         *       700         *       720
fad2A'LLR1'  : GAGCGTCTCCAGATATACATCTCCGACGCTGGCATCCTCGCCGTCTGCTACGGTCTCTACCGCTACGCTGCTGTCCAAGG :  720
fad2A'HOR3'  : GAGCGTCTCCAGATATACATCTCCGACGCTGGCATCCTCGCCGTCTGCTACGGTCTCTACCGCTACGCTGCTGTCCAAGG :  720
                                                                                    Cebador
                    *       740         *       760         *       780         *       800
fad2A'LLR1'  : AGTTGCCTCTATGGTCTGCTTCTACGGAGTTCCTCTTCTGATTGTCAACGGGTTCTTAGTTTTGATCACTTACTTGCAGC :  800
fad2A'HOR3'  : AGTTGCCTCGATGGTCTGCTTCTACGGAGTTCCTCTTCTGATTGTCAACGGGTTCTTAGTTTTGATCACTTACTTGCAGC :  800
               inverso
                    *       820         *       840         *       860         *       880
fad2A'LLR1'  : ACACGCATCCTTCCCTGCCTCACTATGACTCGTCTGAGTGGGATTGGTTGAGGGGAGCTTTGGCCACCGTTGACAGAGAC :  880
fad2A'HOR3'  : ACACGCATCCTTCCCTGCCTCACTATGACTCGTCTGAGTGGGATTGGTTGAGGGGAGCTTTGGCCACCGTTGACAGAGAC :  880

                    *       900         *       920         *       940         *       960
fad2A'LLR1'  : TACGGAATCTTGAACAAGGTCTTCCACAATATCACGGACACGCACGTGGCGCATCACCTGTTCTCGACCATGCCGCATTA :  960
fad2A'HOR3'  : TACGGAATCTTGAACAAGGTCTTCCACAATATCACGGACACGCACGTGGCGCATCACCTGTTCTCGACCATGCCGCATTA :  960

                    *       980         *      1000         *      1020         *      1040
fad2A'LLR1'  : TCATGCGATGGAAGCTACGAAGGCGATAAAGCCGATACTGGGAGAGTATTATCAGTTCGATGGGACGCCGGTGGTTAAGG : 1040
fad2A'HOR3'  : TCATGCGATGGAAGCTACGAAGGCGATAAAGCCGATACTGGGAGAGTATTATCAGTTCGATGGGACGCCGGTGGTTAAGG : 1040

                    *      1060         *      1080         *      1100
fad2A'LLR1'  : CGATGTGGAGGGAGGCGAAGGAGTGTATCTATGTGGAACCGGACAGGCAAGGTGAGAAGA : 1100
fad2A'HOR3'  : CGATGTGGAGGGAGGCGAAGGAGTGTATCTATGTGGAACCGGACAGGCAAGGTGAGAAGA : 1100
```

Figura 4 (final)

```
                    *        20         *        40         *        60         *        80
fad2A'LLR1' : AGTGTCTCCTCCCTCCAAAAAGTCTGAAACCGACAACATCAAGCGCGTACCCTGCGAGACACCGCCCTTCACTGTCGGAG :   80
fad2A'HOR4' : AGTGTCTCCTCCCTCCAAAAAGTCTGAAACCGACAACATCAAGCGCGTACCCTGCGAGACACCGCCCTTCACTGTCGGAG :   80

                    *       100         *       120         *       140         *       160
fad2A'LLR1' : AACTCAAGAAAGCAATCCCACCGCACTGTTTCAAACGCTCGATCCCTCGCTCTTTCTCCTACCTCATCTGGGACATCATC :  160
fad2A'HOR4' : AACTCAAGAAAGCAATCCCACCGCACTGTTTCAAACGCTCGATCCCTCGCTCTTTCTCCTACCTCATCTGGGACATCATC :  160

                    *       180         *       200         *       220         *       240
fad2A'LLR1' : ATAGCCTCCTGCTTCTACTACGTCGCCACCACTTACTTCCCTCTCCTCCCTCACCCTCTCTCCTACTTCGCCTGGCCTCT :  240
fad2A'HOR4' : ATAGCCTCCTGCTTCTACTACGTCGCCACCACTTACTTCCCTCTCCTCCCTCACCCTCTCTCCTACTTCGCCTGGCCTCT :  240
                                                                                 Cebador
                         ▼  *       260         *       280         *       300         *       320
fad2A'LLR1' : CTACTGGGCCTGCCAGGGCTGCGTCCTAACCGGCGTCTGGGTCATAGCCCACGAGTGCGGCCACCACGCCTTCAGCGACT :  320
fad2A'HOR4' : CTACTAGGCCTGCCAGGGCTGCGTCCTAACCGGCGTCTGGGTCATAGCCCACGAGTGCGGCCACCACGCCTTCAGCGACT :  320
              directo
                    *       340         *       360         *       380         *       400
fad2A'LLR1' : ACCAGTGGCTGGACGACACCGTCGGCCTCATCTTCCACTCCTTCCTCCTCGTCCCTTACTTCTCCTGGAAGTACAGTCAT :  400
fad2A'HOR4' : ACCAGTGGCTGGACGACACCGTCGGCCTCATCTTCCACTCCTTCCTCCTCGTCCCTTACTTCTCCTGGAAGTACAGTCAT :  400

                    *       420         *       440         *       460         *       480
fad2A'LLR1' : CGACGCCACCATTCCAACACTGGCTCCCTCGAGAGAGACGAAGTGTTTGTCCCCAAGAAGAAGTCAGACATCAAGTGGTA :  480
fad2A'HOR4' : CGACGCCACCATTCCAACACTGGCTCCCTCGAGAGAGACGAAGTGTTTGTCCCCAAGAAGAAGTCAGACATCAAGTGGTA :  480

                    *       500         *       520         *       540         *       560
fad2A'LLR1' : CGGCAAGTACCTCAACAACCCTTTGGGACGCACCGTGATGTTAACGGTTCAGTTCACTCTCGGCTGGCCTTTGTACTTAG :  560
fad2A'HOR4' : CGGCAAGTACCTCAACAACCCTTTGGGACGCACCGTGATGTTAACGGTTCAGTTCACTCTCGGCTGGCCTTTGTACTTAG :  560

                    *       580         *       600         *       620         *       640
fad2A'LLR1' : CCTTCAACGTCTCGGGGAGACCTTACGACGGCGGCTTCGCTTGCCATTTCCACCCCAACGCTCCCATCTACAACGACCGT :  640
fad2A'HOR4' : CCTTCAACGTCTCGGGGAGACCTTACGACGGCGGCTTCGCTTGCCATTTCCACCCCAACGCTCCCATCTACAACGACCGT :  640
```

Figura 5 (inicio)

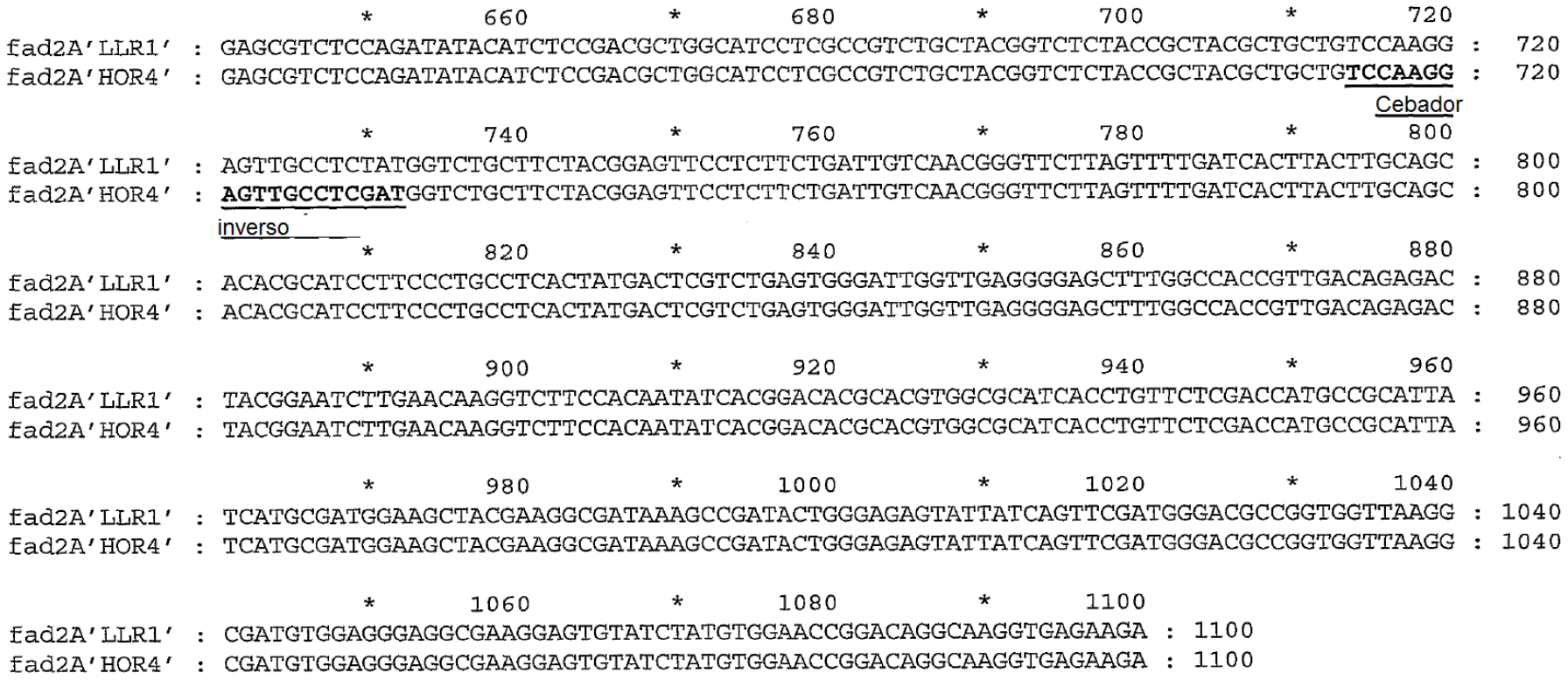

Figura 5 (final)

```
                    *         20          *         40          *         60          *         80
fad2A'LLR1'  : --------VSPPSKKSETDNIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPLSY :  75
fad2A'HOR1'  : --------VSPPSKKSETDNIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPLSY :  75
B.rapa       : MGAGGRMQVSPPSKKSETDNIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPLSY :  83
B.napus      : MGAGGRMQVSPPSKKSETDNIKCVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPLSY :  83

                         *       100         *       120         *       140         *       160
fad2A'LLR1'  : FAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKKSDIK : 158
fad2A'HOR1'  : FAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKKSDIK : 158
B.rapa       : FAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKKSDIK : 166
B.napus      : FAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKKSDIK : 166

                      *       180         *       200         *       220         *       240
fad2A'LLR1'  : WYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRYAAVQGV : 241
fad2A'HOR1'  : WYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRYAAVQGV : 241
B.rapa       : WYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRYAAVQGV : 249
B.napus      : WYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRYAAVQGV : 249

                    *       260         *       280         *       300         *       320         *
fad2A'LLR1'  : ASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFSTMPHYHAME : 324
fad2A'HOR1'  : ASMVCFYGVSLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFSTMPHYHAME : 324
B.rapa       : ASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFSTMPHYHAME : 332
B.napus      : ASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFSTMPHYHAME : 332

                         340         *       360         *       380
fad2A'LLR1'  : ATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEK---------- : 366
fad2A'HOR1'  : ATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEK---------- : 366
B.rapa       : ATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEKKGVFWYNNKL : 384
B.napus      : ATKVIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEKKGVFWYNNKL : 384
```

Figura 6

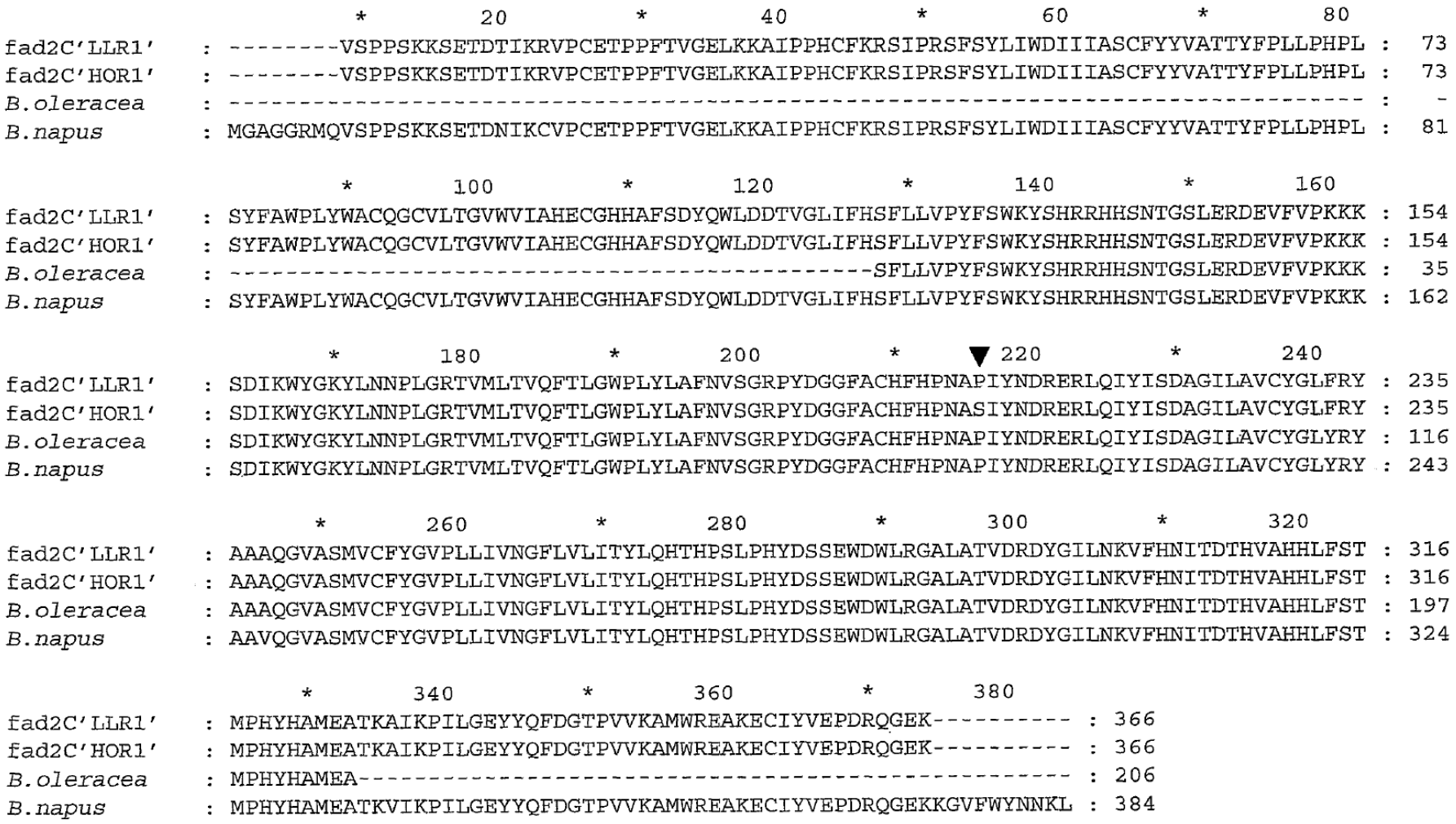
* 20 * 40 * 60 * 80
fad2C'LLR1' : --------VSPPSKKSETDTIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPL : 73
fad2C'HOR1' : --------VSPPSKKSETDTIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPL : 73
B.oleracea : ---------- : -
B.napus : MGAGGRMQVSPPSKKSETDNIKCVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPL : 81
* 100 * 120 * 140 * 160
fad2C'LLR1' : SYFAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKK : 154
fad2C'HOR1' : SYFAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKK : 154
B.oleracea : ----------SFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKK : 35
B.napus : SYFAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKK : 162
* 180 * 200 * 220 * 240
fad2C'LLR1' : SDIKWYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLFRY : 235
fad2C'HOR1' : SDIKWYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNASIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLFRY : 235
B.oleracea : SDIKWYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRY : 116
B.napus : SDIKWYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRY : 243
* 260 * 280 * 300 * 320
fad2C'LLR1' : AAAQGVASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFST : 316
fad2C'HOR1' : AAAQGVASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFST : 316
B.oleracea : AAAQGVASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFST : 197
B.napus : AAVQGVASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFST : 324
* 340 * 360 * 380
fad2C'LLR1' : MPHYHAMEATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEK---------- : 366
fad2C'HOR1' : MPHYHAMEATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEK---------- : 366
B.oleracea : MPHYHAMEA---------- : 206
B.napus : MPHYHAMEATKVIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEKKGVFWYNNKL : 384

Figura 7

```
                        *        20         *        40         *        60         *        80
fad2A'LLR1'  : --------VSPPSKKSETDNIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPLSY :  75
fad2A'HOR2'  : --------VSPPSKKSETDNIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPLSY :  75
B.rapa       : MGAGGRMQVSPPSKKSETDNIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPLSY :  83
B.napus      : MGAGGRMQVSPPSKKSETDNIKCVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPLSY :  83

                      *       100         *       120         *       140         *       160
fad2A'LLR1'  : FAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKKSDIK : 158
fad2A'HOR2'  : FAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKKSDIK : 158
B.rapa       : FAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKKSDIK : 166
B.napus      : FAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKKSDIK : 166

                   *       180         *       200         *       220         *       240
fad2A'LLR1'  : WYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRYAAVQGV : 241
fad2A'HOR2'  : WYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRYAAVQGV : 241
B.rapa       : WYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRYAAVQGV : 249
B.napus      : WYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRYAAVQGV : 249

                  *       260         *      ▼280         *       300         *       320         *
fad2A'LLR1'  : ASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFSTMPHYHAME : 324
fad2A'HOR2'  : ASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHMHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFSTMPHYHAME : 324
B.rapa       : ASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFSTMPHYHAME : 332
B.napus      : ASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFSTMPHYHAME : 332

                       340         *       360         *       380
fad2A'LLR1'  : ATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEK---------- : 366
fad2A'HOR2'  : ATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEK---------- : 366
B.rapa       : ATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEKKGVFWYNNKL : 384
B.napus      : ATKVIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEKKGVFWYNNKL : 384
```

Figura 8

* 20 * 40 * 60 * 80
fad2A'LLR1' : --------VSPPSKKSETDNIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPL : 73
fad2A'HOR3' : --------VSPPSKKSETDNIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPL : 73
B.rapa : MGAGGRMQVSPPSKKSETDNIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPL : 81
B.napus : MGAGGRMQVSPPSKKSETDNIKCVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPL : 81
* 100 * 120 * 140 * 160
fad2A'LLR1' : SYFAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKK : 154
fad2A'HOR3' : SYFAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDY-WLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKK : 153
B.rapa : SYFAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKK : 162
B.napus : SYFAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKK : 162
* 180 * 200 * 220 * 240
fad2A'LLR1' : SDIKWYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRY : 235
fad2A'HOR3' : SDIKWYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRY : 234
B.rapa : SDIKWYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRY : 243
B.napus : SDIKWYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRY : 243
* 260 * 280 * 300 * 320
fad2A'LLR1' : AAVQGVASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFST : 316
fad2A'HOR3' : AAVQGVASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFST : 315
B.rapa : AAVQGVASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFST : 324
B.napus : AAVQGVASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFST : 324
* 340 * 360 * 380
fad2A'LLR1' : MPHYHAMEATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEK---------- : 366
fad2A'HOR3' : MPHYHAMEATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEK---------- : 365
B.rapa : MPHYHAMEATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEKKGVFWYNNKL : 384
B.napus : MPHYHAMEATKVIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEKKGVFWYNNKL : 384

Figura 9

```
                    *         20          *         40          *         60          *         80
fad2A'LLR1'  :  --------VSPPSKKSETDNIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPL :  73
fad2A'HOR4'  :  --------VSPPSKKSETDNIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPL :  73
B.rapa       :  MGAGGRMQVSPPSKKSETDNIKRVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPL :  81
B.napus      :  MGAGGRMQVSPPSKKSETDNIKCVPCETPPFTVGELKKAIPPHCFKRSIPRSFSYLIWDIIIASCFYYVATTYFPLLPHPL :  81
                          ▼
                          *       100         *       120         *       140         *       160
fad2A'LLR1'  :  SYFAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKK : 154
fad2A'HOR4'  :  SYFAWPLY-ACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKK : 153
B.rapa       :  SYFAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKK : 162
B.napus      :  SYFAWPLYWACQGCVLTGVWVIAHECGHHAFSDYQWLDDTVGLIFHSFLLVPYFSWKYSHRRHHSNTGSLERDEVFVPKKK : 162

                        *       180         *       200         *       220         *       240
fad2A'LLR1'  :  SDIKWYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRY : 235
fad2A'HOR4'  :  SDIKWYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRY : 234
B.rapa       :  SDIKWYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRY : 243
B.napus      :  SDIKWYGKYLNNPLGRTVMLTVQFTLGWPLYLAFNVSGRPYDGGFACHFHPNAPIYNDRERLQIYISDAGILAVCYGLYRY : 243

                      *       260         *       280         *       300         *       320
fad2A'LLR1'  :  AAVQGVASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFST : 316
fad2A'HOR4'  :  AAVQGVASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFST : 315
B.rapa       :  AAVQGVASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFST : 324
B.napus      :  AAVQGVASMVCFYGVPLLIVNGFLVLITYLQHTHPSLPHYDSSEWDWLRGALATVDRDYGILNKVFHNITDTHVAHHLFST : 324

                    *       340         *       360         *       380
fad2A'LLR1'  :  MPHYHAMEATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEK---------- : 366
fad2A'HOR4'  :  MPHYHAMEATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEK---------- : 365
B.rapa       :  MPHYHAMEATKAIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEKKGVFWYNNKL : 384
B.napus      :  MPHYHAMEATKVIKPILGEYYQFDGTPVVKAMWREAKECIYVEPDRQGEKKGVFWYNNKL : 384
```

Figura 10

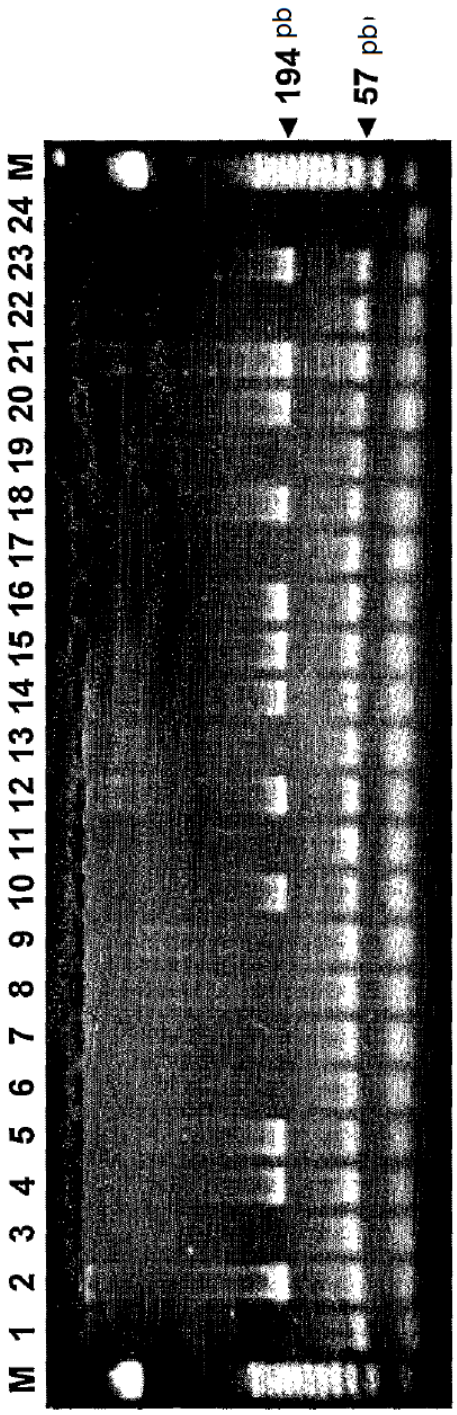

Figura 11

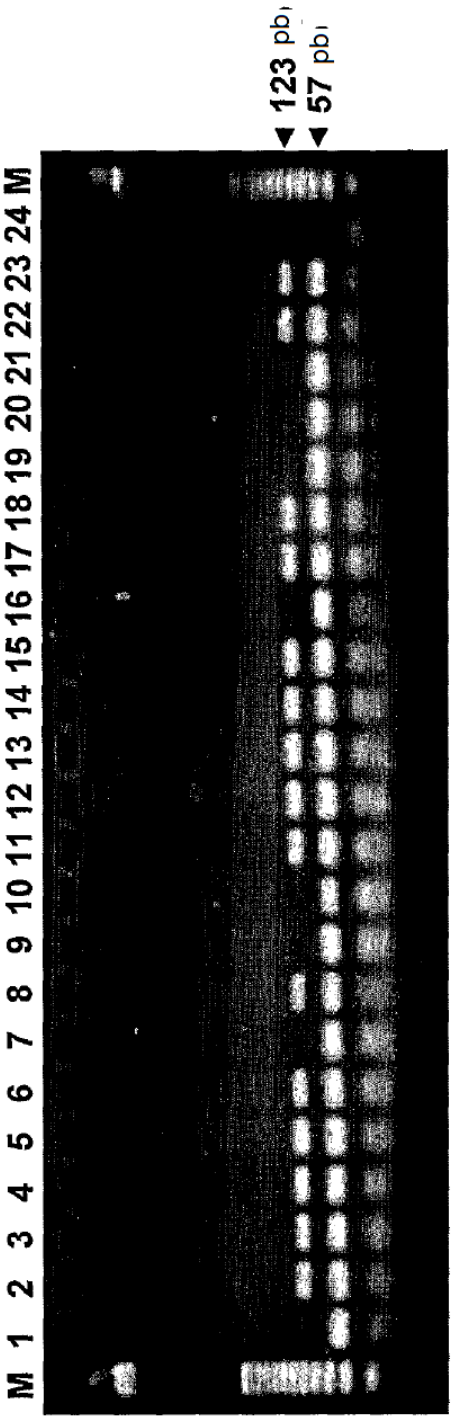

Figura 12

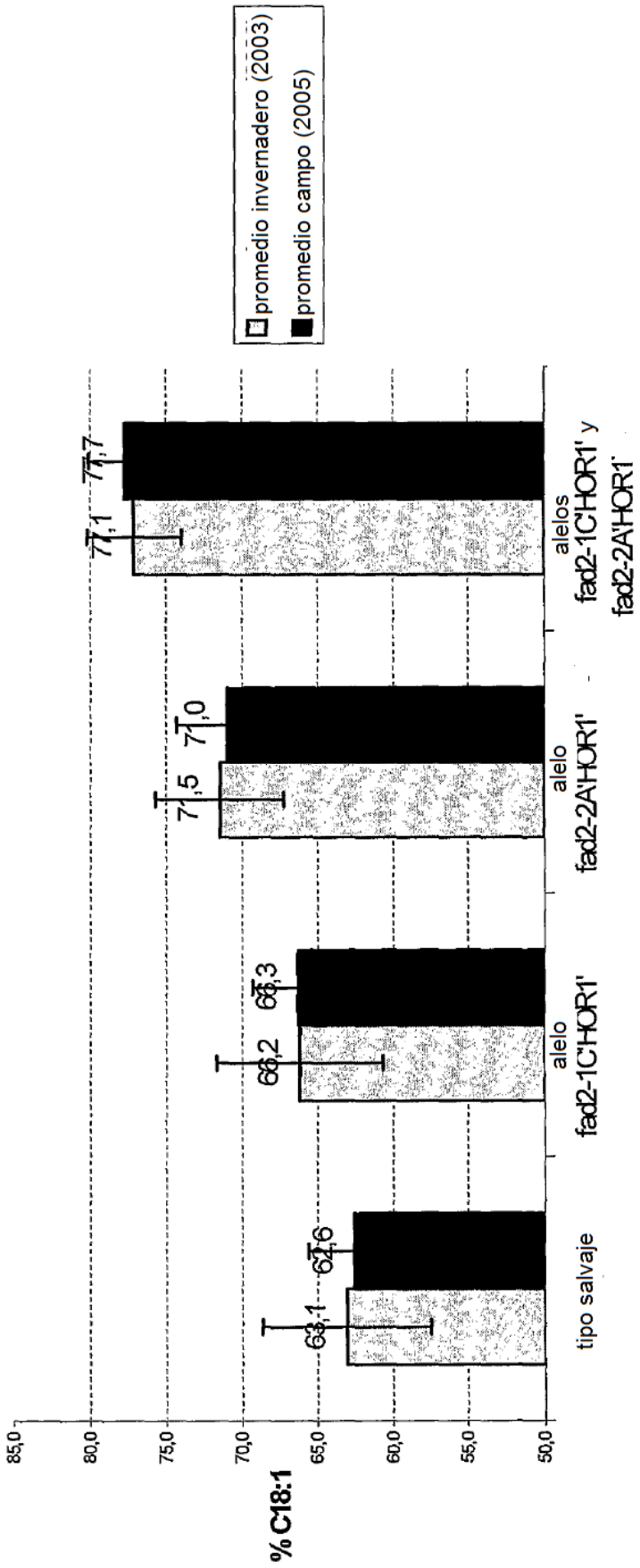
promedio invernadero (2003)
promedio campo (2005)
% C18:1
85,0
80,0
75,0
70,0
65,0
60,0
55,0
50,0
63,1
64,6
66,2
67,3
71,5
71,0
71,1
71,7
tipo salvaje
alelo fad2-1C'HOR1'
alelo fad2-2A'HOR1'
alelos fad2-1C'HOR1' y fad2-2A'HOR1'

Figura 13

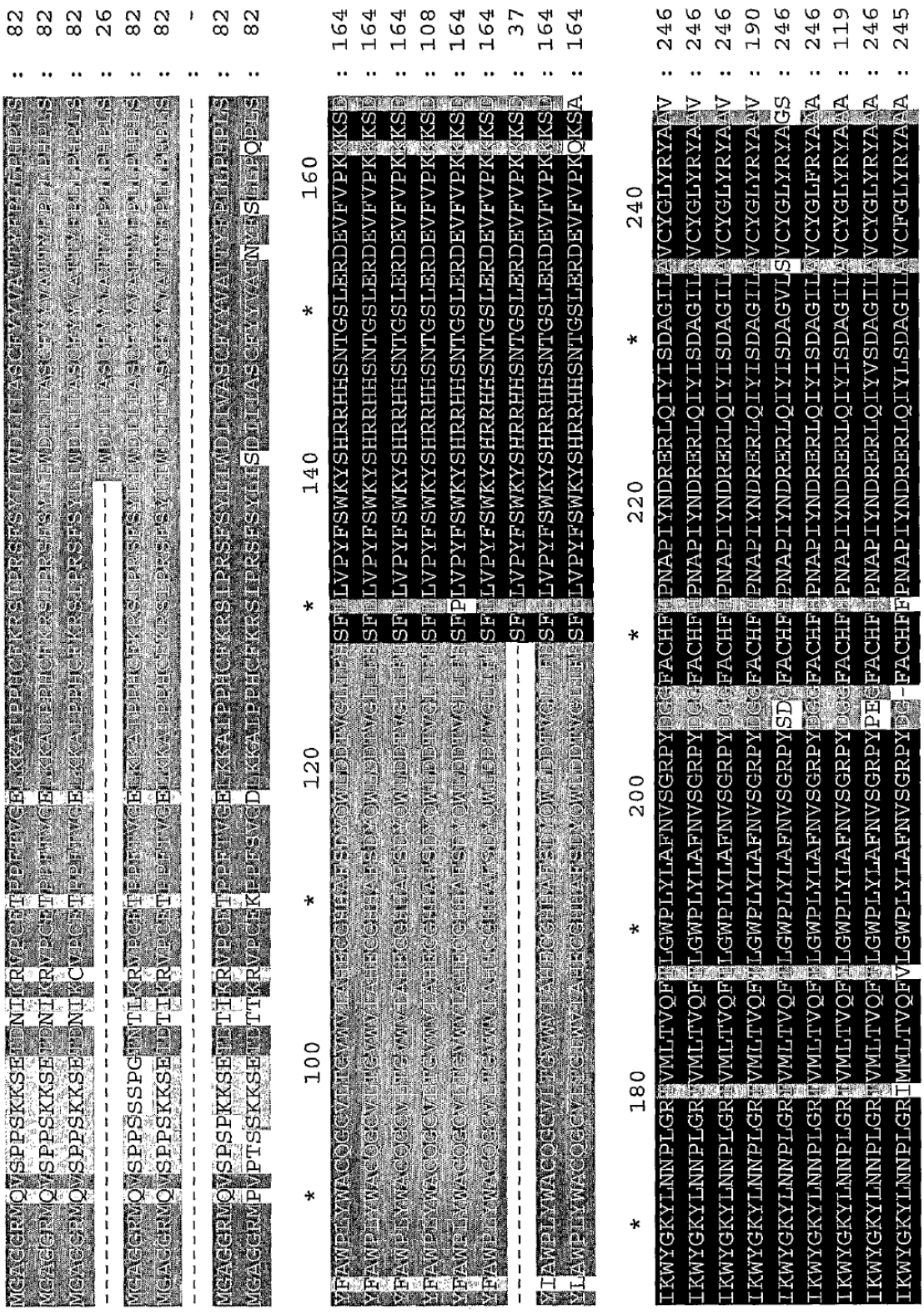

Figura 14 (inicio)

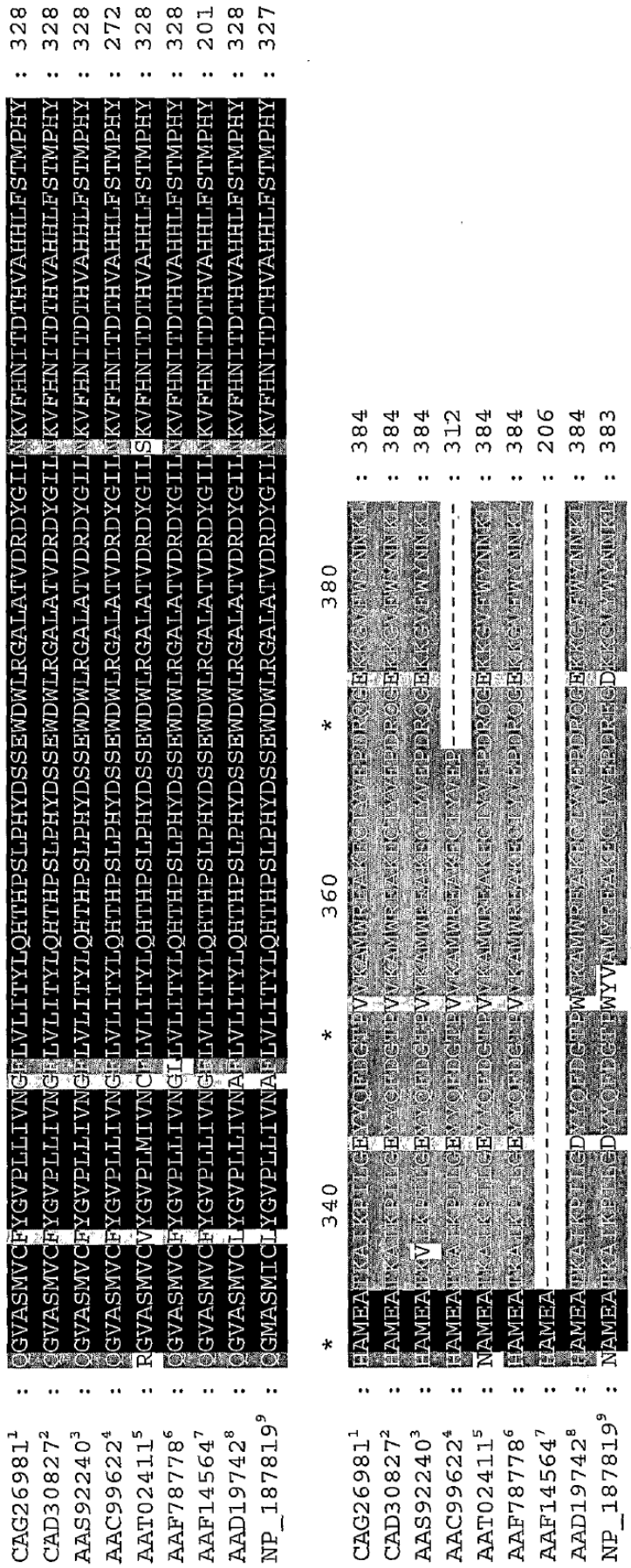

Figura 14 (final)