



MD 4571 B1 2018.06.30

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) **4571** (13) **B1**
(51) Int.Cl: *A01N 25/00* (2006.01)
A01N 25/32 (2006.01)
A01N 43/52 (2006.01)
A01N 43/90 (2006.01)
A01N 47/36 (2006.01)
A01N 47/38 (2006.01)
A01N 61/00 (2006.01)
C12N 15/82 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

In termen de 6 luni de la data publicării mențiunii privind hotărârea de acordare a brevetului de invenție, orice persoană poate face opoziție la acordarea brevetului	
(21) Nr. depozit: a 2015 0063 (22) Data depozit: 2013.12.10 (31) Nr.: 12196862.2; 61/736620 (32) Data: 2012.12.13; 2012.12.13 (33) Țara: EP; US (41) Data publicării cererii: 2016.01.31, BOPI nr. 1/2016	(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2018.06.30, BOPI nr. 6/2018 (85) 2015.07.10 (86) PCT/EP2013/075998, 2013.12.10 (87) WO 2014/090760 A1, 2014.06.19
(71) Solicitant: BAYER CROPSCIENCE AKTIENGESELLSCHAFT, DE (72) Inventatori: HAIN Rudiger, DE; JOHANN Gerhard, DE (73) Titular: BAYER CROPSCIENCE AKTIENGESELLSCHAFT, DE (74) Mandatar autorizat: SIMANENKOVA Tatiana	

(54) Aplicarea erbicidelor inhibitoare de ALS pentru combaterea vegetației nedorite în plantațiile de *Beta vulgaris* tolerante la erbicidele inhibitoare de ALS

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la aplicarea erbicidelor inhibitoare de ALS pentru combaterea vegetației nedorite în plantațiile de *Beta vulgaris* tolerante la erbicidele inhibitoare de ALS, în special invenția se referă la aplicarea erbicidelor inhibitoare de ALS pentru combaterea vegetației nedorite pe terenurile de cultivare a *Beta vulgaris*, de preferință a sfecei de zahăr. *Beta vulgaris*, de preferință sfecla de zahăr, cuprinde mutații ale genei ALS, unde

2
triptofanul în poziția 569 în enzima de ALS codificată este substituit cu un alt aminoacid (preferabil leucină) și o mutație a genei ALS, unde prolina în poziția 188 în enzima de ALS codificată este substituită cu un alt aminoacid (preferabil serină).

Revendicări: 13

Figuri: 1

Secvențe: 8

MD 4571 B1 2018.06.30

(54) Use of ALS inhibitor herbicides for control of unwanted vegetation in ALS inhibitor herbicide tolerant *Beta vulgaris* plants

(57) Abstract:

1
The invention relates to the use of ALS inhibitor herbicides for controlling unwanted vegetation in ALS inhibitor herbicide tolerant *Beta vulgaris* plants, more especially, the invention relates to the use of ALS inhibitor herbicides for controlling unwanted vegetation in *Beta vulgaris*, preferably in sugar beet growing areas. *Beta vulgaris*, preferably sugar beet, comprises mutations in the ALS gene where the tryptophan at position 569 in the

2
encoded ALS enzyme is substituted by another amino acid (preferably by leucine), and a mutation in the ALS gene where the proline at position 188 in the encoded ALS enzyme is substituted by another amino acid (preferably by serine).

Claims: 13

Fig.: 1

Sequences: 8

(54) Применение ALS ингибиторных гербицидов для контроля нежелательной вегетации на плантациях *Beta vulgaris*, толерантных к ALS ингибиторным гербицидам

(57) Реферат:

1
Изобретение относится к применению ALS ингибиторных гербицидов для контроля нежелательной вегетации на плантациях *Beta vulgaris*, которые толерантны к ALS ингибиторным гербицидам, в частности изобретение относится к применению ALS ингибиторных гербицидов для контроля нежелательной вегетации на площадях произрастания *Beta vulgaris*, предпочтительно сахарной свеклы. *Beta vulgaris*, предпочтительно сахарная свекла,

2
включает мутации в ALS гене, где триптофан в позиции 569 кодированного ALS фермента замещен другой аминокислотой (предпочтительно лейцином), и мутацию в ALS гене, где пролин в позиции 188 кодированного ALS фермента замещен другой аминокислотой (предпочтительно серином).

П. формулы: 13

Фиг.: 1

Последовательности: 8

Descriere:
(Descrierea se publică în redacția solicitantului)

5 Prezentă invenție se referă la domeniul tehnic de protecție a culturilor utilizând erbicide
inhibitoare de ALS (acetolactat sintaza; cunoscută, de asemenea, sub denumirea de AHAS
(acetohidroxiacid sintaza; CE 2.2.1.6; CE anterioară 4.1.3.18)) împotriva vegetației nedorite pe
terenurile de cultivare a plantelor *Beta vulgaris*, de preferință a sfeclă de zahăr, care sunt tolerante
la erbicidele inhibitoare de ALS, cuprinzând mutații în gena endogenă a ALS, codificând astfel o
10 polipeptidă a ALS având un aminoacid diferit de triptofanul natural (adică triptofanul proteinei ALS
de tip sălbatic) la poziția 569 și având un aminoacid diferit de prolina naturală (de ex. prolina
proteinei ALS de tip sălbatic) la poziția 188.

Astfel, plantele de sfeclă de zahăr cu mutații, utilizate în contextul prezentei invenții, cuprind
mutații ale genei ALS, unde triptofanul la poziția 569 în enzima ALS codificată (ce corespunde
poziției 574 în enzima ALS *Arabidopsis thaliana*) este substituit cu un alt aminoacid (preferabil
15 leucină), și o mutație a genei ALS, unde prolina la poziția 188 în enzima ALS codificată (ce
corespunde poziției 197 în enzima ALS *Arabidopsis thaliana*) este substituită cu un alt aminoacid
(preferabil serină).

Formele cultivate de *Beta vulgaris* (descrise în Ford-Lloyd Sources of genetic variation, Genus
Beta. In: Biancardi E., Campbell L.G., Skaracis G.N., De Biaggi M. (eds). Genetics and Breeding
20 of Sugar Beet. Science Publishers, Enfield (NH), USA, 2005, p. 25-33) sunt culturi agricole
importante din regiunile temperate și subtropicale. De exemplu, circa 20% din producția mondială
de zahăr se bazează pe sfecla de zahăr. Dat fiind că răsădurile și plantele tinere de sfeclă în timpul
primelor 6-8 săptămâni de viață sunt susceptibile unei concurențe puternice cauzată de buruienile cu
creștere rapidă, care depășesc plantele de cultură tinere, sunt necesare măsuri sigure de combatere a
25 buruienilor pe aceste terenuri de cultivare.

De peste 40 de ani, erbicidele sunt instrumentele preferate de combatere a buruienilor în sfecla
de zahăr (*Beta vulgaris subsp. vulgaris var altissima*). Produsele utilizate în acest scop, și anume
fenmedifam, desmedifan, etofumesat și metamitron permit suprimarea buruienilor pe câmpurile de
30 sfeclă de zahăr fără a cauza daune plantelor agricole. Cu toate acestea, în condiții de mediu
nefavorabile eficacitatea acestor produse lasă loc pentru îmbunătățiri, în special în cazul în care
buruienile nocive precum *Chenopodium album*, *Amaranthus retroflexus* și/sau *Fallopia convolvulus*
germinează de-a lungul unei perioade prelungite de timp.

Enzima ALS/AHAS este prezentă în bacterii, ciuperci și plante și din diverse organisme au fost
obținute izolate proteice și secvențele lor aminoacide/acidonucleice corespunzătoare, precum și
35 caracteristicile lor biochimice au fost determinate/caracterizate (Umbarger, H.E., Annu. Rev.
Biochem., 1978, 47, p. 533-606; Chiman, D.M. et al., Biochim. Biophys. Acta, 1998, 1385, p. 401-
419; Duggleby, R.G., and Pang, S.S., J. Biochem. Mol. Biol. 2000, 33, p. 1-36; Duggleby, R.G.
(Structure and Properties of Acetohydroxyacid Synthase in Thiamine: Catalytic Mechanisms in
Normal and Disease States, Vol. 11, Marcel Dekker, New York, 2004, p. 251-274).

Utilizarea compușilor erbicizi, care fac parte din clasa de inhibitori ai ALS, cum ar fi (a)
erbicidele sulfonilureice (Beyer E.M et al. Sulfonylureas in Herbicides: Chemistry, Degradation,
and Mode of Action; Marcel Dekker, New York, 1988, p. 117-189), (b) erbicidele
sulfonilaminocarboniltriazolinone (Pontzen, R., Pflanz.-Nachrichten Bayer, 2002, 55, p. 37-52), (c)
erbicidele imidazolinone (Shaner, D.L., et al., Plant Physiol., 1984, 76, p. 545-546; Shaner, D.L.,
45 and O'Connor, S.L. (Eds.) The Imidazolinone Herbicides, CRC Press, Boca Rato, FL, 1991), (d)
erbicidele triazolopirimidine (Kleschick, W.A. et al., Agric. Food Chem., 1992, 40, p. 1083-1085),
și (e) erbicidele pirimidinil(tio)benzoat (Shimizu, T.J., Pestic. Sci., 1997, 22, p. 245-256; Shimizu, T.
et al., Acetolactate Synthase Inhibitors in Herbicide Classes in Development, Boger, P.,
Wakabayashi. K., Hirai, K., (Eds.), Springer Verlag, Berlin, 2002, p. 1-41) pentru combaterea
50 vegetației nedorite în diverse culturi este bine cunoscută în agricultură.

O mare varietate de erbicide inhibitoare de ALS/AHAS permit unui fermier să combată o gamă
largă de specii de buruieni indiferent de etapele lor de creștere, dar aceste erbicide foarte eficiente nu
pot fi utilizate în *Beta vulgaris*, de preferință sfecla de zahăr, deoarece *Beta vulgaris*, în special
15 plantele de sfeclă de zahăr convenționale/soiurile de sfeclă de zahăr comerciale sunt foarte sensibile
față de/afectate de aceste erbicide inhibitoare de ALS. Cu toate acestea, aceste erbicide inhibitoare
de ALS prezintă o activitate erbicidă excelentă împotriva speciilor de buruieni foioase și ierboase.
Primele erbicide pe bază de inhibitori ai ALS au fost elaborate încă cu 30 de ani în urmă pentru
utilizarea în agricultură. În prezent, ingredientele active din această clasă prezintă un control

puternic asupra buruienilor și sunt utilizate pe scară largă în porumb și cereale, precum și în culturile dicotiledonate, cu excepția *Beta vulgaris*, de preferință sfecla de zahăr.

Până acum, există un singur produs disponibil comercial bazat pe un erbicid sulfonilureic, și anume Debut® (componenta (A) 50% triflusulfuron-metil + componenta (B) un compus specific, și anume un adjuvant specific), care poate fi folosit în sfecla de zahăr în aplicații post-răsărire, dar necesită aplicarea la un stadiu foarte timpuriu de dezvoltare a frunzei buruienilor de tratat și, de asemenea, prezintă lacune severe în tratarea buruienilor periculoase care cresc în plantațiile de sfeclă de zahăr. Această sulfonilureea nu este tolerată, ci degradează în plantele de sfeclă de zahăr.

Un alt mod mai sigur și mai flexibil de a obține plante de *Beta vulgaris*, de preferință de sfeclă de zahăr care rezistă la tratarea cu erbicide inhibitoare de ALS este de a genera mutații care sunt suficient de toleranți la cantități utile/necesare din punct de vedere agronomic de erbicide inhibitoare de ALS în vederea combaterii vegetației nedorite severe pe plantațiile de *Beta vulgaris*, de preferință sfeclă de zahăr.

Din momentul introducerii erbicidelor inhibitoare de ALS în agricultură s-a observat că speciile de plante susceptibile, inclusiv buruienile naturale, dezvoltă ocazional toleranță spontană la această clasă de erbicide. Substituții cu o singură pereche de bază la situsuri specifice ale genei ALS duc, de obicei, la variante mai mult sau mai puțin rezistente la enzima ALS, care prezintă niveluri diferite de inhibare de către erbicidele inhibitoare de ALS.

De aceea, plantele care conferă alele mutante de ALS prezintă diferite niveluri de toleranță la erbicidele inhibitoare de ALS, în funcție de structura chimică a erbicidului care inhibă ALS și situsul mutației(ilor) punctiforme în gena ALS și proteina ALS codificată astfel.

Câteva mutații (care apar în mod natural în buruieni, dar și induși artificial în plante prin mutație sau abordări transgenice) ai ALS, care conferă toleranță la una sau mai multe substanțe chimice definite în clasele/grupele sus-menționate de erbicide inhibitoare de ALS sunt cunoscute în diferite părți ale enzimei (și anume, în domeniul α -, β -, și Γ - al ALS h sunt cunoscute și au fost identificate în diferite organisme, inclusiv plante (US 5,378,824; Duggleby, R.G. et al., Plant Physiol. și Biochem., 2008, p. 309-324; Siyuan, T. et al. Pest. Management Sci., 61, 2005, p. 246-257; Jung, S. Biochem. J., 2004, p. 53-61; Kolkman, J.M. Theor. Appl. Genet., 109, 2004, p. 1147-1159; Duggleby, R.G. et al. Eur. J. Biochem., 270, 2003, p. 2895-2904; Pang, S.S., et al. J. Biol. Chem., 2003, p. 7639-7644); Yadav, N. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 83, 1986, p. 4418-4422), Jander G. et al. Plant. Physiol., 131, 2003, p. 139-146); Tranel, P.J., and Wright, T.R. Weed Science, 50, 2002, p. 700-712); Chang, A.K., Duggleby, R.G. Biochem. J., 333, 1998, p. 765-777).

Plantele de cultură care conferă alele mutante de ALS prezintă diferite niveluri de toleranță la erbicidele inhibitoare de ALS, în funcție de structura chimică a erbicidului inhibitor de ALS și situsul mutației punctiforme în gena ALS.

De exemplu, (Hattori et al. Mol. Gen. Genet. 246, 1995, p. 419-425), descrie o singură mutație în codonul Trp 557 într-o linie celulară *Brassica napus* (conform numerotării secvenței Arabidopsis thaliana care se utilizează în literatură pentru a compara toți mutații ALS/AHAS aceasta se referă la poziția "574") – care e egală cu poziția 569 a secvenței polipeptidice a ALS din sfecla de zahăr. Acești autori au observat rezistența la mai mulți membri din subclasele de erbicide inhibitoare de ALS, cum ar fi sulfoniluree, imidazolinone și triazolopirimidine.

(EP 0360750 A) descrie producerea de plante tolerante la erbicidele inhibitoare de ALS prin producerea unei cantități sporite de ALS atacat în interiorul plantei. Astfel de plante prezintă o toleranță sporită la anumite sulfoniluree, precum clorsulfuron, sulfometuron-metil, și triasulfuron.

(US 5,198,599) descrie plante tolerante la sulfoniluree și imidazolinonă, care au fost obținute printr-un proces de selecție și care prezintă toleranță la clorsulfuron, bensulfuron, clorimuron, tifensulfuron și sulfometuron.

Totodată, (US 5,013,659, US 5,141,870, și US 5,378,824) descriu producerea de plante transgenice de sfeclă de zahăr prin introducerea unei gene de ALS de drojdie modificată în astfel de plante de sfeclă de zahăr.

În plus, Saunders et al. (Crop Science, 32, 1992, p. 1357-1360) descrie plante de sfeclă de zahăr tolerante la sulfoniluree, care au fost obținute prin selecția celulelor somaclonale, dar acești autori nu au prezentat date biologice cu privire la nivelul de toleranță a unor astfel de plante față de tratarea cu erbicide inhibitoare de ALS, și nici nu au demonstrat mutații stabili genetic obținuți din plante de cultură în care aceste mutații au fost generate.

Tan et al. descrie în (Pest Manag. Sci. 61, 2005, p. 246-257) combaterea buruienilor în anumite plante de cultură tolerante la imidazolinone.

(Stougaard et al. J. Cell Biochem., Suppl. 14E, 310, 1990) descrie izolarea mutațiilor ALS într-o cultură de celule tetraploidă de sfeclă de zahăr. Două gene diferite de ALS (ALS I și ALS II) au fost

izolate, care se deosebeau doar la poziția 37 a aminoacidului. Mutantul 1 conținea 2 mutații în gena sa ALS I, în timp ce mutantul 2 conținea 3 mutații în gena sa ALS II. După ce mutațiile au fost separate pentru a decide care mutație va conferi rezistență față de un inhibitor ALS, s-a constatat că ALS sintetizată dintr-o *E. coli* recombinantă era rezistentă la erbicide, dacă conținea o mutație punctiformă în codonul Trp 574 (conform numerotării secvenței *Arabidopsis thaliana* care se utilizează în literatură pentru a compara toți mutanții ALS) - care e egală cu poziția 569 din secvența de aminoacizi ALS a sfeclăi, fapt ce duce la o înlocuire a aminoacidului "Trp" cu aminoacidul "Leu". Stougaard et al nu au arătat în sfecla de zahăr că mutația la poziția 569 a oricăror dintre genele ALS de sfeclă de zahăr este suficientă pentru a obține un nivel de toleranță acceptabil agronomic față de erbicidele inhibitoare de ALS. În plus, Stougaard et al nu au regenerat sau manipulat plantele de sfeclă de zahăr, care cuprindeau o mutație, inclusiv mutația Trp -> Leu la poziția 569 a ALS de sfeclă de zahăr.

Știind acest lucru, Stougaard et al. au creat vectori de transformare a plantelor, care conțineau diferite gene ALS pentru utilizarea în transformarea plantelor. Cu toate acestea, până în prezent, nici de către acești autori, nici de către alții nu au fost dezvăluite date suplimentare - în special în ceea ce privește efectele aplicării erbicidelor inhibitoare de ALS pe plantele și/sau terenurile agricole care cuprind această mutație în plantele *Beta vulgaris*, fie în plantele create prin ingineria genetică sau plantele mutante de peste 20 de ani.

În plus, mutanții de sfeclă au fost descriși ca conferind o mutație punctiformă în codonul Ala 122, care a condus la o anumită toleranță față de subclasa de erbicide inhibitoare de ALS - imidazolinone (WO 98/02526), dar care nu este suficientă pentru combaterea buruienilor în schemele de aplicări agricole. Nici toleranța încrucișată față de alte clase de erbicide inhibitoare de ALS nu a fost descrisă cu folosirea acestui mutant. În plus, plantele de sfeclă care conferă o a doua mutație punctiformă în codonul Pro 197 au demonstrat o toleranță moderată față de erbicidele inhibitoare de ALS, care fac parte din subclasa de erbicide sulfonilureice. De asemenea, au fost descriși mutanți dubli ai acestor două (WO 98/02527). Cu toate acestea, nici unul dintre acești mutanți nu au fost folosiți pentru introducerea pe piață a soiurilor de sfeclă, deoarece nivelul de toleranță la erbicidele inhibitoare de ALS nu a fost suficient de înalt în acești mutanți pentru a fi exploatați agronomic.

Este cunoscută [1] o metodă de obținere a plantei de sfeclă de zahăr rezistentă la mai mulți inhibitori ai ALS, inclusiv la foramsulfuron, care cuprinde etapele de expunere la foramsulfuron a calusurilor obținute din explante de *B. vulgaris*, și regenerare a plantelor din pușinii mutanți spontani, care pot crește în prezența acestui erbicid. Prin metoda menționată s-au obținut plante având o mutație în gena ALS, unde triptofanul la poziția 569 a enzimei ALS codificate (care corespunde poziției 574 a enzimei ALS *Arabidopsis thaliana*) este substituit cu o leucină. [2] se referă la utilizarea erbicidelor inhibitoare de ALS pentru combaterea vegetației nedorite în plantele *Beta vulgaris* tolerante la erbicidele inhibitoare de ALS având o mutație în gena ALS, unde triptofanul la poziția 569 a enzimei ALS codificate.

Sursa [3] descrie mutanți dubli și tripli de ALS. Conform sursei [4], au fost propuse mutații specifice ale genei ALS. Cu toate acestea, până în prezent nu au fost obținuți/descriși mutanți *Beta vulgaris* exploatabili agronomic, care conțin astfel de mutații conform sursei [4] și care prezintă, de asemenea, o toleranță suficientă la orice tip de erbicide inhibitoare de ALS din diferite clase de erbicide inhibitoare de ALS.

Toți acești mutanți de sfeclă de zahăr nu prezintă o toleranță sigură și/sau nu prezintă o toleranță satisfăcătoare față de diferite clase de erbicide inhibitoare de ALS, și - chiar mai rău - ele nu prezintă un nivel de toleranță, care este suficient și util la scară de aplicare agronomică la orice tip de erbicide inhibitoare de ALS.

În ce privește compușii care se cunoaște că acționează în calitate de erbicide inhibitoare de ALS, aceștia pot fi grupați în câteva clase.

Compușii din grupa de (sulfon)amide sunt deja cunoscuți în calitate de compuși erbicid activi pentru combaterea vegetației nedorite; a se vedea, de exemplu, (EP 239414, US 4,288,244, DE 3303388, US 5,457,085, US 3,120,434, US 3,480,671, EP 206251, EP 205271, US 2,556,664, US 3,534,098, EP 053011, US 4,385,927, EP 348737, DE 2822155, US 3,894,078, GB 869169, EP 447004, DE 1039779, HU 176582, US 3,442,945, DE 2305495, DE 2648008, DE 2328340, DE 1014380, HU 53483, US 4,802,907, GB 1040541, US 2,903,478, US 3,177,061, US 2,695,225, DE 1567151, GB 574995, DE 1031571, US 3,175,897, JP 1098331, US 2,913,327, WO 83/00329, JP 80127302, DE 1300947, DE 2135768, US 3,175,887, US 3,836,524, JP 85067463, US 3,582,314, US 5,333,0821, EP 131258, US 4,746,353, US 4,420,325, US 4,394,506, US 4,127,405, US 4,479,821, US 5,009,699, EP 136061, EP 324569, EP 184385, WO 02/30921, WO 92/15576, WO

95/29899, US 4,668,277, EP 305939, WO 96/41537, WO 95/10507, EP 007677, CN 01080116, US 4,789,393, EP 971902, US 5,209,771, EP 084020, EP 120814, EP 087780, WO 88/04297, EP 5828924, WO 02/36595, US 5,476,936, WO 2009/053058) și literatura din publicațiile sus-menționate.

5 Compușii din grupa de imidazolinone sunt deja cunoscuți în calitate de compuși erbicid activi pentru combaterea vegetației nedorite; a se vedea, de exemplu (Proc. South. Weed Sci. Soc. 1992, 45, p. 341; Proc. South. Weed Sci. Soc. Annu. Mtg. 36th, 1983, p. 29; Weed Sci. Soc. Annu. Mtg. 36th, 1983, p. 90-91; Weed Sci. Soc. Mtg., 1984, p. 18; Modern Agrochemicals, 2004, p. 14-15).

10 Compușii din grupa de pirimidinil(tio)benzoați sunt deja cunoscuți ca compuși erbicid activi pentru combaterea vegetației nedorite; a se vedea, de exemplu (US 4,906,285, EP 658549, US 5,118,339, WO 91/05781, US 4,932,999, și EP 315889).

Compușii din grupa de sulfonamide sunt deja cunoscuți în calitate de compuși erbicid activi pentru combaterea vegetației nedorite; a se vedea, de exemplu (WO 93/09099, WO 2006/008159, și WO 2005/096818).

15 Toate publicațiile și brevetele menționate în prezenta sunt incluse în întregime prin referință. În măsura în care materialul inclus prin referință contrazice sau nu corespunde cu această descriere, descrierea va substitui orice astfel de material.

Având în vedere faptul că, de exemplu, sfeclii de zahăr îi revine circa 20% din producția mondială de zahăr, ar fi deosebit de oportun de a avea la dispoziție un sistem de combatere a buruienilor, care ar permite combaterea eficientă a buruienilor foarte viguroase și periculoase. Așadar, ar fi foarte oportună utilizarea unuia sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS pentru combaterea vegetației nedorite în plantele *Beta vulgaris*, de preferință plantele de sfeclă de zahăr, care sunt tolerante față de astfel de erbicide inhibitoare de ALS.

Această problemă a fost soluționată conform prezentei invenții.

25 Prezenta invenție se referă la utilizarea unuia sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS, care fac parte din una sau diverse clase de erbicide inhibitoare de ALS pentru combaterea vegetației nedorite în *Beta vulgaris*, de preferință pe terenurile de cultivare a sfeclii de zahăr, pe care planta *Beta vulgaris*, de preferință o plantă de sfeclă de zahăr, cuprinde o mutație a triptofanului la poziția 569 în enzima ALS și o mutație a prolinei la poziția 188 în enzima ALS, precum și opțional una sau 30 mai multe alte mutații, de preferință una sau mai multe alte mutații în gena ALS, de preferință o mutație care cauzează o ulterioară substituție a aminoacidului în gena ALS.

Semințe de plante de sfeclă de zahăr, care conțin astfel de mutații și care sunt folosite, de preferință, conform prezentei invenții au fost depuse la NCIMB, Aberdeen, Marea Britanie, sub numărul NCIMB 42050 pe 7 septembrie 2012 (Bayer CropScience AG fiind co-depunător).

35 Mai preferabil, prezenta invenție se referă la utilizarea unuia sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS în plantele sus-menționate de *Beta vulgaris* care au suferit mutații, de preferință în plantele de sfeclă de zahăr care au suferit mutații descrise mai sus, unde erbicidele inhibitoare de ALS fac parte din:

grupa de (sulfon)amide (grupa (A)) ce constă din:

40 subgrupa (A1) de sulfoniluree, ce constă din:

amidosulfuron [CAS RN 120923-37-7] (= A1-1) ;

azimsulfuron [CAS RN 120162-55-2] (= A1-2);

bensulfuron-metil [CAS RN 83055-99-6] (= A1-3);

clorimuron-etil [CAS RN 90982-32-4] (= A1-4);

45 clorsulfuron [CAS RN 64902-72-3] (= A1-5);

cinosulfuron [CAS RN 94593-91-6] (= A1-6);

ciclosulfamuron [CAS RN 136849-15-5] (= A1-7);

etamsulfuron-metil [CAS RN 97780-06-8] (= A1-8);

etoxisulfuron [CAS RN 126801-58-9] (= A1-9);

50 flazasulfuron [CAS RN 104040-78-0] (= A1-10);

flucetosulfuron [CAS RN 412928-75-7] (= A1-11);

flupirsulfuron-metil-sodiu [CAS RN 144740-54-5] (= A1-12);

foramsulfuron [CAS RN 173159-57-4] (= A1-13);

halosulfuron-metil [CAS RN 100784-20-1] (= A1-14);

55 imazosulfuron [CAS RN 122548-33-8] (= A1-15);

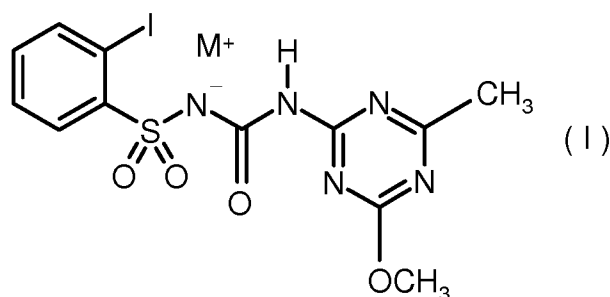
iodosulfuron-metil-sodiu [CAS RN 144550-36-7] (= A1-16);

mezosulfuron-metil [CAS RN 208465-21-8] (= A1-17);

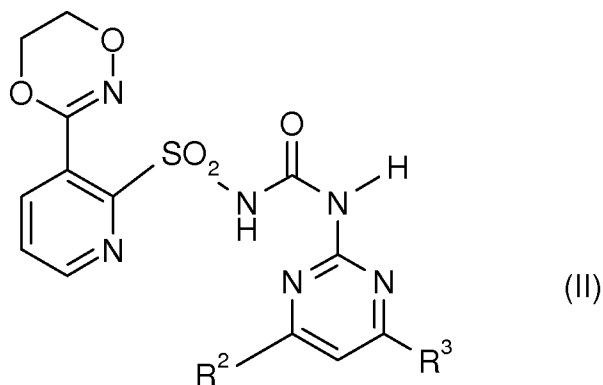
metsulfuron-metil [CAS RN 74223-64-6] (= A1-18);

monosulfuron [CAS RN 155860-63-2] (= A1-19);

- nicosulfuron [CAS RN 111991-09-4] (= A1-20);
 ortosulfamuron [CAS RN 213464-77-8] (= A1-21);
 oxasulfuron [CAS RN 144651-06-9] (= A1-22);
 primisulfuron-metil [CAS RN 86209-51-0] (= A1-23);
 5 prosulfuron [CAS RN 94125-34-5] (= A1-24);
 pirazosulfuron-etil [CAS RN 93697-74-6] (= A1-25);
 rimsulfuron [CAS RN 122931-48-0] (= A1-26);
 sulfometuron-metil [CAS RN 74222-97-2] (= A1-27);
 sulfosulfuron [CAS RN 141776-32-1] (= A1-28);
 10 tifensulfuron-metil [CAS RN 79277-27-3] (= A1-29);
 triasulfuron [CAS RN 82097-50-5] (= A1-30);
 tribenuron-metil [CAS RN 101200-48-0] (= A1-31);
 trifloxisulfuron [CAS RN 145099-21-4] (sodiu) (= A1-32);
 triflusulfuron-metil [CAS RN 126535-15-7] (= A1-33);
 15 tritosulfuron [CAS RN 142469-14-5] (= A1-34);
 NC-330 [CAS RN 104770-29-8] (= A1-35);
 NC-620 [CAS RN 868680-84-6] (= A1-36);
 TH-547 [CAS RN 570415-88-2] (= A1-37);
 monosulfuron-metil [CAS RN 175076-90-1] (= A1-38);
 20 2-iodo-N-[(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazinil)carbamoi]benzen-sulfonamidă (=A1-39);
 un compus cu formula generală (I)



- 25 unde M⁺ desemnează sarea respectivă a compusului (I), și anume
 sarea sa de litiu (= A1-40); sarea sa de sodiu (= A1-41); sarea sa de potasiu
 (= A1-42); sarea sa de magneziu (= A1-43); sarea sa de calciu (= A1-44); sarea sa de
 amoniu (= A1-45); sarea sa de metilamoniu (= A1-46); sarea sa de dimetilamoniu (=
- 30 A1-47); sarea sa de tetrametilamoniu
 (= A1-48); sarea sa de etilamoniu (= A1-49); sarea sa de dietilamoniu (= A1-50); sarea
 sa de tetraetilamoniu (= A1-51); sarea sa de propilamoniu (= A1-52); sarea sa de
 tetrapropilamoniu (= A1-53); sarea sa de izopropilamoniu (= A1-54); sarea sa de
 diizopropilamoniu
- 35 (= A1-55); sarea sa de butilamoniu (= A1-56); sarea sa de tetrabutilamoniu (= A1-57);
 sarea sa de (2-hidroxiet-1-il)amoniu (= A1-58); sarea sa de bis-N,N- (2-hidroxiet-1-
 il)amoniu (= A1-59); sarea sa de tris-N,N,N-(2-hidroxiet-1-il)amoniu (= A1-60); sarea
 sa de 1-feniletilamoniu (= A1-61); sarea sa de 2-feniletilamoniu (= A1-62); sarea sa de
 trimetilsulfoni (= A1-63); sarea sa de trimetiloxoni (= A1-64); sarea sa de piridiniu (=
- 40 A1-65); sarea sa de 2-metilpiridiniu (= A1-66); sarea sa de 4-metilpiridiniu (= A1-67);
 sarea sa de 2,4-dimetilpiridiniu
 (= A1-68); sarea sa de 2,6-dimetilpiridiniu (= A1-69); sarea sa de piperidiniu (= A1-70);
 sarea sa de imidazoli (= A1-71); sarea sa de morfoliniu
 (= A1-72); sarea sa de 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-7-eniu (= A1-73); sarea sa de 1,8-
 diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eniu (= A1-74);
- 45 sau un compus cu formula (II) sau sărurile acestuia

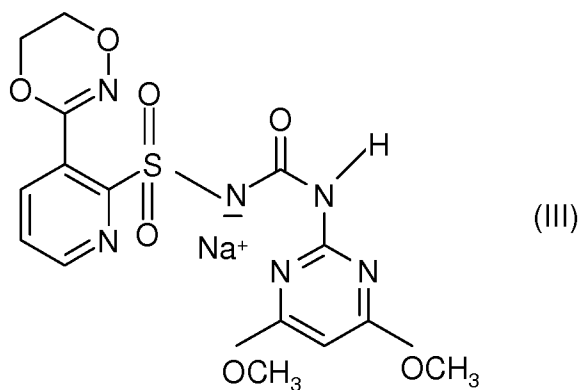


R² și R³ având definițiile din tabelul de mai jos

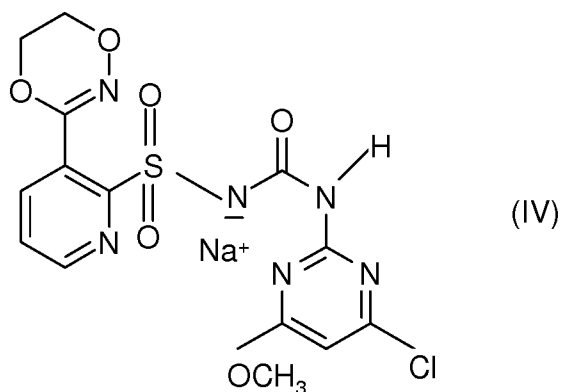
Compusul	R ²	R ³
A1-75	OCH ₃	OC ₂ H ₅
A1-76	OCH ₃	CH ₃
A1-77	OCH ₃	C ₂ H ₅
A1-78	OCH ₃	CF ₃
A1-79	OCH ₃	OCF ₂ H
A1-80	OCH ₃	NHCH ₃
A1-81	OCH ₃	N(CH ₃) ₂
A1-82	OCH ₃	Cl
A1-83	OCH ₃	OCH ₃
A1-84	OC ₂ H ₅	OC ₂ H ₅
A1-85	OC ₂ H ₅	CH ₃
A1-86	OC ₂ H ₅	C ₂ H ₅

5

sau compusul cu formula (III) (= A1-87), și anume sarea de sodiu a compusului (A1-83)



sau compusul cu formula (IV) (=A1-88), și anume sarea de sodiu a compusului (A1-82)



subgrupa de sulfonilaminocarboniltriazolinone (subgrupa ((A2)), ce constă din:
 flucarbazon-sodiu [CAS RN 181274-17-9] (= A2-1);
 propoxicarbazon-sodiu [CAS RN 181274-15-7] (= A2-2);
 tiencarbazon-metil [CAS RN 317815-83-1] (= A2-3);

5

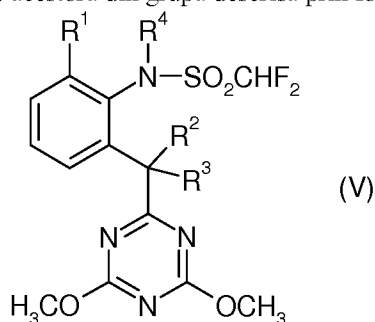
subgrupa de triazolopirimidine (subgrupa (A3)), ce constă din:

10

cloransulam-metil [147150-35-4] (= A3-1);
 diclosulam [CAS RN 145701-21-9] (= A3-2);
 florasulam [CAS RN 145701-23-1] (= A3-3);
 flumetsulam [CAS RN 98967-40-9] (= A3-4);
 metosulam [CAS RN 139528-85-1] (= A3-5);
 penoxsulam [CAS RN 219714-96-2] (= A3-6);
 piroxsulam [CAS RN 422556-08-9] (= A3-7);

15

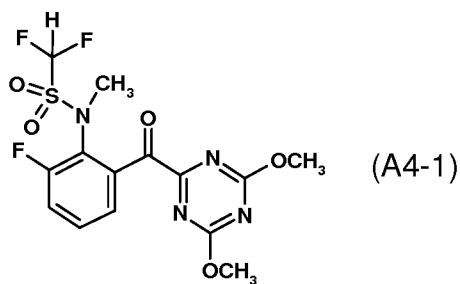
subgrupa de sulfonanilide (subgrupa (A4)), ce constă din:
 compușii sau sărurile acestora din grupa descrisă prin formula generală (I):



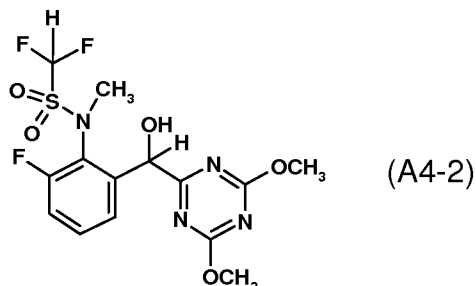
in care

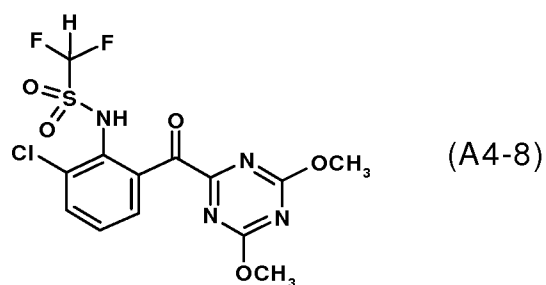
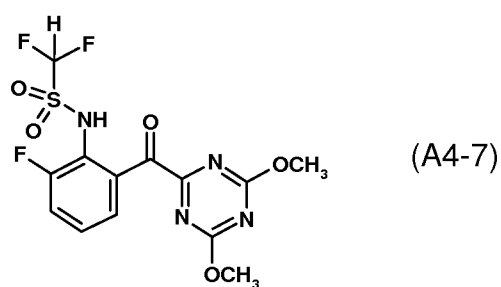
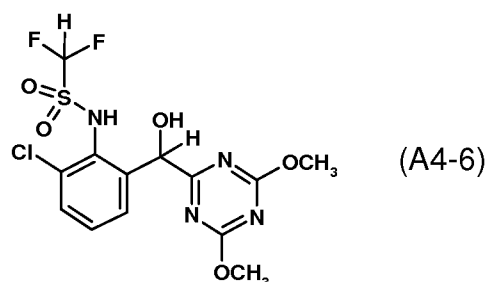
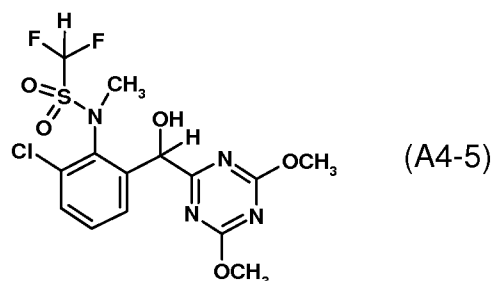
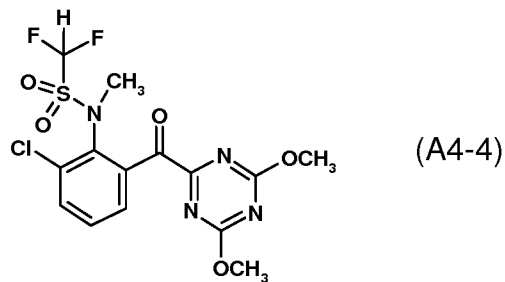
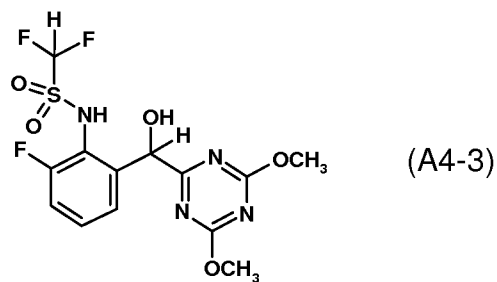
20

R¹ este halogen, preferabil fluor sau clor,
 R² este hidrogen și R³ este hidroxil sau
 R² și R³ împreună cu atomul de carbon, de care sunt prinși, reprezintă o grupare
 carbonil C=O și
 R⁴ este hidrogen sau metil;
 și mai în special compușii cu structura chimică de mai jos (A4-1) - (A4-8)



25





5

grupa de imidazolinone (grupa (B1)), ce constă din:
 imazametabenzmetil [CAS RN 81405-85-8] (= B1-1);

- imazamox [CAS RN 114311-32-9] (= B1-2);
 imazapic [CAS RN 104098-48-8] (= B1-3);
 imazapir [CAS RN 81334-34-1] (= B1-4);
 imazaquin [CAS RN 81335-37-7] (= B1-5);
 5 imazetapir [CAS RN 81335-77-5] (= B1-6);
 SYP-298 [CAS RN 557064-77-4] (= B1-7);
 SYP-300 [CAS RN 374718-10-2] (= B1-8).
- grupa de pirimidinil(tio)benzoați (grupa (C)), ce constă din:
 subgrupa de pirimidiniloxibenzoacizi (subgrupa (C1)), ce constă din:
 10 bispiribac-sodiu [CAS RN 125401-92-5] (= C1-1);
 piribenzoxim [CAS RN 168088-61-7] (= C1-2);
 piriminobac-metil [CAS RN 136191-64-5] (= C1-3);
 piribambenz-izopropil [CAS RN 420138-41-6] (= C1-4);
 piribambenz-propil [CAS RN 420138-40-5] (= C1-5);
 15 subgrupa de pirimidinil(tio)benzoacizi (subgrupa (C2)), ce constă din:
 pirifitalid [CAS RN 135186-78-6] (= C2-1);
 piritiobac-sodiu [CAS RN 123343-16-8] (= C2-2).

În acest context, "toleranță" sau "tolerant" înseamnă că aplicarea unuia sau mai multor erbicide
 20 inhibitoare de ALS, care fac parte din una dintre grupele definite mai sus (A), (B), (C), nu prezintă
 nici un efect(e) evident(e) asupra funcțiilor fiziologice/fitotoxicității, atunci când sunt aplicate pe
 planta respectivă de *Beta vulgaris*, în special sfecla de zahăr, ce conține o polipeptidă de ALS
 cuprinzând mutații la pozițiile 569 și 188 și în timp ce aplicarea aceleiași cantități de erbicid(e)
 inhibitor(oare) de ALS respectiv pe plante de *Beta vulgaris* netolerante duce la efecte negative
 semnificative asupra creșterii plantei, funcțiilor sale fiziologice sau prezintă simptome fitotoxice.
 25 Calitatea și cantitatea efectelor observate poate depinde de compoziția chimică a erbicidului(elor)
 inhibitor(oare) de ALS respectiv aplicat, doză și intervalul de aplicare, precum și condițiile/etapa de
 creștere a plantelor tratate.

Dacă nu se indică altfel, termenul "cel puțin" ce precede o serie de elemente se va înțelege ca
 30 referindu-se la fiecare element din serie. Specialiștii din domeniu vor recunoaște, sau vor putea
 stabili folosind doar experimentele de rutină, mai multe variante echivalente cu variantele de
 executare specifice ale invenției descrise aici. Se intenționează includerea unor astfel de variante
 echivalente în prezenta invenție.

În această descriere și revendicările ce urmează, cu excepția cazului în care contextul prevede
 altfel, cuvântul "a cuprinde" și variațiile sale cum ar fi "cuprinde" și "cuprinzând", se va înțelege ca
 35 implicând includerea unui număr întreg sau etapă menționată sau grup de numere întregi sau etape,
 dar nu excluderea oricărui alt număr întreg sau etapă sau grup de numere întregi sau etape. Cuvântul
 "a cuprinde" și variațiile sale, pe de o parte, și cuvântul "a conține" și variațiile sale similare, pe de
 altă parte, pot fi utilizate alternativ în această descriere și revendicările corespunzătoare fără
 preferință față de nici una dintre ele.

Când se utilizează în prezenta, termenul "transgenic" sau "modificat genetic" semnifică că o genă
 40 - care poate fi de aceeași specie sau de specie diferită - a fost introdusă prin intermediul unui
 purtător biologic corespunzător, cum ar fi *Agrobacterium tumefaciens* sau prin orice alt mijloc fizic,
 cum ar fi transformarea protoplastelor sau bombardamentul cu particule, într-o plantă, și gena
 respectivă poate fi exprimată în noul mediu gazdă, și anume organismul modificat genetic (OMG).

Conform definiției de mai sus, termenul "netransgenic" sau "nemodificat genetic" semnifică
 45 exact contrariul, și anume că nu a avut loc introducerea genei respective prin intermediul unui
 purtător biologic corespunzător sau prin orice alte mijloace fizice. Cu toate acestea, o genă care a
 suferit mutații poate fi transferată prin polenizare, fie pe cale naturală, fie prin intermediul unui
 procedeu de reproducere pentru a produce o altă plantă netransgenică privind această genă specifică.

O genă "endogenă" semnifică o genă a unei plante care nu a fost introdusă în plantă prin tehnici
 50 de inginerie genetică.

Un "aminoacid diferit de triptofan" (indicat prin "Trp" în codul din trei litere sau "W" în codul
 dintr-o singură literă folosit în mod echivalent) include orice aminoacid natural diferit de triptofan.
 Acești aminoacizi naturali includ alanină (A), arginină (R), asparagină (N), aspartat (D), cisteină
 55 (C), glutamină (Q), glutamat (E), glicină (G), histidină (H), izoleucină (I), leucină (L), lizină (K),
 metionină (M), fenilalanină (F), prolină (P), serină (S), treonină (T), tirozină (Y) sau valină (V).

Cu toate acestea, de preferință, aminoacidul diferit de triptofan (ce face parte din grupa de
 aminoacizi neutri-polari) la poziția 569 a proteinei de ALS este un aminoacid cu proprietăți fizico-
 chimice diferite de triptofan, adică aparține unuia dintre aminoacizii cu proprietăți neutre-nepolare,

acide, sau bazice. Mai preferabil, aminoacidul diferit de triptofan este selectat din grupa ce constă din alanină, glicină, izoleucină, leucină, metionină, fenilalanină, prolină, valină, și arginină. Chiar mai preferabil, aminoacidul menționat este un aminoacid neutru-nepolar cum ar fi alanina, glicina, izoleucina, leucina, metionina, fenilalanina, prolina sau valina. Îndeosebi se preferă ca aminoacidul menționat să fie alanină, glicină, izoleucină, leucină, valină. Chiar este mai preferabil ca aminoacidul menționat să fie glicină sau leucină. Cel mai preferabil, acesta este leucină.

"CAS RN" indicat între paranteze pătrate după denumirile (denumirile comune) menționate sub grupele A - C corespunde "numărului de înregistrare a serviciului de catalogare a chimicalelor", un număr de referință obișnuit, care permite substanțelor numite să fie clasificate univoc, deoarece "CAS RN" face distincție, printre altele, între izomeri, inclusiv stereoizomeri.

Erbicide inhibitoare de ALS, care sunt utilizate, de preferință, pentru combaterea vegetației nedorite pe terenurile de cultivare a plantelor de *Beta vulgaris*, de preferință, sfeclă de zahăr, pe care plantele de *Beta vulgaris*, de preferință, sfeclă de zahăr, conțin o proteină de ALS codificată de o genă endogenă ALS cuprinzând un aminoacid diferit de triptofan la poziția 569 și un aminoacid diferit de prolină la poziția 188, și oferind astfel toleranță față de erbicidul(ele) inhibitor(oare) de ALS conform prezentei invenții, și care fac parte din grupa (A), sunt:

amidofurion [CAS RN 120923-37-7] (= A1-1) ;
 clorimuron-etil [CAS RN 90982-32-4] (= A1-4);
 etametsulfuron-metil [CAS RN 97780-06-8] (= A1-8);
 etoxisulfuron [CAS RN 126801-58-9] (= A1-9);
 flupirsulfuron-metil-sodiu [CAS RN 144740-54-5] (= A1-12);
 foramsulfuron [CAS RN 173159-57-4] (= A1-13);
 iodosulfuron-metil-sodiu [CAS RN 144550-36-7] (= A1-16);
 mezosulfuron-metil [CAS RN 208465-21-8] (= A1-17);
 metsulfuron-metil [CAS RN 74223-64-6] (= A1-18);
 monosulfuron [CAS RN 155860-63-2] (= A1-19);
 nicosulfuron [CAS RN 111991-09-4] (= A1-20);
 sulfosulfuron [CAS RN 141776-32-1] (= A1-28);
 tifensulfuron-metil [CAS RN 79277-27-3] (= A1-29);
 tribenuron-metil [CAS RN 101200-48-0] (= A1-31);
 2-iodo-N-[(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazinil)carbamoil]benzen-sulfonamidă
 (= A1-39);
 2-iodo-N-[(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazinil)carbamoil]benzen-sulfonamidă sare de sodiu (= A1-41);
 (A1-83) sau sarea sa de sodiu (=A1-87);
 propoxycarbazon-sodiu [CAS RN 181274-15-7] (= A2-2);
 tiencarbazon-metil [CAS RN 317815-83-1] (= A2-3);
 florasulam [CAS RN 145701-23-1] (= A3-3);
 metosulam [CAS RN 139528-85-1] (= A3-5);
 piroxulam [CAS RN 422556-08-9] (= A3-7)
 (A4-1);
 (A4-2); și
 (A4-3).

Erbicide inhibitoare de ALS, care sunt, îndeosebi preferabil, utilizate pentru combaterea vegetației nedorite pe terenurile de cultivare a *Beta vulgaris* (de preferință a sfeclei de zahăr), pe care plantele de *Beta vulgaris* (de preferință, de sfeclă de zahăr) conțin o proteină de ALS codificată de o genă endogenă ALS cuprinzând un aminoacid diferit de triptofan la poziția 569 și un aminoacid diferit de prolină la poziția 188, și oferind astfel toleranță față de erbicidul(ele) inhibitor(oare) de ALS conform prezentei invenții, și care fac parte din grupa (A), sunt:

amidofurion [CAS RN 120923-37-7] (= A1-1) ;
 foramsulfuron [CAS RN 173159-57-4] (= A1-13);
 iodosulfuron-metil-sodiu [CAS RN 144550-36-7] (= A1-16);
 2-iodo-N-[(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazinil)carbamoil]benzen-sulfonamidă (= A1-39);
 2-iodo-N-[(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazinil)carbamoil]benzen-sulfonamidă sare de sodiu A1-41;
 A1-83 sau sarea sa de sodiu (=A1-87);
 tiencarbazon-metil [CAS RN 317815-83-1] (= A2-3);

Un alt erbicid inhibitor de ALS, care este utilizat, de preferință, pentru combaterea vegetației nedorite pe terenurile de cultivare a *Beta vulgaris* (de preferință a sfeclei de zahăr), pe care plantele de *Beta vulgaris* (de preferință, de sfeclă de zahăr), conțin o proteină de ALS codificată de o genă

endogenă ALS cuprinzând un aminoacid diferit de triptofan la poziția 569 și un aminoacid diferit de prolină la poziția 188, și oferind astfel toleranță față de erbicidul(ele) inhibitor(oare) de ALS conform prezentei invenții, și care face parte din grupa (A), este:

imazamox [CAS RN 114311-32-9] (= B1-2).

- 5 Un alt erbicid inhibitor de ALS, care este utilizat, de preferință, pentru combaterea vegetației nedorite pe terenurile de cultivare a *Beta vulgaris* (de preferință, a sfeclă de zahăr), pe care plantele de *Beta vulgaris* (de preferință, de sfeclă de zahăr), conțin o proteină de ALS codificată de o genă endogenă ALS cuprinzând un aminoacid diferit de triptofan la poziția 569 și un aminoacid diferit de prolină la poziția 188, și oferind astfel toleranță față de erbicidul(ele) inhibitor(oare) de ALS conform prezentei invenții, și care face parte din grupa (A), este:

10 bispiribac-sodiu [CAS RN 125401-92-5] (= C1-1).

În continuare se va înțelege că în privința tuturor erbicidelor inhibitoare de ALS definite mai sus și atunci când nu se specifică de către CAS RN respectivă, toate formele de utilizare, cum ar fi acizii și sărurile pot fi aplicate în conformitate cu invenția.

- 15 În plus, erbicidul(ele) inhibitor(oare) de ALS care urmează să fie utilizat(e) conform invenției poate cuprinde și alte componente, de exemplu, compuși agrochimic activi cu mod de acțiune de tip diferit și/sau substanțe auxiliare și/sau aditivi uzuali în protecția plantelor, sau pot fi utilizate împreună cu acestea.

- 20 Intr-o variantă de executare preferată, combinațiile de erbicide, care urmează să fie utilizate conform invenției, cuprind cantități eficiente de erbicid(e) inhibitor(oare) de ALS care fac parte din grupele (A), (B) și/sau (C) și/sau posedă acțiuni sinergice. Acțiunile sinergice pot fi observate, de exemplu, atunci când se aplică unul sau mai multe erbicide inhibitoare de ALS, care fac parte din grupele (A), (B), și/sau (C) împreună, de exemplu, sub formă de un copreparat sau un amestec în rezervor; cu toate acestea, ele pot fi, de asemenea, observate atunci când compușii activi se aplică la intervale diferite de timp (separare). De asemenea, este posibil de a aplica erbicidele sau combinațiile erbicide într-o multitudine de porțiuni (aplicare secvențială), de exemplu aplicări pre-răsărire urmate de aplicările post-răsărire sau aplicările post-răsărire timpurie, urmate de aplicările post-răsărire medie sau târzie. Se dă preferință aici aplicării comune sau aproape simultane a erbicidelor inhibitoare de ALS, care fac parte din grupele (A), (B) și/sau (C) din combinația respectivă.

- 30 Efectele sinergice permit reducerea dozelor de aplicare a erbicidelor inhibitoare de ALS individuale, o eficacitate mai mare la aceeași doză de aplicare, combaterea speciilor care erau încă necombătute (goluri), combaterea speciilor care sunt tolerante sau rezistente la erbicidele inhibitoare de ALS individuale sau la mai multe erbicide inhibitoare de ALS, prelungirea perioadei de aplicare și/sau reducerea numărului de cereri individuale necesare și - ca urmare pentru utilizator - sistemele de combatere a buruienilor, care sunt mai avantajoase din punct de vedere economic și ecologic.

- 35 Erbicidele care urmează să fie utilizate conform prezentei invenții sunt toate erbicide inhibitoare de acetolactat sintază (ALS) (care ar putea fi numite, de asemenea, în mod alternativ și interschimbabil "erbicide care inhibă ALS") și inhibă astfel biosinteza proteinelor în plante.

- 40 Doza de aplicare a erbicidelor inhibitoare de ALS, care fac parte din grupele (A), (B) sau (C) (definite mai sus) poate varia într-un interval larg, de exemplu între 0,001 g și 1500 g de ia/ha (ia/ha înseamnă aici și mai jos "substanță activă la hectar" = bazată pe compus activ pur de 100%). În cazul aplicării în doze cuprinse între 0,001 g și 1500 g ia/ha, erbicidele din clasele A, B și C conform prezentei invenții, de preferință compușii A1-1; A1-4; A1-8; A1-9; A1-12; A1-13; A1-16; A1-17; 45 A1-18; A1-19; A1-20; A1-28; A1-29; A1-31; A1-39; A1-41; A1-83; A1-87; A2-2; A2-3; A3-3; A3-5; A3-7, A4-3, combat, atunci când sunt utilizați prin metoda pre- și post-răsărire, un spectru relativ larg de plante dăunătoare, de exemplu buruieni mono- sau dicotiledonate, anuale și perene, și, de asemenea, plante de cultură nedorite (definite împreună "vegetație nedorită").

- 50 În mai multe aplicări conform invenției, dozele de aplicare sunt în general mai mici, de exemplu, cuprinse între 0,001 g și 1000 g de ia/ha, preferabil între 0,1 g și 500 g ia/ha, îndeosebi preferabil între 0,5 g și 250 g de ia/ha, și chiar mai preferabil între 1,0 g și 200 g de ia/ha. În cazurile în care se aplică mai multe erbicide inhibitoare de ALS, cantitatea reprezintă cantitatea totală a tuturor erbicidelor inhibitoare de ALS aplicate.

- 55 De exemplu, combinațiile conform invenției de erbicide inhibitoare de ALS (care fac parte din grupele (A), (B) și/sau (C)) permit sporirea sinergică a activității într-o manieră care depășește cu mult și în mod neașteptat activitățile, care pot fi obținute prin utilizarea erbicidelor individuale inhibitoare de ALS (care fac parte din grupele (A), (B) și/sau (C)).

Pentru combinațiile de erbicide inhibitoare de ALS, condițiile preferate sunt ilustrate mai jos.

MD 4571 B1 2018.06.30

14

Un interes deosebit, conform prezentei invenții, prezintă utilizarea compozițiilor erbicide pentru combaterea vegetației nedorite în plantele *Beta vulgaris*, de preferință în plantele de sfeclă de zahăr, care conțin următoarele erbicide inhibitoare de ALS:

- 5 (A1-1) + (A1-4); (A1-1) + (A1-8); (A1-1) + (A1-9); (A1-1) + (A1-12);
(A1-1) + (A1-13); (A1-1) + (A1-16); (A1-1) + (A1-17); (A1-1) + (A1-18);
(A1-1) + (A1-19); (A1-1) + (A1-20); (A1-1) + (A1-28); (A1-1) + (A1-29);
(A1-1) + (A1-31); (A1-1) + (A1-39); (A1-1) + (A1-41); (A1-1) + (A1-83);
(A1-1) + (A1-87); (A1-1) + (A2-2); (A1-1) + (A2-3); (A1-1) + (A3-3);
(A1-1) + (A3-5); (A1-1) + (A3-7); (A1-1) + (A4-1); (A1-1) + (A4-2); (A1-1) + (A4-3);
- 10 (A1-4) + (A1-8); (A1-4) + (A1-9); (A1-4) + (A1-12); (A1-4) + (A1-13);
(A1-4) + (A1-16); (A1-4) + (A1-17); (A1-4) + (A1-18); (A1-4) + (A1-19);
(A1-4) + (A1-20); (A1-4) + (A1-28); (A1-4) + (A1-29); (A1-4) + (A1-31);
(A1-4) + (A1-39); (A1-4) + (A1-41); (A1-4) + (A1-83); (A1-4) + (A1-87);
- 15 (A1-4) + (A2-2); (A1-4) + (A2-3); (A1-4) + (A3-3); (A1-4) + (A3-5);
(A1-4) + (A3-7); (A1-4) + (A4-1); (A1-4) + (A4-2); (A1-4) + (A4-3);
- 20 (A1-8) + (A1-9); (A1-8) + (A1-12); (A1-8) + (A1-13); (A1-8) + (A1-16);
(A1-8) + (A1-17); (A1-8) + (A1-18); (A1-8) + (A1-19); (A1-8) + (A1-20);
(A1-8) + (A1-28); (A1-8) + (A1-29); (A1-8) + (A1-31); (A1-8) + (A1-39);
(A1-8) + (A1-41); (A1-8) + (A1-83); (A1-8) + (A1-87); (A1-8) + (A2-2);
(A1-8) + (A2-3); (A1-8) + (A3-3); (A1-8) + (A3-5); (A1-8) + (A3-7);
(A1-8) + (A4-1); (A1-8) + (A4-2); (A1-8) + (A4-3);
- 25 (A1-9) + (A1-12); (A1-9) + (A1-13); (A1-9) + (A1-16); (A1-9) + (A1-17);
(A1-9) + (A1-18); (A1-9) + (A1-19); (A1-9) + (A1-20); (A1-9) + (A1-28);
(A1-9) + (A1-29); (A1-9) + (A1-31); (A1-9) + (A1-39); (A1-9) + (A1-41);
(A1-9) + (A1-83); (A1-9) + (A1-87); (A1-9) + (A2-2); (A1-9) + (A2-3);
(A1-9) + (A3-3); (A1-9) + (A3-5); (A1-9) + (A3-7); (A1-9) + (A4-1);
- 30 (A1-9) + (A4-2); (A1-9) + (A4-3);
- 35 (A1-12) + (A1-13); (A1-12) + (A1-16); (A1-12) + (A1-17); (A1-12) + (A1-18);
(A1-12) + (A1-19); (A1-12) + (A1-20); (A1-12) + (A1-28); (A1-12) + (A1-29);
(A1-12) + (A1-31); (A1-12) + (A1-39); (A1-12) + (A1-41); (A1-12) + (A1-83);
(A1-12) + (A1-87); (A1-12) + (A2-2); (A1-12) + (A2-3); (A1-12) + (A3-3);
(A1-12) + (A3-5); (A1-12) + (A3-7); (A1-12) + (A4-1); (A1-12) + (A4-2); (A1-12) +
(A4-3);
- 40 (A1-13) + (A1-16); (A1-13) + (A1-17); (A1-13) + (A1-18); (A1-13) + (A1-19);
(A1-13) + (A1-20); (A1-13) + (A1-28); (A1-13) + (A1-29); (A1-13) + (A1-31);
(A1-13) + (A1-39); (A1-13) + (A1-41); (A1-13) + (A1-83); (A1-13) + (A1-87);
(A1-13) + (A2-2); (A1-13) + (A2-3); (A1-13) + (A3-3); (A1-13) + (A3-5);
(A1-13) + (A3-7); (A1-13) + (A4-1); (A1-13) + (A4-2); (A1-13) + (A4-3);
- 45 (A1-16) + (A1-17); (A1-16) + (A1-18); (A1-16) + (A1-19); (A1-16) + (A1-20);
(A1-16) + (A1-28); (A1-16) + (A1-29); (A1-16) + (A1-31); (A1-16) + (A1-39);
(A1-16) + (A1-41); (A1-16) + (A1-83); (A1-16) + (A1-87); (A1-16) + (A2-2);
(A1-16) + (A2-3); (A1-16) + (A3-3); (A1-16) + (A3-5); (A1-16) + (A3-7);
(A1-16) + (A4-1); (A1-16) + (A4-2); (A1-16) + (A4-3);
- 50 (A1-17) + (A1-18); (A1-17) + (A1-19); (A1-17) + (A1-20); (A1-17) + (A1-28);
(A1-17) + (A1-29); (A1-17) + (A1-31); (A1-17) + (A1-39); (A1-17) + (A1-41);
(A1-17) + (A1-83); (A1-17) + (A1-87); (A1-17) + (A2-2); (A1-17) + (A2-3);
(A1-17) + (A3-3); (A1-17) + (A3-5); (A1-17) + (A3-7); (A1-17) + (A4-1);
- 55 (A1-17) + (A4-2); (A1-17) + (A4-3);
- (A1-18) + (A1-19); (A1-18) + (A1-20); (A1-18) + (A1-28); (A1-18) + (A1-29);
(A1-18) + (A1-31); (A1-18) + (A1-39); (A1-18) + (A1-41); (A1-18) + (A1-83);
(A1-18) + (A1-87); (A1-18) + (A2-2); (A1-18) + (A2-3); (A1-18) + (A3-3);

MD 4571 B1 2018.06.30

15

(A1-18) + (A3-5); (A1-18) + (A3-7); (A1-18) + (A4-1); (A1-18) + (A4-2);
(A1-18) + (A4-3);

5 (A1-19) + (A1-20); (A1-19) + (A1-28); (A1-19) + (A1-29); (A1-19) + (A1-31);
(A1-19) + (A1-39); (A1-19) + (A1-41); (A1-19) + (A1-83); (A1-19) + (A1-87);
(A1-19) + (A2-2); (A1-19) + (A2-3); (A1-19) + (A3-3); (A1-19) + (A3-5);
(A1-19) + (A3-7); (A1-19) + (A4-1); (A1-19) + (A4-2); (A1-19) + (A4-3);

10 (A1-20) + (A1-28); (A1-20) + (A1-29); (A1-20) + (A1-31); (A1-20) + (A1-39);
(A1-20) + (A1-41); (A1-20) + (A1-83); (A1-20) + (A1-87); (A1-20) + (A2-2);
(A1-20) + (A2-3); (A1-20) + (A3-3); (A1-20) + (A3-5); (A1-20) + (A3-7);
(A1-20) + (A4-1); (A1-20) + (A4-2); (A1-20) + (A4-3);

15 (A1-28) + (A1-29); (A1-28) + (A1-31); (A1-28) + (A1-39); (A1-28) + (A1-41);
(A1-28) + (A1-83); (A1-28) + (A1-87); (A1-28) + (A2-2); (A1-28) + (A2-3);
(A1-28) + (A3-3); (A1-28) + (A3-5); (A1-28) + (A3-7); (A1-28) + (A4-1);
(A1-28) + (A4-2); (A1-28) + (A4-3);

20 (A1-29) + (A1-31); (A1-29) + (A1-39); (A1-29) + (A1-41); (A1-29) + (A1-83);
(A1-29) + (A1-87); (A1-29) + (A2-2); (A1-29) + (A2-3); (A1-29) + (A3-3);
(A1-29) + (A3-5); (A1-29) + (A3-7); (A1-29) + (A4-1); (A1-29) + (A4-2); (A1-29) +
(A4-3);

25 (A1-31) + (A1-39); (A1-31) + (A1-41); (A1-31) + (A1-83); (A1-31) + (A1-87);
(A1-31) + (A2-2); (A1-31) + (A2-3); (A1-31) + (A3-3); (A1-31) + (A3-5);
(A1-31) + (A3-7); (A1-31) + (A4-1); (A1-31) + (A4-2); (A1-31) + (A4-3);

30 (A1-39) + (A1-41); (A1-39) + (A1-83); (A1-39) + (A1-87); (A1-39) + (A2-2);
(A1-39) + (A2-3); (A1-39) + (A3-3); (A1-39) + (A3-5); (A1-39) + (A3-7);
(A1-39) + (A4-1); (A1-39) + (A4-2); (A1-39) + (A4-3);

35 (A1-41) + (A1-83); (A1-41) + (A1-87); (A1-41) + (A2-2); (A1-41) + (A2-3);
(A1-41) + (A3-3); (A1-41) + (A3-5); (A1-41) + (A3-7); (A1-41) + (A4-1);
(A1-41) + (A4-2); (A1-41) + (A4-3);

(A1-83) + (A2-2); (A1-83) + (A2-3); (A1-83) + (A3-3); (A1-83) + (A3-5);
(A1-83) + (A3-7); (A1-83) + (A4-1); (A1-83) + (A4-2); (A1-83) + (A4-3);

40 (A1-87) + (A2-2); (A1-87) + (A2-3); (A1-87) + (A3-3); (A1-87) + (A3-5);
(A1-87) + (A3-7); (A1-87) + (A4-1); (A1-87) + (A4-2); (A1-87) + (A4-3);

(A2-2) + (A2-3); (A2-2) + (A3-3); (A2-2) + (A3-5); (A2-2) + (A3-7);
(A2-2) + (A4-1); (A2-2) + (A4-2); (A2-2) + (A4-3);

45 (A2-3) + (A3-3); (A2-3) + (A3-5); (A2-3) + (A3-7);
(A2-3) + (A4-1); (A2-3) + (A4-2); (A2-3) + (A4-3);

(A3-3) + (A3-5); (A3-3) + (A3-7);
(A3-3) + (A4-1); (A3-3) + (A4-2); (A3-3) + (A4-3);

50 (A3-5) + (A3-7); (A3-5) + (A4-1); (A3-5) + (A4-2); (A3-5) + (A4-3);

(A3-7) + (A4-1); (A3-7) + (A4-2); (A3-7) + (A4-3);

55 (A-1) + (A4-2); (A4-1) + (A4-3); și

(A4-2) + (A4-3);

În plus, erbicidele inhibitoare de ALS, care urmează să fie utilizate conform invenției pot cuprinde componente suplimentare, de exemplu compuși agrochimic activi cu mod de acțiune de tip diferit și/sau substanțe auxiliare și/sau aditivi uzuali în protecția plantelor, sau pot fi utilizate împreună cu acestea.

5 Erbucidul(ele) inhibitor(oare) de ALS, care urmează să fie utilizat(e) conform invenției sau combinațiile de astfel de erbicide inhibitoare de ALS diferite pot cuprinde în plus diferiți compuși agrochimic activi, de exemplu, din grupa de agenți fitoprotectori, fungicide, insecticide, sau dintr-o grupă de substanțe auxiliare și aditivi uzuali în protecția plantelor.

10 Intr-o altă variantă de executare, invenția se referă la utilizarea unor cantități eficiente de erbucid(e) inhibitor(oare) de ALS (adică, membri ai grupelor (A), (B) și/sau (C)) și erbicide neinhibitoare de ALS (adică, erbicide având un mod de acțiune diferit de inhibarea enzimei ALS [acetohidroxiacid sintaza; CE 2.2.1.6] (erbicidele din grupa D) în vederea obținerii efectului sinergic pentru combaterea vegetației nedorite. Astfel de acțiuni sinergice pot fi observate, de exemplu, atunci când se aplică unul sau mai multe erbicide inhibitoare de ALS (și anume membri ai grupelor

15 (A), (B), și/sau (C)) și unul sau mai multe erbicide neinhibitoare de ALS (erbicide din grupa D) împreună, de exemplu sub formă de un copreparat sau un amestec în rezervor; cu toate acestea, ele pot fi observate și atunci când compușii activi se aplică în intervale de timp diferite (separare). De asemenea, este posibil de a aplica erbicidele inhibitoare de ALS și erbicidele neinhibitoare de ALS intr-o multitudine de porțiuni (aplicare consecutivă), de exemplu aplicări pre-răsărire urmate de aplicările post-răsărire sau aplicările post-răsărire timpurii, urmate de aplicările post-răsărire medii sau târzii. Se dă preferință aici aplicării combinate sau aproape simultane a erbicidelor ((A), (B) și/sau (C)) și (D) din combinația respectivă.

Erbicide partenere adecvate care urmează să fie aplicate împreună cu erbicidele inhibitoare de ALS sunt, de exemplu, următoarele erbicide, care diferă structural de erbicidele ce fac parte din

25 grupele (A), (B), și (C), precum s-a descris mai sus, de preferință compuși erbucid activi a căror acțiune se bazează pe inhibarea, de exemplu, acetilcoenzima A carboxilazei, PS I, PS II, HPPDO, fitoendesaturazei, protoporfirinogen oxidazei, glutamin sintetazei, biosintezei celulozei, 5-enolpiruvilshikimat 3-fosfat sintetazei, precum s-a descris, de exemplu, în Weed Research 26, 1986, p. 441-445, sau "The Pesticide Manual", ediția a 14-a, The British Crop Protection Council, 2007, sau a 15-a ediție 2010, sau în "e-Pesticide Manual" corespunzător, versiunea 5, 2010, în fiecare caz, publicat de British Crop Protection Council,, (în continuare, de asemenea, pe scurt "PM"), precum și în literatura de specialitate citată. Liste de denumiri comune sunt, de asemenea, disponibile în "The Compendium of Pesticide Common Names" de pe Internet. Erbicide cunoscute din literatură (indicate între paranteze după denumirea comună clasificate, de asemenea, în continuare prin

35 indicatorii D1 - D426), care pot fi combinate cu erbicide inhibitoare de ALS din grupele (A), (B) și/sau (C) și care urmează să fie utilizate conform prezentei invenții sunt, de exemplu, compușii activi enumerați mai jos: (notă: erbicidele sunt menționate fie prin "denumirea comună" conform Organizației Internaționale de Standardizare (ISO) sau prin denumirea chimică, împreună unde este cazul, cu un număr de cod corespunzător, și în fiecare caz includ toate formele de utilizare, cum ar fi

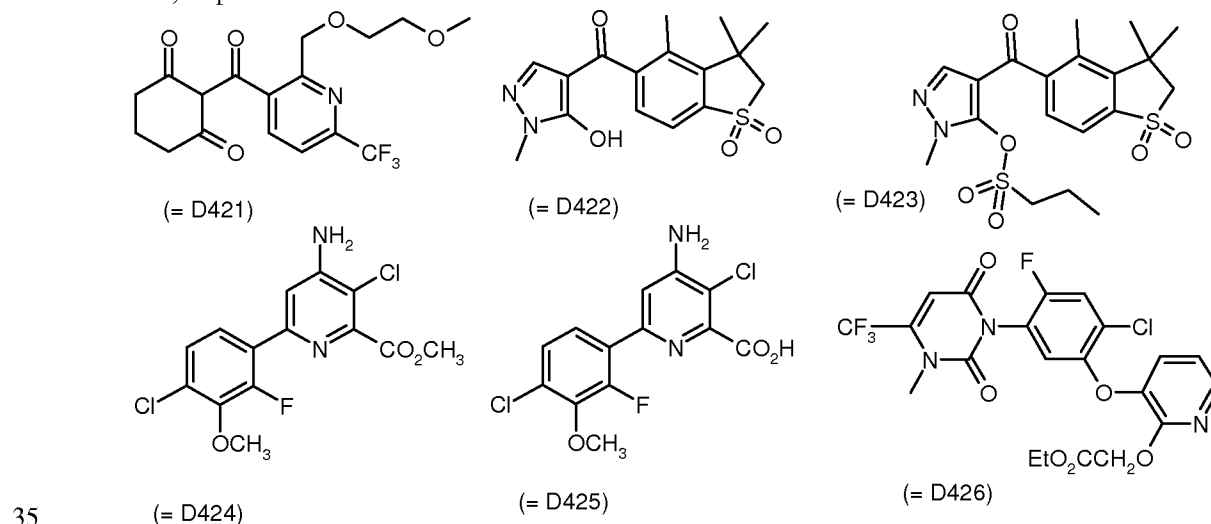
40 acizi, săruri, esteri și izomeri, cum ar fi stereozomeri și izomeri optici, în special sub formă comercială sau forme comerciale, cu excepția cazului în care contextul indică altfel. În timpul enumerării se prezintă o singură formă de utilizare și, în unele cazuri, două sau mai multe forme de utilizare):

45 acetoclor (= D1), acibenzolar (= D2), acibenzolar-S-metil (= D3), acifluorfen (= D4), acifluorfen-sodiu (= D5), aclonifen (= D6), alaclor (= D7), alidochlor (= D8), aloxidim (= D9), aloxidim-sodiu (= D10), ametrin (= D11), amicarbazon (= D12), amidoclor (= D13), aminociclopiraclor (= D14), aminopiralin (= D15), amitrol (= D16), sulfamat de amoniu (= D17), ancimidol (= D18), anilofos (= D19), asulam (= D20), atrazin (= D21), azafenidin (= D22), aziprotrin (= D23), beflubutamid (= D24), benazolin (= D25), benazolin-etil (= D26), bencarbazon (= D27), benfluralin (= D28), benfuresat (= D29), bensulid (= D30), bentazon (= D31), benzofenazon (= D32), benzobicyclon (= D33), benzofenap (= D34), benzofluor (= D35), benzoilprop (= D36), biciclopiron (= D37), bifenox (= D38), bilanafos (= D39), bilanafos-sodiu (= D40), bromacil (= D41), bromobutid (= D42), bromofenoxim (= D43), bromoxinil (= D44), bromuron (= D45), buminafos (= D46), busoxinon (= D47), butaclor (= D48), butafenacil (= D49), butamifos (= D50), butenaclor (= D51), butralin (= D52), butroxidim (= D53), butilat (= D54),

55 cafenstrol (= D55), carbetamid (= D56), carfentrazon (= D57), carfentrazon-etil (= D58), clometoxifen (= D59), cloramben (= D60), clorazifop (= D61), clorazifop-butil (= D62), clorbromuron (= D63), clorbufam (= D64), clorfenac (= D65), clorfenac-sodiu (= D66), clorfenprop (= D67), clorflurenol (= D68), clorflurenol-metil (= D69), cloridazon (= D70), clorquetat-clorură

(= D71), clornitrofen (= D72), cloroftalim (= D73), clortal-dimetil (= D74), clortoluron (= D75), cinidon (= D76), cinidon-etil (= D77), cinmetilin (= D78), cletodim (= D79), clodinafop (= D80), clodinafop-propargil (= D81), clofencet (= D82), clomazon (= D83), clomeprop (= D84), cloprop (= D85), clopiralid (= D86), cloransulam (= D87), cloransulam-metil (= D88), cumiluron (= D89),
5 cianamid (= D90), cianazin (= D91), ciclanilid (= D92), cicloat (= D93), cicloxidim (= D94), cicluron (= D95), cihalofop (= D96), cihalofop-butil (= D97), ciperquat (= D98), ciprazin (= D99), ciprazol (= D100), 2,4-D (= D101), 2,4-DB (= D102), daimuron/dimron (= D103), dalapon (= D104), daminozid (= D105), dazomet (= D106), n-decanol (= D107), desmedifam (= D108), desmetrin (= D109), detosil-pirazolat (= D110), dialat (= D111), dicamba (= D112), diclobenil
10 (= D113), diclorprop (= D114), diclorprop-P (= D115), diclofop (= D116), diclofop-metil (= D117), diclofop-P-metil (= D118), dietatil (= D119), dietatil-etil (= D120), difenoxuron (= D121), difenzoquat (= D122), diflufenican (= D123), diflufenzopir (= D124), diflufenzopir-sodiu (= D125), dimefuron (= D126), dikegulac-sodiu (= D127), dimefuron (= D128), dimepiperat (= D129), dimetaclor (= D130), dimetametrin (= D131), dimetenamid (= D132), dimetenamid-P (= D133),
15 dimetipin (= D134), dimetrasulfuron (= D135), dinitramin (= D136), dinoseb (= D137), dinoterb (= D138), difenamid (= D139), dipropetrin (= D140), diquat (= D141), diquat-dibromură (= D142), ditiopir (= D143), diuron (= D144), DNOC (= D145), eglinazin-etil (= D146), endotal (= D147), EPTC (= D148), esprocarb (= D149), etalfluralin (= D150), etefon (= D151), etidimuron (= D152), etiozin (= D153), etofumesat (= D154), etoxifen (= D155), etoxifen-etil (= D156), etobenzanid (= D157),
20 F-5331 (= 2-clor-4-fluor-5-[4-(3-fluorpropil)-4,5-dihidro-5-oxo-1H-tetrazol-1-il]-fenil]-etansulfonamid) (= D158), F-7967 (= 3-[7-clor-5-fluor-2-(trifluormetil)-1H-benzimidazol-4-il]-1-metil-6-(trifluormetil)pirimidin-2,4(1H,3H)-dion) (= D159), fenoprop (= D160), fenoxaprop (= D161), fenoxaprop-P (= D162), fenoxaprop-etil (= D163), fenoxaprop-P-etil (= D164), fenoxasulfon (= D165), fentrazamid (= D166), fenuron (= D167), flamprop (= D168), flamprop-M-izopropil (= D169), flamprop-M-metil (= D170), fluazifop (= D171), fluazifop-P (= D172), fluazifop-butil (= D173), fluazifop-P-butil (= D174), fluazolat (= D175), flucloralin (= D176), flufenacet (tiafluamidă) (= D177), flufenpir (= D178), flufenpir-etil (= D179), flumetralin (= D180), flumiclorac (= D181), flumiclorac-pentil (= D182), flumioxazin (= D183), flumipropin (= D184), fluometuron (= D185), fluordifen (= D186), fluorglicofen (= D187), fluorglicofen-etil (= D188), flupoxam (= D189),
30 flupropacil (= D190), flupropanat (= D191), flurenol (= D192), flurenol-butil (= D193), fluridon (= D194), fluorocloridon (= D195), fluoxipir (= D196), fluoxipir-meptil (= D197), flurprimidol (= D198), flurtamon (= D199), flutiacet (= D200), flutiacet-metil (= D201), flutiamidă (= D202), fomesafen (= D203), forclorfenuron (= D204), fosamin (= D205), furiloxifen (= D206), acid giberelic (= D207), glufosinat (= D208), glufosinat-amoniu (= D209), glufosinat-P (= D210), glufosinat-P-amoniu (= D211), glufosinat-sodiu (= D212), glifosat (= D213), glifosat-izopropilamoniu (= D214), H-9201 (= O-(2,4-Dimetil-6-nitrofenil)-O-etil-izopropilfosforamidotioat) (= D215), halosafen (= D216), haloxifop (= D217), haloxifop-P (= D218), haloxifop-etoxietil (= D219), haloxifop-P-etoxietil (= D220), haloxifop-metil (= D221), haloxifop-P-metil (= D222), hexazinon (= D223), HW-02 (= 1-(Dimetoxifosforil)-etil(2,4-diclorfenoxi)acetat) (= D224), inabenfidă (= D225),
40 indanofan (= D226), indaziflam (= D227), indol-3-acid acetic (IAA) (= D228), 4-indol-3-acid ilbutiric (IBA) (= D229), ioxinil (= D230), ipfencarbazon (= D231), izocarbamid (= D232), izopropalin (= D233), izoproturon (= D234), izouron (= D235), izoxaben (= D236), izoxaclortol (= D237), izoxaflutol (= D238), izoxapirifop (= D239), KUH-043 (= 3-([5-(Difluormetil)-1-metil-3-(trifluormetil)-1H-pirazol-4-il]metil)sulfonil)-5,5-dimetil-4,5-dihidro-1,2-oxazol) (= D240),
45 karbutilat (= D241), ketospiradox (= D242), lactofen (= D243), lenacil (= D244), linuron (= D245), hidrazidă maleică (= D246), MCPA (= D247), MCPB (= D248), MCPB-metil, -etil și -sodiu (= D249), mecoprop (= D250), mecoprop-sodiu (= D251), mecoprop-butotil (= D252), mecoprop-P-butotil (= D253), mecoprop-P-dimetilamoniu (= D254), mecoprop-P-2-etilhexil (= D255), mecoprop-P-potasiu (= D256), mefenacet (= D257), mefluididă (= D258), mepiquat-clorură (= D259), mezotriion (= D260), metabenziazuron (= D261), metam (= D262), metamifop (= D263), metamitron (= D264), metazaclor (= D265), metazol (= D266), metiopirsulfuron (= D267), metiozolin (= D268), metoxifenon (= D269), metildimron (= D270), 1-metilciclopropen (= D271), metilizotiocianat (= D272), metobenzuron (= D273), metobromuron (= D274), metolaclor (= D275), S-metolaclor (= D-276), metoxuron (= D277), metribuzin (= D278), molinat (= D279), monalid (= D280), monocarbamidă (= D281), monocarbamidă-dihidrogenulfat (= D282), monolinuron (= D283), monosulfuron-ester (= D284), monuron (= D285), MT-128 (= 6-clor-N-[(2E)-3-clorprop-2-en-1-il]-5-metil-N-fenilpiridazin-3-amină) (= D286), MT-5950 (= N-[3-clor-4-(1-metiletil)-fenil]-2-metilpentanamidă) (= D287), NGGC-011 (= D288), naproanilidă (= D289), napropamidă (= D290), naptalam (= D291), NC-310 (= 4-(2,4-Diclorobenzoil)-1-metil-5-benziloxipirazol) (= D292),

neburon (= D293), nipiraclofen (= D294), nitralin (= D295), nitrofen (= D296), nitrofenolat-sodiu (amestec izomeric) (= D297), nitrofluorfen (= D298), acid nonanoic (= D299), norflurazon (= D300), orbencarb (= D301), orizalin (= D302), oxadiargil (= D303), oxadiazon (= D304), oxaziclomefon (= D305), oxifluorfen (= D306), paclobutrazol (= D307), paraquat (= D308), paraquat-diclorură (= D309), acid pelargonic (acid nonanoic) (= D310), pendimetalin (= D311), pendralin (= D312), pentanoclor (= D313), pentoxazon (= D314), perfluidonă (= D315), petoxamid (= D317), fenisofam (= D318), fenmedifam (= D319), fenmedifam-etil (= D320), picloram (= D321), picolinafen (= D322), pinoxaden (= D323), piperofos (= D324), pirifenop (= D325), pirifenop-butil (= D326), pretilaclor (= D327), probenazol (= D328), profluzol (= D329), prociazină (= D330), prodiamină (= D331), prifluralină (= D332), profoxidim (= D333), prohexadion (= D334), prohexadion-calcium (= D335), prohidrojasmon (= D336), prometon (= D337), prometrin (= D338), propaclor (= D339), propanil (= D340), propaquizafop (= D341), propazină (= D342), profam (= D343), propisoclor (= D344), propizamidă (= D345), prosulfalin (= D346), prosulfocarb (= D347), prinaclor (= D348), piraclonil (= D349), piraflufen (= D350), piraflufen-etil (= D351), piraulfotol (= D352), pirazolinat (pirazolat) (= D353), pirazoxifen (= D354), piribambenz (= D355), piributicarb (= D356), piridafol (= D357), piridat (= D358), piriminobac (= D359), pirimisulfan (= D360), piroxasulfon (= D361), quinclorac (= D362), quinmerac (= D363), quinoclamina (= D364), quizalofop (= D365), quizalofop-etil (= D366), quizalofop-P (= D367), quizalofop-P-etil (= D368), quizalofop-P-tefuril (= D369), saflufenacil (= D370), secbumeton (= D371), setoxidim (= D372), siduron (= D373), simazină (= D374), simetrin (= D375), SN-106279 (= Metil-(2R)-2-({7-[2-clor-4-(trifluormetil)fenoxi]-2-naftil}oxi)-propanoat) (= D376), sulcotrion (= D377), sulfalat (CDEC) (= D378), sulfentazon (= D379), sulfosat (glifosat-trimesiu) (= D380), SYN-523 (= D381), SYP-249 (= 1-Etoxi-3-metil-1-oxobut-3-en-2-il-5-[2-clor-4-(trifluormetil)fenoxi]-2-nitrobenzoat) (= D382), tebutam (= D383), tebutiuron (= D384), tecnazen (= D385), tefuriltrion (= D386), tembotrion (= D387), tepraloxidim (= D388), terbacil (= D389), terbucarb (= D390), terbuclor (= D391), terbumeton (= D392), terbutilazin (= D393), terbutrin (= D394), tenilclor (= D395), tiafluamidă (= D396), tiazafluron (= D397), tiazopir (= D398), tidiazimin (= D399), tidiazuron (= D400), tiobencarb (= D401), tiocarbazil (= D402), topramezon (= D403), tralkoxidim (= D404), trialate (= D405), triaziflam (= D406), triazofenamidă (= D407), acid tricloracetat (TCA) (= D408), triclopir (= D409), tridifan (= D410), trietazină (= D411), trifluralin (= D412), trimeturon (= D413), trinexapac (= D414), trinexapac-etil (= D415), tsitodef (= D416), uniconazol (= D417), uniconazol-P (= D418), vernolat (= D419), ZJ-0862 (= 3,4-Diclor-N-{2-[(4,6-dimetoxipirimidin-2-il)oxi]benzil}anilină) (= D420), și compușii de mai jos definiți de structura lor chimică, respectiv:



Erbicide preferate, care diferă structural și prin modul lor de acțiune de erbicidele inhibitoare de ALS, care fac parte din grupele (A), (B), și (C) definite mai sus și care urmează să fie aplicate conform prezentei invenții pentru combaterea vegetației nedorite în plantele *Beta vulgaris*, preferabil plantele de sfeclă de zahăr, tolerante la erbicidele inhibitoare de ALS, care conțin mutații în gena ALS, codificând astfel o polipeptidă ALS având un aminoacid diferit de triptofanul natural la poziția 569 și un aminoacid diferit de prolina naturală la poziția 188, de preferință triptofanul proteinei ALS

de tip sălbatic este substituit cu o leucină la poziția 569 și/sau prolina proteinei ALS de tip sălbatic este substituită cu o serină la poziția 188, sunt cele care fac parte din grupa formată din:

cloridazon (= D70), cletodim (= D79), clodinafop (= D80), clodinafop-propargil (= D81), clopiralid (= D86), cicloxidim (= D94), desmedifam (= D108), dimetenamidă (= D132),
 5 dimetenamidă-P (= D133), etofumesat (= D154), fenoxaprop (= D161), fenoxaprop-P (= D162), fenoxaprop-etil (= D163), fenoxaprop-P-etil (= D164), fluazifop (= D171), fluazifop-P (= D172), fluazifop-butil (= D173), fluazifop-P-butil (= D174), glufosinat (= D208), glufosinat-amoniu (= D209), glufosinat-P (= D210), glufosinat-P-amoniu (= D211), glufosinat-P-sodiu (= D212), glifosat (= D213), glifosat-izopropilamoniu (= D214), haloxifop (= D217), haloxifop-P (= D218), haloxifop-etoxietil (= D219), haloxifop-P-etoxietil (= D220), haloxifop-metil (D221), haloxifop-P-metil (D222 =), lenacil (= D244), metamitron (= D264), fenmedifam (= D319), fenmedifam-etil (= D320), propaquizafop (= D341), chinmerac (= D363), quizalofop (= D365), quizalofop-etil (= D366), quizalofop-P (= D367), quizalofop-P-etil (= D368), quizalofop-P-tefuril (= D369), setoxidim (= D372).

15 Alte erbicide chiar mai preferate care diferă de erbicidele inhibitoare de ALS, aparținând grupelor (A), (B), și (C), precum s-a definit mai sus, și care urmează să fie aplicate conform invenției în legătură cu erbicidele inhibitoare de ALS, aparținând grupelor (A), (B), și (C), sunt cele care fac parte din grupa:

desmedifam (= D108), etofumesat (= D154), glufosinat (= D208), glufosinat-amoniu (= D209),
 20 glufosinat-P (= D210), glufosinat-P-amoniu (= D211), glufosinat-P-sodiu (= D212), glifosat (= D213), glifosat-izopropilamoniu (= D214), lenacil (= D244), metamitron (= D264), fenmedifam (= D319), fenmedifam-etil (= D320).

Amestecuri care conțin erbicide inhibitoare de ALS și erbicide inhibitoare de non-ALS, compoziții care cuprind amestecuri de unul sau mai multe erbicide inhibitoare de ALS (compuși ce fac parte din una sau mai multe grupe (A), (B) și (C)) și erbicide neinhibitoare de ALS (membri ai grupei (D); precum s-a definit mai sus), care prezintă un interes foarte deosebit pentru a fi utilizate conform prezentei invenții pentru combaterea vegetației nedorite sunt:

(A1-1) + (D108); (A1-1) + (D154); (A1-1) + (D208); (A1-1) + (D209);
 (A1-1) + (D210); (A1-1) + (D212); (A1-1) + (D213); (A1-1) + (D214);
 30 (A1-1) + (D244); (A1-1) + (D264); (A1-1) + (D319); (A1-1) + (D320).

(A1-13) + (D108); (A1-13) + (D154); (A1-13) + (D208); (A1-13) + (D209);
 (A1-13) + (D210); (A1-13) + (D212); (A1-13) + (D213); (A1-13) + (D214);
 35 (A1-13) + (D244); (A1-13) + (D264); (A1-13) + (D319); (A1-13) + (D320).

(A1-16) + (D108); (A1-16) + (D154); (A1-16) + (D208); (A1-16) + (D209);
 (A1-16) + (D210); (A1-16) + (D212); (A1-16) + (D213); (A1-16) + (D214);
 (A1-16) + (D244); (A1-16) + (D264); (A1-16) + (D319); (A1-16) + (D320).

40 (A1-39) + (D108); (A1-39) + (D154); (A1-39) + (D208); (A1-39) + (D209);
 (A1-39) + (D210); (A1-39) + (D212); (A1-39) + (D213); (A1-39) + (D214);
 (A1-39) + (D244); (A1-39) + (D264); (A1-39) + (D319); (A1-39) + (D320).

(A1-41) + (D108); (A1-41) + (D154); (A1-41) + (D208); (A1-41) + (D209);
 45 (A1-41) + (D210); (A1-41) + (D212); (A1-41) + (D213); (A1-41) + (D214);
 (A1-41) + (D244); (A1-41) + (D264); (A1-41) + (D319); (A1-41) + (D320).

(A1-83) + (D108); (A1-83) + (D154); (A1-83) + (D208); (A1-83) + (D209);
 (A1-83) + (D210); (A1-83) + (D212); (A1-83) + (D213); (A1-83) + (D214);
 50 (A1-83) + (D244); (A1-83) + (D264); (A1-83) + (D319); (A1-83) + (D320).

(A1-87) + (D108); (A1-87) + (D154); (A1-87) + (D208); (A1-87) + (D209);
 (A1-87) + (D210); (A1-87) + (D212); (A1-87) + (D213); (A1-87) + (D214);
 (A1-87) + (D244); (A1-87) + (D264); (A1-87) + (D319); (A1-87) + (D320).

55 (A2-3) + (D108); (A2-3) + (D154); (A2-3) + (D208); (A2-3) + (D209);
 (A2-3) + (D210); (A2-3) + (D212); (A2-3) + (D213); (A2-3) + (D214);
 (A2-3) + (D244); (A2-3) + (D264); (A2-3) + (D319); (A2-3) + (D320).

(B1-2) + (D108); (B1-2) + (D154); (B1-2) + (D208); (B1-2) + (D209);
 (B1-2) + (D210); (B1-2) + (D212); (B1-2) + (D213); (B1-2) + (D214);
 (B1-2) + (D244); (B1-2) + (D264); (B1-2) + (D319); (B1-2) + (D320).

5 (C1-1) + (D108); (C1-1) + (D154); (C1-1) + (D208); (C1-1) + (D209);
 (C1-1) + (D210); (C1-1) + (D212); (C1-1) + (D213); (C1-1) + (D214);
 (C1-1) + (D244); (C1-1) + (D264); (C1-1) + (D319); (C1-1) + (D320).

10 Aplicarea erbicidelor inhibitoare de ALS acționează, de asemenea, eficient asupra buruienilor perene care produc lăstari din rizomi, port-altoi și alte organe perene și care sunt dificil de combătut. În asemenea cazuri, substanțele pot fi aplicate, de exemplu, prin metoda pre-semănare, metoda pre-răsărire sau metoda post-răsărire, de exemplu împreună sau separat. Se dă preferință, de exemplu, aplicării prin metoda post-răsărire, în special pe plantele dăunătoare răsărite.

15 Pot fi menționate exemple specifice de câțiva reprezentanți ai buruienilor monocotiledonate și dicotiledonate, care pot fi combătute de erbicidele inhibitoare de ALS, fără a limita enumerarea la anumite specii.

20 Exemple de specii de buruieni asupra cărora aplicarea conform prezentei invenții acționează eficient sunt, din randul speciilor de buruieni monocotiledonate, *Avena spp.*, *Alopecurus spp.*, *Apera spp.*, *Brachiaria spp.*, *Bromus spp.*, *Digitaria spp.*, *Lolium spp.*, *Echinochloa spp.*, *Panicum spp.*, *Phalaris spp.*, *Poa spp.*, *Setaria spp.* și, de asemenea, speciile *Cyperus* din grupa anuală, și, dintre speciile perene, *Agropyron*, *Cynodon*, *Imperata* și *Sorghum* și, de asemenea, speciile perene *Cyperus*.

25 În cazul speciilor de buruieni dicotiledonate, spectrul de acțiune se întinde asupra genurilor cum ar fi, de exemplu, *Abutilon spp.*, *Amaranthus spp.*, *Chenopodium spp.*, *Chrysanthemum spp.*, *Galium spp.*, *Ipomoea spp.*, *Kochia spp.*, *Lamium spp.*, *Matricaria spp.*, *Pharbitis spp.*, *Polygonum spp.*, *Sida spp.*, *Sinapis spp.*, *Solanum spp.*, *Stellaria spp.*, *Veronica spp.* și *Viola spp.*, *Xanthium spp.*, printre plantele anuale, și *Convolvulus*, *Cirsium*, *Rumex* și *Artemisia* în cazul buruienilor perene.

30 Se preferă ca planta de *Beta vulgaris*, preferabil planta de sfeclă de zahăr, pe care se aplică unul sau mai multe erbicide inhibitoare de ALS, separat sau în combinație cu unul sau mai multe erbicide care nu fac parte din clasa de erbicide inhibitoare de ALS pentru combaterea vegetației nedorite pe terenurile de cultivare a *Beta vulgaris*, preferabil a sfeclei de zahăr, pe care plantele de *Beta vulgaris*, preferabil sfecla de zahăr, cuprind mutații ale genei ALS, codificând astfel o polipeptidă ALS având un aminoacid care este diferit de triptofanul natural la poziția 569 și având un aminoacid care este diferit de prolina naturală la poziția 188, să fie ortoploidă sau anortoploidă. Aici, o plantă ortoploidă poate fi, de preferință, haploidă, diploidă, tetraploidă, hexaploidă, octaploidă, decaploidă sau dodecaploidă, în timp ce o plantă anortoploidă poate fi, de preferință, triploidă sau pentaploidă.

35 Așa cum se utilizează în prezenta, dacă nu se indică altfel, termenul "plantă" semnifică o plantă în orice stadiu de dezvoltare.

40 Ar putea fi că - în funcție de fondul genetic respectiv - plantele *Beta vulgaris* din același fond genetic în care o astfel de mutație este prezentă doar în mod heterozigot, plantele *Beta vulgaris* tolerante la erbicide, care sunt homozigote pentru mutația netransgenică a genei endogene de ALS demonstrează un nivel agronomic mai bun de toleranță la erbicidele inhibitoare de ALS.

45 În acest context "homozigot" indică faptul că o plantă conform prezentei invenții are două copii ale aceleiași alele pe diferite catene de ADN, în special la locusul genei ALS.

Prin urmare, atunci când este utilizat aici termenul "heterozigot" sau "în mod heterozigot" denotă că o plantă conform prezentei invenții are diferite alele la un anumit locus, în special la locusul genei ALS.

50 Prin urmare, prezenta invenție se referă la utilizarea unuia sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS, separat sau în combinație cu unul sau mai multe erbicide inhibitoare de non-ALS, pentru combaterea buruienilor pe terenurile de cultivare a *Beta vulgaris*, preferabil a sfeclei de zahăr, unde plantele *Beta vulgaris*, preferabil plantele de sfeclă de zahăr, cuprind mutații în codonul unei gene endogene de ALS, care codifică o proteină de ALS, ce conține (i) un aminoacid care este diferit de triptofan la poziția 569, preferabil triptofanul proteinei ALS de tip sălbatic este substituit cu o leucină la poziția 569, și (ii) un aminoacid care este diferit de prolina la poziția 188, preferabil prolina proteinei ALS de tip sălbatic este substituită cu o serină la poziția 188. Aceste mutații ale genei endogene ALS pot fi prezente în mod heterozigot, și pot fi, de preferință, unicele două mutații ale genei ALS. Mai preferabil, mutațiile respective pot fi prezente în mod homozigot, și cel mai preferabil, mutația respectivă este prezentă în mod homozigot ca unicele două mutații ale genei endogene ALS.

Datorită proprietăților lor erbicide și de reglementare a creșterii plantelor, erbicidele inhibitoare de ALS, care fac parte din una sau mai multe grupe (A), (B), și (C), fie separat, fie în combinație cu erbicide neinhibitoare de ALS pot fi folosite pentru combaterea plantelor dăunătoare în plantele cunoscute de *Beta vulgaris*, de preferință plantele de sfeclă de zahăr, dar, de asemenea, în plantele de cultură tolerante sau modificate genetic, care deja există sau trebuie încă să fie create. În general, plantele transgenice se deosebesc prin proprietăți specifice avantajoase, pe lângă toleranța la erbicidele inhibitoare de ALS conform invenției, de exemplu, prin toleranță la erbicide inhibitoare de non-ALS, rezistență la bolile de plante sau organismele care provoacă boli ale plantelor, cum ar fi anumite insecte sau microorganisme, cum ar fi ciuperci, bacterii sau virusuri. Alte caracteristici specifice se referă, de exemplu, la materialul recoltat în ceea ce privește cantitatea, calitatea, perioada de depozitare, compoziția și elementele constitutive specifice. Astfel, sunt cunoscute plantele transgenice, care au un conținut de amidon ridicat, sau a căror calitate a amidonului este modificată, sau cele în care materialul recoltat are o compoziție de acizi grași diferită.

Metode convenționale de generare a plantelor noi care au proprietăți modificate comparativ cu plantele care există astăzi constau, de exemplu, din metode tradiționale de reproducere și generarea de mutații. În mod alternativ, plante noi cu proprietăți modificate pot fi generate cu ajutorul metodelor recombinante (a se vedea, de exemplu EP-A-0221044, EP-A-0131624). De exemplu, următoarele au fost descrise în câteva cazuri:

- modificarea, prin tehnologia recombinantă, a plantelor de cultură cu scopul de a modifica amidonul sintetizat în plante (de exemplu WO 92/11376, WO 92/14827, WO 91/19806),
- plantele de cultură transgenice care prezintă toleranță la erbicidele inhibitoare de non-ALS,
- plantele de cultură transgenice cu capacitatea de a produce toxine *Bacillus thuringiensis* (toxine Bt), care fac plantele rezistente la anumiți dăunători (EP-A-0142924, EP-A-0193259),
- plantele de cultură transgenice cu o compoziție modificată de acizi grași (WO 91/13972).

Un număr mare de tehnici în biologia moleculară sunt cunoscute în principiu cu ajutorul cărora pot fi generate plante transgenice noi cu proprietăți modificate; a se vedea, de exemplu, Sambrook et al., , *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989; sau Winnacker "Gene und Klone", VCH Weinheim 2nd Edition 1996 sau Christou, "Trends in Plant Science" 1, 1996, p. 423-431).

Pentru a efectua astfel de manipulări recombinante, în plasmide pot fi introduse molecule de acid nucleic care permit mutageneza sau modificări ale secvențelor prin recombinarea secvențelor de ADN. De exemplu, metodele standard sus-menționate permit efectuarea schimburilor de baze, eliminarea subsecvențelor, sau adăugarea secvențelor naturale sau sintetice. Pentru a lega fragmentele de ADN între ele, la acestea pot fi adăugate adaptorii sau linkerii.

De exemplu, generarea celulelor de plantă cu o activitate redusă a unui produs genic poate fi realizată prin exprimarea, cel puțin, unui ARN antisens corespunzător, unui ARN sens pentru obținerea unui efect de co-supresie sau prin exprimarea, cel puțin, unei ribozime construite adecvat, care scindează în mod specific transcrierile produsului genic sus-menționat.

În acest scop, este posibil de a utiliza molecule de ADN care cuprind întreaga secvență de codificare a unui produs genic, inclusiv orice secvențe de flancare care pot fi prezente, precum și molecule de ADN care cuprind doar porțiuni ale secvenței de codificare, totodată fiind necesar ca aceste porțiuni să fie suficient de lungi pentru a avea un efect antisens în celule. De asemenea, este posibilă utilizarea secvențelor de ADN care au un grad înalt de omologie cu secvențele de codificare ale unui produs genic, dar nu sunt complet identice cu ele.

În timpul exprimării moleculelor de acid nucleic în plante, proteina sintetizată poate fi localizată în orice compartiment dorit al celulei plantei. Cu toate acestea, pentru a obține localizarea într-un anumit compartiment, este posibil, de exemplu, de a lega regiunea de codificare cu secvențele de ADN care asigură localizarea într-un anumit compartiment. Astfel de secvențe sunt cunoscute specialiștilor în domeniu (a se vedea, de exemplu, Braun et al., *EMBO J.* 11, 1992, p. 3219-3227; Wolter et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 1988, p. 846-850; Sonnwald et al., *Plant J.* 1, 1991, p. 95-106).

Celulele de plante transgenice pot fi regenerate prin tehnici cunoscute pentru a da naștere plantelor întregi. Astfel, pot fi obținute plante transgenice de *Beta vulgaris*, preferabil plante de sfeclă de zahăr, proprietățile cărora sunt modificate prin supraexprimarea, suprimarea sau inhibarea

genelor omoloage (= naturale) sau secvențelor genice sau exprimarea genelor heteroloage (= străine) sau secvențelor genice.

5 Prezența invenției propune, de asemenea, un procedeu de combatere a vegetației nedorite în plantele de *Beta vulgaris*, preferabil în sfecla de zahăr, care cuprinde aplicarea unuia sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS, ce fac parte din grupele (A), (B) și/sau (C), pe plante (de exemplu plantele dăunătoare, cum ar fi buruienile monocotiledonate sau dicotiledonate sau plantele de cultură nedorite), sămânță (semințe sau organe vegetative de înmulțire, cum ar fi tuberculi sau părți de lăstari) sau pe terenul pe care cresc plantele (de exemplu, terenul cultivată), de exemplu, împreună sau separat.

10 Prezența invenției propune, de asemenea, un procedeu de combatere a vegetației nedorite în plantele de *Beta vulgaris*, preferabil sfecla de zahăr, care cuprinde aplicarea unuia sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS, ce fac parte din grupele (A), (B) și/sau (C), separat sau în combinație cu erbicide inhibitoare de non-ALS, care fac parte din compuşii clasei (D) conform invenției, pe plante (de exemplu plantele dăunătoare, cum ar fi buruienile monocotiledonate sau dicotiledonate sau plantele de cultură nedorite), sămânță (semințe sau organe vegetative de înmulțire, cum ar fi tuberculi sau părți de lăstari) sau pe terenul pe care cresc plantele (de exemplu, terenul cultivat), de exemplu, împreună sau separat. Unul sau mai multe erbicide neinhibitoare de ALS pot fi aplicate în combinație cu unul sau mai multe erbicide inhibitoare de ALS înainte, după sau simultan cu erbicidele inhibitoare de ALS pe plante, sămânță sau terenul pe care cresc plantele (de exemplu, terenul cultivat).

20 Prin "plante nedorite" sau "vegetație nedorită" se va înțelege toate plantele, care cresc pe terenurile unde acestea nu sunt dorite. Acestea pot fi, de exemplu, plante dăunătoare (de exemplu buruieni monocotiledonate sau dicotiledonate sau plante de cultură nedorite.).

Secvențele anexate (SECV.ID.NR: 1-8)

25 SECV.ID.NR: 1 și 7 reprezintă secvențe ale acidului nucleic de tip sălbatic a sfeclei de zahăr.

SECV.ID.NR: 2 și 8 reprezintă secvențe ale proteinei ALS codificată de SECV.ID.NR: 1 și 7, respectiv.

SECV.ID.NR:3 reprezintă secvența acidului nucleic al unei gene ALS cu mutații, care codifică proteina ALS a sfeclei de zahăr, cuprinzând o mutație Trp → Leu.

30 SECV.ID.NR:4 reprezintă proteina de ALS cu mutația Trp → Leu la poziția 569 care este codificată de secvența de acid nucleic SECV.ID.NR:3.

SECV.ID.NR:5 reprezintă secvența acidului nucleic al unei gene de ALS cu mutații, care codifică proteina ALS a sfeclei de zahăr, cuprinzând o mutație Pro → Ser.

35 SECV.ID.NR:6 reprezintă proteina de ALS cu mutația Pro → Ser la poziția 188 care este codificată de secvența acidului nucleic SECV.ID.NR:5.

De preferință, (o alelă a genei de ALS) gena de ALS a plantei *Beta vulgaris*, preferabil o plantă de sfeclă de zahăr utilizată în contextul prezentei invenții corespunde SECV.ID.NR:3 sau SECV.ID.NR:5.

40 De preferință, o plantă *Beta vulgaris*, preferabil o plantă de sfeclă de zahăr utilizată în contextul prezentei invenții, cuprinde SECV.ID.NR:3 (într-o alelă) și/sau SECV.ID.NR:5 (în a doua alelă), mai preferabil, o plantă de *Beta vulgaris*, preferabil o plantă de sfeclă de zahăr utilizată în contextul prezentei invenții cuprinde SECV.ID.NR:3 într-o singură alelă și SECV.ID.NR:5 în a doua alelă.

45 În mod alternativ, o plantă de *Beta vulgaris*, preferabil o plantă de sfeclă de zahăr utilizată în contextul prezentei invenții cuprinde SECV.ID.NR:3 (sau SECV.ID.NR:4) și/sau SECV.ID.NR:5 (sau SECV.ID.NR:6).

Alternativ, o plantă de *Beta vulgaris*, preferabil o plantă de sfeclă de zahăr utilizată în contextul prezentei invenții cuprinde SECV.ID.NR:3 (într-o alelă) și SECV.ID.NR:1 sau SECV.ID.NR:7 (în a doua alelă).

50 Astfel de plante de sfeclă de zahăr care au suferit mutații sunt rezistente la unul sau mai mulți inhibitori ai ALS utilizați, cum ar fi sulfoniluree (de ex. foramsulfuron) și în mod avantajos suplimentar la un alt(alți) inhibitor(i) ai ALS, selectat(ți) preferabil din grupa ce constă din iodsulfuron, amidosulfuron și tiencarbazon-metil.

55 O variantă de executare preferată conform prezentei invenții se referă la o utilizare conform prezentei invenții (precum s-a definit mai sus) și un procedeu corespunzător (precum s-a definit mai sus), unde plantele *Beta vulgaris* corespund depozitului NCIMB 42050.

Combinațiile erbicide ce urmează a fi utilizate conform invenției pot fi preparate prin procedee cunoscute, de exemplu sub formă de preparate mixte de componente individuale, dacă este cazul cu alți compuși activi, aditivi și/sau substanțe auxiliare obișnuite de fabricare a preparatelor, combinațiile respective fiind apoi aplicate într-un mod obișnuit diluat cu apă, sau sub formă de

amestecuri în rezervor prin diluarea comună a componentelor, preparate separat sau preparate parțial separat, cu apă. De asemenea, este posibilă aplicarea separată a componentelor individuale preparate separat sau parțial separat.

5 De asemenea, este posibil de a aplica erbicidele inhibitoare de ALS sau combinația ce cuprinde erbicid(e) inhibitor(oare) de ALS și erbicid(e) neinhibitor(oare) de ALS într-o multitudine de porțiuni (aplicare consecutivă) folosind, de exemplu, aplicări pre-răsărire urmate de aplicările post-răsărire sau folosind aplicările post-răsărire timpurii, urmate de aplicările post-răsărire medii sau târzii. Se dă preferință aici aplicării combinate sau aproape simultane a compușilor activi ai combinației respective.

10 Erbicidele care fac parte din oricare din grupele definite mai sus (A), (B), (C) și (D) și care urmează să fie aplicate conform prezentei invenții pot fi transformate împreună sau separat în preparate obișnuite, cum ar fi soluții, emulsii, suspensii, prafuri, spume, paste, granule, aerosoli, materiale naturale și sintetice impregnate cu compusul activ și microcapsule în materiale polimerice. Preparatele pot cuprinde substanțe auxiliare și aditive obișnuite.

15 Aceste preparate sunt produse într-o manieră cunoscută, de exemplu prin amestecarea compușilor activi cu materiale de umplură, și anume solvenți lichizi, gaze lichiefiate sub presiune și/sau purtători solizi, dacă este cazul, cu utilizarea agenților tensioactivi, și anume emulgatorilor și/sau agenților de dispersie, și/sau agenților de formare a spumei.

20 Dacă materialul de umplură folosit este apă, este, de asemenea, posibil de a folosi, de exemplu, solvenți organici în calitate de solvenți auxiliari. Solvenți lichizi adecvați sunt în esență: substanțe aromatice, cum ar fi xilen, toluen, alchilnaftaline, substanțe aromatice clorurate sau hidrocarburi alifatiche clorurate, cum ar fi clorbenzen, cloretilen, sau clorură de metilen, hidrocarburi alifatiche, cum ar fi ciclohexan sau parafine, de exemplu, fracțiuni de ulei mineral, uleiuri minerale și vegetale, alcoolii, cum ar fi butanol sau glicol, și eteri și esteri ai acestora, cetone, cum ar fi acetona, metil etil cetona, metil izobutil cetona sau ciclohexanona, solvenți puternic polari, cum ar fi dimetilformamidă sau dimetilsulfoxidă, și, de asemenea, apă.

25 Purători solizi adecvați sunt: de exemplu, săruri de amoniu și minerale naturale din pământ, cum ar fi caolin, argilă, talc, cretă, cuarț, attapulgit, montmorillonit sau pământ de diatomee, și minerale sintetice extrase din pământ, cum ar fi silice fin divizată, alumina și silicați; purtători solizi adecvați pentru granule sunt: de exemplu, roci naturale sfărâmate și fracționate, cum ar fi calcit, marmură, piatră ponce, sepiolit și dolomit, precum și granule sintetice din făină anorganică și organică și granule de material organic, cum ar fi rumeguș, învelișuri de cocos, știuleți de porumb și tulpini de tutun; emulgatori adecvați și/sau formatori de spumă sunt: de exemplu, emulgatori neionici și anionici, cum ar fi esterii acizilor grași de polioxietilen, de exemplu eteri de alchilaril poliglicol, alchilsulfonați, alchilsulfați, arilsulfonați, precum și hidrolizate proteice; dispersanți adecvați sunt: de exemplu, soluții reziduale de lignosulfite și metilceluloză.

30 Agenți adezivi, cum ar fi carboximetilceluloza și polimeri naturali și sintetici sub formă de pulberi, granule sau latex, cum ar fi guma arabică, alcoolul polivinilic și acetatul de polivinil, și, de asemenea, fosfolipide naturale, cum ar fi cefaline și lecitine și fosfolipide sintetice, pot fi utilizate în preparate. Alți aditivi posibili sunt uleiurile minerale și vegetale.

40 Acțiunea erbicidă a combinațiilor erbicide, care urmează să fie utilizate conform invenției, poate fi îmbunătățită, de exemplu, de agenții tensioactivi, preferabil de agenții de umezire din grupa de poliglicoleteri ai alcoolilor grași. Poliglicoleterii alcoolilor grași cuprind, de preferință, 10-18 atomi de carbon în radicalul de alcoolii grași și 2...20 unități de etilenoxid în fragmentul de poliglicoleter. Poliglicoleterii alcoolilor grași pot fi prezenți sub formă neionică, sau ionică, de exemplu sub formă de sulfați ai poliglicoleterilor ai alcoolilor grași, care pot fi utilizați, de exemplu, sub formă de săruri ale metalelor alcaline (de exemplu săruri de sodiu și săruri de potasiu) sau săruri de amoniu, sau chiar sub formă de săruri ale metalelor alcalino-pământoase, cum ar fi săruri de magneziu, cum ar fi sulfatul de sodiu al diglicoleterilor ai alcoolilor grași C₁₂/C₁₄ (Genapol[®] LRO, Clariant GmbH); a se vedea, de exemplu, (EP-A-0476555, EP-A-0048436, EP-A-0336151 sau US-A-4,400,196) și, de asemenea, (Proc. EWRS Symp. "Factors Affecting Herbicidal Activity and Selectivity", 1988, p. 227-232). Poliglicoleterii alcoolilor grași neionici sunt, de exemplu, poliglicoleterii alcoolilor grași (C₁₀-C₁₈)-, preferabil (C₁₀-C₁₄) (de exemplu poliglicoleterii alcoolilor izotridecil) care cuprind, de exemplu, 2...20, preferabil 3...15, unități de oxid de etilenă, de exemplu cele din seriile Genapol[®] X, cum ar fi Genapol[®] X-030, Genapol[®] X-060, Genapol[®] X-080 sau Genapol[®] X-150 (toate de la compania Clariant GmbH).

55 Prezenta invenție cuprinde, de asemenea, combinația de erbicide inhibitoare de ALS, care fac parte din oricare din grupele (A), (B), și (C), conform prezentei invenții cu agenții de umezire susmenționați din grupa de poliglicoleteri ai alcoolilor grași care, de preferință, conțin 10-18 atomi de

carbon în radicalul de alcool gras și 2...20 unități de etilenoxid în fragmentul de poliglicoleter și care pot fi prezente sub formă neionică sau ionică (de exemplu ca sulfați de poliglicoleteri ai alcoolilor grași). Se dă preferință sulfatului de sodiu al diglicoleterilor alcoolilor grași C₁₂/C₁₄- (Genapol® LRO, Clariant GmbH) și poliglicoleterului alcoolului izotridecil având 3-15 unități de etilenoxid, de exemplu din seria Genapol® X, cum ar fi Genapol® X-030, Genapol® X-060, Genapol® X-080 și Genapol® X-150 (toate de la compania Clariant GmbH). În plus, este cunoscut faptul că poliglicoleterii alcoolilor grași, cum ar fi poliglicoleterii alcoolilor grași neionici sau ionici (de exemplu sulfații poliglicoleteri ai alcoolilor grași) sunt, de asemenea, adecvați pentru utilizarea în calitate de agenți de umectare și agenți de sporire a activității pentru o serie de alte erbicide (a se vedea, de exemplu, EP-A-0502014).

Acțiunea erbicidă a combinațiilor erbicide conform invenției poate fi, de asemenea, sporită prin utilizarea uleiurilor vegetale. Termenul "uleiuri vegetale" se va înțelege ca semnificând uleiuri din specii de plante oleaginoase, cum ar fi uleiul de soia, uleiul de rapiță, uleiul de porumb, uleiul de floarea soarelui, uleiul din semințe de bumbac, uleiul din semințe de in, uleiul de cocos, uleiul de palmier, uleiul de ricin sau ciulin, în special uleiul de rapiță, și, de asemenea, produsele de transesterificare ale acestora, de exemplu esterii alchilici, cum ar fi esterul metilic din uleiul de rapiță sau esterul etilic din uleiul de rapiță.

Uleiurile vegetale sunt, de preferință, esteri ai acizilor grași C₁₀-C₂₂-, preferabil C₁₂-C₂₀-. Esterii acizilor grași C₁₀-C₂₂-, sunt, de exemplu, esterii acizilor grași C₁₀-C₂₂- nesaturați sau saturați, în special cei care au un număr par de atomi de carbon, de exemplu acidul erucic, acidul lauric, acidul palmitic și în special acizii grași C₁₈, cum ar fi acidul stearic, acidul oleic, acidul linoleic sau acidul linolenic.

Exemple de esteri ai acizilor grași C₁₀-C₂₂- sunt esteri obținuți prin punerea în reacție a glicerolului sau glicolului cu acizii grași C₁₀-C₂₂- care se conțin, de exemplu, în uleiurile de specii de plante oleaginoase, sau esterii acizilor grași C₁-C₂₀-alchil-C₁₀-C₂₂-, care pot fi obținuți, de exemplu, prin transesterificarea esterilor acizilor grași ai glicerolului sau glicolului-C₁₀-C₂₂- cu alcooli-C₁-C₂₀- (de exemplu metanol, etanol, propanol sau butanol). Transesterificarea poate fi realizată prin metode cunoscute descrise, de exemplu, în (Rompp. Chemie Lexikon, 9th edition, Volume 2, pag. 1343, Thieme Verlag Stuttgart).

Esteri preferați ai acizilor grași C₁-C₂₀-alchil-C₁₀-C₂₂- sunt esteri metilici, esteri etilici, esteri propilici, esteri butilici, esteri 2-etilhexil și esteri dodecil. Esteri preferați de glicol- și glicerol ai acizilor grași C₁₀-C₂₂- sunt esteri de glicol uniformi sau amestecați și esteri de glicerol ai acizilor grași C₁₀-C₂₂-, în special acizi grași special având un număr par de atomi de carbon, de exemplu acidul erucic, acidul lauric, acidul palmitic și, în special, acizii grași C₁₈-, cum ar fi acidul stearic, acidul oleic, acidul linoleic sau acidul linolenic.

În compozițiile erbicide care urmează să fie utilizate conform invenției, uleiurile vegetale pot fi prezente, de exemplu, sub formă de aditivi de preparate care conțin ulei, disponibili pe piață, în special cei pe bază de ulei de semințe de rapiță, cum ar fi Hasten® (Victorian Chemical Company, Australia, menționat în continuare ca Hasten, ingredientul de bază: ester etilic din ulei de semințe de rapiță), Actirob® B (Novance, Franța, menționat în continuare ca ActirobB, ingredientul de bază: ester metilic din ulei de semințe de rapiță), Rako-Binol® (Bayer AG, Germania, menționat în continuare ca Rako-Binol, ingredientul de bază: ulei de semințe de rapiță), Renol® (Stefes, Germania, menționat în continuare ca Renol, ingredient de ulei vegetal: ester metilic din ulei de semințe de rapiță) sau Stefes Mero® (Stefes, Germania, menționat în continuare ca Mero, ingredientul de bază: ester metilic din ulei de semințe de rapiță).

Intr-o altă variantă de executare, combinațiile erbicide care urmează să fie utilizate conform prezentei invenții pot fi preparate cu uleiurile vegetale sus-menționate, cum ar fi uleiul de semințe de rapiță, de preferință sub formă de aditivi care conțin ulei, disponibili comercial, în special cei pe bază de ulei de semințe de rapiță, cum ar fi Hasten® (Victorian Chemical Company, Australia, menționat în continuare ca Hasten, ingredientul de bază: ester etilic din ulei de semințe de rapiță), Actirob® B (Novance, Franța, menționat în continuare ca ActirobB, ingredientul de bază: ester metilic din ulei de semințe de rapiță), Rako-Binol® (Bayer AG, Germania, menționat în continuare ca Rako-Binol, ingredientul de bază: ulei de semințe de rapiță), Renol® (Stefes, Germania, menționat în continuare ca Renol, ingredient de ulei vegetal: ester metilic din ulei de semințe de rapiță) sau Stefes Mero® (Stefes, Germania, menționat în continuare ca Mero, ingredientul de bază: ester metilic din ulei de semințe de rapiță).

Este posibil de a utiliza coloranți, cum ar fi pigmenți anorganici, de exemplu oxid de fier, oxid de titan, albastru de Prusia, și coloranți organici, cum ar fi coloranți de alizarină, coloranți azoici și

coloranți pe bază de ftalocianine de metal, și microelemente, cum ar fi săruri de fier, mangan, bor, cupru, cobalt, molibden și zinc.

Preparatele care urmează să fie utilizate conform prezentei invenții cuprind, în general, între 0,1 și 95% în greutate de compuși activi, de preferință între 0,5 și 90% în greutate.

5 Așa cum sunt sau în preparatele lor, erbicidele inhibitoare de ALS, ce fac parte din oricare dintre grupele definite mai sus (A), (B), și (C) pot fi, de asemenea, utilizate sub formă de amestec cu alți compuși agrochimic activi, cum ar fi erbicide neinhibitoare de ALS cunoscute, pentru combaterea vegetației nedorite, de exemplu pentru combaterea buruienilor sau pentru combaterea plantelor de cultură nedorite, de exemplu fiind posibile și preparate finite sau amestecuri în rezervor.

10 De asemenea, este posibilă utilizarea unui amestec de erbicide inhibitoare de ALS ce fac parte din oricare dintre grupele definite mai sus (A), (B), și (C) cu alți compuși activi cunoscuți, cum ar fi fungicide, insecticide, acaricide, nematocide, agenți fitoprotectori, produse împotriva păsărilor, substanțe nutritive pentru plante și amelioratori ai structurii solului.

15 Erbicide inhibitoare de ALS ce fac parte din oricare dintre grupele definite mai sus (A), (B), (C) pot fi utilizate așa cum sunt, sub formă de preparatele lor sau în formele de aplicare preparate din acestea prin diluarea ulterioară, cum ar fi soluții, suspensii, emulsii, prafuri, paste și granule gata preparate. Aplicarea se efectuează în mod obișnuit, de exemplu prin stropire, pulverizare, atomizare, împrăștiere.

20 Conform invenției, unul sau mai multe erbicide inhibitoare de ALS ce fac parte din oricare dintre grupele definite mai sus (A), (B), și (C) pot fi aplicate, fie de sine stătător, fie în combinație cu unul sau mai multe erbicide neinhibitoare de ALS ce fac parte din grupul (D), pe plante (de exemplu plante dăunătoare, cum ar fi buruienile monocotiledonate sau dicotiledonate sau plante de cultură nedorite), semințe (de exemplu, cereale, semințe sau organe vegetative de înmulțire, cum ar fi tuberculi sau părți de lăstari cu muguri) sau terenul cultivat (de exemplu sol), de preferință pe
25 plantele verzi și părțile de plante și, dacă e cazul, suplimentar pe sol. O utilizare posibilă reprezintă aplicarea combinată a compușilor activi sub formă de amestecuri în rezervor, în cazul în care preparatele concentrate preparate în mod optim de compuși activi individuali sunt, împreună, amestecate într-un rezervor cu apă, și se aplică soluția de stropit obținută.

Exemple biologice

30 Selectarea pentru obținerea plantelor de *Beta vulgaris* tolerante la inhibitori de ALS pentru utilizarea în contextul prezentei invenții

Producerea, selectarea și înmulțirea mutațiilor respectivi de *Beta vulgaris* și descendenții lor toleranți la erbicidele inhibitoare de ALS, care au fost utilizați în toate exemplele biologice dezvăluite ulterior sunt descrise detaliat în EP 12196858.0 (Bayer CropScience AG, fiind co-solicitant) cu titlul "Procedeu de elaborare a plantelor de sfeclă de zahăr rezistente la erbicide" care a fost depusă la data de 13.12.2012 la Oficiul European de Brevete. Prin urmare, aceste tehnici
35 respective privind prepararea unor asemenea mutații de *Beta vulgaris* toleranți la erbicidele inhibitoare de ALS, în special mutații de sfeclă de zahăr care conțin mutații ale genei endogene de ALS care codifică o polipeptidă de ALS conținând un aminoacid care este diferit de triptofan la poziția 569 și un aminoacid care este diferit de prolină la poziția 188, sunt descrise doar succint în prezenta, iar conținutul EP 12196858.0 sus-menționate este prezentat ca referință în totalitatea sa.

O metodă adecvată pentru producerea unui mutant de sfeclă de zahăr rezistent la unul sau mai mulți inhibitori ai enzimei acetohidroxiacid sintazei (ALS) pentru utilizarea în contextul prezentei invenții cuprinde, de preferință, etapele de:

45 - obținere a protoplastelor din celulele stomatale de apărare izolate dintr-o plantă de sfeclă de zahăr;

- aplicare, pe o cultură *in vitro* de protoplastele menționate, a unei compoziții ce cuprinde unul sau mai mulți inhibitori de ALS într-o concentrație care este letală pentru peste 99,9% de celulele cultivate *in vitro* (permițând unor mutații să evadeze); și

50 - regenerare a plantelor de sfeclă de zahăr din celulele supraviețuitoare din celulele sus-menționate cultivate *in vitro*, unde protoplastele din celulele stomatale de apărare sus-menționate sunt pre-selectate privind capacitatea lor de a regenera într-o plantă de sfeclă de zahăr și/sau unde inhibitorul(ii) de ALS menționat se aplică pe un număr de peste 2 000 000 de protoplaste menționate, metoda dată cuprinzând, de preferință, sub-etapele de izolare a protoplastelor din
55 celulele stomatale de apărare din plantele de sfeclă de zahăr de diferite genotipuri și de măsurare pentru fiecare genotip a proporției de protoplaste menționate, care este în creștere, atunci când protoplastele menționate sunt puse în cultură.

Se poate afirma că această metodă este foarte utilă pentru elaborarea plantelor cu mutații evoluat provocând rezistență la un erbicid, mai ales dat fiind că această metodă nu implică

utilizarea unui ADN străin și/sau introducerea vectorilor de ADN care codifică elemente genetice deja cunoscute pentru a conferi rezistență față de inhibitorii de ALS.

Exemplul 1

Selectarea genotipurilor (liniilor) de sfeclă de zahăr pentru protoplastele cu regenerare bună.

5 Dat fiind că sfecla de zahăr cu mutații a fost creată cu succes în domeniu (de ex., WO 98/02527) după adăugarea erbicidului de ALS pe calusuri fiind explante din sfecla de zahăr de tip sălbatic, în primul rând a fost selectat genotipul (linia) de sfeclă de zahăr derivat din sursa (WO 98/02527) și protoplastele din celulele lor stomatale de apărare izolate din acestea. Câteva milioane de aceste protoplaste au fost izolate așa cum se descrie în (WO 95/10178), s-au plasat în mediu de cultură care
10 conține alginat, și s-au tratat cu mediu de cultură MS cuprinzând 10^{-9} ... 10^{-6} mol/l foramsulfuron.

Folosind abordarea descrisă în (WO 98/02527 și WO 95/10178) câteva genotipuri de plante de sfeclă de zahăr au fost comparate cu privire la capacitatea lor de regenerare din protoplastele de celule stomatale de apărare. Ca urmare, a fost selectat un genotip, având peste 0,25% protoplaste de celule stomatale de apărare, care sunt capabile să crească *in vitro*.

15 Exemplul 2

Tratamentul protoplastelor cu erbicide.

Ulterior, aceeași abordare descrisă în (WO 98/02527 și WO 95/10178) a fost aplicată, dar pe bază de protoplaste de celule stomatale de apărare cu o creștere bună (identificate în exemplul 1; alte plante de sfeclă de zahăr cu o proporție ridicată de protoplaste de celule stomatale de apărare în
20 creștere).

În urma tratării a circa 68 milioane de protoplaste de celulele stomatale de apărare cu o creștere bună cu o compoziție de erbicide ALS ce cuprinde până la 10^{-6} M foramsulfuron, s-au obținut în total 46 de calusuri.

O plantă regenerată a demonstrat o mutație a genei ALS: o mutație în codonul pentru triptofan la poziția 569 (ce corespunde triptofanului la poziția 574 în *Arabidopsis thaliana*). Cele două alele ale genelor ALS ale acestui mutant sunt codificate de SECV.ID.NR:3 și SECV.ID.NR:7. Alte calusuri cultivate au fost secvențiate și au mutații ale genei ALS, (inclusiv mutații la alte poziții), dar nu au regenerat într-o plantă.
25

Semințele obținute, care conțin mutația triptofan în leucină la poziția 569 și mutația prolină în serină la poziția 188 a proteinei de ALS codificată de gena endogenă ALS a sfeclei de zahăr au fost depuse la NCIMB, Aberdeen, Marea Britanie, sub numărul NCIMB 42050 (Bayer CropScience AG fiind co-depunător).
30

Exemplul 3

Tratamentul sfeclei de zahăr cu inhibitori ai ALS.

35 S-a comparat comportamentul plantelor de sfeclă de zahăr regenerate care au SECV.ID.NR:3 cu mutații (heterozigotă pentru această mutație) și a unui soi comercial de sfeclă de zahăr de tip sălbatic.

Soiul cu mutații (heterozigot) a demonstrat o rezistență bună la foramsulfuron (12,5 g/ha; până la 3 aplicări), chiar și atunci când erbicidul a fost combinat cu un compus organic (25 g/ha de ester metilic din ulei de semințe de rapiță) pentru a stimula efectul acestuia.
40

Cum era de așteptat, planta de tip sălbatic a fost foarte sensibilă la foramsulfuron, chiar după prima aplicare.

Același experiment a fost realizat folosind amidosulfuron (15 g/ha), și a dat același nivel de rezistență în plantele care au suferit mutații.

45 Pe de altă parte, plantele de tip sălbatic au fost foarte sensibile la amidosulfuron, mai ales atunci când au fost combinate cu compusul organic, și/sau după mai multe aplicări de amidosulfuron.

Același experiment a fost realizat utilizând iodossulfuron (3,5 g/ha), și a demonstrat un nivel bun de rezistență la plantele cu mutații atunci când s-a adăugat iodossulfuron, dar această rezistență a scăzut când iodossulfuronul s-a aplicat împreună cu compusul organic.

50 Cum era de așteptat, planta de tip sălbatic a fost foarte sensibilă la iodossulfuron chiar și după o singură aplicare și fără compusul organic.

Același experiment a fost realizat folosind 7,5 g/ha de tiencarbazon-metil, și a dat aproximativ același nivel de rezistență ca și pentru iodossulfuron în plantele cu mutații.

55 Planta de tip sălbatic a fost foarte sensibilă la tiencarbazon-metil în toate concentrațiile testate și indiferent de adăugarea compusului organic.

Se poate concluziona că, în comparație cu tipul sălbatic, planta de sfeclă de zahăr cu mutații ce conține SECV.ID.NR:3 (depusă în temeiul Tratatului de la Budapesta NCIMB 42051) oferă cea mai bună rezistență față de foramsulfuron.

Se poate concluziona, de asemenea, că această plantă cu mutații (heterozigotă) a dobândit în continuare o anumită rezistență (deși parțială) față de alți inhibitori ai ALS, inclusiv față de inhibitori ce fac parte din alte clase chimice.

Exemplul 4

5 Tratamentul cu inhibitori ai ALS a sfecei de zahăr având alte mutații ale genei ALS.

Ulterior, a fost elaborată o plantă de sfeclă de zahăr cu mutații care cuprinde SECV.ID.NR:3 și SECV.ID.NR:5 (pe două alele diferite). Un astfel de mutant dublu rezultat a fost depus în temeiul Tratatului de la Budapesta sub nr. NCIMB 42050. O plantă care cuprinde atât SECV.ID.NR:3 cât și SECV.ID.NR:5 poate fi generată pe baza mai multor tehnici, inclusiv, de exemplu, unei etape de

10 mutageneză ulterioară aplicată singurului mutant NCIMB 42051.
Apoi rezistența acestei plante cu mutații duble (o mutație într-o alelă la aminoacidul 569 și o mutație în cealaltă alelă la aminoacidul 188) a fost comparată cu sfecla de zahăr cu o singură mutație (o mutație la poziția 569).

15 Linia de plante cu mutații duble, cel puțin, păstrează toate caracteristicile rezistenței ca în exemplul 3, și a dobândit, de asemenea, o rezistență bună (compatibilă cu aplicarea pe teren) față de tratamentele cu tiencarbazon-metil și față de amidosulfuron, chiar și atunci când sunt puse în compoziție cu compuși organici.

20 Prin urmare, această plantă cu mutații duble demonstrează o rezistență îmbunătățită, sinergică, față de câțiva inhibitori ai ALS în comparație cu rezistența atribuită plantei cu o singură mutație (la poziția 569 a genei ALS).

Exemplul 5

Teste în sere: Tratamentul cu inhibitori ai ALS a diferitelor plante de sfeclă de zahăr în comparație directă.

25 Plantele de sfeclă de zahăr cu mutații ce cuprind SECV.ID.NR:3 și SECV.ID.NR:5 (pe două alele diferite) pentru utilizarea în contextul prezentei invenții (după cum s-a descris în exemplul 4 de mai sus, "Linia A") au fost tratate cu diferiți inhibitori ai ALS în comparație directă cu plantele de sfeclă de zahăr, unde triptofanul la poziția 569 a enzimei ALS codificată este substituit cu o leucină ("Linia B"), cu plantele de sfeclă de zahăr descrise în (WO 98/02527), unde prolina la poziția 188 a enzimei ALS codificată este substituită cu o serină ("Linia C"), și o plantă de sfeclă de zahăr de soi

30 tradițional (de tip sălbatic) care nu are o mutație la pozițiile 569 și 188 ("Linia WT").

Câteva grupe de semințe de patru plante diferite de sfeclă de zahăr menționate au fost semănate separat în seră și crescute până la stadiul BBCH 14 pentru *Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* (adică 4 frunze (a doua pereche) desfăcute) conform monografiei BBCH "Etapile de creștere a plantelor mono-și dicotiledonate", ediția a 2-a, 2001, ed. Uwe Meier, Centrul Federal de Cercetări Biologice

35 pentru Agricultură și Silvicultură (Biologische Bundesanstalt für Land und Forstwirtschaft). Ulterior, grupele separate rezultate de plante de sfeclă de zahăr au fost fiecare tratate individual cu un inhibitor al ALS (ALS-in) în cantitățile (g/ha) indicate în tab. 1.

40 În ziua a 14-a după aplicarea inhibitorului ALS respectiv, dauna (adică fitotoxicitatea) pentru fiecare grup de plante de sfeclă de zahăr a fost evaluată la scară stratificată de la 0% (adică nicio daună, nicio fitotoxicitate) până la 100% (adică plantele erau complet distruse). Evaluarea medie pentru fiecare grup de plante este, de asemenea, prezentată în tab. 1.

Tabelul 1

ALS-in	ALS-in g/ha	Linia A	Linia B	Linia C	Linia WT
Foramsulfuron	13	26,9%	45,6%	77,5%	80,0%
Iodosulfuron-metil-Na	3,5	22,5%	38,8%	80,0%	82,5%
Amidosulfuron	15	6,3%	37,5%	51,9%	73,1%
Tiencarbazon-metil	7,5	8,1%	35,6%	37,5%	84,4%
Bisbiribac-Na	50	17,5%	38,1%	71,7%	80,0%
Metosulam	15	13,1%	40,6%	69,4%	79,4%

45 Conform datelor prezentate în tab. 1, se poate demonstra în mod clar că plantele de sfeclă de zahăr din "Linia A" au fost mult mai tolerante la aplicarea diferitelor erbicide inhibitoare de ALS, adică s-a demonstrat toleranța la erbicide inhibitoare de ALS reprezentative, unde soiul convențional, adică tipul sălbatic ("Linia WT"), a fost deteriorat semnificativ în condiții identice.

50 În plus, fenotipurile tipice timpurii de fiecare plantă de sfeclă de zahăr au fost examinate după tratament cu un amestec format din tiencarbazon-metil și foramsulfuron. Un fenotip timpuriu reprezentativ din fiecare Linie este prezentat în fig. 1.

Fig. 1 demonstrează, de asemenea, că plantele de sfeclă de zahăr în special adecvate pentru utilizarea în contextul prezentei invenții ("Linia A") prezintă rezistență superioară față de erbicidele inhibitoare de ALS, adică a fost observată o creștere superioară și efecte mai puțin fitotoxice în comparație cu celelalte fenotipuri timpurii din "Linia B", "Linia C" și "Linia WT".

5

(56) Referințe bibliografice citate în descriere:

1. WO 2012049268 A1 2012.04.19
2. WO 2012049266 A1 2012.04.19
3. WO 2008124495 A2 2008.10.16
4. WO 2009046334 A1 2009.04.09

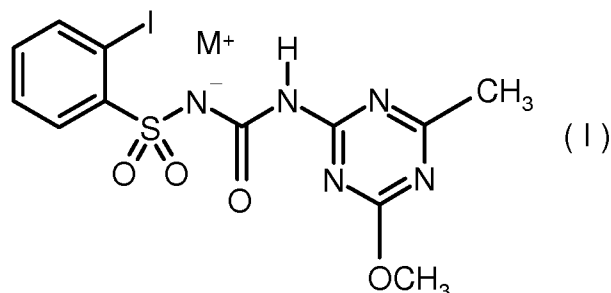
(57) Revendicări:

1. Aplicare a unui sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS pentru combaterea vegetației nedorite pe terenurile de cultivare a *Beta vulgaris*, unde plantele de *Beta vulgaris* cuprind mutații ale genei ALS, codificând o polipeptidă ALS ce conține un aminoacid care este diferit de triptofan în poziția 569 și un aminoacid care este diferit de prolină în poziția 188.

2. Aplicare a unui sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS, conform revendicării 1, unde erbicidele inhibitoare de ALS fac parte din:

- grupa (sulfon)amidelor (grupa (A)) ce constă din:
- subgrupa (A1) sulfonilureelor, ce constă din:
- amidosulfuron [CAS RN 120923-37-7] (= A1-1);
- azimsulfuron [CAS RN 120162-55-2] (= A1-2);
- bensulfuron-metil [CAS RN 83055-99-6] (= A1-3);
- clorimuron-etil [CAS RN 90982-32-4] (= A1-4);
- clorsulfuron [CAS RN 64902-72-3] (= A1-5);
- cinosulfuron [CAS RN 94593-91-6] (= A1-6);
- ciclosulfamuron [CAS RN 136849-15-5] (= A1-7);
- etametsulfuron-metil [CAS RN 97780-06-8] (= A1-8);
- etoxisulfuron [CAS RN 126801-58-9] (= A1-9);
- flazasulfuron [CAS RN 104040-78-0] (= A1-10);
- flucetosulfuron [CAS RN 412928-75-7] (= A1-11);
- flupirsulfuron-metil-sodiu [CAS RN 144740-54-5] (= A1-12);
- foramsulfuron [CAS RN 173159-57-4] (= A1-13);
- halosulfuron-metil [CAS RN 100784-20-1] (= A1-14);
- imazosulfuron [CAS RN 122548-33-8] (= A1-15);
- iodosulfuron-metil-sodiu [CAS RN 144550-36-7] (= A1-16);
- mezosulfuron-metil [CAS RN 208465-21-8] (= A1-17);
- metsulfuron-metil [CAS RN 74223-64-6] (= A1-18);
- monosulfuron [CAS RN 155860-63-2] (= A1-19);
- nicosulfuron [CAS RN 111991-09-4] (= A1-20);
- ortosulfamuron [CAS RN 213464-77-8] (= A1-21);
- oxasulfuron [CAS RN 144651-06-9] (= A1-22);
- primisulfuron-metil [CAS RN 86209-51-0] (= A1-23);
- prosulfuron [CAS RN 94125-34-5] (= A1-24);
- pirazosulfuron-etil [CAS RN 93697-74-6] (= A1-25);
- rimsulfuron [CAS RN 122931-48-0] (= A1-26);
- sulfometuron-metil [CAS RN 74222-97-2] (= A1-27);
- sulfosulfuron [CAS RN 141776-32-1] (= A1-28);
- tifensulfuron-metil [CAS RN 79277-27-3] (= A1-29);
- triasulfuron [CAS RN 82097-50-5] (= A1-30);
- tribenuron-metil [CAS RN 101200-48-0] (= A1-31);
- trifloxisulfuron [CAS RN 145099-21-4] (sodiu) (= A1-32);
- triflusulfuron-metil [CAS RN 126535-15-7] (= A1-33);

tritosulfuron [CAS RN 142469-14-5] (= A1-34);
 NC-330 [CAS RN 104770-29-8] (= A1-35);
 NC-620 [CAS RN 868680-84-6] (= A1-36);
 TH-547 [CAS RN 570415-88-2] (= A1-37);
 monosulfuron-metil [CAS RN 175076-90-1] (= A1-38);
 2-iodo-N-[(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazinil)carbamoil]benzen-sulfonamidă (=A139);
 un compus cu formula generală (I)



unde M^+ desemnează sarea respectivă a compusului (I), și anume sarea sa de litiu (= A1-40); sarea sa de sodiu (= A1-41); sarea sa de potasiu (= A1-42); sarea sa de magneziu (= A1-43); sarea sa de calciu (= A1-44); sarea sa de amoniu (= A1-45); sarea sa de metilamoniu (= A1-46); sarea sa de dimetilamoniu (= A1-47); sarea sa de tetrametilamoniu

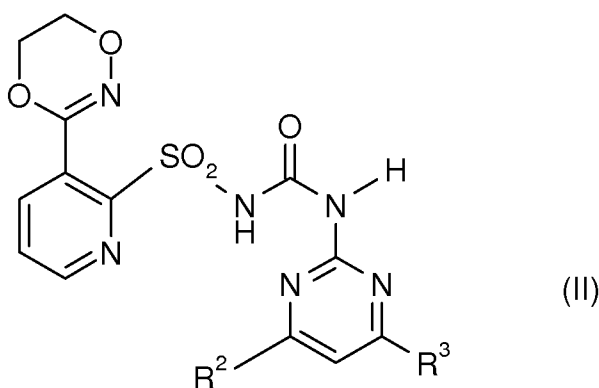
(= A1-48); sarea sa de etilamoniu (= A1-49); sarea sa de dietilamoniu (= A1-50); sarea sa de tetraetilamoniu (= A1-51); sarea sa de propilamoniu (= A1-52); sarea sa de tetrapropilamoniu (= A1-53); sarea sa de izopropilamoniu (= A1-54); sarea sa de diizopropilamoniu

(= A1-55); sarea sa de butilamoniu (= A1-56); sarea sa de tetrabutilamoniu (= A1-57); sarea sa de (2-hidroxi-1-il)amoniu (= A1-58); sarea sa de bis-N,N- (2-hidroxi-1-il)amoniu (= A1-59); sarea sa de tris-N,N,N-(2-hidroxi-1-il)amoniu (= A1-60); sarea sa de 1-feniletilamoniu (= A1-61); sarea sa de 2-feniletilamoniu (= A1-62); sarea sa de trimetilsulfoni (= A1-63); sarea sa de trimetiloxoni (= A1-64); sarea sa de piridiniu (= A1-65); sarea sa de 2-metilpiridiniu (= A1-66); sarea sa de 4-metilpiridiniu (= A1-67); sarea sa de 2,4-dimetilpiridiniu

(= A1-68); sarea sa de 2,6-dimetilpiridiniu (= A1-69); sarea sa de piperidiniu (= A1-70); sarea sa de imidazoliu (= A1-71); sarea sa de morfoliniu

(= A1-72); sarea sa de 1,5-diazabiclo[4.3.0]non-7-eniu (= A1-73); sarea sa de 1,8-diazabiclo[5.4.0]undec-7-eniu (= A1-74);

sau un compus cu formula (II) sau sărurile acestuia

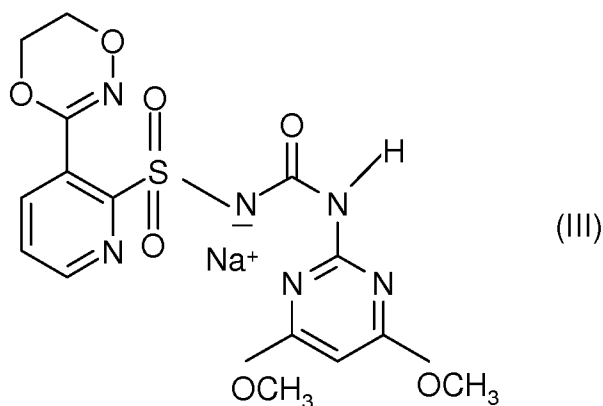


unde R^2 și R^3 sunt definiți în tabelul de mai jos

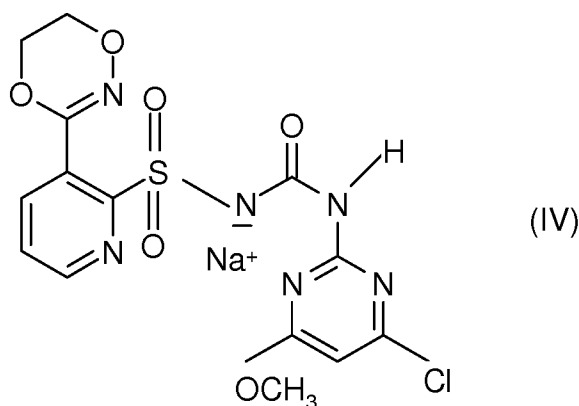
Compusul	R^2	R^3
A1-75	OCH ₃	OC ₂ H ₅
A1-76	OCH ₃	CH ₃

Compusul	R ²	R ³
A1-77	OCH ₃	C ₂ H ₅
A1-78	OCH ₃	CF ₃
A1-79	OCH ₃	OCF ₂ H
A1-80	OCH ₃	NHCH ₃
A1-81	OCH ₃	N(CH ₃) ₂
A1-82	OCH ₃	Cl
A1-83	OCH ₃	OCH ₃
A1-84	OC ₂ H ₅	OC ₂ H ₅
A1-85	OC ₂ H ₅	CH ₃
A1-86	OC ₂ H ₅	C ₂ H ₅

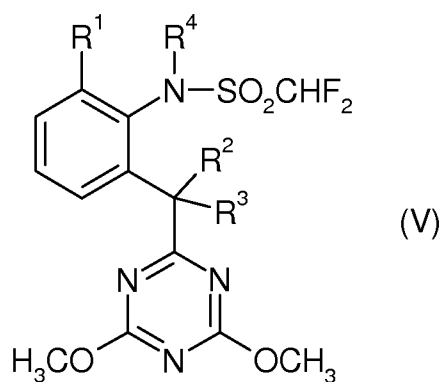
sau compusul cu formula (III) (= A1-87), și anume sarea de sodiu a compusului (A1-83)



sau compusul cu formula (IV) (=A1-88), și anume sarea de sodiu a compusului (A1-82)



subgrupa sulfonilaminocarboniltriazolinonelor (subgrupa ((A2)), ce constă din:
 flucarbazon-sodiu [CAS RN 181274-17-9] (= A2-1);
 propoxicarbazon-sodiu [CAS RN 181274-15-7] (= A2-2);
 tiencarbazon-metil [CAS RN 317815-83-1] (= A2-3);
 subgrupa triazolopirimidinelor (subgrupa (A3)), ce constă din:
 cloransulam-metil [147150-35-4] (= A3-1);
 diclosulam [CAS RN 145701-21-9] (= A3-2);
 florasulam [CAS RN 145701-23-1] (= A3-3);
 flumetsulam [CAS RN 98967-40-9] (= A3-4);
 metosulam [CAS RN 139528-85-1] (= A3-5);
 penoxsulam [CAS RN 219714-96-2] (= A3-6);
 piroxsulam [CAS RN 422556-08-9] (= A3-7);
 subgrupa sulfonanilidelor (subgrupa (A4)), ce constă din:
 compușii sau sărurile acestora din grupa descrisă prin formula generală (V):



in care

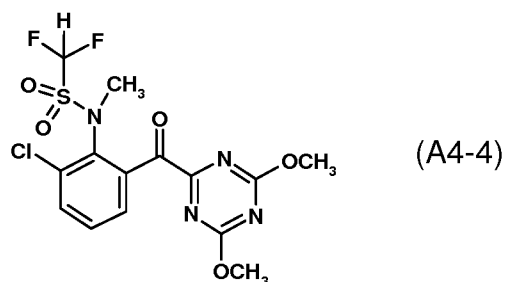
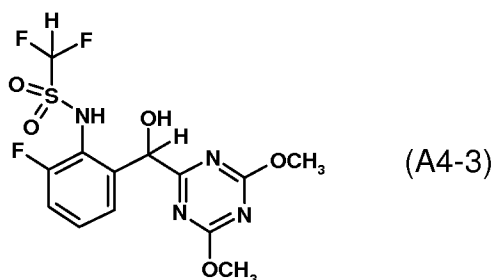
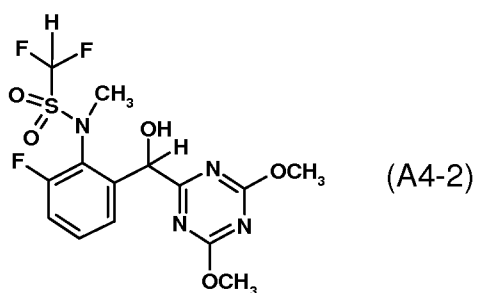
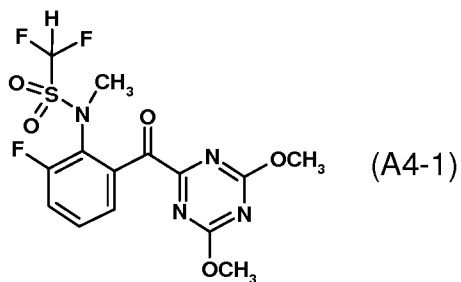
R^1 este halogen, preferabil fluor sau clor,

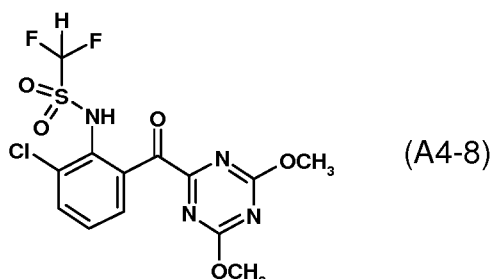
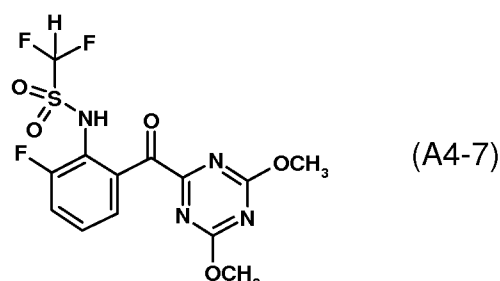
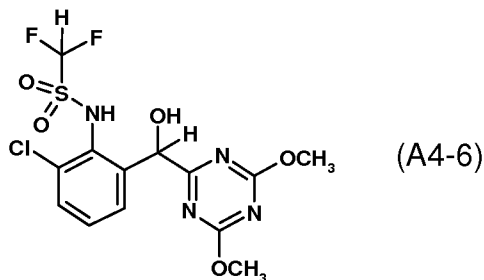
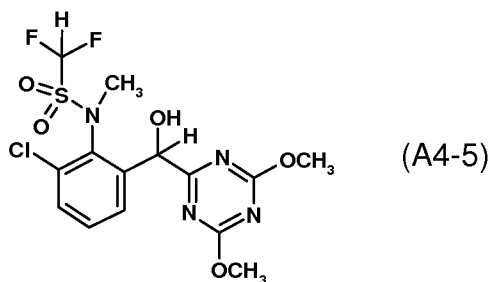
R^2 este hidrogen și R^3 este hidroxil sau

R^2 și R^3 împreună cu atomul de carbon, de care sunt prinși, reprezintă o grupare carbonil $C=O$ și

R^4 este hidrogen sau metil;

și în special compușii cu structura chimică de mai jos (A4-1) - (A4-8)





grupa imidazolinonelor (grupa (B1)), ce constă din:
 imazametabenzmetil [CAS RN 81405-85-8] (= B1-1);
 imazamox [CAS RN 114311-32-9] (= B1-2);
 imazapic [CAS RN 104098-48-8] (= B1-3);
 imazapir [CAS RN 81334-34-1] (= B1-4);
 imazaquin [CAS RN 81335-37-7] (= B1-5);
 imzetapir [CAS RN 81335-77-5] (= B1-6);
 SYP-298 [CAS RN 557064-77-4] (= B1-7);
 SYP-300 [CAS RN 374718-10-2] (= B1-8);

grupa pirimidinil(tio)benzoaților (grupa (C)), ce constă din:
 subgrupa pirimidiniloxibenzoacizilor (subgrupa (C1)), ce constă din:
 bispiribac-sodiu [CAS RN 125401-92-5] (= C1-1);
 piribenzoxim [CAS RN 168088-61-7] (= C1-2);
 piriminobac-metil [CAS RN 136191-64-5] (= C1-3);
 piribambenz-izopropil [CAS RN 420138-41-6] (= C1-4);
 piribambenz-propil [CAS RN 420138-40-5] (= C1-5);

subgrupa pirimidiniltiobenzoacizilor (subgrupa (C2)), ce constă din:
 piriftalid [CAS RN 135186-78-6] (= C2-1);
 piritiobac-sodiu [CAS RN 123343-16-8] (= C2-2).

3. Aplicare a unui sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS, conform revendicării 1 sau 2, unde erbicidele inhibitoare de ALS fac parte din grupa ce constă din:

- amidofurion [CAS RN 120923-37-7] (= A1-1);
- clorimuron-etil [CAS RN 90982-32-4] (= A1-4);
- etamsulfuron-metil [CAS RN 97780-06-8] (= A1-8);
- etoxisulfuron [CAS RN 126801-58-9] (= A1-9);
- flupirsulfuron-metil-sodiu [CAS RN 144740-54-5] (= A1-12);
- foramsulfuron [CAS RN 173159-57-4] (= A1-13);
- iodosulfuron-metil-sodiu [CAS RN 144550-36-7] (= A1-16);
- mezosulfuron-metil [CAS RN 208465-21-8] (= A1-17);
- metsulfuron-metil [CAS RN 74223-64-6] (= A1-18);
- monosulfuron [CAS RN 155860-63-2] (= A1-19);
- nicosulfuron [CAS RN 111991-09-4] (= A1-20);
- sulfosulfuron [CAS RN 141776-32-1] (= A1-28);
- tifensulfuron-metil [CAS RN 79277-27-3] (= A1-29);
- tribenuron-metil [CAS RN 101200-48-0] (= A1-31);
- 2-iodo-N-[(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazinil)carbamoil]benzen-sulfonamidă (= A1-39);
- sarea de sodiu 2-iodo-N-[(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazinil)carbamoil]benzen-sulfonamidă (= A1-41);
- (A1-83) sau sarea sa de sodiu (=A1-87);
- propoxicarbazon-sodiu [CAS RN 181274-15-7] (= A2-2);
- tiencarbazon-metil [CAS RN 317815-83-1] (= A2-3);
- florasulam [CAS RN 145701-23-1] (= A3-3);
- metosulam [CAS RN 139528-85-1] (= A3-5);
- piroxsulam [CAS RN 422556-08-9] (= A3-7);
- (A4-1);
- (A4-2);
- (A4-3);
- imazamox [CAS RN 114311-32-9] (= B1-2); și
- bispiribac-sodiu [CAS RN 125401-92-5] (= C1-1).

4. Aplicare a unui sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS, conform revendicării 1 sau 2, unde erbicidele inhibitoare de ALS fac parte din grupa ce constă din:

- amidofurion [CAS RN 120923-37-7] (= A1-1);
- foramsulfuron [CAS RN 173159-57-4] (= A1-13);
- iodosulfuron-metil-sodiu [CAS RN 144550-36-7] (= A1-16);
- 2-iodo-N-[(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazinil)carbamoil]benzen-sulfonamidă (= A1-39);
- sarea de sodiu 2-iodo-N-[(4-metoxi-6-metil-1,3,5-triazinil)carbamoil]benzen-sulfonamidă A1-41;
- A1-83 sau sarea sa de sodiu (=A1-87);
- tiencarbazon-metil [CAS RN 317815-83-1] (= A2-3);
- imazamox [CAS RN 114311-32-9] (= B1-2);
- bispiribac-sodiu [CAS RN 125401-92-5] (= C1-1).

5. Aplicare a unui sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS, conform uneia din revendicările 1-4, unde aminoacidul proteinei de ALS în poziția 569 este leucina.

6. Aplicare a unui sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS, conform uneia din revendicările 1-5 în combinație cu erbicidele neinhibitoare de ALS (adică erbicide având un mod de acțiune diferit de inhibarea enzimei ALS [acetohidroxiacid sintaza; CE 2.2.1.6] a erbicidelor din grupa D), unde erbicidul(ele) neinhibitor(oare) de ALS este/sunt selectate din grupa ce constă din:

cloridazon, cletodim, clodinafop, clodinafop-propargil, clopiralid, cicloxidim, desmedifam, dimetenamid, dimetenamid-P, etofumesat, fenoxaprop, fenoxaprop-P, fenoxaprop-etil, fenoxaprop-P-etil, fluazifop, fluazifop-P, fluazifop-butil, fluazifop-P-butil, glufosinat, glufosinat-amoniu, glufosinat-P, glufosinat-P-amoniu, glufosinat-P-sodiu, glifosat, glifosat-izopropilamoniu, haloxifop, haloxifop-P, haloxifop-etoxietil, haloxifop-P-etoxietil, haloxifop-metil, haloxifop-P-metil, lenacil, metamitro, fenmedifam, fenmedifam-etil, propaquizafop, chinmerac, quizalofop, quizalofop-etil, quizalofop-P, quizalofop-P-etil, quizalofop-P-tefuril, setoxidim.

7. Aplicare a unui sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS, conform revendicării 6, unde erbicidul(ele) neinhibitor(oare) de ALS este/sunt selectate din grupa ce constă din:

desmedifam, etofumesat, glufosinat, glufosinat-amoniu, glufosinat-P, glufosinat-P-amoniu, glufosinat-P-sodiu, glifosat, glifosat-izopropilamoniu, lenacil, metamitron, fenmedifam, fenmedifam-etil.

8. Aplicare a unui sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS, conform uneia din revendicările 1-7, unde plantele de *Beta vulgaris* corespund depozitului cu nr. NCIMB 42050.

9. Procedeu de combatere a vegetației nedorite pe terenurile de cultivare a plantelor de *Beta vulgaris*, caracterizat prin:

(a) prezența plantelor de *Beta vulgaris*, care cuprind o mutație a genei endogene de ALS codificând o proteină de ALS, conținând un aminoacid care este diferit de triptofan în poziția 569 și un aminoacid care este diferit de prolină în poziția 188,

(b) aplicarea unuia sau mai multor erbicide inhibitoare de ALS, de sine stătător sau în combinație cu unul sau mai multe erbicide care nu fac parte din clasa de erbicide inhibitoare de ALS (erbicide neinhibitoare de ALS), și

(c) unde aplicarea erbicidelor respective menționate la litera. (b)

(i) are loc împreună sau simultan, sau

(ii) are loc la intervale diferite și/sau într-o multitudine de porțiuni (aplicare consecutivă),

în aplicări pre-răsărire urmate de aplicările post-răsărire sau aplicările post-răsărire timpurii, urmate de aplicările post-răsărire medii sau târzii.

10. Procedeu, conform revendicării 9, unde erbicidele inhibitoare de ALS sunt selectate din grupele definite în revendicarea 2.

11. Procedeu, conform revendicării 9 sau 10, unde erbicidele inhibitoare de ALS sunt selectate din grupele definite în revendicarea 3.

12. Procedeu, conform uneia din revendicările 9-11, unde erbicidele neinhibitoare de ALS sunt selectate din grupa ce constă din:

cloridazon, cletodim, clodinafop, clodinafop-propargil, clopiralid, cicloxidim, desmedifam, dimetenamid, dimetenamid-P, etofumesat, fenoxaprop, fenoxaprop-P, fenoxaprop-etil, fenoxaprop-P-etil, fluazifop, fluazifop-P, fluazifop-butil, fluazifop-P-butil, glufosinat, glufosinat-amoniu, glufosinat-P, glufosinat-P-amoniu, glufosinat-P-sodiu, glifosat, glifosat-izopropilamoniu, haloxifop, haloxifop-P, haloxifop-etoxietil, haloxifop-P-etoxietil, haloxifop-metil, haloxifop-P-metil, lenacil, metamitro, fenmedifam, fenmedifam-etil, propaquizafop, chinmerac, quizalofop, quizalofop-etil, quizalofop-P, quizalofop-P-etil, quizalofop-P-tefuril, setoxidim.

13. Procedeu, conform uneia din revendicările 9-12, unde plantele de *Beta vulgaris* corespund depozitului sub nr. NCIMB 42050.

MD 4571 B1 2018.06.30

35

LISTA DE SECVENȚE

<110> Bayer CropScience AG

<120> Utilizarea inhibitorilor ALS pentru mutații rezistenți la sfeclă de zahăr

<130> BCS 12-3093

<160> 8

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1995

<212> DNA

<213> Beta vulgaris

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1995)

<223> 4D6834 WT all

<400> 1

atg gcg gct acc ttc aca aac cca aca ttt tcc cct tcc tca act cca	48
Met Ala Ala Thr Phe Thr Asn Pro Thr Phe Ser Pro Ser Ser Thr Pro	
1 5 10 15	
tta acc aaa acc cta aaa tcc caa tct tcc atc tct tca acc ctc ccc	96
Leu Thr Lys Thr Leu Lys Ser Gln Ser Ser Ile Ser Ser Thr Leu Pro	
20 25 30	
ttt tcc acc cct ccc aaa acc cca act cca ctc ttt cac cgt ccc ctc	144
Phe Ser Thr Pro Pro Lys Thr Pro Thr Pro Leu Phe His Arg Pro Leu	
35 40 45	
caa atc tca tcc tcc caa tcc cac aaa tca tcc gcc att aaa aca caa	192
Gln Ile Ser Ser Ser Gln Ser His Lys Ser Ser Ala Ile Lys Thr Gln	
50 55 60	
act caa gca cct tct tct cca gct att gaa gat tca tct ttc gtt tct	240
Thr Gln Ala Pro Ser Ser Pro Ala Ile Glu Asp Ser Ser Phe Val Ser	
65 70 75 80	
cga ttt ggc cct gat gaa ccc aga aaa ggg tcc gat gtc ctc gtt gaa	288
Arg Phe Gly Pro Asp Glu Pro Arg Lys Gly Ser Asp Val Leu Val Glu	
85 90 95	
gct ctt gag cgt gaa ggt gtt acc aat gtg ttt gct tac cct ggt ggt	336
Ala Leu Glu Arg Glu Gly Val Thr Asn Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly	
100 105 110	
gca tct atg gaa atc cac caa gct ctc aca cgc tct aaa acc atc cgc	384
Ala Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser Lys Thr Ile Arg	
115 120 125	
aat gtc ctc cct cgc cat gaa caa ggc ggg gtt ttc gcc gcc gag gga	432
Asn Val Leu Pro Arg His Glu Gln Gly Gly Val Phe Ala Ala Glu Gly	
130 135 140	
tat gct aga gct act gga aag gtt ggt gtc tgc att gcg act tct ggt	480
Tyr Ala Arg Ala Thr Gly Lys Val Gly Val Cys Ile Ala Thr Ser Gly	
145 150 155 160	
cct ggt gct acc aac ctc gta tca ggt ctt gct gac gct ctc ctt gat	528
Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Gly Leu Ala Asp Ala Leu Leu Asp	
165 170 175	
tct gtc cct ctt gtt gcc atc act ggc caa gtt cca cgc cgt atg att	576
Ser Val Pro Leu Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Pro Arg Arg Met Ile	
180 185 190	
ggc act gat gct ttt cag gag act cca att gtt gag gtg aca agg tct	624
Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu Val Thr Arg Ser	
195 200 205	

MD 4571 B1 2018.06.30

37

500	505	510	
cca gcc gcc att gga gct gca gtt gct cga cca gat gca gtg gtt gtc Pro Ala Ala Ile Gly Ala Ala Val Ala Arg Pro Asp Ala Val Val Val 515 520 525			1584
gat att gat ggg gat ggc agt ttt att atg aat gtt caa gag ttg gct Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Ile Met Asn Val Gln Glu Leu Ala 530 535 540			1632
aca att agg gtg gaa aat ctc cca gtt aag ata atg ctg cta aac aat Thr Ile Arg Val Glu Asn Leu Pro Val Lys Ile Met Leu Leu Asn Asn 545 550 555 560			1680
caa cat tta ggt atg gtt gtc caa tgg gaa gat agg ttc tat aaa gct Gln His Leu Gly Met Val Val Gln Trp Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala 565 570 575			1728
aac cgg gca cat aca tac ctt gga aac cct tcc aaa tct gct gat atc Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asn Pro Ser Lys Ser Ala Asp Ile 580 585 590			1776
ttc cct gat atg ctc aaa ttc gct gag gca tgt gat att cct tct gcc Phe Pro Asp Met Leu Lys Phe Ala Glu Ala Cys Asp Ile Pro Ser Ala 595 600 605			1824
cgt gtt agc aac gtg gct gat ttg agg gcc gcc att caa aca atg ttg Arg Val Ser Asn Val Ala Asp Leu Arg Ala Ala Ile Gln Thr Met Leu 610 615 620			1872
gat act cca ggg ccg tac ctg ctc gat gtg att gta ccg cat caa gag Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Val Ile Val Pro His Gln Glu 625 630 635 640			1920
cat gtg ttg cct atg att cca agt ggt gcc ggt ttc aag gat acc att His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Ala Gly Phe Lys Asp Thr Ile 645 650 655			1968
aca gag ggt gat gga aga acc tct taa Thr Glu Gly Asp Gly Arg Thr Ser 660			1995
<210> 2 <211> 664 <212> PRT <213> Beta vulgaris			
<400> 2			
Met Ala Ala Thr Phe Thr Asn Pro Thr Phe Ser Pro Ser Ser Thr Pro 1 5 10 15			
Leu Thr Lys Thr Leu Lys Ser Gln Ser Ser Ile Ser Ser Thr Leu Pro 20 25 30			
Phe Ser Thr Pro Pro Lys Thr Pro Thr Pro Leu Phe His Arg Pro Leu 35 40 45			
Gln Ile Ser Ser Ser Gln Ser His Lys Ser Ser Ala Ile Lys Thr Gln 50 55 60			
Thr Gln Ala Pro Ser Ser Pro Ala Ile Glu Asp Ser Ser Phe Val Ser 65 70 75 80			
Arg Phe Gly Pro Asp Glu Pro Arg Lys Gly Ser Asp Val Leu Val Glu 85 90 95			
Ala Leu Glu Arg Glu Gly Val Thr Asn Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly			

MD 4571 B1 2018.06.30

38

100 105 110

Ala Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser Lys Thr Ile Arg
115 120 125

Asn Val Leu Pro Arg His Glu Gln Gly Gly Val Phe Ala Ala Glu Gly
130 135 140

Tyr Ala Arg Ala Thr Gly Lys Val Gly Val Cys Ile Ala Thr Ser Gly
145 150 155 160

Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Gly Leu Ala Asp Ala Leu Leu Asp
165 170 175

Ser Val Pro Leu Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Pro Arg Arg Met Ile
180 185 190

Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu Val Thr Arg Ser
195 200 205

Ile Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Leu Asp Val Glu Asp Ile Pro Arg
210 215 220

Ile Val Lys Glu Ala Phe Phe Leu Ala Asn Ser Gly Arg Pro Gly Pro
225 230 235 240

Val Leu Ile Asp Leu Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln Leu Val Val Pro
245 250 255

Asp Trp Asp Arg Pro Phe Lys Leu Gly Gly Tyr Met Ser Arg Leu Pro
260 265 270

Lys Ser Lys Phe Ser Thr Asn Glu Val Gly Leu Leu Glu Gln Ile Val
275 280 285

Arg Leu Met Ser Glu Ser Lys Lys Pro Val Leu Tyr Val Gly Gly Gly
290 295 300

Cys Leu Asn Ser Ser Glu Glu Leu Arg Arg Phe Val Glu Leu Thr Gly
305 310 315 320

Ile Pro Val Ala Ser Thr Leu Met Gly Leu Gly Ser Tyr Pro Cys Asn
325 330 335

Asp Glu Leu Ser Leu His Met Leu Gly Met His Gly Thr Val Tyr Ala
340 345 350

Asn Tyr Ala Val Asp Lys Ala Asp Leu Leu Leu Ala Phe Gly Val Arg
355 360 365

Phe Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Leu Glu Ala Phe Ala Ser Arg Ala
370 375 380

Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Ser Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys
385 390 395 400

MD 4571 B1 2018.06.30

39

Gln Pro His Val Ser Ile Cys Ala Asp Val Lys Leu Ala Leu Arg Gly
405 410 415

Met Asn Lys Ile Leu Glu Ser Arg Ile Gly Lys Leu Asn Leu Asp Phe
420 425 430

Ser Lys Trp Arg Glu Glu Leu Gly Glu Gln Lys Lys Glu Phe Pro Leu
435 440 445

Ser Phe Lys Thr Phe Gly Asp Ala Ile Pro Pro Gln Tyr Ala Ile Gln
450 455 460

Val Leu Asp Glu Leu Thr Asn Gly Asn Ala Ile Ile Ser Thr Gly Val
465 470 475 480

Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln His Tyr Lys Tyr Arg Asn Pro
485 490 495

Arg Gln Trp Leu Thr Ser Gly Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu
500 505 510

Pro Ala Ala Ile Gly Ala Ala Val Ala Arg Pro Asp Ala Val Val Val
515 520 525

Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Ile Met Asn Val Gln Glu Leu Ala
530 535 540

Thr Ile Arg Val Glu Asn Leu Pro Val Lys Ile Met Leu Leu Asn Asn
545 550 555 560

Gln His Leu Gly Met Val Val Gln Trp Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala
565 570 575

Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asn Pro Ser Lys Ser Ala Asp Ile
580 585 590

Phe Pro Asp Met Leu Lys Phe Ala Glu Ala Cys Asp Ile Pro Ser Ala
595 600 605

Arg Val Ser Asn Val Ala Asp Leu Arg Ala Ala Ile Gln Thr Met Leu
610 615 620

Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Val Ile Val Pro His Gln Glu
625 630 635 640

His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Ala Gly Phe Lys Asp Thr Ile
645 650 655

Thr Glu Gly Asp Gly Arg Thr Ser
660

<210> 3
<211> 1995
<212> DNA
<213> Beta vulgaris

<220>

MD 4571 B1 2018.06.30

40

<221> misc_feature
 <222> (1)..(1994)
 <223> 4D6834 w574

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(1995)

<400> 3
 atg gcg gct acc ttc aca aac cca aca ttt tcc cct tcc tca act cca 48
 Met Ala Ala Thr Phe Thr Asn Pro Thr Phe Ser Pro Ser Ser Thr Pro
 1 5 10 15
 tta acc aaa acc cta aaa tcc caa tct tcc atc tct tca acc ctc ccc 96
 Leu Thr Lys Thr Leu Lys Ser Gln Ser Ser Ile Ser Ser Thr Leu Pro
 20 25 30
 ttt tcc acc cct ccc aaa acc cca act cca ctc ttt cac cgt ccc ctc 144
 Phe Ser Thr Pro Pro Lys Thr Pro Thr Pro Leu Phe His Arg Pro Leu
 35 40 45
 caa atc tca tcc tcc caa tcc cac aaa tca tcc gcc att aaa aca caa 192
 Gln Ile Ser Ser Ser Gln Ser His Lys Ser Ser Ala Ile Lys Thr Gln
 50 55 60
 act caa gca cct tct tct cca gct att gaa gat tca tct ttc gtt tct 240
 Thr Gln Ala Pro Ser Ser Pro Ala Ile Glu Asp Ser Ser Phe Val Ser
 65 70 75 80
 cga ttt ggc cct gat gaa ccc aga aaa ggg tcc gat gtc ctc gtt gaa 288
 Arg Phe Gly Pro Asp Glu Pro Arg Lys Gly Ser Asp Val Leu Val Glu
 85 90 95
 gct ctt gag cgt gaa ggt gtt acc aat gtg ttt gct tac cct ggt ggt 336
 Ala Leu Glu Arg Glu Gly Val Thr Asn Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly
 100 105 110
 gca tct atg gaa atc cac caa gct ctc aca cgc tct aaa acc atc cgc 384
 Ala Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser Lys Thr Ile Arg
 115 120 125
 aat gtc ctc cct cgc cat gaa caa ggc ggg gtt ttc gcc gcc gag gga 432
 Asn Val Leu Pro Arg His Gln Gln Gly Gly Val Phe Ala Ala Glu Gly
 130 135 140
 tat gct aga gct act gga aag gtt ggt gtc tgc att gcg act tct ggt 480
 Tyr Ala Arg Ala Thr Gln Lys Val Gly Val Cys Ile Ala Thr Ser Gly
 145 150 155 160
 cct ggt gct acc aac ctc gta tca ggt ctt gct gac gct ctc ctt gat 528
 Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Gly Leu Ala Asp Ala Leu Leu Asp
 165 170 175
 tct gtc cct ctt gtt gcc atc act ggc caa gtt cca cgc cgt atg att 576
 Ser Val Pro Leu Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Pro Arg Arg Met Ile
 180 185 190
 ggc act gat gct ttt cag gag act cca att gtt gag gtg aca agg tct 624
 Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu Val Thr Arg Ser
 195 200 205
 att act aag cat aat tat tta gtt ttg gat gta gag gat att cct aga 672
 Ile Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Leu Asp Val Glu Asp Ile Pro Arg
 210 215 220
 att gtt aag gaa gcc ttt ttt tta gct aat tct ggt agg cct gga cct 720
 Ile Val Lys Glu Ala Phe Phe Leu Ala Asn Ser Gly Arg Pro Gly Pro
 225 230 235 240
 gtt ttg att gat ctt cct aaa gat att cag cag caa ttg gtt gtt cct 768
 Val Leu Ile Asp Leu Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln Leu Val Val Pro
 245 250 255
 gat tgg gat agg cct ttt aag ttg ggt ggg tat atg tct agg ctg cca 816
 Asp Trp Asp Arg Pro Phe Lys Leu Gly Gly Tyr Met Ser Arg Leu Pro

MD 4571 B1 2018.06.30

41

	260	265	270	
aag tcc aag ttt tcg acg aat gag gtt gga ctt ctt gag cag att gtg				864
Lys Ser Lys Phe Ser Thr Asn Glu Val Gly Leu Leu Glu Gln Ile Val	275	280	285	
agg ttg atg agt gag tcg aag aag cct gtc ttg tat gtg gga ggt ggg				912
Arg Leu Met Ser Glu Ser Lys Lys Pro Val Leu Tyr Val Gly Gly Gly	290	295	300	
tgt ttg aat tct agt gag gag ttg agg aga ttt gtt gag ttg aca ggg				960
Cys Leu Asn Ser Ser Glu Glu Leu Arg Arg Phe Val Glu Leu Thr Gly	305	310	315	320
att ccg gtg gct agt act ttg atg ggg ttg ggg tct tac cct tgt aat				1008
Ile Pro Val Ala Ser Thr Leu Met Gly Leu Gly Ser Tyr Pro Cys Asn	325	330	335	
gat gaa ctg tct ctt cat atg ttg ggg atg cac ggg act gtt tat gcc				1056
Asp Glu Leu Ser Leu His Met Leu Gly Met His Gly Thr Val Tyr Ala	340	345	350	
aat tat gcg gtg gat aag gcg gat ttg ttg ctt gct ttc ggg gtt agg				1104
Asn Tyr Ala Val Asp Lys Ala Asp Leu Leu Leu Ala Phe Gly Val Arg	355	360	365	
ttt gat gat cgt gtg acc ggg aag ctc gag gcg ttt gct agc cgt gct				1152
Phe Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Leu Glu Ala Phe Ala Ser Arg Ala	370	375	380	
aag att gtg cat att gat att gac tct gct gag att ggg aag aac aag				1200
Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Ser Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys	385	390	395	400
cag ccc cat gtg tcc att tgt gct gat gtt aaa ttg gca ttg cgg ggt				1248
Gln Pro His Val Ser Ile Cys Ala Asp Val Lys Leu Ala Leu Arg Gly	405	410	415	
atg aat aag att ctg gag tct aga ata ggg aag ctg aat ttg gat ttc				1296
Met Asn Lys Ile Leu Glu Ser Arg Ile Gly Lys Leu Asn Leu Asp Phe	420	425	430	
tcc aag tgg aga gaa gaa tta ggt gag cag aag aag gaa ttc cca ctg				1344
Ser Lys Trp Arg Glu Glu Leu Gly Glu Gln Lys Lys Glu Phe Pro Leu	435	440	445	
agt ttt aag aca ttt ggg gat gca att cct cca caa tat gcc att cag				1392
Ser Phe Lys Thr Phe Gly Asp Ala Ile Pro Pro Gln Tyr Ala Ile Gln	450	455	460	
gtg ctt gat gag ttg acc aat ggt aat gct att ata agt act ggt gtt				1440
Val Leu Asp Glu Leu Thr Asn Gly Asn Ala Ile Ile Ser Thr Gly Val	465	470	475	480
ggg cag cac caa atg tgg gct gcg cag cat tac aag tac aga aac cct				1488
Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln His Tyr Lys Tyr Arg Asn Pro	485	490	495	
cgc caa tgg ctg acc tct ggt ggg ttg ggg gct atg ggg ttt ggg cta				1536
Arg Gln Trp Leu Thr Ser Gly Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu	500	505	510	
cca gcc gcc att gga gct gca gtt gct cga cca gat gca gtg gtt gtc				1584
Pro Ala Ala Ile Gly Ala Ala Val Ala Arg Pro Asp Ala Val Val Val	515	520	525	
gat att gat ggg gat ggc agt ttt att atg aat gtt caa gag ttg gct				1632
Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Ile Met Asn Val Gln Glu Leu Ala	530	535	540	
aca att agg gtg gaa aat ctc cca gtt aag ata atg ctg cta aac aat				1680
Thr Ile Arg Val Glu Asn Leu Pro Val Lys Ile Met Leu Leu Asn Asn	545	550	555	560
caa cat tta ggt atg gtt gtc caa ttg gaa gat agg ttc tat aaa gct				1728

MD 4571 B1 2018.06.30

42

Gln His Leu Gly Met Val Val Gln Leu Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala
 565 570 575

aac cgg gca cat aca tac ctt gga aac cct tcc aaa tct gct gat atc 1776
 Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asn Pro Ser Lys Ser Ala Asp Ile
 580 585 590

ttc cct gat atg ctc aaa ttc gct gag gca tgt gat att cct tct gcc 1824
 Phe Pro Asp Met Leu Lys Phe Ala Glu Ala Cys Asp Ile Pro Ser Ala
 595 600 605

cgt gtt agc aac gtg gct gat ttg agg gcc gcc att caa aca atg ttg 1872
 Arg Val Ser Asn Val Ala Asp Leu Arg Ala Ala Ile Gln Thr Met Leu
 610 615 620

gat act cca ggg cgg tac ctg ctc gat gtg att gta ccg cat caa gag 1920
 Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Val Ile Val Pro His Gln Glu
 625 630 635 640

cat gtg ttg cct atg att cca agt ggt gcc ggt ttc aag gat acc att 1968
 His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Ala Gly Phe Lys Asp Thr Ile
 645 650 655

aca gag ggt gat gga aga acc tct taa 1995
 Thr Glu Gly Asp Gly Arg Thr Ser
 660

<210> 4
 <211> 664
 <212> PRT
 <213> Beta vulgaris

<400> 4

Met Ala Ala Thr Phe Thr Asn Pro Thr Phe Ser Pro Ser Ser Thr Pro
 1 5 10 15

Leu Thr Lys Thr Leu Lys Ser Gln Ser Ser Ile Ser Ser Thr Leu Pro
 20 25 30

Phe Ser Thr Pro Pro Lys Thr Pro Thr Pro Leu Phe His Arg Pro Leu
 35 40 45

Gln Ile Ser Ser Ser Gln Ser His Lys Ser Ser Ala Ile Lys Thr Gln
 50 55 60

Thr Gln Ala Pro Ser Ser Pro Ala Ile Glu Asp Ser Ser Phe Val Ser
 65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Asp Glu Pro Arg Lys Gly Ser Asp Val Leu Val Glu
 85 90 95

Ala Leu Glu Arg Glu Gly Val Thr Asn Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly
 100 105 110

Ala Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser Lys Thr Ile Arg
 115 120 125

Asn Val Leu Pro Arg His Glu Gln Gly Gly Val Phe Ala Ala Glu Gly
 130 135 140

Tyr Ala Arg Ala Thr Gly Lys Val Gly Val Cys Ile Ala Thr Ser Gly
 145 150 155 160

MD 4571 B1 2018.06.30

43

Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Gly Leu Ala Asp Ala Leu Leu Asp
165 170 175

Ser Val Pro Leu Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Pro Arg Arg Met Ile
180 185 190

Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu Val Thr Arg Ser
195 200 205

Ile Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Leu Asp Val Glu Asp Ile Pro Arg
210 215 220

Ile Val Lys Glu Ala Phe Phe Leu Ala Asn Ser Gly Arg Pro Gly Pro
225 230 235 240

Val Leu Ile Asp Leu Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln Leu Val Val Pro
245 250 255

Asp Trp Asp Arg Pro Phe Lys Leu Gly Gly Tyr Met Ser Arg Leu Pro
260 265 270

Lys Ser Lys Phe Ser Thr Asn Glu Val Gly Leu Leu Glu Gln Ile Val
275 280 285

Arg Leu Met Ser Glu Ser Lys Lys Pro Val Leu Tyr Val Gly Gly Gly
290 295 300

Cys Leu Asn Ser Ser Glu Glu Leu Arg Arg Phe Val Glu Leu Thr Gly
305 310 315 320

Ile Pro Val Ala Ser Thr Leu Met Gly Leu Gly Ser Tyr Pro Cys Asn
325 330 335

Asp Glu Leu Ser Leu His Met Leu Gly Met His Gly Thr Val Tyr Ala
340 345 350

Asn Tyr Ala Val Asp Lys Ala Asp Leu Leu Leu Ala Phe Gly Val Arg
355 360 365

Phe Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Leu Glu Ala Phe Ala Ser Arg Ala
370 375 380

Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Ser Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys
385 390 395 400

Gln Pro His Val Ser Ile Cys Ala Asp Val Lys Leu Ala Leu Arg Gly
405 410 415

Met Asn Lys Ile Leu Glu Ser Arg Ile Gly Lys Leu Asn Leu Asp Phe
420 425 430

Ser Lys Trp Arg Glu Glu Leu Gly Glu Gln Lys Lys Glu Phe Pro Leu
435 440 445

Ser Phe Lys Thr Phe Gly Asp Ala Ile Pro Pro Gln Tyr Ala Ile Gln
450 455 460

MD 4571 B1 2018.06.30

44

Val Leu Asp Glu Leu Thr Asn Gly Asn Ala Ile Ile Ser Thr Gly Val
465 470 475 480

Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln His Tyr Lys Tyr Arg Asn Pro
485 490 495

Arg Gln Trp Leu Thr Ser Gly Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu
500 505 510

Pro Ala Ala Ile Gly Ala Ala Val Ala Arg Pro Asp Ala Val Val Val
515 520 525

Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Ile Met Asn Val Gln Glu Leu Ala
530 535 540

Thr Ile Arg Val Glu Asn Leu Pro Val Lys Ile Met Leu Leu Asn Asn
545 550 555 560

Gln His Leu Gly Met Val Val Gln Leu Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala
565 570 575

Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asn Pro Ser Lys Ser Ala Asp Ile
580 585 590

Phe Pro Asp Met Leu Lys Phe Ala Glu Ala Cys Asp Ile Pro Ser Ala
595 600 605

Arg Val Ser Asn Val Ala Asp Leu Arg Ala Ala Ile Gln Thr Met Leu
610 615 620

Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Val Ile Val Pro His Gln Glu
625 630 635 640

His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Ala Gly Phe Lys Asp Thr Ile
645 650 655

Thr Glu Gly Asp Gly Arg Thr Ser
660

<210> 5
<211> 1995
<212> DNA
<213> Beta vulgaris

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1994)
<223> Pro Mutant

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1995)

<400> 5
atg gcg gct acc ttc aca aac cca aca ttt tcc cct tcc tca act cca 48
Met Ala Ala Thr Phe Thr Asn Pro Thr Phe Ser Pro Ser Ser Thr Pro
1 5 10 15

tta acc aaa acc cta aaa tcc caa tct tcc atc tct tca acc ctc ccc 96
Leu Thr Lys Thr Leu Lys Ser Gln Ser Ser Ile Ser Ser Thr Leu Pro

MD 4571 B1 2018.06.30

45

	20		25		30	
ttt tcc acc cct ccc aaa acc cca act cca ctc ttt cac cgt ccc ctc						144
Phe Ser Thr Pro Pro Lys Thr Pro Thr Pro Leu Phe His Arg Pro Leu	35		40		45	
caa atc tca tcc tcc caa tcc cac aaa tca tcc gcc att aaa aca caa						192
Gln Ile Ser Ser Ser Gln Ser His Lys Ser Ser Ala Ile Lys Thr Gln	50		55		60	
act caa gca cct tct tct cca gct att gaa gat tca tct ttc gtt tct						240
Thr Gln Ala Pro Ser Ser Pro Ala Ile Glu Asp Ser Ser Phe Val Ser	65		70		75	80
cga ttt ggc cct gat gaa ccc aga aaa ggg tcc gat gtc ctc gtt gaa						288
Arg Phe Gly Pro Asp Glu Pro Arg Lys Gly Ser Asp Val Leu Val Glu	85		90		95	
gct ctt gag cgt gaa ggt gtt acc aat gtg ttt gct tac cct ggt ggt						336
Ala Leu Glu Arg Glu Gly Val Thr Asn Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly	100		105		110	
gca tct atg gaa atc cac caa gct ctc aca cgc tct aaa acc atc cgc						384
Ala Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser Lys Thr Ile Arg	115		120		125	
aat gtc ctc cct cgc cat gaa caa ggc ggg gtt ttc gcc gcc gag gga						432
Asn Val Leu Pro Arg His Glu Gln Gly Gly Val Phe Ala Ala Glu Gly	130		135		140	
tat gct aga gct act gga aag gtt ggt gtc tgc att gcg act tct ggt						480
Tyr Ala Arg Ala Thr Gly Lys Val Gly Val Cys Ile Ala Thr Ser Gly	145		150		155	160
cct ggt gct acc aac ctc gta tca ggt ctt gct gac gct ctc ctt gat						528
Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Gly Leu Ala Asp Ala Leu Leu Asp	165		170		175	
tct gtc cct ctt gtt gcc atc act ggc caa gtt tca cgc cgt atg att						576
Ser Val Pro Leu Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Ser Arg Arg Met Ile	180		185		190	
ggc act gat gct ttt cag gag act cca att gtt gag gtg aca agg tct						624
Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu Val Thr Arg Ser	195		200		205	
att act aag cat aat tat tta gtt ttg gat gta gag gat att cct aga						672
Ile Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Leu Asp Val Glu Asp Ile Pro Arg	210		215		220	
att gtt aag gaa gcc ttt ttt tta gct aat tct ggt agg cct gga cct						720
Ile Val Lys Glu Ala Phe Phe Leu Ala Asn Ser Gly Arg Pro Gly Pro	225		230		235	240
gtt ttg att gat ctt cct aaa gat att cag cag caa ttg gtt gtt cct						768
Val Leu Ile Asp Leu Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln Leu Val Val Pro	245		250		255	
gat tgg gat agg cct ttt aag ttg ggt ggg tat atg tct agg ctg cca						816
Asp Trp Asp Arg Pro Phe Lys Leu Gly Gly Tyr Met Ser Arg Leu Pro	260		265		270	
aag tcc aag ttt tcc acg aat gag gtt gga ctt ctt gag cag att gtg						864
Lys Ser Lys Phe Ser Thr Asn Glu Val Gly Leu Leu Glu Gln Ile Val	275		280		285	
agg ttg atg agt gag tcc aag aag cct gtc ttg tat gtg gga ggt ggg						912
Arg Leu Met Ser Glu Ser Lys Lys Pro Val Leu Tyr Val Gly Gly Gly	290		295		300	
tgt ttg aat tct agt gag gag ttg agg aga ttt gtt gag ttg aca ggg						960
Cys Leu Asn Ser Ser Glu Glu Leu Arg Arg Phe Val Glu Leu Thr Gly	305		310		315	320
att ccg gtg gct agt act ttg atg ggg ttg ggg tct tac cct tgt aat						1008

MD 4571 B1 2018.06.30

46

Ile	Pro	Val	Ala	Ser	Thr	Leu	Met	Gly	Leu	Gly	Ser	Tyr	Pro	Cys	Asn		
				325					330					335			
gat	gaa	ctg	tct	ctt	cat	atg	ttg	ggg	atg	cac	ggg	act	gtt	tat	gcc		1056
Asp	Glu	Leu	Ser	Leu	His	Met	Leu	Gly	Met	His	Gly	Thr	Val	Tyr	Ala		
			340					345					350				
aat	tat	gcg	gtg	gat	aag	gcg	gat	ttg	ttg	ctt	gct	ttc	ggg	gtt	agg		1104
Asn	Tyr	Ala	Val	Asp	Lys	Ala	Asp	Leu	Leu	Leu	Ala	Phe	Gly	Val	Arg		
		355					360					365					
ttt	gat	gat	cgt	gtg	acc	ggg	aag	ctc	gag	gcg	ttt	gct	agc	cgt	gct		1152
Phe	Asp	Asp	Arg	Val	Thr	Gly	Lys	Leu	Glu	Ala	Phe	Ala	Ser	Arg	Ala		
	370					375					380						
aag	att	gtg	cat	att	gat	att	gac	tct	gct	gag	att	ggg	aag	aac	aag		1200
Lys	Ile	Val	His	Ile	Asp	Ile	Asp	Ser	Ala	Glu	Ile	Gly	Lys	Asn	Lys		
	385				390					395				400			
cag	ccc	cat	gtg	tcc	att	tgt	gct	gat	gtt	aaa	ttg	gca	ttg	cgg	ggt		1248
Gln	Pro	His	Val	Ser	Ile	Cys	Ala	Asp	Val	Lys	Leu	Ala	Leu	Arg	Gly		
			405						410					415			
atg	aat	aag	att	ctg	gag	tct	aga	ata	ggg	aag	ctg	aat	ttg	gat	ttc		1296
Met	Asn	Lys	Ile	Leu	Glu	Ser	Arg	Ile	Gly	Lys	Leu	Asn	Leu	Asp	Phe		
			420				425						430				
tcc	aag	tgg	aga	gaa	gaa	tta	ggt	gag	cag	aag	aag	gaa	ttc	cca	ctg		1344
Ser	Lys	Trp	Arg	Glu	Glu	Leu	Gly	Glu	Gln	Lys	Lys	Glu	Phe	Pro	Leu		
	435						440					445					
agt	ttt	aag	aca	ttt	ggg	gat	gca	att	cct	cca	caa	tat	gcc	att	cag		1392
Ser	Phe	Lys	Thr	Phe	Gly	Asp	Ala	Ile	Pro	Pro	Gln	Tyr	Ala	Ile	Gln		
	450				455						460						
gtg	ctt	gat	gag	ttg	acc	aat	ggt	aat	gct	att	ata	agt	act	ggt	gtt		1440
Val	Leu	Asp	Glu	Leu	Thr	Asn	Gly	Asn	Ala	Ile	Ile	Ser	Thr	Gly	Val		
	465				470				475					480			
ggg	cag	cac	caa	atg	tgg	gct	gcg	cag	cat	tac	aag	tac	aga	aac	cct		1488
Gly	Gln	His	Gln	Met	Trp	Ala	Ala	Gln	His	Tyr	Lys	Tyr	Arg	Asn	Pro		
			485						490					495			
cgc	caa	tgg	ctg	acc	tct	ggt	ggg	ttg	ggg	gct	atg	ggg	ttt	ggg	cta		1536
Arg	Gln	Trp	Leu	Thr	Ser	Gly	Gly	Leu	Gly	Ala	Met	Gly	Phe	Gly	Leu		
			500					505					510				
cca	gcc	gcc	att	gga	gct	gca	gtt	gct	cga	cca	gat	gca	gtg	gtt	gtc		1584
Pro	Ala	Ala	Ile	Gly	Ala	Ala	Val	Ala	Arg	Pro	Asp	Ala	Val	Val	Val		
	515						520					525					
gat	att	gat	ggg	gat	ggc	agt	ttt	att	atg	aat	gtt	caa	gag	ttg	gct		1632
Asp	Ile	Asp	Gly	Asp	Gly	Ser	Phe	Ile	Met	Asn	Val	Gln	Glu	Leu	Ala		
	530					535					540						
aca	att	agg	gtg	gaa	aat	ctc	cca	gtt	aag	ata	atg	ctg	cta	aac	aat		1680
Thr	Ile	Arg	Val	Glu	Asn	Leu	Pro	Val	Lys	Ile	Met	Leu	Leu	Asn	Asn		
	545				550					555				560			
caa	cat	tta	ggt	atg	gtt	gtc	caa	tgg	gaa	gat	agg	ttc	tat	aaa	gct		1728
Gln	His	Leu	Gly	Met	Val	Val	Gln	Trp	Glu	Asp	Arg	Phe	Tyr	Lys	Ala		
			565						570					575			
aac	cgg	gca	cat	aca	tac	ctt	gga	aac	cct	tcc	aaa	tct	gct	gat	atc		1776
Asn	Arg	Ala	His	Thr	Tyr	Leu	Gly	Asn	Pro	Ser	Lys	Ser	Ala	Asp	Ile		
			580					585					590				
ttc	cct	gat	atg	ctc	aaa	ttc	gct	gag	gca	tgt	gat	att	cct	tct	gcc		1824
Phe	Pro	Asp	Met	Leu	Lys	Phe	Ala	Glu	Ala	Cys	Asp	Ile	Pro	Ser	Ala		
		595					600					605					
cgt	gtt	agc	aac	gtg	gct	gat	ttg	agg	gcc	gcc	att	caa	aca	atg	ttg		1872
Arg	Val	Ser	Asn	Val	Ala	Asp	Leu	Arg	Ala	Ala	Ile	Gln	Thr	Met	Leu		
	610						615					620					

MD 4571 B1 2018.06.30

47

gat act cca ggg ccg tac ctg ctc gat gtg att gta ccg cat caa gag 1920
 Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Val Ile Val Pro His Gln Glu
 625 630 635 640

cat gtg ttg cct atg att cca agt ggt gcc ggt ttc aag gat acc att 1968
 His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Ala Gly Phe Lys Asp Thr Ile
 645 650 655

aca gag ggt gat gga aga acc tct taa 1995
 Thr Glu Gly Asp Gly Arg Thr Ser
 660

<210> 6
 <211> 664
 <212> PRT
 <213> Beta vulgaris

<400> 6

Met Ala Ala Thr Phe Thr Asn Pro Thr Phe Ser Pro Ser Ser Thr Pro
 1 5 10 15

Leu Thr Lys Thr Leu Lys Ser Gln Ser Ser Ile Ser Ser Thr Leu Pro
 20 25 30

Phe Ser Thr Pro Pro Lys Thr Pro Thr Pro Leu Phe His Arg Pro Leu
 35 40 45

Gln Ile Ser Ser Ser Gln Ser His Lys Ser Ser Ala Ile Lys Thr Gln
 50 55 60

Thr Gln Ala Pro Ser Ser Pro Ala Ile Glu Asp Ser Ser Phe Val Ser
 65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Asp Glu Pro Arg Lys Gly Ser Asp Val Leu Val Glu
 85 90 95

Ala Leu Glu Arg Glu Gly Val Thr Asn Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly
 100 105 110

Ala Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser Lys Thr Ile Arg
 115 120 125

Asn Val Leu Pro Arg His Glu Gln Gly Gly Val Phe Ala Ala Glu Gly
 130 135 140

Tyr Ala Arg Ala Thr Gly Lys Val Gly Val Cys Ile Ala Thr Ser Gly
 145 150 155 160

Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Gly Leu Ala Asp Ala Leu Leu Asp
 165 170 175

Ser Val Pro Leu Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Ser Arg Arg Met Ile
 180 185 190

Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu Val Thr Arg Ser
 195 200 205

Ile Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Leu Asp Val Glu Asp Ile Pro Arg
 210 215 220

MD 4571 B1 2018.06.30

48

Ile Val Lys Glu Ala Phe Phe Leu Ala Asn Ser Gly Arg Pro Gly Pro
225 230 235 240

Val Leu Ile Asp Leu Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln Leu Val Val Pro
245 250 255

Asp Trp Asp Arg Pro Phe Lys Leu Gly Gly Tyr Met Ser Arg Leu Pro
260 265 270

Lys Ser Lys Phe Ser Thr Asn Glu Val Gly Leu Leu Glu Gln Ile Val
275 280 285

Arg Leu Met Ser Glu Ser Lys Lys Pro Val Leu Tyr Val Gly Gly Gly
290 295 300

Cys Leu Asn Ser Ser Glu Glu Leu Arg Arg Phe Val Glu Leu Thr Gly
305 310 315 320

Ile Pro Val Ala Ser Thr Leu Met Gly Leu Gly Ser Tyr Pro Cys Asn
325 330 335

Asp Glu Leu Ser Leu His Met Leu Gly Met His Gly Thr Val Tyr Ala
340 345 350

Asn Tyr Ala Val Asp Lys Ala Asp Leu Leu Leu Ala Phe Gly Val Arg
355 360 365

Phe Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Leu Glu Ala Phe Ala Ser Arg Ala
370 375 380

Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Ser Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys
385 390 395 400

Gln Pro His Val Ser Ile Cys Ala Asp Val Lys Leu Ala Leu Arg Gly
405 410 415

Met Asn Lys Ile Leu Glu Ser Arg Ile Gly Lys Leu Asn Leu Asp Phe
420 425 430

Ser Lys Trp Arg Glu Glu Leu Gly Glu Gln Lys Lys Glu Phe Pro Leu
435 440 445

Ser Phe Lys Thr Phe Gly Asp Ala Ile Pro Pro Gln Tyr Ala Ile Gln
450 455 460

Val Leu Asp Glu Leu Thr Asn Gly Asn Ala Ile Ile Ser Thr Gly Val
465 470 475 480

Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln His Tyr Lys Tyr Arg Asn Pro
485 490 495

Arg Gln Trp Leu Thr Ser Gly Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu
500 505 510

Pro Ala Ala Ile Gly Ala Ala Val Ala Arg Pro Asp Ala Val Val Val
515 520 525

MD 4571 B1 2018.06.30

49

Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Ile Met Asn Val Gln Glu Leu Ala
530 535 540

Thr Ile Arg Val Glu Asn Leu Pro Val Lys Ile Met Leu Leu Asn Asn
545 550 555 560

Gln His Leu Gly Met Val Val Gln Trp Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala
565 570 575

Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asn Pro Ser Lys Ser Ala Asp Ile
580 585 590

Phe Pro Asp Met Leu Lys Phe Ala Glu Ala Cys Asp Ile Pro Ser Ala
595 600 605

Arg Val Ser Asn Val Ala Asp Leu Arg Ala Ala Ile Gln Thr Met Leu
610 615 620

Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Val Ile Val Pro His Gln Glu
625 630 635 640

His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Ala Gly Phe Lys Asp Thr Ile
645 650 655

Thr Glu Gly Asp Gly Arg Thr Ser
660

<210> 7
<211> 1995
<212> DNA
<213> Beta vulgaris

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)..(1994)
<223> 4D6834 a12 WT

<220>
<221> CDS
<222> (1)..(1995)

<400> 7
atg gcg gct acc ttc aca aac cca aca ttt tcc cct tcc tca act caa 48
Met Ala Ala Thr Phe Thr Asn Pro Thr Phe Ser Pro Ser Ser Thr Gln
1 5 10 15
tta acc aaa acc cta aaa tcc caa tct tcc att tct tca acc ctc ccc 96
Leu Thr Lys Thr Leu Lys Ser Gln Ser Ser Ile Ser Ser Thr Leu Pro
20 25 30
ttt tcc acc cct ccc aaa acc cca act cca ctc ttt cac cgt ccc ctc 144
Phe Ser Thr Pro Pro Lys Thr Pro Thr Pro Leu Phe His Arg Pro Leu
35 40 45
caa atc tca tcc tcc caa tcc cac aaa tca tcc gcc att aaa aca caa 192
Gln Ile Ser Ser Ser Gln Ser His Lys Ser Ser Ala Ile Lys Thr Gln
50 55 60
act caa gca cct tct tct cca gct att gaa gat tca tct ttc gtt tct 240
Thr Gln Ala Pro Ser Ser Pro Ala Ile Glu Asp Ser Ser Phe Val Ser
65 70 75 80
cga ttt ggc cct gat gaa ccc aga aaa ggg tcc gat gtc ctc gtt gaa 288

MD 4571 B1 2018.06.30

50

Arg	Phe	Gly	Pro	Asp 85	Glu	Pro	Arg	Lys	Gly 90	Ser	Asp	Val	Leu	Val 95	Glu	
gct	ctt	gag	cgt	gaa	ggt	gtt	acc	aat	gtg	ttt	gct	tac	cct	ggt	ggt	336
Ala	Leu	Glu	Arg 100	Glu	Gly	Val	Thr	Asn 105	Val	Phe	Ala	Tyr	Pro 110	Gly	Gly	
gca	tct	atg	gaa	atc	cac	caa	gct	ctg	acg	cgc	tct	aaa	acc	atc	cgc	384
Ala	Ser	Met 115	Glu	Ile	His	Gln	Ala 120	Leu	Thr	Arg	Ser	Lys 125	Thr	Ile	Arg	
aat	gtc	ctc	ccc	cgc	cat	gaa	caa	ggc	ggg	gtt	ttc	gcc	gcc	gag	gga	432
Asn	Val	Leu 130	Pro	Arg	His	Glu 135	Gln	Gly	Gly	Val	Phe	Ala	Ala	Glu	Gly	
tat	gct	aga	gct	act	gga	aag	gtt	ggt	gtc	tgc	att	gcg	act	tct	ggt	480
Tyr	Ala	Arg	Ala	Thr	Gly 150	Lys	Val	Gly	Val	Cys 155	Ile	Ala	Thr	Ser	Gly 160	
cct	ggt	gct	acc	aac	ctc	gta	tca	ggt	ctt	gct	gac	gct	ctc	ctt	gat	528
Pro	Gly	Ala	Thr 165	Asn	Leu	Val	Ser	Gly 170	Leu	Ala	Asp	Ala	Leu	Leu	Asp 175	
tct	gtc	cct	ctt	gtt	gcc	atc	act	ggc	caa	gtt	cca	cgc	cgt	atg	att	576
Ser	Val	Pro 180	Leu	Val	Ala	Ile	Thr	Gly 185	Gln	Val	Pro	Arg	Arg 190	Met	Ile	
ggc	act	gat	gct	ttt	cag	gag	act	cca	att	gtt	gag	gta	aca	agg	tct	624
Gly	Thr	Asp 195	Ala	Phe	Gln	Glu	Thr 200	Pro	Ile	Val	Glu	Val	Thr	Arg	Ser	
att	act	aag	cat	aat	tat	ttg	gtt	ttg	gat	gta	gaa	gat	att	cct	aga	672
Ile	Thr	Lys 210	His	Asn	Tyr 215	Leu	Val	Leu	Asp	Val	Glu	Asp 220	Ile	Pro	Arg	
att	gtt	aag	gaa	gcc	ttt	ttt	tta	gct	aat	tct	ggc	agg	cct	gga	cct	720
Ile	Val	Lys 225	Glu	Ala	Phe 230	Phe	Leu	Ala	Asn	Ser 235	Gly	Arg	Pro	Gly	Pro 240	
gtt	ttg	att	gat	ctt	cct	aaa	gat	att	cag	cag	caa	ctg	gtt	gtt	cct	768
Val	Leu	Ile 245	Asp	Leu	Pro	Lys	Asp	Ile 250	Gln	Gln	Gln	Leu	Val	Val	Pro 255	
gat	tgg	gat	agg	cct	ttt	aag	ttg	ggt	ggg	tat	atg	tct	agg	ctg	cca	816
Asp	Trp	Asp 260	Arg	Pro	Phe	Lys	Leu	Gly 265	Gly	Tyr	Met	Ser	Arg 270	Leu	Pro	
aag	tcc	aag	ttt	tcg	acg	aat	gag	gtt	gga	ctt	ctt	gag	cag	att	gtg	864
Lys	Ser	Lys 275	Phe	Ser	Thr	Asn	Glu	Val 280	Gly	Leu	Leu	Glu	Gln	Ile	Val	
agg	ttg	atg	agt	gag	tcg	aag	aag	cct	gtc	ttg	tat	gtg	gga	ggt	ggg	912
Arg	Leu	Met 290	Ser	Glu	Ser	Lys	Lys	Pro 295	Val	Leu	Tyr	Val	Gly	Gly	Gly	
tgt	ttg	aat	tct	agt	gag	gag	ttg	agg	aga	ttt	gtt	gag	ttg	aca	ggg	960
Cys	Leu	Asn 305	Ser	Ser	Glu	Glu	Leu	Arg 310	Arg	Phe	Val	Glu	Leu	Thr	Gly 320	
att	cgg	gtg	gct	agt	act	ttg	atg	ggg	ttg	ggg	tct	tac	cct	tgt	aat	1008
Ile	Pro	Val 325	Ala	Ser	Thr	Leu	Met	Gly 330	Leu	Gly	Ser	Tyr	Pro	Cys	Asn 335	
gat	gaa	ctg	tct	ctt	cat	atg	ttg	ggg	atg	cac	ggg	act	gtt	tat	gcc	1056
Asp	Glu	Leu 340	Ser	Leu	His	Met	Leu	Gly 345	Met	His	Gly	Thr	Val	Tyr	Ala	
aat	tat	gcg	gtg	gat	aag	gcg	gat	ttg	ttg	ctt	gct	ttc	ggg	gtt	agg	1104
Asn	Tyr	Ala 355	Val	Asp	Lys	Ala	Asp	Leu 360	Leu	Leu	Ala	Phe	Gly	Val	Arg	
ttt	gat	gat	cgt	gtg	act	ggg	aag	ctc	gag	gcg	ttt	gct	agc	cgt	gct	1152
Phe	Asp	Asp 370	Arg	Val	Thr	Gly	Lys	Leu 375	Glu	Ala	Phe	Ala	Ser	Arg	Ala	

MD 4571 B1 2018.06.30

51

aag att gtg cat att gat att gac tct gct gag att ggg aag aac aag 1200
 Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Ser Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys
 385 390 395 400

cag ccc cat gtg tcc att tgt gct gat gtt aaa ttg gca ttg cgg ggt 1248
 Gln Pro His Val Ser Ile Cys Ala Asp Val Lys Leu Ala Leu Arg Gly
 405 410 415

atg aat aag att ctg gag tct aga ata ggg aag ctg aat ttg gat ttc 1296
 Met Asn Lys Ile Leu Glu Ser Arg Ile Gly Lys Leu Asn Leu Asp Phe
 420 425 430

tcc agg tgg aga gaa gaa tta ggt gag cag aag aag gaa ttc cca ctg 1344
 Ser Arg Trp Arg Glu Glu Leu Gly Glu Gln Lys Lys Glu Phe Pro Leu
 435 440 445

agt ttt aag aca ttt ggg gat gca atc cct cca caa tat gcc att cag 1392
 Ser Phe Lys Thr Phe Gly Asp Ala Ile Pro Pro Gln Tyr Ala Ile Gln
 450 455 460

gtg ctt gat gag ttg acc aat ggt aat gct att ata agt act ggt gtt 1440
 Val Leu Asp Glu Leu Thr Asn Gly Asn Ala Ile Ile Ser Thr Gly Val
 465 470 475 480

ggg cag cac caa atg tgg gct gcg cag cat tac aag tac aga aac cct 1488
 Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln His Tyr Lys Tyr Arg Asn Pro
 485 490 495

cgc caa tgg ctg acc tct ggt ggg ttg ggg gct atg ggg ttt ggg cta 1536
 Arg Gln Trp Leu Thr Ser Gly Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu
 500 505 510

cca gcc gcc att gga gct gca gtt gct cga cca gat gca gtg gtt gtc 1584
 Pro Ala Ala Ile Gly Ala Ala Val Ala Arg Pro Asp Ala Val Val Val
 515 520 525

gat att gat ggg gat ggc agt ttt att atg aat gtt caa gag ttg gct 1632
 Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Ile Met Asn Val Gln Glu Leu Ala
 530 535 540

aca att agg gtg gaa aat ctc cca gtt aag ata atg ctg cta aac aat 1680
 Thr Ile Arg Val Glu Asn Leu Pro Val Lys Ile Met Leu Leu Asn Asn
 545 550 555 560

caa cat tta ggt atg gtt gtc caa tgg gaa gat agg ttc tat aaa gct 1728
 Gln His Leu Gly Met Val Val Gln Trp Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala
 565 570 575

aat cgg gca cat aca tac ctt gga aac cct tcc aaa tct gct gat atc 1776
 Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asn Pro Ser Lys Ser Ala Asp Ile
 580 585 590

ttc cct gat atg ctc aaa ttc gct gag gca tgt gat att cct tct gcc 1824
 Phe Pro Asp Met Leu Lys Phe Ala Glu Ala Cys Asp Ile Pro Ser Ala
 595 600 605

cgt gtt agc aac gtg gct gat ttg agg gcc gcc att caa aca atg ttg 1872
 Arg Val Ser Asn Val Ala Asp Leu Arg Ala Ala Ile Gln Thr Met Leu
 610 615 620

gat act cca ggg ccg tac ctg ctc gat gtg att gta ccg cat caa gag 1920
 Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Val Ile Val Pro His Gln Glu
 625 630 635 640

cat gtg ttg cct atg att cca agt ggt gcc ggt ttc aag gat acc att 1968
 His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Ala Gly Phe Lys Asp Thr Ile
 645 650 655

aca gag ggt gat gga aga acc tct taa 1995
 Thr Glu Gly Asp Gly Arg Thr Ser
 660

<210> 8
 <211> 664

MD 4571 B1 2018.06.30

52

<212> PRT

<213> Beta vulgaris

<400> 8

Met Ala Ala Thr Phe Thr Asn Pro Thr Phe Ser Pro Ser Ser Thr Gln
1 5 10 15

Leu Thr Lys Thr Leu Lys Ser Gln Ser Ser Ile Ser Ser Thr Leu Pro
20 25 30

Phe Ser Thr Pro Pro Lys Thr Pro Thr Pro Leu Phe His Arg Pro Leu
35 40 45

Gln Ile Ser Ser Ser Gln Ser His Lys Ser Ser Ala Ile Lys Thr Gln
50 55 60

Thr Gln Ala Pro Ser Ser Pro Ala Ile Glu Asp Ser Ser Phe Val Ser
65 70 75 80

Arg Phe Gly Pro Asp Glu Pro Arg Lys Gly Ser Asp Val Leu Val Glu
85 90 95

Ala Leu Glu Arg Glu Gly Val Thr Asn Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly
100 105 110

Ala Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser Lys Thr Ile Arg
115 120 125

Asn Val Leu Pro Arg His Glu Gln Gly Gly Val Phe Ala Ala Glu Gly
130 135 140

Tyr Ala Arg Ala Thr Gly Lys Val Gly Val Cys Ile Ala Thr Ser Gly
145 150 155 160

Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Gly Leu Ala Asp Ala Leu Leu Asp
165 170 175

Ser Val Pro Leu Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Pro Arg Arg Met Ile
180 185 190

Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu Val Thr Arg Ser
195 200 205

Ile Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Leu Asp Val Glu Asp Ile Pro Arg
210 215 220

Ile Val Lys Glu Ala Phe Phe Leu Ala Asn Ser Gly Arg Pro Gly Pro
225 230 235 240

Val Leu Ile Asp Leu Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln Leu Val Val Pro
245 250 255

Asp Trp Asp Arg Pro Phe Lys Leu Gly Gly Tyr Met Ser Arg Leu Pro
260 265 270

Lys Ser Lys Phe Ser Thr Asn Glu Val Gly Leu Leu Glu Gln Ile Val
275 280 285

MD 4571 B1 2018.06.30

53

Arg Leu Met Ser Glu Ser Lys Lys Pro Val Leu Tyr Val Gly Gly Gly
290 295 300

Cys Leu Asn Ser Ser Glu Glu Leu Arg Arg Phe Val Glu Leu Thr Gly
305 310 315 320

Ile Pro Val Ala Ser Thr Leu Met Gly Leu Gly Ser Tyr Pro Cys Asn
325 330 335

Asp Glu Leu Ser Leu His Met Leu Gly Met His Gly Thr Val Tyr Ala
340 345 350

Asn Tyr Ala Val Asp Lys Ala Asp Leu Leu Leu Ala Phe Gly Val Arg
355 360 365

Phe Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Leu Glu Ala Phe Ala Ser Arg Ala
370 375 380

Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Ser Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys
385 390 400

Gln Pro His Val Ser Ile Cys Ala Asp Val Lys Leu Ala Leu Arg Gly
405 410 415

Met Asn Lys Ile Leu Glu Ser Arg Ile Gly Lys Leu Asn Leu Asp Phe
420 425 430

Ser Arg Trp Arg Glu Glu Leu Gly Glu Gln Lys Lys Glu Phe Pro Leu
435 440 445

Ser Phe Lys Thr Phe Gly Asp Ala Ile Pro Pro Gln Tyr Ala Ile Gln
450 455 460

Val Leu Asp Glu Leu Thr Asn Gly Asn Ala Ile Ile Ser Thr Gly Val
465 470 475 480

Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln His Tyr Lys Tyr Arg Asn Pro
485 490 495

Arg Gln Trp Leu Thr Ser Gly Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu
500 505 510

Pro Ala Ala Ile Gly Ala Ala Val Ala Arg Pro Asp Ala Val Val Val
515 520 525

Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Ile Met Asn Val Gln Glu Leu Ala
530 535 540

Thr Ile Arg Val Glu Asn Leu Pro Val Lys Ile Met Leu Leu Asn Asn
545 550 555 560

Gln His Leu Gly Met Val Val Gln Trp Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala
565 570 575

Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asn Pro Ser Lys Ser Ala Asp Ile

MD 4571 B1 2018.06.30

54

580

585

590

Phe Pro Asp Met Leu Lys Phe Ala Glu Ala Cys Asp Ile Pro Ser Ala
595 600 605

Arg Val Ser Asn Val Ala Asp Leu Arg Ala Ala Ile Gln Thr Met Leu
610 615 620

Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Val Ile Val Pro His Gln Glu
625 630 635 640

His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Ala Gly Phe Lys Asp Thr Ile
645 650 655

Thr Glu Gly Asp Gly Arg Thr Ser
660

