

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 483 916**

51 Int. Cl.:

**C07K 14/415** (2006.01)

**C12N 15/82** (2006.01)

**A01H 5/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.04.2008 E 08736917 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.05.2014 EP 2158212**

54 Título: **RHD6 y su uso en la modulación del desarrollo del pelo radicular en plantas**

30 Prioridad:

**22.05.2007 GB 0709835**

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

**08.08.2014**

73 Titular/es:

**PLANT BIOSCIENCE LIMITED (100.0%)  
NORWICH RESEARCH PARK, COLNEY LANE  
NORWICH, NORFOLK NR4 7UH, GB**

72 Inventor/es:

**DOLAN, LIAM;  
MENAND, BENOIT y  
YI, KEKE**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 483 916 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

RHD6 y su uso en la modulación del desarrollo del pelo radicular en plantas

5 **Campo de la invención**

Esta invención se refiere a la modulación del desarrollo del pelo radicular en plantas.

10 **Antecedentes de la invención**

10 En 1990, Schiefelbein y Somerville<sup>27</sup> publicaron un artículo describiendo su trabajo con mutantes de *Arabidopsis thaliana* en un esfuerzo para entender el control genético del desarrollo del pelo radicular. Examinaron raíces de 12.000 plántulas mutadas de *Arabidopsis*, lo que condujo a la identificación de más de 40 mutantes afectados en la morfogénesis del pelo radicular. Los mutantes se caracterizaron como pertenecientes a cuatro clases fenotípicas que se produjeron genéticamente a partir de mutaciones recesivas simples en cuatro genes distintos denominados *RHD1*, *RHDP*, *RHD3* y *RHD4*. Como resultado del análisis fenotípico de los mutantes y de los dobles mutantes homocigotos, se propuso un modelo para el desarrollo del pelo radicular, incluyendo las fases en las que normalmente se requieren los genes. El producto génico de *RHD1* parece ser necesario para una iniciación adecuada de los pelos radiculares, mientras que los productos génicos de *RHDS*, *RHD3* y *RHD4* parecen ser necesarios para la elongación normal del pelo. Estos autores llegaron a la conclusión de que los resultados obtenidos demostraban que el desarrollo del pelo radicular en *Arabidopsis* es factible para un análisis genético y puede demostrar que es un sistema de modelo útil para estudiar los mecanismos moleculares que dirigen la diferenciación celular en plantas.

25 En 1994, Masucci y Schefelbein<sup>7</sup> ampliaron aquellos resultados identificando otro mutante, el mutante *rhod6*, llegando a la conclusión de que la iniciación del pelo radicular en *Arabidopsis thaliana* proporciona un modelo para el estudio de la polaridad celular y su papel en la morfogénesis de las plantas. Observaron que los pelos radiculares normalmente emergen en el extremo apical de las células epidérmicas radiculares, lo que implica que estas células están polarizadas. Se caracterizó que el mutante *rhod6* mostraba tres defectos: (a) una reducción en el número de pelos radiculares, (b) un desplazamiento basal general en la zona de emergencia del pelo radicular, y (c) una frecuencia relativamente alta de células epidérmicas con múltiples pelos radiculares. Llegaron a la conclusión de que esos defectos implicaban al gen *RHD6* en la iniciación del pelo radicular e indican que *RHD6* se asocia normalmente con el establecimiento de, o en respuesta a, la polaridad de las células epidérmicas radiculares. También se descubrieron alteraciones similares en la zona de emergencia del pelo radicular, aunque menos extremas, en raíces del mutante *arx2*, resistente a auxina, etileno y ácido abscísico, y del mutante *etrl*, resistente al etileno. Los tres fenotipos mutantes de *rhod6* se rescataron cuando al medio de cultivo se añadió o bien auxina (ácido indoleacético) o bien un precursor del etileno (ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico). Los fenotipos de raíz de *rhod6* pudieron fenocopiarse tratando plántulas de tipo silvestre con un inhibidor de la ruta del etileno (aminoetoxivinilglicina). Estos resultados indican que *RHD6* está normalmente involucrado en dirigir la selección o ensamblaje del lugar de iniciación del pelo radicular mediante un proceso que implica auxina y etileno.

Los pelos radiculares desempeñan papeles importantes en la nutrición y captación de agua de las plantas. En la mayor parte de los suelos son importantes para la captación de fosfato y hierro. En condiciones de sequía, son importantes en la captación de otros nutrientes tales como nitratos. Por lo tanto, la manipulación de rasgos del pelo radicular será importante en desarrollo de cultivos que puedan extraer nutrientes de una manera eficaz del suelo. Hasta ahora, esto ha sido difícil ya que no se ha identificado ningún gen con una función limitada al pelo radicular.

El documento EP0803572B1 divulga la identificación, aislamiento, clonación y caracterización del gen *CPC* de *Arabidopsis thaliana*, para regular la iniciación de la formación del pelo radicular, así como plantas transgénicas que sobreexpresan el gen *CPC*. El gen *CPC* no es responsable de los fenotipos mutantes *rhod* descritos anteriormente. Esto se confirma, por ejemplo, en el documento US661749, así como en el documento EP0803572B1 en sí.

50 **Sumario de la invención**

55 La presente invención se refiere a un método para aumentar la longitud y/o longevidad de los pelos radiculares y/o el número de pelos radiculares en una planta que comprende:  
aumentar la expresión de un polipéptido relacionado con RHD6 incorporando un ácido nucleico heterólogo que codifica un polipéptido relacionado con RHD6 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con SEC ID N°: 1 en una célula de planta mediante transformación, expresando dicho ácido nucleico heterólogo en las células de dicha planta y regenerando la planta a partir de una o más células transformadas donde la longitud y/o longevidad de los pelos radiculares y/o el número de pelos radiculares está aumentado en relación a plantas control en las que la expresión del polipéptido relacionado con RHD6 no está aumentada. Se encontró que la sobreexpresión de los genes ROOT HAIR DEFECTIVE 6 (*RHD6*) (PELO RADICULAR DEFECTUOSO 6) en plantas alteraba el desarrollo del pelo radicular, por ejemplo dando lugar a plantas con mayor número de pelos radiculares así como con una longitud y/o longevidad aumentadas.  
65 Además, la sobreexpresión de una familia de genes distinta (genes *ROOT HAIR DEFECTIVE SIX LIKE1 (RSL)*,

*SIMILARES A PELO RADICULAR DEFECTUOSO 6*) produce un efecto similar. La modulación de la expresión de estos genes (denominados en conjunto "genes relacionados con RHD6") en plantas puede ser útil, por ejemplo, en la manipulación de rasgos del pelo radicular en varios grupos de especies de plantas (incluyendo cultivos) para mejorar su capacidad de extraer nutrientes del suelo.

5 También se describe y aísla un gen relacionado con el gen ROOT HAIR DEFECTIVE 6 (RHD6).

Los genes relacionados con *RHD6* incluyen tanto los genes *ROOT HAIR DEFECTIVE 6 (RHD6)* como los genes *ROOT HAIR DEFECTIVE SIX LIKE1 (RSL1)*, y homólogos funcionales de los mismos, como se describe en el presente documento. Los genes relacionados con *RHD6* incluyen genes capaces de complementar la mutación *rh6* en plantas.

También se describe un gen aislado que codifica una secuencia de aminoácidos codificada por el gen relacionado con *RHD6* o un producto génico que es suficientemente homólogo con este para permitir, en la producción del mismo en una célula mutante *rh6* una complementación funcional de dicha mutación. Además se describe un producto aislado de la expresión de un gen relacionado con *RHD6* aislado.

Además se describe un polinucleótido aislado el cual codifica un producto génico que comprende una secuencia de aminoácidos mostrada en las SEC ID Nos: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 a 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112 y 114.

Además se describe un polinucleótido aislado que tiene al menos un 40 % de identidad de secuencia de ácido nucleico con una o más de las SEC ID Nos: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 11, 113 y 115.

También se describen construcciones de expresión, células de plantas y plantas o progenie de plantas, incluyendo semillas, que comprenden un gen o polinucleótido relacionado con *RHD6* aislado descrito en el presente documento.

También se describe un método para modular el desarrollo del pelo radicular en una planta que comprende: aumentar la expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* en las células de dicha planta en relación con plantas control.

Un polipéptido relacionado con *RHD6* puede comprender, por ejemplo, una secuencia de aminoácidos mostrada en las SEC ID Nos: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 a 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112 y 114.

También se describe un método para mejorar la tolerancia de una planta a condiciones deficientes en nutrientes que comprende: aumentar la expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* en las células de dicha planta en relación con las plantas control.

Además se describe un método para aumentar la producción de un compuesto fitoquímico segregado por las raíces de una planta que comprende: aumentar la expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* en las células de una planta que produce el compuesto fitoquímico segregado por las raíces.

En algunas realizaciones, la expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* puede aumentarse en una planta mediante la expresión de un ácido nucleico heterólogo que codifica dicho polipéptido relacionado con *RHD6* en las células de dicha planta.

En algunas realizaciones de la divulgación, la expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* puede aumentarse en una planta mediante:  
cruzamiento de una primera y una segunda planta para producir una población de plantas progenitoras;  
determinación de la expresión del polipéptido relacionado con *RHD6* en las plantas de progenie en la población, e identificación de una planta progenitora en la población en la que la expresión del polipéptido relacionado con *RHD6* esté aumentada en relación con los controles.

En algunas realizaciones de la divulgación, la expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* puede aumentarse en una planta mediante:  
exposición de una población de plantas a un mutágeno,  
determinación de la expresión del polipéptido relacionado con *RHD6* en una o más plantas en dicha población, e; identificación de una planta con expresión aumentada del polipéptido relacionado con *RHD6*.

65

Las plantas identificadas como que tienen expresión aumentada del polipéptido relacionado con *RHD6* pueden propagarse sexual o asexualmente o cultivarse para producir descendencia o descendientes que muestren expresión aumentada del polipéptido relacionado con *RHD6*.

- 5 También se describe un método para producir una planta con desarrollo del pelo radicular alterado que comprende: incorporar un ácido nucleico heterólogo que altere la expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* en una célula de planta mediante transformación, y; regenerar la planta a partir de una o más células transformadas.
- 10 También se describe en el presente documento una planta producida mediante un método descrito en el presente documento que muestra desarrollo del pelo radicular alterado en relación con los controles.

### Breve descripción de las figuras

15 La Figura 1 muestra que *AtRHD6* es un regulador positivo del desarrollo de pelos radiculares en *Arabidopsis*. La Figura 1a muestra raíces de mutantes de *Atrhd6-1*, *Atrhd6-2* y *Atrhd6-3* con sus respectivos tipos silvestres y complementación del mutante *Atrhd6-3* con una fusión genómica *AtRHD6p::GFP:AtRHD6*. La Figura 1b muestra una imagen de fluorescencia de la fusión genómica *AtRHD6p::GFP:AtRHD6* en el fondo de *Atrhd6-3* que muestra la proteína AtRHD6 en núcleos de células pilosas. La Figura 1c muestra la expresión del gen potenciador trampa *GUS* en *Atrhd6-2* en una sección transversal de raíz. La Figura 1d muestra una vista longitudinal del montaje completo de la expresión del gen potenciador trampa *GUS* en *Atrhd6-2* y en diferentes fondos (*cpc*, *wer*, *ttg1* y *gl2*). H, célula pilosa; N, células no pilosas; C, corteza. Barras de escalas, 500  $\mu$ m (a), 50  $\mu$ m (b), 25  $\mu$ m (c) y 100  $\mu$ m (d).

25 La Figura 2 muestra que *AtRSL1* regula positivamente el desarrollo de pelos radiculares en *Arabidopsis*. La Figura 2a muestra raíces de TS (*Tipo Silvestre*), mutante simple *Atrhd6-3*, mutante simple *Atrsl1-1*, doble mutante *Atrhd6-3 Atrsl1-1* y doble mutante *Atrhd6-3 Atrsl1-1* que lleva el transgén *AtRSL1p::GFP:AtRSL1*. Las plantas se cultivaron en medio MS con sacarosa cubiertas con un disco de celofán para aumentar la producción de pelos radiculares en el mutante *Atrhd6-3*. La Figura 2b muestra una imagen de fluorescencia de la fusión genómica *AtRSL1p::GFP:AtRSL1* en el fondo de *Atrhd6-3 Atrsl1-1* que muestra la proteína ATRSL1 en núcleos de células pilosas. H, célula pilosa; N, células no pilosas. Barras de escala, 500  $\mu$ m (a) y 50  $\mu$ m (b).

35 La Figura 3 muestra la relación entre las proteínas RHD6-LIKE de *Arabidopsis* y *Physcomitrella*. El árbol es un árbol consenso estricto de 12 árboles más parsimoniosos generados usando el alineamiento de las secuencias de aminoácidos de los dominios de bHLH mostrados en las Tablas 1 y 2. Los genes de *Arabidopsis* utilizados son los miembros de la subfamilia VIIIc de bHLH, excepto AtIND (INDEHISCENTE)/At4g00120 que se usó como grupo externo y pertenece a la subfamilia VIIIb<sup>8,10, 26</sup> de bHLH. Las secuencias 1 a 7 de PpRSL de *Physcomitrella* se obtuvieron utilizando BLAST de la secuencia genómica de *Physcomitrella*. PpIND1 es una secuencia de *Physcomitrella* similar a AtIND y un supuesto miembro de la familia VIIIb en *Physcomitrella*. Los números son valores de inicio e indican un nivel de confianza del 82 % para la aparición del clado AtRHD6. Los corchetes indican el clado de AtRHD6 y el clado hermano.

45 La Figura 4 muestra que *PpRSL1* y *PpRSL2* controlan positivamente el desarrollo de células caulonemales y rizoides en *Physcomitrella* y *PpRSL1* y *AtRHD6* tienen una función molecular conservada. Las Figuras 4a y b muestran protonemas de dieciocho días de TS, mutantes simples *Pprsl1* y *Pprsl2* y dobles mutantes *Pprsl1 Pprsl2*, cultivados a partir de esporas en agar al 0,8 %. La Figura 4a muestra un protonema completo creciendo a partir de una sola espора. La Figura 4b muestra filamentos diseccionados del protonema mostrado en la Figura 4a. La Figura 4c muestra gametóforos de un mes aislados. La Figura 4d muestra raíces del mutante *Atrhd6-3* de *Arabidopsis* que lleva el transgén *35S::PpRSL1* comparado con raíces de TS y *Atrhd6-3*. ca, célula caulonemal; ch, célula cloronemal; rh, rizoide. Barras de escala, 1 mm (a), 100  $\mu$ m (b), 1 mm (c) y 500  $\mu$ m (d).

50 La Figura 5 muestra el fenotipo para los transformantes 35S::RHD6: la Figura 5A muestra *rhdl/rs1* de col-0 con 35S::RHD6; la Figura 5B muestra *rhdl/rs1* de col-0 con 35S::RHD6; la Figura 5C muestra *rhdl/rs1* con 35S::RHD6.

55 La Figura 6 muestra el fenotipo para los transformantes: 35S::RSL2 y 35S::RSL3. La Figura 6A muestra *rhdl/rs1* de col-0 con 35S::RSL2/3; la Figura 6B muestra hipocotilos de raíz.

60 La Figura 7 muestra la base molecular de mutaciones en los genes *AtRHD6* (A) y *AtRSL1* (B) de *A. thaliana*. Los recuadros en blanco corresponden a regiones codificantes (recuadros en negro para la región codificante del dominio bHLH). Los triángulos grises indican la posición de cada inserción. Los números entre paréntesis indican la distancia entre cada inserción de ADN-T y el codón de inicio. (C) RT-PCR que muestra que *Atrhd6-3*, *Atrsl1-1* y *Atrhd6-3 Atrsl1-1* son mutantes nulos de ARN. AtAPT1, adenin fosforibosiltransferasa 1.

65 La Figura 8 muestra que los mutantes simples *Atrhd6-3* y *Atrsl1-1* y los dobles mutantes *Atrhd6 Atrsl1* no tienen defectos de crecimiento detectables en el tubo polínico. Las proporciones de resistencia a antibióticos de plantas

F2 del doble mutante *Atrhd6-3 Atrsl1-1* retrocruzado con TS son 76,7 % (n=1404;  $\chi^2$  (3/1) = 2,19; P>0,05) para sulfadiacina (resistencia que lleva el alelo *Atrhd6-3*) y 74,9 % (n=1289;  $\chi^2$  (3/1) = 0,0023; P>0,05) para fosfotricina (resistencia que lleva el alelo *Atrsl1-1*) mostrando segregación normal de los gametos de los mutantes simples y dobles mutantes. (La Figura 8A muestra polen del genotipo indicado en la parte inferior de cada imagen utilizado para polinizar el estigma de TS. Los carpelos se tiñeron con azul de anilina 4 horas después de la polinización. El crecimiento de cada uno de los tubos polínicos mutantes en el carpelo de TS se reveló con tinción en azul para callosa (flechas blancas). Se observa un crecimiento similar del tubo polínico en los tubos polínicos de TS y de mutantes. La Figura 8B muestra un experimento *in vitro* de crecimiento del tubo polínico. Los pólenes de TS y mutantes germinaron en placas de agar. Se muestran placas representativas con la proporción de germinación (media de 600 granos de polen por línea, con error estándar). Se observan proporciones de germinación similares entre el polen de TS y de mutantes (los valores de p del ensayo de la t de Student son 0,554 para *Atrhd6-3* frente a TS, 0,904 para *Atrsl1-1* frente a TS y 0,87 para *Atrhd6-3 Atrsl1-1* frente a TS). Barras de escala, 200  $\mu$ m (Figuras 8A y B).

La Figura 9 muestra la base molecular de las mutaciones *Pprsl1*, *Pprsl2* y *Pprsl1 Pprsl2* de *P. patens* (en cada caso se muestran tres mutantes independientes, identificados con los números de 1 a 3). Las Figuras 9A y D muestran la estructura de los genes (parte superior) *PpRSL1* (A) y *PpRSL2* (D), y el resultado esperado de la recombinación homóloga (parte inferior). Los recuadros en blanco corresponden a regiones codificantes (los recuadro en negro a la región codificante del dominio bHLH) y los recuadros grises corresponden al casete del gen de resistencia (*NptII* y *AphIV*). Las regiones de homología utilizadas para el reemplazo de genes se delimitan por líneas grises. También se muestra la distancia entre los lugares de restricción utilizados para las transferencias de Southern y la posición de las sondas utilizadas. Las Figuras 9B, C, E y F muestran transferencias de Southern de ADN de TS y mutantes digeridos con *Scal* (B y C) o *NcoI* (E y F) e hibridados con la sonda indicada en la parte inferior de la imagen. Las transferencias C y F son hibridaciones de la misma membrana utilizada para las transferencias B y E, respectivamente, después de retirar la sonda específica del gen. El reemplazo de la banda de TS por una banda más grande de tamaño esperado (véase A y D) en líneas mutantes cuando la hibridación se lleva a cabo con la sonda específica del gen (B y E), y la hibridación de únicamente la banda mutante con la sonda del gen de resistencia (C y F), demuestran la presencia de inserciones simples en los locus *PpRSL1* y *PpRSL2*. (G) RT-PCR que muestra que los mutantes son mutantes nulos de ARN. PpGAPDH, gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa. En cada caso, los tres mutantes de inserción simple independientes presentados tienen el mismo fenotipo y solo se muestra el mutante 1 en la Figura 4.

La Figura 10 muestra el sistema de pelo radicular de una planta de *Arabidopsis* que sobreexpresa RSL4 y que muestra una morfología radicular que se asemeja a un simbionte fúngico, tal como *Mycorrhizae*.

### Descripción detallada de las realizaciones preferidas de la invención

La presente divulgación demuestra la identificación, aislamiento, clonación y expresión de los genes *ROOT HAIR DEFECTIVE 6* (*RHD6*) y *ROOT HAIR DEFECTIVE SIX LIKE* (*RSL*) denominados conjuntamente "genes relacionados con *RHD6*" en el presente documento) en plantas. Muestra complementación de mutaciones por genes relacionados de manera distante, proporcionando la función del desarrollo de pelo radicular en plantas en las que el gen relacionado de manera distante se ha inactivado. En consecuencia, los expertos en la técnica apreciarán que el gen responsable de los fenotipos mutantes identificados anteriormente se ha aislado y clonado de acuerdo con esta invención. También se apreciará que a partir de esta divulgación se pueden conferir beneficios funcionales a las plantas mediante la introducción en las plantas y expresión de estos genes en dichas plantas. Los métodos conocidos en la técnica pueden utilizarse para este propósito. Por tanto, por ejemplo, los expertos en la técnica apreciarán que los métodos, por ejemplo, para lograr la expresión de los genes *RHD6* y *RSL* descritos en el presente documento puede lograrse de acuerdo con métodos divulgados en el presente documento, y mediante los métodos, por ejemplo, divulgados, pero sin limitación, en el documento EP0803572B1, que divulga la clonación y expresión del gen *cpc*, que, al igual que los genes *RHD6* y *RSL* descritos en el presente documento, también está relacionado con el control del desarrollo del pelo radicular en plantas, aunque en una fase distinta del desarrollo del pelo radicular y de la planta.

Se describen polipéptidos relacionados con *ROOT HAIR DEFECTIVE 6* (*RHD6*) codificados por genes relacionados con *ROOT HAIR DEFECTIVE 6* (*RHD6*) y secuencias de ácido nucleico descritas en el presente documento.

Los polipéptidos relacionados con *ROOT HAIR DEFECTIVE 6* (*RHD6*) incluyen tanto polipéptidos de *ROOT HAIR DEFECTIVE 6* (*RHD6*) como polipéptidos *ROOT HAIR DEFECTIVE 6-LIKE 1* (*RSL1*), y homólogos funcionales de los mismos, como se describe en el presente documento. Los polipéptidos relacionados con *RHD6* incluidos pueden complementar la mutación *rdh6* tras su expresión en plantas.

Un polipéptido relacionado con *ROOT HAIR DEFECTIVE 6* (*RHD6*) puede estar incluido en el clado *RHD6* que comprende *AtRHD6*, *AtRSL1*, *PpRSL1*, *PpRSL2*, *BdRSLb*, *TaRSLa*, *OsRSLc*, *BdRSLc*, *OsRSLb*, *ZmRSLa*, *PtRSLa*, *PrRSLb*, *OsRSLa*, *BdRSLa*, *SmRSLa*, *SmRSLb*, *SmRSLc* y *SmRSLd* (el clado *ROOT HAIR DEFECTIVE 6* (*RHD6*)) en un cladograma de secuencias de proteínas, utilizando, por ejemplo, las secuencias de *AtIND* y *PpINDa* como grupo externo (véase Figura 3). Como alternativa, el polipéptido relacionado con *ROOT HAIR DEFECTIVE 6* (*RHD6*)

puede estar incluido en el clado RSL que comprende AtRSL3, CtRSLa, PtRSLe, OsRSLi, AtRSL5, AtRSL4, PtRSLc, PtRSLd, AtRSL2, MtRSLa, OsRSLd, OsRSLh, LsRSLa, MaRSLa, OsRSLe, GmRSLb, GmRSLa, ZmRSLb, ZmRSLd, BdRSLd, ZmRSLc, OsRSLg, BdRSLe, OsRSLf, PpRSL3, PpRSL4, PpRSL5, PpRSL6, PpRSL7, SmRSLg, SmRSLf, SmRSLh y SmRSLe (el clado *ROOT HAIR DEFECTIVE SIX LIKE (RSL)*) en un cladograma de secuencias de proteínas, por ejemplo, utilizando las secuencias de AtIND y PpINDa como grupo externo (véase Figura 3).

Se puede producir un cladograma utilizando técnicas convencionales. Por ejemplo, se puede calcular un cladograma utilizando ClustalW para alinear las secuencias de proteína, formato Phylip para producir el árbol, con 1000 copias de valor de inicio y TreeViewX (versión 0.5.0) para la visualización.

Un polipéptido relacionado con ROOT HAIR DEFECTIVE 6 (RHD6) puede comprender la secuencia de aminoácidos mostrada de SEC ID N°: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 a 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112 o 114 o puede ser un fragmento o una variante de una de estas secuencias que conserve actividad RHD6.

En algunas realizaciones preferentes de la invención, el polipéptido relacionado con ROOT HAIR DEFECTIVE 6 (RHD6) puede ser un polipéptido de ROOT HAIR DEFECTIVE 6 (RHD6) que tiene la secuencia de aminoácidos de SEC ID N°: 1 (At1g66470; NP\_176820.1 GI: 15219658).

En otras realizaciones de la divulgación, el polipéptido relacionado con ROOT HAIR DEFECTIVE 6 (RHD6) puede ser un polipéptido *ROOT HAIR DEFECTIVE SIX LIKE (RSL)* que tiene la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEC ID N°: 5, 7, 9, y 11 o puede ser un fragmento o una variante de cualquiera de esas secuencias que conserve actividad RHD6.

Un polipéptido relacionado con ROOT HAIR DEFECTIVE 6 (RHD6) que es una variante de una secuencia de referencia mostrada en el presente documento, tal como SEC ID N°: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 a 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112 o 114, puede comprender una secuencia de aminoácidos que comparte más del 20 % de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de referencia, preferentemente más del 30 %, mayor del 40 %, más del 50 %, más del 60 %, más del 65 %, más del 70 %, más del 80 %, más del 90 % o más del 95 %.

Las variantes de secuencias de aminoácidos particulares pueden diferir respecto de una secuencia de polipéptidos relacionada con RHD6 como se describe en el presente documento mediante inserción, adición, sustitución o delección de 1 aminoácido, o de 2, 3, 4, 5-10, 10-20, 20-30, 30-50, o más de 50 aminoácidos.

La identidad de secuencia se define comúnmente en referencia al algoritmo GAP (Wisconsin Package, Accelrys, San Diego EE.UU). GAP utiliza el algoritmo Needleman y Wunsch para alinear dos secuencias completas que maximiza el número de coincidencias y minimiza el número de huecos. Generalmente, se utilizan valores por defecto, con una penalización por creación de huecos = 12 y una penalización por extensión de huecos = 4.

Se puede preferir el uso de GAP pero se pueden utilizar otros algoritmos, por ejemplo BLAST (que utiliza el método de Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215: 405-410), FASTA (que utiliza el método de Pearson y Lipman (1988) PNAS USA 85: 2444-2448), o el algoritmo Smith-Waterman (Smith y Waterman (1981) J. Mol. Biol. 147: 195-197), o el programa TBLASTN, de Altschul et al. (1990) citado anteriormente, utilizando generalmente parámetros por defecto. En particular, puede utilizarse el algoritmo psi-Blast (Nucl. Acids Res. (1997) 25 3389-3402).

La comparación de secuencias puede efectuarse sobre la longitud completa de la secuencia relevante descrita en el presente documento.

Determinados dominios de un polipéptido relacionado con RHD6 pueden mostrar un nivel aumentado de identidad con dominios de una secuencia de referencia, tal como SEC ID N°: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13 a 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112 o 114, en relación con la secuencia polipeptídica relacionada con RHD6 en general. Por ejemplo, un polipéptido relacionado con RHD6 puede comprender uno o más dominios o motivos que consisten en una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 70 %, al menos un 75 %, al menos un 80 %, al menos un 90 %, al menos un 95 %, o al menos un 98 % de identidad o similitud de secuencia, con una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEC ID Nos: 13 a 25 u otro dominio polipeptídico relacionado con RHD6 mostrado en las tablas 1 y 2.

En algunas realizaciones preferidas de la divulgación, un polipéptido relacionado con RHD6 puede comprender uno o más dominios o motivos que consisten en una secuencia de aminoácidos que se selecciona del grupo que consiste en las SEC ID Nos: 13 a 25 u otro dominio polipeptídico relacionado con RHD6 mostrado en las tablas 1 y 2.

Se describen genes relacionados con ROOT HAIR DEFECTIVE 6 (RHD6) y secuencias de ácidos nucleicos que codifican polipéptidos relacionados con ROOT HAIR DEFECTIVE 6 (RHD6).

5 Un ácido nucleico que codifica un polipéptido relacionado con RHD6 puede comprender o consistir en la secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las SEC ID Nos: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, y 115 o puede ser una variante o un fragmento de una cualquiera de estas secuencias que codifican un polipéptido que conserve actividad RHD6.

10 En algunas realizaciones preferidas de la invención, un ácido nucleico que codifica un polipéptido relacionado con RHD6 puede comprender o consistir en la secuencia de nucleótidos de SEC ID N°: 2.

15 Una secuencia variante puede ser un mutante, homólogo, o alelo de una cualquiera de las SEC ID Nos: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, y 115 y puede diferir de una de estas secuencias por una o más de adición, inserción, delección o sustitución de uno o más nucleótidos en el ácido nucleico, que den lugar a la adición, inserción, delección o sustitución de uno o más aminoácidos en el polipéptido codificado. Por supuesto, se incluyen cambios en el ácido nucleico que no produzcan diferencias en la secuencia de aminoácidos codificada. Un ácido nucleico que codifica un polipéptido relacionado con *RHD6*, que tiene una secuencia de  
20 nucleótidos que es una variante de una secuencia de nucleótidos relacionada con *RHD6* indicada en el presente documento puede comprender una secuencia que tenga al menos un 30 % de identidad de secuencia con la secuencia de ácidos nucleicos de una cualquiera de las SEC ID Nos: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, y 115, por ejemplo, preferentemente mayor del 40 %, mayor del 50 %, mayor del  
25 60 %, mayor del 65 %, mayor del 70 %, mayor del 80 %, mayor del 90 % o mayor del 95 %. La identidad de secuencia se describió con anterioridad.

30 Un fragmento o variante puede comprender una secuencia que codifique un polipéptido funcional relacionado con RHD6, es decir, un polipéptido que conserve una o más características funcionales del polipéptido codificado por el gen RHD6 de tipo silvestre, por ejemplo, la capacidad para estimular o aumentar el número, crecimiento o longevidad del pelo radicular en una planta o para complementar la mutación *rhd6*.

35 En otras realizaciones, un ácido nucleico que codifica un polipéptido de RHD6, que tiene una secuencia de nucleótidos que es una variante de la secuencia de una cualquiera de las SEC ID Nos: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, y 115 puede hibridarse de manera selectiva, en condiciones rigurosas, con esta secuencia de ácido nucleico o con su complemento.

40 Las condiciones rigurosas incluyen, por ejemplo, para la hibridación de secuencias que son aproximadamente idénticas en un 80-90%, hibridación durante una noche a 42 °C en Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,25 M, pH 7,2, SDS al 6,5%, sulfato de dextrano al 10 % y un lavado final a 55 °C en SSC 0,1X, SDS al 0,1 %. Para la detección de las secuencias que son idénticas en más de aproximadamente el 90 %, las condiciones adecuadas incluyen hibridación durante una noche a 65 °C en Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,25 M, pH 7,2, SDS al 6,5%, sulfato de dextrano al 10 % y un lavado final a 60 °C en SSC 0,1X, SDS al 0,1 %.

45 Una alternativa, que puede ser particularmente apropiada con preparaciones de ácido nucleico en plantas, es una solución de SSPE 5x (NaCl 0,9 M, fosfato de sodio 0,05 M, EDTA 0,005 M, pH 7,7 finales), solución de Denhardt 5X, SDS al 0,5 %, a 50 °C o 65 °C durante una noche. Los lavados pueden llevarse a cabo en SSC 0,2x/SDS al 0,1 % a 65 °C o a 50-60 °C en SSC 1x/SDS al 0,1%, según sea necesario.

50 Los ácidos nucleicos descritos en el presente documento pueden ser completa o parcialmente sintéticos. En particular, pueden ser recombinantes en cuanto a que las secuencias de ácidos nucleicos que no se encuentran juntas en la naturaleza (no se procesan de manera contigua) se han ligado o combinado de manera artificial de otro modo. Como alternativa, pueden haberse sintetizado directamente, por ejemplo, utilizando un sintetizador  
55 automático.

60 El ácido nucleico puede, por supuesto, ser mono o bicatenario, ADNc o ADN genómico, o ARN. El ácido nucleico puede ser total o parcialmente sintético, dependiendo del diseño. Como es natural, el experto en la materia entenderá que cuando el ácido nucleico incluye ARN, la referencia a la secuencia mostrada debe construirse como referencia al ARN equivalente, con U sustituido por T.

65 Los polipéptidos y ácidos nucleicos relacionados con ROOT HAIR DEFECTIVE 6 (RHD6) pueden identificarse fácilmente mediante técnicas rutinarias de análisis de secuencias en diversas plantas, incluyendo plantas agrícolas seleccionadas del grupo que consiste en *Lithospermum erythrorhizon*, *Taxus* spp, tabaco, curcubitáceas, zanahoria, hortalizas del género *Brassica*, melón, plantas del género *Capsicum*, vid, lechuga, fresa, semillas oleaginosas del género *Brassica*, remolacha azucarera, trigo, cebada, maíz, arroz, semillas de soja, guisante, sorgo, girasol, tomate,

patata, pimiento, crisantemo, clavel, linaza, cáñamo y centeno.

Un ácido nucleico relacionado con RHD6 como se describe en el presente documento puede estar unido operativamente a una secuencia reguladora heteróloga, tal como un promotor, por ejemplo, un promotor constitutivo, inducible, específico de raíces o específico de desarrollo.

"Heterólogo" indica que el gen/la secuencia de nucleótidos en cuestión o una secuencia que regula el gen/la secuencia en cuestión, se ha unido al ácido nucleico relacionado con RHD6 utilizando modificación por ingeniería genética o medios recombinantes, es decir, mediante intervención humana. Las secuencias reguladoras que son heterólogas para un ácido nucleico relacionado con RHD6 pueden ser secuencias reguladoras que no regulan el ácido nucleico relacionado con RHD6 en la naturaleza o no se asocian de manera natural con el ácido nucleico relacionado con RHD6. "Aislado" indica que la molécula aislada (por ejemplo, polipéptido o ácido nucleico) existe en un ambiente que es distinto del ambiente en el que se produce en la naturaleza. Por ejemplo, un ácido nucleico aislado puede estar aislado de manera sustancial con respecto al ambiente genómico en que se produce de manera natural.

En la técnica se conocen muchas secuencias reguladoras y pueden usarse de acuerdo con la invención. Los ejemplos de secuencias reguladoras adecuadas pueden derivar de un virus de plantas, por ejemplo el promotor 35S del gen del virus del mosaico de la coliflor (CaMV 35S) que se expresa a un alto nivel prácticamente en todos los tejidos de la planta (Benfey et al, (1990) EMBO J 9: 1677-1684). Otros elementos reguladores constitutivos adecuados incluyen el promotor 19S del virus del mosaico de la coliflor; el promotor del virus del mosaico de la escrofularia; y el promotor del gen de la nopalina sintasa (nos) (Singer et al., Plant Mol. Biol. 14:433 (1990); An, Plant Physiol. 81:86 (1986)). Por ejemplo, los genes relacionados con RHD6 tales como AtRHD6, AtRSL1 y AtRSL4 pueden expresarse utilizando promotores constitutivos.

Más adelante se ilustran construcciones para la expresión de los genes *RHD6* y RSL bajo el control de un promotor constitutivo fuerte (el promotor 35S). Se muestra que la expresión de AtRHD6, AtRSL1 y AtRSL4 a partir del promotor 35S modula el desarrollo del pelo radicular en plantas sin causar cambios fenotípicos adicionales.

Sin embargo, los expertos en la técnica apreciarán que, de manera ventajosa, se puede utilizar una amplia diversidad de promotores distintos en contextos específicos. Por tanto, se puede seleccionar, por ejemplo, un promotor epidérmico o específico de raíces para asegurar la expresión de estas construcciones únicamente en las raíces. Se describen promotores adecuados, específicos de raíces, por ejemplo, en Qi et al. PNAS (2006) 103(49) 18848-18853. Por ejemplo, los genes relacionados con RHD6 como AtRSL2 y ATRSL3, pueden expresarse utilizando promotores específicos de raíz.

Como alternativa, o además, puede seleccionarse un promotor inducible. De este modo, por ejemplo, en un entorno de cultivo celular, puede potenciarse o suprimirse la producción de un producto génico de interés mediante la inducción del promotor que dirige la expresión de los genes descritos en el presente documento. Pueden utilizarse los promotores inducibles que incluyen el sistema de expresión génica *alc* inducible por alcohol (Roslan et al., Plant Journal; oct 2001; 28(2):225-35).

El ácido nucleico relacionado con *RHD6* puede estar contenido en una construcción de ácido nucleico o vector. La construcción o vector es preferentemente adecuada para la transformación dentro de y/o expresión en una célula de planta.

Un vector es, entre otras cosas, cualquier plásmido, cósmido, fago o vector binario de *Agrobacterium* en forma mono o bicatenaria, o linear o circular, que puede o no ser autotransmisible o movilizable, y que puede transformar hospedadores procariontes o eucariotes, en particular un hospedador de planta, ya sea mediante integración en el genoma celular o existir de manera extracromosómica (por ejemplo, plásmido de replicación autónoma con un origen de replicación).

Se incluyen especialmente vectores lanzadera, por lo que se entiende un vehículo de ADN capaz, de manera natural o mediante diseño, de replicarse en dos organismos distintos, que pueden seleccionarse de células de *Actinomyces* y especies relacionadas, bacterias y eucariotes (por ejemplo, de plantas superiores, mamífero, levaduras u hongos).

Una construcción o vector que comprenda ácido nucleico como se describe anteriormente no necesita incluir un promotor u otra secuencia reguladora, en particular si el vector se va a utilizar para introducir el ácido nucleico en células para su recombinación en el genoma

Las construcciones y vectores pueden comprender también marcadores genéticos de selección que consisten en genes que confieren fenotipos seleccionables, tales como resistencia a antibióticos, tales como kanamicina, higromicina, fosfotricina, clorosulfurona, metotrexato, gentamicina, espectinomicina, imidazolinonas, glifosato y d-aminoácidos.

Los expertos en la técnica son de sobra capaces de construir vectores y diseñar protocolos para la expresión de genes recombinantes, en particular en una célula de planta. Pueden seleccionarse o construirse vectores adecuados que contengan secuencias reguladoras apropiadas, incluyendo secuencias promotoras, fragmentos de terminación, secuencias de poliadenilación, secuencias potenciadoras, genes marcadores y otras secuencias según sea necesario. Para más detalles, véase, por ejemplo, *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*. 3ª edición, Sambrook y Russell, 2001, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Los expertos en la técnica pueden construir vectores y diseñar protocolos para la expresión de genes recombinantes, por ejemplo, en una célula de planta o microbiana. Pueden seleccionarse o construirse vectores adecuados que contengan secuencias reguladoras apropiadas, incluyendo secuencias promotoras, fragmentos de terminación, secuencias de poliadenilación, secuencias potenciadoras, genes marcadores y otras secuencias según sea necesario. Para más detalles, véase, por ejemplo, *Molecular Cloning: a Laboratory Manual*: 3ª edición, Sambrook et al, 2001, Cold Spring Harbor Laboratory Press y *Protocols in Molecular Biology*, segunda edición, Ausubel et al. ed. John Wiley & Sons, 1992. Los procedimientos específicos y vectores previamente utilizados con amplio éxito en plantas se describen por Bevan, *Nucl. Acids Res.* (1984) 12, 8711-8721), y Guerinéau and Mullineaux, (1993) *Plant transformation and expression vectors*. En: *Plant Molecular Biology Labfax* (Croy RRD ed) Oxford, BIOS Scientific Publishers, págs. 121-148.

Cuando se introduce una construcción génica seleccionada en una célula, se deben tener en cuenta determinadas consideraciones, bien conocidas para los expertos en la técnica. El ácido nucleico a insertar debe ensamblarse en una construcción que contiene elementos reguladores efectivos que dirigirán la transcripción. Tiene que estar disponible un método para transportar la construcción al interior de la célula. Una vez que la construcción se encuentra dentro de la membrana celular, puede o no producirse la integración en el material cromosómico endógeno. Finalmente, el tipo de célula diana es preferentemente tal que las células pueden regenerarse en plantas completas.

Los expertos en la técnica también apreciarán que en la producción de construcciones para lograr la expresión de los genes de acuerdo con esta invención, es deseable utilizar una construcción y un método de transformación que potencie la expresión del gen *RHD6*, del gen *RSL* o un homólogo funcional de los mismos. La integración de una sola copia del gen en el genoma de la célula de planta puede ser beneficiosa para minimizar los efectos del silenciamiento génico. Del mismo modo, el control de la complejidad de la integración puede ser beneficioso en este sentido. Es particularmente interesante en este sentido la transformación de células de plantas utilizando una construcción de expresión génica mínima de acuerdo, por ejemplo, con la patente EP Nº. EP 1 407 000 B1.

Se pueden utilizar técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica para introducir construcciones de ácido nucleico y vectores en células de planta para producir plantas transgénicas con las propiedades descritas en el presente documento.

La transformación con *Agrobacterium* es un método ampliamente utilizado por los expertos en la técnica para transformar especies de plantas leñosas, en concreto especies de madera dura tal como el álamo. La producción de plantas transgénicas estables y fértiles es actualmente rutinaria en la técnica: (Toriyama, et al. (1988) *Bio/Technology* 6, 1072-1074; Zhang, et al. (1988) *Plant Cell Rep.* 7, 379-384; Zhang, et al. (1988) *Theor Appl Genet* 76, 835-840; Shimamoto, et al. (1989) *Nature* 338, 274-276; Datta, et al. (1990) *Bio/Technology* 8, 736-740; Christou, et al. (1991) *Bio/Technology* 9, 957-962; Peng, et al. (1991) *International Rice Research Institute, Manila, Islas Filipinas* 563-574; Cao, et al. (1992) *Plant Cell Rep.* 11, 585-591; Li, et al. (1993) *Plant Cell Rep.* 12, 250-255; Rathore, et al. (1993) *Plant Molecular Biology* 21, 871-884; Fromm, et al. (1990) *Bio/Technology* 8, 833-839; Gordon-Kamm, et al. (1990) *Plant Cell* 2, 603-618; D'Halluin, et al. (1992) *Plant Cell* 4, 1495-1505; Walters, et al. (1992) *Plant Molecular Biology* 18, 189-200; Koziel, et al. (1993) *Biotechnology* 11, 194-200; Vasil, I. K., (1994) *Plant Molecular Biology* 25, 925-937; Weeks, et al. (1993) *Plant Physiology* 102, 1077-1084; Somers, et al. (1992) *Bio/Technology* 10, 1589-1594; WO92/14828; Nilsson, O. et al (1992) *Transgenic Research* 1, 209-220).

Pueden preferirse otros métodos, tales como el bombardeo con microproyectiles o partículas (US 5100792, EP-A-444882, EP-A-434616), electroporación (EP 290395, WO 8706614), microinyección (WO 92/09696, WO 94/00583, EP 331083, EP 175966, Green et al. (1987) *Plant Tissue and Cell Culture*, Academic Press), captación directa de ADN (DE 4005152, WO 9012096, US 4684611), captación de ADN mediada por liposomas (por ejemplo Freeman et al. *Plant Cell Physiol.* 29: 1353 (1984)), o el método de agitación vorticial (por ejemplo Kindle, *PNAS U.S.A.* 87: 1228 (1990d)) en los casos en que la transformación con *Agrobacterium* no es eficiente o eficaz, por ejemplo, en algunas especies de gimnospermas.

Los métodos físicos para la transformación de células de plantas se revisan en Oard, 1991, *Biotech. Adv.* 9: 1-11.

Como alternativa, puede utilizarse una combinación de diferentes técnicas para potenciar la eficiencia del proceso de transformación, por ejemplo, bombardeo con micropartículas recubiertas de *Agrobacterium* (EP-A-486234) o bombardeo con microproyectiles para inducir laceraciones seguido de cocultivo con *Agrobacterium* (EP-A-486233).

Después de la transformación, se puede regenerar una planta, por ejemplo, a partir de células individuales, tejido calloso o discos foliares, como es convencional en la técnica. Prácticamente cualquier planta puede regenerarse por completo a partir de células, tejidos y órganos de la planta. Las técnicas disponibles se revisan en Vasil et al., Cell Culture and Somatic Cell Genetics of Plants, Vol I, II and III, Laboratory Procedures and Their Applications, Academic Press, 1984, y Weissbach y Weissbach, Methods for Plant Molecular Biology, Academic Press, 1989.

La elección particular de una tecnología de transformación se determinará por su eficacia para transformar determinadas especies de plantas así como la experiencia y preferencia de la persona que ponga en práctica la invención con una metodología particular de elección. Será evidente para el experto que la elección particular de un sistema de transformación para introducir ácido nucleico en células de plantas, no es esencial o una limitación de la invención, como tampoco lo es la elección de la técnica para la regeneración de plantas.

Otros aspectos de la divulgación se refieren a la modulación del desarrollo del pelo radicular de plantas utilizando polipéptidos relacionados con *RHD6* y ácidos nucleicos como se describe en el presente documento.

Un método para modular el desarrollo del pelo radicular o para alterar el fenotipo del pelo radicular en una planta puede comprender:  
aumentar la expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* en las células de dicha planta en relación con las plantas control.

La modulación del desarrollo del pelo radicular en una planta puede incluir aumentar uno o más de: crecimiento de pelo radicular, número de pelos radiculares, longitud de pelos radiculares, tasa de crecimiento de pelos radiculares y longevidad de los pelos radiculares individuales en la planta.

Los polipéptidos relacionados con *RHD6* se describieron con más detalle anteriormente.

La expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* puede aumentarse mediante cualquier método adecuado. En algunas realizaciones, la expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* puede aumentarse expresando un ácido nucleico heterólogo que codifica el polipéptido relacionado con *RHD6* en las células de dicha planta.

Los controles adecuados serán fácilmente evidentes para el experto en la técnica y pueden incluir plantas en las que la expresión del polipéptido relacionado con *RHD6* no esté aumentada.

Un método para producir una planta con un fenotipo de pelo radicular alterado puede comprender:  
incorporar un ácido nucleico heterólogo que altere la expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* en una célula de planta por medio de transformación; y  
regenerar la planta a partir de una o más células transformadas.

Los polipéptidos relacionados con *RHD6* adecuados se describieron con más detalle anteriormente.

En algunas realizaciones, la planta puede ser una planta cuyas raíces no estén colonizadas de manera natural por hongos simbióticos, tales como *Mycorrhizae*. Las plantas cuyas raíces no están colonizadas de manera natural por hongos incluyen plantas no micorrizadas tales como las plantas del género *Brassica*.

Las plantas para su uso en los métodos descritos en el presente documento carecen preferentemente de mutaciones en los genes relacionados con *RHD6*. Por ejemplo, la planta puede ser una planta de tipo silvestre.

Una planta con un fenotipo alterado de pelo radicular producida como se describe anteriormente puede mostrar una tolerancia mejorada a condiciones de crecimiento deficientes en nutrientes, producción aumentada de compuestos fitoquímicos y/o propiedades de fitorremediación aumentadas, tales como absorción de metales pesados.

El ácido nucleico que codifica polipéptidos relacionados con *RHD6* y su expresión en plantas se describió en detalle anteriormente.

En otras realizaciones, la expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* puede aumentarse aumentando la expresión de un ácido nucleico endógeno que codifica el polipéptido relacionado con *RHD6* en las células de dicha planta.

La expresión de un ácido nucleico endógeno que codifica el polipéptido relacionado con *RHD6* en las células de dicha planta puede aumentarse mediante medios recombinantes, tales como la inserción dirigida de factores reguladores.

La expresión de un ácido nucleico endógeno que codifica el polipéptido relacionado con *RHD6* en las células de dicha planta puede aumentarse por medios no recombinantes. Por ejemplo, la expresión del polipéptido relacionado con *RHD6* puede aumentarse en una planta mediante métodos selectivos de reproducción de plantas que utilizan la secuencia de aminoácidos o ácido nucleico relacionada con *RHD6* como marcador molecular para producir una

planta que tenga un fenotipo de pelo radicular alterado, por ejemplo mayor tamaño y mayor número de pelos radiculares así como mayor longevidad de los mismos, en relación con los controles.

Un método para producir una planta que tenga un fenotipo alterado de pelo radicular puede comprender:

- 5 proporcionar una población de plantas,  
determinar la cantidad de expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* como se describe en el presente documento en una o más plantas de la población, e  
identificar una o más plantas en la población con expresión aumentada del polipéptido relacionado con *RHD6* en relación a otros miembros de dicha población.

10 Las plantas identificadas pueden propagarse o cruzarse posteriormente, por ejemplo, con otras plantas que tengan expresión aumentada del polipéptido relacionado con *RHD6* o autocruzarse para producir líneas endógamas. La expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* en poblaciones de plantas de progenie puede determinarse y pueden identificarse una o más plantas de progenie con expresión reducida del polipéptido relacionado con *RHD6*.

15 La expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* en una planta puede determinarse mediante cualquier método conveniente. En algunas realizaciones, la cantidad de expresión del polipéptido relacionado con *RHD6* puede determinarse a nivel de la proteína. Un método para producir una planta con fenotipo alterado de desarrollo de pelo radicular puede comprender:

- 20 proporcionar una población de plantas,  
determinar la cantidad de polipéptido relacionado con *RHD6* en una o más plantas de dicha población, e  
identificar una o más plantas en la población con cantidades aumentadas de un polipéptido relacionado con *RHD6* en relación a otros miembros de dicha población.

25 La cantidad de polipéptido relacionado con *RHD6* puede determinarse en una o más células de la planta, preferentemente células de una parte o tejido subterráneo de la planta, tal como la raíz.

La cantidad de polipéptido relacionado con *RHD6* puede determinarse utilizando cualquier técnica adecuada. Convenientemente, pueden emplearse técnicas inmunológicas, tales como transferencia Western, utilizando anticuerpos que se unan al polipéptido relacionado con *RHD6* y que muestren poca o ninguna unión con otros antígenos en la planta. Por ejemplo, la cantidad de un polipéptido relacionado con *RHD6* en una célula de planta puede determinarse poniendo en contacto una muestra que comprende la célula de planta con un anticuerpo u otro miembro de unión específico dirigido contra el polipéptido relacionado con *RHD6*, y determinar la unión del polipéptido relacionado con *RHD6* en la muestra. La cantidad de unión del miembro de unión específico es indicativa de la cantidad de polipéptido relacionado con *RHD6* que se expresa en la célula.

La expresión del polipéptido relacionado con *RHD6* puede determinarse al nivel de ácido nucleico. Por ejemplo, puede determinarse la cantidad de ácido nucleico que codifica un polipéptido relacionado con *RHD6*. Un método para producir una planta que tenga desarrollo alterado de pelo radicular puede comprender:

- 40 proporcionar una población de plantas,  
determinar el nivel o la cantidad de ácido nucleico, por ejemplo ARNm, que codifica el polipéptido relacionado con *RHD6* en una célula de una o más plantas de dicha población, e  
identificar una o más plantas en la población con una cantidad aumentada del ácido nucleico que codifica un polipéptido relacionado con *RHD6* en relación con otros miembros de dicha población.

45 El nivel o la cantidad de ácido nucleico codificante en una célula de planta pueden determinarse por ejemplo detectando la cantidad de ácido nucleico codificante transcrito en la célula. En la técnica están disponibles numerosos métodos adecuados para determinar la cantidad de un ácido nucleico que codifica un polipéptido relacionado con *RHD6* en una célula de planta, incluyendo, por ejemplo ARNm, que codifica el polipéptido relacionado con *RHD6* en una célula de una o más plantas de dicha población, e  
50 (véase por ejemplo Molecular Cloning: a Laboratory Manual: 3ª edición, Sambrook & Russell (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press NY; Current Protocols in Molecular Biology, Ausubel et al. eds. John Wiley & Sons (1992); DNA Cloning, The Practical Approach Series (1995), series eds. D. Rickwood and B.D. Hames, IRL Press, Oxford, R.U. y PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications (Innis, et al. 1990. Academic Press, San Diego, Calif.).

55 Una célula adecuada puede proceder de una parte o tejido subterráneo de la planta, tal como la raíz.

El desarrollo alterado del pelo radicular puede ensayarse en una planta progenitora en la que se identifica que tiene una expresión aumentada de polipéptido relacionado con *RHD6* en relación con los controles, por ejemplo crecimiento, número o longevidad de pelos radiculares aumentada, o se pueden ensayar otras propiedades, tales como resistencia aumentada a condiciones deficientes en nutrientes, producción fitoquímica aumentada, propiedades de fitorremediación aumentadas, o una respuesta constitutiva a bajas cantidades de fosfato.

Un método para producir una planta que tiene un fenotipo alterado de pelo radicular puede comprender:

- 65 cruzar una primera y una segunda planta para producir una población de plantas de progenie;  
determinar la expresión de un polipéptido relacionado con *RHD6* en las plantas de progenie en la población, e  
identificar una planta progenitora en la población en la que la expresión del polipéptido relacionado con *RHD6* esté

aumentada en relación con los controles.

5 Una planta progenitora que tiene un fenotipo alterado de pelo radicular puede mostrar crecimiento, número o longevidad de pelos radiculares aumentada en relación con los controles (por ejemplo otros miembros de la población con un fenotipo tipo silvestre).

La planta progenitora identificada también puede propagarse o cruzarse, por ejemplo con la primera o la segunda planta (es decir retrocruzarse) o autocruzarse para producir líneas endógamas.

10 La planta progenitora identificada puede ensayarse con respecto a la tolerancia aumentada en condiciones deficientes en nutrientes en relación con controles.

15 Otros aspectos de la divulgación proporcionan el uso de un polipéptido o ácido nucleico codificante relacionado con RHD6 como se describe en el presente documento como un marcador para la reproducción selectiva de una planta que tiene un fenotipo de pelo radicular alterado en relación con plantas control, y un método de reproducción selectiva de una planta que tiene un fenotipo de pelo radicular alterado en relación con plantas control, que emplea la secuencia de aminoácidos o ácido nucleico codificante relacionada con RHD6.

20 En algunas realizaciones, las plantas que tienen una expresión reducida del polipéptido relacionado con RHD6 pueden producirse mediante mutagénesis al azar, seguida de exploración de mutantes para expresión reducida de polipéptido relacionado con RHD6. Las técnicas adecuadas son bien conocidas en la técnica e incluyen Lesiones Locales Dirigidas Inducidas en Genomas (TILLING, del inglés Targeting Induced Local Lesions IN Genomes). El TILLING es una técnica de evaluación de alto rendimiento que da como resultado la identificación sistemática de mutaciones no derivadas de GMO en genes diana específicos (Comai y Henikoff, The Plant Journal (2006) 45, 684-694 Till et al: BMC Plant Biol. 7,19 abril 2007.

30 Los expertos en la técnica también apreciarán que, basándose en la información genética divulgada en el presente documento, pueden llevarse a cabo Lesiones Locales Dirigidas Inducidas en el Genoma (TILLING, del inglés Targeting Induced Local Lesions IN Genomes). El TILLING es una técnica de exploración de alto rendimiento que da como resultado la identificación sistemática de mutaciones no derivadas de OMG (organismos modificados genéticamente) en genes diana específicos (Comai y Henikoff, The Plant Journal (2006) 45, 684-694 Till et al: BMC Plant Biol. 7,19 abril 2007.

35 Los expertos en la técnica también apreciarán que, basándose en la información genética divulgada en el presente documento, pueden llevarse a cabo Lesiones Locales Dirigidas Inducidas en el Genoma ("TILLING", por ejemplo utilizando exploración basada en PCR de plantas generadas a través de mutagénesis química (generalmente mediante tratamiento con etil metano sulfonato (EMS)), dando lugar a menudo al aislamiento de alelos mutantes de sentido erróneo y sin sentido del gen (o genes) diana; El TILLING permite la identificación a alto rendimiento de mutaciones en genes diana sin producción de organismos modificados genéticamente y puede ser una forma eficaz para identificar mutantes en un gen específico que podría no conferir un fenotipo fuerte por sí mismo), para producir plantas y descendencia de las mismas con un cambio en el gen *RHD6* o *RSL*, permitiendo de este modo la identificación de plantas con fenotipos específicos relevantes para la producción del pelo radicular.

45 Un método para producir una planta que tenga un fenotipo alterado de pelo radicular puede comprender:  
exponer una población de plantas a un mutágeno,  
determinar la expresión de un polipéptido o ácido nucleico relacionado con RHD6 en una o más plantas en dicha población, e  
identificar una planta con expresión aumentada del polipéptido relacionado con RHD6 en relación a otros miembros de dicha población.

50 Los mutágenos adecuados incluyen etil metano sulfonato (EMS).

Los métodos para determinar la expresión del polipéptido o ácido nucleico relacionado con RHD6 en plantas se describieron con más detalle anteriormente.

55 La tolerancia aumentada o la resistencia en condiciones de bajo contenido en nutrientes, la producción aumentada de compuestos fitoquímicos o la fitorremediación aumentada pueden ensayarse adicionalmente en la planta identificada en relación con los controles.

60 Una planta en la que se identifica que tiene una expresión aumentada del polipéptido relacionado con RHD6 en relación con los controles (por ejemplo otros miembros de la población) puede mostrar crecimiento, número o longevidad de pelos radiculares aumentada en relación con los controles.

65 Una planta producida o identificada como se describe anteriormente puede propagarse de forma sexual o asexual o cultivarse para producir descendencia o descendientes. La descendencia o descendientes de la planta regenerada de una o más células pueden propagarse o cultivarse de manera sexual o asexual. La planta o su descendencia o

descendientes pueden cruzarse con otras plantas o con ella misma.

La expresión de genes relacionados con RHD6 tales como RSL4 se muestra en el presente documento para producir un fenotipo en el que los pelos radiculares muestran una morfología de tipo fúngico. Esta morfología se caracteriza por las masas extensas indeterminadas de células en crecimiento que se asemejan a las colonias de tipo fúngico (Figura 10) y da como resultado un área superficial enormemente aumentada de pelos radiculares. Este fenotipo puede conferir una captación significativamente potenciada de fosfato y hierro por parte de la raíz, que está limitada en gran medida por la longitud y área superficial del pelo radicular.

Por medio de la expresión de los genes descritos en el presente documento en una planta, puede hacerse que una planta muestre absorción potenciada de otros nutrientes que de otro modo se absorberían de manera menos eficiente. Por tanto, por ejemplo, en la técnica se sabe que la absorción de fosfato y hierro del suelo la realizan principalmente los pelos radiculares de la planta. Al potenciar el número, la longitud, el tiempo de producción o la duración de la supervivencia de los pelos radiculares de la planta, mediante la expresión, sobreexpresión, o expresión errónea dirigida (expresión en células que de otro modo no producirían pelos radiculares) de genes relacionados con RHD6, puede potenciarse la absorción de fosfato, hierro o de ambos, así como de otros nutrientes. En particular, la absorción puede aumentarse por la morfología de pelo radicular de tipo fúngica, producida por sobreexpresión de genes relacionados con RHD6 tales como AtRSL4 (véase la Figura 10). Por tanto, se ha mostrado en la bibliografía que los mutantes *rh6* tienen comprometida su capacidad para absorber fosfato, véase Plant Growth and Phosphorus Accumulation of Wild Type and Two Root Hair Mutants of *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae)", Terence R. Bates and Jonathan P. Lynch, American Journal of Botany 87(7): 958-963. 2000. Este efecto puede invertirse por complementación con el gen funcional descrito en el presente documento. Los aspectos de la invención pueden ser particularmente beneficiosos, por ejemplo, en suelos que contienen bajas cantidades de hierro o fosfato, tales como los encontrados en China, África Subsahariana y Australia.

Un método para mejorar la tolerancia o resistencia de una planta a condiciones deficientes en nutrientes puede comprender:  
aumentar la expresión de un polipéptido relacionado con RHD6 en las células de dicha planta en relación con las plantas control.

Las condiciones deficientes en nutrientes incluyen condiciones que contienen niveles de uno o más nutrientes tales como nitrato, fosfato y/o hierro, que son insuficientes para satisfacer las necesidades nutricionales de la planta de tipo silvestre. Una planta de tipo silvestre sometida a condiciones deficientes en nutrientes puede adoptar un fenotipo deficiente en nutrientes, tal como un crecimiento reducido, que da como resultado una producción y calidad de cultivo enormemente reducidas.

Por ejemplo, la planta puede mostrar un crecimiento mejorado en un suelo que contiene niveles bajos de uno o más nutrientes tales como nitrato, fosfato y/o hierro, en relación con las plantas control (es decir, plantas en las que la expresión del polipéptido relacionado con RHD6 no está alterada).

Además, la deficiencia de fosfato aumenta la expresión de polipéptidos relacionados con RHD6 tales como AtRHD6 y AtRSL1 en la epidermis radicular de una planta. La expresión de un polipéptido relacionado con RHD6 en la epidermis radicular puede ser por lo tanto útil para producir una respuesta constitutiva a "bajo contenido de fosfato" en una planta.

Los genes descritos en el presente documento pueden utilizarse para lograr una producción potenciada de compuestos de interés, incluyendo compuestos de relevancia medicinal. Por tanto, por ejemplo, se sabe que los pelos radiculares de una planta son responsables de la producción de compuestos antibióticos. En la naturaleza, estos compuestos los segregan las raíces de las plantas y especialmente los pelos radiculares de las plantas, para de este modo modificar o de otro modo controlar la microflora y microfauna que rodea a las raíces de la planta. La producción de estos compuestos fitoquímicos se potencia en plantas en las que pueden modificarse el número, la longitud, la duración de la producción, el tiempo de la producción y otras características del desarrollo y crecimiento del pelo radicular, de acuerdo con los métodos de esta invención.

Un método para aumentar la producción o secreción de un compuesto fitoquímico segregado por las raíces de una planta puede comprender:  
aumentar la expresión de un polipéptido relacionado con RHD6 en las células de una planta que segrega el fitoquímico a través de sus raíces.

Los compuestos fitoquímicos segregados por las raíces incluyen shiconina (Brigham LA, et al Plant Physiol. 1999 Feb; 119(2):417-28) que puede producir *Lithospermum erythrorhizon*, y paclitaxel, que puede producir *Taxus spp.*

Los metales pesados son un contaminante medioambiental importante y pueden eliminarse cultivando plantas en suelos contaminados. En la fitorremediación o fitoextracción, las plantas absorben sustancias contaminantes, tales como metales pesados del suelo y las plantas se cosechan en la madurez, por lo tanto eliminando estos contaminantes de la zona. Los fenotipos con pelo radicular largo que otorga la expresión aumentada de polipéptidos

relacionados con RHD6 pueden mejorar las propiedades de fitorremediación de especies de plantas.

Un método para reducir la cantidad de una sustancia contaminante en un suelo comprende:

- 5 aumentar la expresión de un polipéptido relacionado con RHD6 en las células de una planta que absorba la sustancia contaminante a través de sus raíces,  
cultivar la planta o un descendiente de la misma en un suelo que comprenda la sustancia contaminante de tal forma que la planta o el descendiente absorba la sustancia contaminante del suelo, y cosechar la planta o su descendiente.

- 10 Las sustancias contaminantes incluyen uranio, bifenilos policlorados, sal, arsénico y metales pesados tales como cadmio, zinc y plomo.

- 15 Una planta adecuada para su uso en los presentes métodos es preferentemente una planta superior, por ejemplo, una planta agrícola seleccionada del grupo que consiste en *Lithospermum erythrorhizon*, *Taxus* spp, tabaco, cucurbitáceas, zanahoria, legumbres del género *Brassica*, melón, plantas del género *Capsicum*, vid, lechuga, fresa, semillas oleaginosas del género *Brassica*, remolacha azucarera, trigo, cebada, maíz, arroz, semillas de soja, guisante, sorgo, girasol, tomate, patata, pimienta, crisantemo, clavel, linaza, cáñamo y centeno.

- 20 En métodos relacionados con la producción de compuestos fitoquímicos, pueden preferirse *Lithospermum erythrorhizon* y *Taxus* spp.

- 25 En los métodos relacionados con la fitorremediación, pueden preferirse el girasol (*Helianthus annuus*), el helecho Chino Brake, el carraspique (*Thlaspi caerulescens*), la mostaza india (*Brassica juncea*), la artemisa (*Ambrosia artemisiifolia*), el cáñamo del Canadá (*Apocymun cannabinum*) y el álamo.

- Otro aspecto de la divulgación proporciona una planta que se produce mediante un método descrito en el presente documento, en el que dicha planta muestra un fenotipo de pelo radicular alterado en relación con los controles.

- 30 Por ejemplo, una planta puede mostrar crecimiento, número o longevidad de pelos radiculares aumentada en relación con los controles (por ejemplo, otros miembros de la población con un fenotipo silvestre).

Una planta puede mostrar tolerancia aumentada a condiciones deficientes en nutrientes y/o a una producción aumentada de compuestos fitoquímicos segregados por la raíz.

- 35 También se proporciona cualquier parte o propágulo de dicha planta, por ejemplo semillas, progenie autofecundada o híbrida y descendientes.

- 40 Una planta de acuerdo con la presente divulgación puede ser una que en realidad no se engendre en una o más propiedades. Se pueden excluir variedades de plantas, en particular variedades de plantas registrables de acuerdo con los Derechos de los Cultivadores de Plantas.

- 45 Además de una planta producida por un método descrito en el presente documento, la divulgación incluye cualquier clon de dicha planta, semilla, progenie autofecundada o híbrida y descendientes, y cualquier parte o propágulo de cualquiera de estos, tales como esquejes y semillas, que pueden utilizarse en la reproducción o propagación, sexual o asexual. También se divulga una planta que es descendencia propagada de manera sexual o asexual, un clon o descendiente de una planta tal, o cualquier parte o propágulo de dicha planta, descendencia, clon o descendiente.

- 50 Aunque la divulgación anterior proporciona una descripción general de la materia objeto incluida dentro del alcance de la presente invención, incluyendo métodos de producción y uso de esta invención, los siguientes ejemplos se proporcionan para permitir además a los expertos en la materia poner en práctica esta invención y para proporcionar una descripción completa por escrito de la misma. Sin embargo, los expertos en la técnica apreciarán que las especificaciones de esos ejemplos no deben interpretarse como limitaciones de la invención, cuyo alcance debe comprenderse a partir de las reivindicaciones.

- 55 Cuando en el presente documento se utiliza "y/o" debe entenderse como una inclusión específica de cada una de las dos características o componentes con o sin el otro. Por ejemplo "A y/o B" debe entenderse como una inclusión específica de cada uno de (i) A, (ii) B y (iii) A y B, como si cada uno de ellos se indicase de manera individual en el presente documento.

- 60 A menos que el contexto indique lo contrario, las descripciones y definiciones de las características indicadas anteriormente no están limitadas a ningún aspecto o realización particular de la invención y se aplican igualmente a todos los aspectos y realizaciones que se describen.

- 65 Seguidamente, determinados aspectos y realizaciones de la invención se ilustrarán a modo de ejemplo y en referencia las figuras descritas anteriormente, y a las tablas descritas a continuación.

Las Tablas 1 y 2 muestran un alineamiento de secuencias de las secuencias de aminoácidos de bHLH (Heim et al. Mol. Biol. Evol. 2003) generado con ClustalW (<http://www.ebi.ac.uk>).

5 La Tabla 3 muestra % de identidades de proteínas relacionadas con RHD6 determinados mediante DNA Strider (Christain Mark, Center. d'Etudes de Saclay).

La Tabla 4 muestra identidades relativas de los dominios bHLH de proteínas relacionadas con RHD6 con RHD6.

10 La Tabla 5 muestra la correspondencia entre los nombres del árbol de la figura 3 y los alineamientos de las tablas 1 y 2 con especies respectivas y locus o números de acceso GI.

### Ejemplos

15 Los pelos radiculares son células altamente polarizadas que aumentan el área superficial de la planta que está en contacto con el suelo. Desempeñan papeles importantes en la adquisición de nutrientes y anclaje en aquellas plantas terrestres que tienen raíces<sup>1, 2</sup>. Otras células de crecimiento apical, tales como células de rizoides y caulonemales tienen una función similar en grupos más basales de plantas terrestres que carecen de raíces<sup>3, 4</sup>. En este documento se identifican y caracterizan dos factores de transcripción básicos de hélice bucle hélice que controlan el desarrollo de células pilosas radiculares en el esporofito de *Arabidopsis* y se muestra que sus

20 homólogos más cercanos en *Physcomitrella patens* son necesarios para el desarrollo de células tanto de rizoides como caulonemales en el gametofito de este musgo. Esto indica que un mecanismo ancestral controla el desarrollo de tipos celulares funcional y morfológicamente similares pero no homólogos en estos grupos divergentes de plantas terrestres. Esto sugiere que la evolución de organismos vegetales terrestres en los últimos 475 millones de años<sup>5, 6</sup> ha sido el resultado, al menos en parte, del reclutamiento independiente de genes del gametofito al esporofito.

25 A menos que se indique lo contrario, las técnicas estándar fueron las siguientes:

#### RT-PCR

30 Con el sistema de síntesis Superscript First Strand (Invitrogen, Carlsbad, USA) se retrotranscribió ARN total (5 µg de *A. thaliana* y 1 µg de *P. patens*) en una reacción de 20 µl que contenía el cebador oligo d (T)12-18. Un µl de este producto se utilizó para la PCR en reacciones de 20 µl que contenían los cebadores descritos en el presente documento.

#### Experimentos de crecimiento de polen

Se llevaron a cabo experimentos *in vivo* e *in vitro* de crecimiento del tubo polínico, como se describió anteriormente (44, 45).

#### Análisis de Southern de Insertos

Se efectuaron transferencias de Southern con el Sistema DIG para el marcaje por PCR de sondas de ADN (Roche Diagnostics, Penzberg, Alemania) de acuerdo con el protocolo del fabricante, la hibridación se realizó a 42 °C en tampón de hibridación DIG Easy Hyb.

#### Condiciones de cultivo de *Arabidopsis*

45 Durante 4 días se cultivaron líneas de *Arabidopsis thaliana* (L.) Heyn en vertical en medio MS + sacarosa al 2 % solidificado con Phytigel al 0,5% a 24 °C con iluminación continua. Para el experimento en disco de celofán, el agar se recubrió con un disco de celofán (AA packaging, Preston, RU) antes de la aplicación de las semillas.

#### Atrapamiento potenciador y clonación del gen AtRHD6

55 *Atrhd6-2* es una línea trampa potenciadora (1261) de *Arabidopsis* (ecotipo *Lansberg erecta*) generada con el elemento *DsE*<sup>18</sup> que se exploró para el fenotipo sin pelo radicular y la expresión del gen indicador en células pilosas. El fracaso en complementar con *Atrhd6-1*<sup>7</sup> indicó que la línea 1261 lleva una mutación que es alélica a *Atrhd6-1*. La secuencia de ADN que flanquea la inserción del elemento *DsE* se identificó mediante PCR inversa<sup>19</sup>. El ADN genómico de la línea 1261 se digirió con Sau3A I y posteriormente se ligó utilizando ADN ligasa de T4. El ADN ligado se utilizó para la PCR con los cebadores específicos del elemento Ds. Esto mostró que *DsE* se inserta 111 pb aguas arriba del sitio ATG del gen *At1g66470* (Fig. 7).

60

#### Tinción con GUS de raíces de *Arabidopsis thaliana* e inclusión

65 Se tiñeron plántulas de cuatro días de vida durante 12 horas a 37 °C en 5-bromo-4-cloro-3-indolil-glucurónido 1 mM, ferricianuro potásico 0,5 mM, ferrocianuro potásico 0,5 mM, y tampón de fosfato sódico 10 mM (pH 7). Las plántulas

se incluyeron en resina Technovit 7100® (Kulzer GmbH, Alemania) de acuerdo con las instrucciones del fabricante y se tomaron secciones transversales de 10 µm de las raíces.

#### Identificación de mutantes de *A. thaliana* y generación de plantas transgénicas

5 La verificación de los sitios de inserción de ADN-T en los mutantes utilizados en este trabajo (Fig. 7) se llevó a cabo secuenciando fragmentos de PCR amplificados con los cebadores descritos en el presente documento. *Atrhd6-3* (ecotipo Columbia 0) corresponde a la línea 475E09 (10) de GABI-Kat. *Atrsl1-1* (ecotipo Columbia 0) que  
10 corresponde a la línea WiscDsLox356A02 proviene del Biotechnology centre of the University of Wisconsin. Los mutantes *cpc*, *wer*, *ttg1* y *gl2* se han descrito con anterioridad (32-35).

Las construcciones genómicas *AtRHD6p::GFP:AtRHD6* y *AtRSL1p::GFP:AtRSL1* contienen el promotor y la 5'UTR (Región 5' No Traducida) de *AtRHD6* o *AtRSL1* aguas arriba de la secuencia codificante de GFP fusionada en el N-terminal con la región codificante de *AtRHD6* o *AtRSL1* incluyendo intrones y la 3'UTR de *AtRHD6* o *AtRSL1* con  
15 terminador. Estas construcciones se generaron utilizando el sistema Gateway (Invitrogen, Carlsbad, Estados Unidos). El promotor de *AtRHD6* o *AtRSL1* + 5'UTR y la región codificante de *AtRHD6* o *AtRSL1* + 3'UTR + terminador se amplificaron con cebadores de PCR que contenían secuencias recombinantes y se clonaron en *pDONR P4-P1R* y *pDONR P2R-P3*. Después se efectuó una reacción GATEWAY multisitio con los dos plásmidos *pDONR* resultantes, el plásmido *p207-GFP2.5* y el vector binario *pGWBmultisite* (vector de destino). El vector binario  
20 *pGWBmultisite* se generó reemplazando el casete *R1-CmR-ccdB-R2* de *pGWB1* en *R4-CmR-ccdB-R3* (*pGWB1* es de Tsuyoshi Nakagawa, Universidad de Shimane, Japón). Se transformaron, respectivamente, *AtRHD6p::GFP:AtRHD6* y *AtRSL1p::GFP:AtRSL1* en *Atrhd6-3* y en doble mutante *Atrhd6-3 Atrsl1-1* por inmersión floral (36) y los transformantes se seleccionaron en kanamicina (50 µg/ml) e higromicina (50 µl/ml). Se obtuvieron nueve líneas transgénicas independientes que contenían la construcción *AtRHD6p::GFP:AtRHD6* en el fondo de  
25 *Atrhd6-3*. Muestran diferentes niveles de complementación del fenotipo sin pelo de *AtRhd6-* pero todas las líneas expresan el GFP en células pilosas antes de la emergencia del pelo radicular. Para la transformación de *AtRSL1p::GFP:AtRSL1* en *Atrhd6 Atrsl1*, se obtuvieron cinco líneas independientes que tenían el mismo patrón de expresión de GFP y restablecieron el fenotipo de *Atrhd6-3*.

30 Para la construcción *p35S::PpRSL1* la secuencia codificante de *PpRSL1* se amplificó a partir de ADNc de protonema. Este fragmento se clonó entre los sitios *BamHI* y *Sall* de un plásmido modificado *pCAMBIA1300* que contenía el promotor 35S del CaMV y el terminador de la subunidad pequeña E9 de la Rubisco de guisante de 35S-*pCAMBIA1301* clonado en sus sitios *EcoRI* y *PstI* (37). La construcción *p35S::PpRSL1* se transformó por inmersión floral en *Atrhd6-3* y los transformantes se seleccionaron en higromicina (50 µg/ml). Se obtuvieron diez líneas  
35 transgénicas independientes que complementaban el fenotipo sin pelo de *Atrhd6-3*.

#### Aislamiento de genes de *Physcomitrella* y análisis filogenéticos

40 Las secuencias genómicas de *Physcomitrella RSLs* y *PpIND1* se obtuvieron a partir del BLAST de la secuencia genómica disponible ensamblada en contigios (<http://moss.nibb.ac.jp/>). Los sitios de corte empalme esperados con NetPlantGene 20 y las secuencias codificantes de bHLH se confirmaron mediante RT-PCR y secuenciación. La secuencia codificante de longitud completa de *PpRSL1* se obtuvo secuenciando el clon EST *pdp31414*, proporcionado por el RIKEN BioResource Center<sup>21</sup> y la secuencia codificante de longitud completa de *PpRSL2* se obtuvo mediante RT-PCR. Las secuencias se han depositado en el GenBank como se indica a continuación:  
45 *PpRSL1* (EF156393), *PpRSL2* (EF156394), *PpRSL3* (EF156395), *PpRSL4* (EF156396), *PpRSL5* (EF156397) *PpRSL6* (EF156398), *PpRSL7* (EF156399) y *PpIND1* (EF156400). El análisis filogenético se realizó con el programa informático PAUP\* como se describió anteriormente<sup>22</sup>.

#### Condiciones de cultivo de *Physcomitrella*

50 En este estudio se utilizó la cepa de tipo silvestre Gransden de *Physcomitrella patens* (Hedw.), Bruch y Schimp 23. Los cultivos se cultivaron a 25 °C y se iluminaron con un régimen de luz de 16 h de luz/8 h de oscuridad y una irradiación cuántica de 40 µE m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>. Para el análisis del fenotipo de protonema, esporas mantenidas a 4 °C durante al menos 1 mes germinaron en 5 ml de agar superior (0,8%) sembradas en una placa de Petri de 9 cm que contenía  
55 25 ml de agar al 0,8% recubierto con un disco de celofán (AA packaging, Preston, RU). Los gametóforos foliares se cultivaron en medio mínimo diluido 100 veces<sup>24</sup> complementado con tartrato NH<sub>4</sub> 5 mg/l y glucosa 50 mg/l.

#### Construcción de mutantes en genes de *Physcomitrella*

60 Las construcciones para la transformación de *Physcomitrella* se realizaron en plásmidos *pBNRF* y *pBHSNR*. El plásmido *pBNRF* lleva un gen *NptII* dirigido por un promotor 35S clonado en el sitio *EcoRI* de *pBilox*, un derivado de *pMCS5* (MoBiTec, Goettingen, Alemania) que lleva dos repeticiones directas de los sitios *loxP* clonados en los sitios *XhoI-KpnI* y *BglII-SpeI*. El plásmido *pBHSNR* contiene un gen de *AphIV* dirigido por un clon del promotor 35S entre los 2 sitios *loxP* de *pBilox* utilizando *SacI* y *NotI*. *pPpRSL1-KO* se realizó clonando el fragmento genómico 1 de *PpRSL1* en  
65 *pBNRF* digerido con *XbaI* y *XhoI* y después clonando el fragmento genómico 2 de *PpRSL1* en el plásmido resultante

digerido con *HpaI* y *Ascl*. pPpRSL2-KO se realizó clonando el fragmento genómico 1 de *PpRSL2* en pBHSNR digerido con *MluI* y *SpeI* y después clonando el fragmento genómico 2 de *PpRSL2* en el plásmido resultante digerido con *BamHI* y *HindIII*.

5 Transformación de protoplastos con PEG

La transformación de protoplastos con PEG se realizó como se describió anteriormente<sup>25</sup>. pPpRSL1-KO se linearizó con *ScaI* y *SspI* antes de la transformación de protoplastos y los transformantes se seleccionaron en G418 (50 µl/ml). pPpRSL2-KO se linearizó con *BclI* y *SspI* antes de la transformación de protoplastos y los transformantes se seleccionaron en Higromicina B (25 µl/ml). Los dobles mutantes *Pprrs1 Pprrs2* se obtuvieron mediante transformación de la línea 1 de *Pprrs1* con la construcción pPpRSL2-KO. Los transformantes estables se seleccionaron primero mediante PCR utilizando cebadores que flanquean los sitios de recombinación y después se analizaron mediante transferencia de Southern y RT-PCR. Para cada transformación, se seleccionaron tres líneas independientes que tenían el patrón de inserción simple esperado y que eran mutantes nulos de ARN (Fig. 9). En cada caso, los 3 transformantes seleccionados tenían el mismo fenotipo.

15 Plantas que sobreexpresan los genes RHD6 o RSL

Para las construcciones 35S::RHD6 y RSL2, 3, y 4, la secuencia codificante de cada gen se amplificó a partir de ADNc de raíz con cebadores como se indica a continuación. Este fragmento se subclonó en un plásmido modificado pCAMBIA1300 que contenía el promotor 35S del CaMV y el terminador de la subunidad pequeña E9 de la Rubisco de guisante. Todas estas construcciones de sobreexpresión se transformaron mediante inmersión floral en *rhd6/rsl1* y los transformantes se seleccionaron en higromicina (50 µl/ml)

25 35S::RHD6  
CCAGGATCCATGGCACTCGTTAATGACCAT  
CCAGTCGACTTAATTGGTGATCAGATTCGAA

30 35S::RSL2  
CCAGGATCCATGGGAGAATGGAGCAACAA  
CCAGTCGACTCATCTCGGTGAGCTGAGA

35 35S::RSL3  
CGGGGTACC ATGGAAGCCATGGGAGAAT  
CGCGGATCC TCATCTGGTCAGTGCATTGAG

40 35S::RSL4  
CGGGGTACCATGGACGTTTTTGTGATGGT  
CGCGGATCCCTCACATAAGCCGAGACAAAAG

40 Resultados

La epidermis radicular de *Arabidopsis* se organiza en filas alternativas de células formadoras de pelo (células H) que producen una protuberancia de crecimiento apical (pelos radicales) y filas de células no pilosas (células N) que permanecen sin pelo. *AtRHD6* (*ROOT HAIR DEFECTIVE 6*) regula positivamente el desarrollo de células H -los mutantes *Atrhd6* desarrollan pocos pelos radicales (Fig. 1a)<sup>7</sup>.

Utilizando una línea trampa potenciadora (*Atrhd6-2*) en la que el gen indicador *GUS* se expresa en células H pero no en células N (Fig. 1 c, d, Fig. 7) se clonó *AtRHD6*. *AtRHD6* codifica el factor de transcripción básico hélice-bucle-hélice (bHLH) At1g66470<sup>8</sup>. La identificación de otro alelo independiente (*Atrhd6-3*) con un fenotipo similar y la complementación de la mutación *Atrhd6-3* con una fusión génica *AtRHD6p::GFP:AtRHD6* completa confirmó que el defecto en el desarrollo del pelo radicular observado en este mutante se debía a la mutación de *At1g66470* (Fig. 1a). Esta fusión *AtRHD6p::GFP:AtRHD6* complementaria indica que la proteína *AtRHD6* se acumula en los núcleos de las células H en el meristemo y en las zonas de elongación (Fig. 1b) pero desaparece antes de la emergencia del pelo radicular. El patrón espacial de células N y células H en la epidermis radicular de *Arabidopsis* se controla mediante una red transcripcional que incluye el regulador positivo *CPC* de identidad de células H y los reguladores negativos *WER*, *TTG* y *GL2* de identidad de células H<sup>9</sup>.

Para determinar si estos genes regulan *AtRHD6* se analizó la actividad promotora de la trampa potenciadora de *Atrhd6-2* en diferentes fondos mutantes. Mientras que la trampa potenciadora de *Atrhd6-2* expresa *GUS* en células en la posición H esta expresión se extiende a las células en la posición N en los fondos mutantes *wer*, *ttg* y *gl2* lo que indica que *WER*, *TTG* y *GL2* regulan negativamente la transcripción de *AtRHD6* en la posición N (Fig. 1d). No se observó expresión en el mutante *cpc* lo que indica que *CPC* regula positivamente la expresión de *AtRHD6* (Fig. 1d). Por tanto, *AtRHD6* controla el desarrollo de células pilosas radicales y actúa aguas abajo de los genes involucrados en la formación del patrón epidérmico.

AtRHD6 es un miembro de la subfamilia VIIIc de los factores de transcripción bHLH que comprende otros cinco miembros<sup>8, 10</sup>. Uno de esos genes, *At5g37800*, en lo sucesivo denominado *RHD SIX-LIKE1 (AtRSL1)*, es muy similar a *AtRHD6* y estos dos genes pueden derivar de un suceso de duplicación relativamente reciente<sup>8</sup>. Esto proporciona indicios de que *AtRHD6* y *AtRSL1* pueden tener funciones redundantes. Para determinar si *AtRSL1* también es necesario para el desarrollo del pelo radicular se identificó una línea (*Atrsl1-1*) que llevaba una mutación de pérdida de función completa en el gen *AtRSL1* y se creó el doble mutante *Atrhd6-3 Atrsl1-1* (Fig. 7).

Dado que cuando estos mutantes se cultivaron en condiciones de cultivo estándar no se observaron nuevos fenotipos, estos se cultivaron sobre la superficie de discos de celofán, donde se desarrollan pequeñas cantidades de pelos radiculares en el mutante simple *Atrhd6-3* (Fig. 2a). Las plantas homocigotas para la mutación *Atrsl1-1* tenían morfología de tipo silvestre para el pelo radicular cuando se cultivaron sobre discos de celofán (Fig. 2a). Sin embargo, el doble mutante *Atrhd6-3 Atrsl1-1* no desarrolló pelos radiculares, lo que indica que *AtRHD6* y *AtRSL1* tienen funciones parcialmente redundantes en el desarrollo de pelo radicular (Fig. 2a). Las plantas dobles mutantes *Atrhd6-3 Atrsl1-1* que llevan la construcción genómica *AtRSL1p::GFP:AtRSL1* mostraron el fenotipo mutante *AtRhd6-3*, lo que confirma que el fenotipo sin pelo extremo del doble mutante *Atrhd6-3 Atrsl1-1* es el resultado de una pérdida de función de los genes tanto *AtRHD6* como *AtRSL1* (Fig. 2a). La proteína de fusión complementaria GFP:AtRSL1 se acumula en los núcleos de las células pilosas en el meristemo y en las zonas de elongación, lo que indica que *AtRHD6* y *AtRSL1* tienen patrones de expresión similares (Fig. 2b). Estos datos indican que *AtRSL1* y *AtRHD6* actúan en conjunto para regular positivamente el desarrollo del pelo radicular.

Para determinar si *AtRHD6* y *AtRSL1* son necesarios para el desarrollo de la única otra célula de crecimiento apical en plantas en floración, el tubo polínico, se caracterizaron los fenotipos de los tubos polínicos en los mutantes *Atrhd6-3*, *Atrsl1-1* y *Atrhd6-3 Atrsl1-1* tanto *in vitro* como *in vivo*. No se detectó ni un defecto en el crecimiento del tubo polínico ni en la segregación de alelos mutantes en la progenie F2 de retrocruzamientos con tipo silvestre (Fig. 8). No se detectó otro fenotipo defectuoso en ninguna otra parte de los mutantes *Atrhd6-3*, *Atrsl1-1* o *Atrhd6-3 Atrsl1-1*.

En conjunto, estos datos indican que *AtRHD6* y *AtRSL1* son factores de transcripción de bHLH que se requieren específicamente para el desarrollo de pelos radiculares y actúan aguas abajo de los genes que regulan la formación del patrón epidérmico en la planta de *Arabidopsis* en floración.

El grado más ancestral de plantas terrestres son las briófitas - los primeros microfósiles de plantas terrestres del Ordovícico medio de alrededor de 475 M.a. tienen características de briófitas<sup>6</sup>). Las briófitas no tienen raíces pero poseen células de crecimiento apical que son morfológicamente similares a pelos radiculares y cumplen funciones enraizantes. En musgos, las células caulonemales aumentan el área superficial del tejido filamentoso del protonema en contacto con el sustrato y los rizoides anclan el gametóforo foliar a su sustrato de crecimiento<sup>3, 4</sup> y existe la hipótesis de que ambos tipos de células están involucrados en la adquisición de nutrientes<sup>3</sup>. Sin embargo, los rizoides y el caulonema se desarrollan a partir del gametofito de los musgos mientras que los pelos radiculares se desarrollan a partir del esporofito de las plantas vasculares modernas. Por tanto, de acuerdo con el punto de vista actual de que las plantas terrestres evolucionaron mediante la intercalación de una generación esporofítica de un ancestro de alga haploide seguido de un aumento progresivo del tamaño y complejidad del esporofito en paralelo a una reducción del gametofito<sup>11, 12</sup>, ni los rizoides ni el caulonema son homólogos de los pelos radiculares.

Para determinar si el mecanismo de desarrollo que controla el desarrollo de pelos radiculares en angiospermas también controla el desarrollo de células de crecimiento apical no homólogas con una función enraizante en briófitas, se identificaron genes *RHD6-LIKE* del musgo *Physcomitrella patens*. Se identificaron siete miembros de la subfamilia *AtRHD6* de genes bHLH a partir de la secuencia genómica disponible públicamente de *Physcomitrella* (<http://moss.nibb.ac.jp/>) que proporcionaban indicios de que estos genes se han conservado a lo largo de la evolución de las plantas terrestres. Se denominaron *RHD6-LIKE 1 a 7 (PpRSL1 a PpRSL7)* de *Physcomitrella patens*. Para analizar la relación entre los genes *RSL* de *Physcomitrella* y *Arabidopsis* se construyeron árboles filogenéticos mediante máxima parsimonia. En la Fig. 3 se presenta un árbol consenso estricto. Esto muestra que *AtRHD6*, *AtRSL1* y los dos genes *PpRSL1* y *PpRSL2* de *Physcomitrella* están estrechamente relacionados y en conjunto forman un clado monofilético (clado *AtRHD6*) que es hermano del clado que comprende a todos los demás miembros de la subfamilia (clado hermano) (Fig. 3). Esto indica que el clado *AtRHD6* evolucionó antes de la separación de las briófitas y las plantas vasculares a partir de un ancestro común.

Para caracterizar la función de los genes *RHD6-LIKE* en musgo se construyeron mutantes de delección que carecían de la función de los genes *PpRSL1* y *PpRSL2* y se determinó si desarrollaban defectos morfológicos. Se realizaron tres mutantes nulos de ARN independientes con inserciones simples en *PpRSL1* y en *PpRSL2*. También se generaron dobles mutantes con inserciones simples en ambos genes (Fig. 9). Los fenotipos de cada uno de estos mutantes se analizaron a continuación. Se desarrolla un protonema haploide tras la germinación de una espora de *Physcomitrella* de tipo silvestre 3. Este tejido filamentoso comprende dos tipos de células, las cloronemales y las caulonemales (Fig. 4 a, b). Las células cloronemales contienen grandes cloroplastos y crecen mediante un mecanismo lento de crecimiento apical. Las células caulonemales son más alargadas, contienen unos pocos cloroplastos más pequeños, crecen rápidamente mediante crecimiento apical y están involucrados en la colonización del sustrato. Los

gametóforos foliares normalmente se desarrollan a partir del caulonema y se anclan a su sustrato mediante rizoides multicelulares de crecimiento apical que son morfológicamente similares al caulonema (Fig. 4c). Los mutantes simples *Pprs11* y *Pprs12* tienen cultivos de protonema ligeramente más pequeños y verdes que los de TS y este fenotipo es mucho más fuerte en el doble mutante *Pprs11 Pprs12* que produce un protonema pequeño verde oscuro (Fig. 4a). Los mutantes simples *Pprs11* y *Pprs12* producen menos células caulonemales que los TS lo que indica que el fenotipo de protonema más verde es el resultado de un defecto en el desarrollo de las células caulonemales (Fig. 4b). Las células no caulonemales se desarrollan en el doble mutante *Pprs11 Pprs12* y el protonema de este mutante comprende únicamente células cloronemales (Fig. 4b). En las plantas de tipo silvestre los gametóforos se desarrollan a partir del caulonema pero en los dobles mutantes *Pprs11 Pprs12* los gametóforos se desarrollan a partir del cloronema, como se observó anteriormente en otro mutante con caulonema defectuoso<sup>13</sup>. Los gametóforos del doble mutante *Pprs11 Pprs12* desarrollan pocos rizoides muy cortos (Fig. 4c). No se detectaron otros fenotipos defectuosos en el cloronema, en la parte foliar del gametóforo o en el esporofito en los dobles mutantes o mutantes simples. Esto indica que *PpRSL1* y *PpRSL2* juntos regulan el desarrollo de células caulonemales y rizoides en el gametofito del musgo. Para determinar si la función de la proteína se conserva en las plantas terrestres se efectuó un experimento de complementación entre especies cruzadas. La expresión de *PpRSL1* bajo el promotor 35S del CaMV en el mutante *Atrhd6-3* dio lugar a la formación de pelos radiculares de tipo silvestre (Fig. 4d). Por tanto, el gen *PpRSL1* de musgo puede sustituir la pérdida de función de *AtRHD6* en *Arabidopsis*. Esto indica que la función molecular de *PpRSL1* y *AtRHD6* se ha conservado desde la divergencia de plantas de semilla y musgos a partir de un ancestro común y sugiere que el mismo mecanismo molecular controla el desarrollo de los pelos radiculares de *Arabidopsis* y el caulonema y rizoides de *Physcomitrella*.

Se diseñaron plantas para sobreexpresar los genes RHD6 o RSL utilizando un promotor constitutivo, como se describió anteriormente. El fenotipo de estos transformantes se describe a continuación:

#### 25 *35S::RHD6*

El fenotipo deficiente de pelo radicular de *rh6/rs11* puede rescatarse mediante la sobreexpresión de RHD6. Los transformantes obtienen un pelo radicular más largo y un porcentaje más alto de pelo radicular ectópico (pelos radiculares que se desarrollan en células no pilosas) que col-0. Se pueden observar algunos pelos radiculares en los hipocótilos.

El déficit de fosfato altera la expresión génica de *AtRHD6* y *AtRSL1*. Cuando se cultiva en presencia de suficiente fosfato estos genes se expresan en el meristemo y en la zona de elongación y la transcripción se regula negativamente en las regiones donde se forman pelos. Cuando se cultiva en condiciones en las que el fosfato está limitado, *AtRHD6* y *AtRSL1* se expresan en la zona formadora de pelo radicular donde regulan positivamente el desarrollo de pelos radiculares. Esto muestra que el déficit de fosfato promueve la expresión. Por lo tanto, la expresión de elevados niveles de *AtRSL1* y *AtRHD6* en la epidermis radicular da como resultado una respuesta constitutiva a "bajo contenido en fosfato".

#### 40 *35S::RSL2* y *35S::RSL3*

Las plantas *rh6/rs11* que llevan las construcciones *35S::RSL2* o *35S::RSL3* también desarrollan algo de pelo radicular. Los pelos radiculares son más largos que los de col-0. Algunas líneas transgénicas mostraron células epidérmicas turgentes en las raíces e hipocótilos. También había algunos pelos radiculares en los hipocótilos.

La sobreexpresión de *AtRSL2* y *AtRSL3* utilizando el promotor 35S del CaMV en plantas de tipo silvestre da como resultado el desarrollo de pelos radiculares largos. Estos pelos no son tan largos como los que forman las colonias de tipo fúngico tras la sobreexpresión de *AtRSL4*. Las plantas que sobreexpresan *AtRSL2* y *AtRSL3* desarrollan fenotipos atrofiado. Esto puede deberse a la expresión en células pilosas no radiculares.

#### 50 *35S::RSL4*

El fenotipo de pelo radicular deficiente de *rh6/rs11* también puede complementarse en parte introduciendo la sobreexpresión de RSL4. Los transformantes muestran pelo radicular más largo que el de col-0. También se detectaron algunos pelos radiculares en los hipocótilos, lo que es muy similar a los transformantes de sobreexpresión de RHD6.

La sobreexpresión de *AtRSL4* utilizando el promotor 35S del CaMV en plantas de tipo silvestre, causa la formación de pelos radiculares largos que pueden formar masas extensas de crecimiento indeterminado de células que se asemejan a las colonias de tipo fúngico (figure 10). El sistema de pelo radicular de una planta que sobreexpresa RSL4 se muestra en la Figura 10. La raíz está rodeada de una masa de células tipo fúngico, que se asemeja a las micorrizas, el que hongo forma asociaciones con las raíces elimina los nutrientes. Además, cuando el promotor 35S expresa RSL4, se descubrió que este efecto fenotípico (pelos radiculares largos) estaba restringido a las células pilosas de la raíz. En otras partes de la planta no se observaron fenotipos defectuosos resultantes de la expresión de RSL4.

Las plantas que sobreexpresan genes relacionados con RHD6 pueden tener por tanto capacidad de captación de nutrientes aumentada debido a su área superficial aumentada resultante de un crecimiento de pelo radicular potenciado. Este efecto puede ser notable en plantas, tales como la del género *Brassica*, que carecen de micorrizas durante todo su ciclo vital.

En el presente documento se muestra cómo factores de transcripción estrechamente relacionados controlan el desarrollo de células de crecimiento apical que tienen una función enraizante en el esporofito de plantas con semillas y en el gametofito de briófitas. Estos datos indican que se ha identificado un mecanismo de desarrollo ancestral que estaba presente en el ancestro común de los musgos y plantas vasculares (traqueófitas). Estos genes habrán sido importantes para la invasión de la tierra por plantas cuando la adquisición de nutrientes y el anclaje al sustrato sólido de la superficie continental eran necesarios. La observación de que los rizoides se han encontrado en algunos de los microfósiles más antiguos de plantas terrestres coincide con este planteamiento<sup>14-16</sup>.

Estos resultados proporcionan indicios de que los genes *RHD6-LIKE* funcionaron en la generación haploide (gametofito) del ciclo vital de las plantas terrestres tempranas que puede haber sido semejante a las briófitas<sup>14</sup>, donde controlaron la formación de células con función enraizante. Se propone que durante la radiación posterior de las plantas terrestres estos genes se desplegaron en el desarrollo de la generación diploide (esporofito) de plantas vasculares donde controlan el desarrollo de pelos radiculares en angiospermas y se predice que controlan el desarrollo de pelos radiculares y rizoides en licófitos (licopodios y asociados) y monilófitos (helechos y colas de caballo). Es probable que dicho reclutamiento independiente de genes de fases haploides a diploides del ciclo vital sea en parte responsable de la explosión de la diversidad morfológica del estadio diploide del ciclo vital (esporofito) que sucedió en el Paleozoico medio cuando las plantas verdes colonizaron las superficies continentales del planeta<sup>17</sup>.

## REFERENCIAS

1. Carol, R. J. y Dolan, L. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 357, 815-21 (2002).
2. Gahoonia, T. S., Care, D. y Nielsen, N. E. *Plant Soil* 191, 181-188 (1997).
3. Duckett, J. G. et al. Protonemal morphogenesis. En *Bryology for the twenty-first century* (eds. Bates, J. W., Ashton, N. W. & Duckett, J. G.) 223-245 (British Bryological Society, 1998).
4. Sakakibara, K. et al. *Development* 130, 4835-4846 (2003).
5. Kenrick, P. y Crane, P. R. *Nature* 389, 33-39 (1997).
6. Wellman, C. H. et al. *Nature* 425, 282-285 (2003).
7. Masucci, J. D. et al. *Plant Physiol.* 106, 1335-1346 (1994).
8. Heim, M. A. et al. *Mol. Biol. Evol.* 20, 735-747 (2003).
9. Schiefelbein, J. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6, 74-78 (2003).
10. Bailey, P. C. et al. *Plant Cell* 15, 2497-2501 (2003).
11. Blackwell, W. H. *Bot. Rev.* 69, 125-148 (2003).
12. Graham, L. E. et al. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 97, 4535-4540 (2000).
13. Thelander, M. et al. *J. Exp. Bot.* 56, 653-662 (2005).
14. Edwards, D. et al. *Nature* 374, 635-636 (1995).
15. Kerp, H. et al. *New Data on Nothia aphylla* Lyon 1964 ex El-Saadawy et Lacey 1979, a Poorly Known Plant from the Lower Devonian Rynie Chert. In *Plants Invade the Land* (eds. Gensel, P. y Edwards, D.) 52-82 (Columbia University Press, Nueva York, 2001).
16. Kerp, H. et al. *T. Roy. Soc. Edin-Earth* 94, 411-428 (2004).
17. Davis, P. y Kenrick, P. *Fossil Plants* (The Natural History Museum, Londres, 2004).
18. Sundaresan, V. et al. *Genes Dev.* 9, 1797-1810 (1995).
19. Long, D. et al. *Mol. Gen. Genet.* 241, 627-636 (1993).
20. Hebsgaard, S. M. et al. *Nucleic Acids Res.* 24, 3439-3452 (1996).
21. Nishiyama, T. et al. *PNAS*. EE.UU 100, 8007-8012 (2003).
22. Harrison, C. J. y Langdale, J. A. *Plant J.* 45, 561-572 (2006).
23. Ashton, N. W. y Cove, D. J. *Mol. Gen. Genet.* 154, 87-95 (1977).
24. Ashton, N. W. et al. *Planta* 144, 427-435 (1979).
25. Schaefer, D. G. y Zryd, J. P. *Plant J.* 11, 1195-1206 (1997).
26. Liljegren, S. J. et al. *Cell* 116, 843-853 (2004).
27. Schiefelbein, J. W. et al. *The Plant Cell*, 2, 235-24 243 (1990).
28. V. Sundaresan et al., *Genes Dev.* 9, 1797 (1995).
29. J. D. Masucci et al. *Plant Physiol.* 106, 1335 (1994).
30. D. Long et al., *Mol. & Gen. Genet.* 241, 627 (1993).
31. M. G. Rosso et al., *Plant Mol. Biol.* 53, 247 (2003).
32. M. E. Galway et al., *Dev. Biol.* 166, 740 (1994).
33. M. M. Lee, J. Schiefelbein, *Cell* 99, 473 (1999).
34. J. D. Masucci, J. W. Schiefelbein, *Plant Cell* 8, 1505 (1996).
35. T. Wada et al. *Science* 277, 1113 (1997).
36. S. J. Clough, A. F. Bent, *Plant J.* 16, 735 (1998).

37. K. K. Yi et al., *Plant Physiol.* 138, 2087 (2005).  
 38. S. M. Hebsgaard et al., *Nucleic Acids Res.* 24, (Sep 1, 1996).  
 39. T. Nishiyama et al. *PNAS USA* 100, 8007 (2003).  
 40. C. J. Harrison, J. A. Langdale, *Plant J.* 45, 561 (2006).  
 5 41. N. W. Ashton, D. J. Cove, *Mol. & Gen. Genet.* 154, 87 (1977).  
 42. N. W. Ashton, N. H. Grimsley, D. J. Cove, *Planta* 144, 427 (1979).  
 43. D. G. Schaefer, J. P. Zryd, *Plant J.* 11, 1195 (1997).  
 44. L. M. Fan et al *J. Exp. Bot.* 52, 1603 (2001).  
 10 45. E. Ryan, et al *New Phytol.* 138, 49 (1998).

AtRHD6	TSPKDPQSLAAKNRRERISERLKLQELVPNGTKVDLVTMLEKAI SYVKFLQVQVKVLATDEFWPAQ	67
AtRSL1	TSPKDPQSLAAKNRRERISERLKLQELVPNGTKVDLVTMLEKAI GYVKFLQVQVKVLADEFWPAQ	67
PpRSL1	GSANDPQSIAARVRRERISERLKLQALIPNGDKVDMVTMLEKAI SYVQCLEFQIKMLKNDLWPKA	67
PpRSL2	GSANDPQSIAARVRRERISERLKLQALIPNGDKVDMVTMLEKAI IYVQCLELQIKMLKNDLWPKA	67
PpRSL5	GSATDPQSVYARHRREKINERLKS LQNLVPNGAKVDIVTMLDEAIHYVKFLQVQVELLKSDELWIYA	67
PpRSL6	GSATDPQSVYARHRREKINERLKNLQNLVPNGAKVDIVTMLDEAIHYVKFLQVQVELLKSDEFWMA	67
PpRSL3	GSATDPQSVYARHRREKINERLKT LQHLVPNGAKVDIVTMLDEAIHYVQFLQVQVTLKSDIYWMYA	67
PpRSL4	GSATDPQSVHARARREKIAERLRLK LQHLIPNGGKVDIVTMLDEAVHYVQFLKRVTLKSDIYWMYA	67
PpRSL7	GSATDPQSVYARHRREKINERLKT LQRLVPNGEQVDIVTMLEEAIHFVKFLQVQVELLRSDDRWMFA	67
At4g33880	GAATDPQSLYARKRRERINERLRIL QNLVPNGTKVDISTMLEEAVHYVKFLQVQIKLLSDDLWMYA	67
At2g14760	GAATDPQSLYARKRRERINERLRIL QHLVPNGTKVDISTMLEEAVQYVKFLQVQIKLLSDDLWMYA	67
At1g27740	GTATDPQSLYARKRRERINERLKT LQNLVPNGTKVDISTMLEEAVHYVKFLQVQIKLLSDDLWMYA	67
At5g43175	GIASDPQSLYARKRRERINDRLKT LQSLVPNGTKVDISTMLEDAVHYVKFLQVQIKLLSSEDLWMYA	67
AtIND	RISDDPQIVVARRRRERISEKIRIL KRIVPGGAKMDTASMLDEAIRYTKFLKRQVRILQPHSQIGAP	67
PpIND1	RISKDPQSVAARHRERISDRIRVL QRLVPGGTKMDTASMLDEAIHYVKFLKQLQVCDTCNLVPVD	67
	. ***:: *: ***:* :::: *: ::*. * ::* :***.*: ::. *: *:: .	

Tabla 1

```

      10      20      30      40      50      60      70      80
AtRHD6 K-TPKPKTT-SP-----KD-PQSLAAKN-RRERISERLKILQELVLPNGTKVDLVTMLEKAI SYVKFLQVQVKVL---ATDEFWP
AtRSL1 K-TPKPKATT-SP-----KD-PQSLAAKN-RRERISERLKVLELQVLPNGTKVDLVTMLEKAIGYVKFLQVQVKVL---AADEFWP
AtRSL2 K-TR-ASRG-AA-----TD-PQSLYARK-RRERINERLRILQNLVLPNGTKVDISTMLEEAVHYVKFLQLQIKILL---SSDDLWM
AtRSL3 K-TR-ASRG-AA-----TD-PQSLYARK-RRERINERLRILQHLVLPNGTKVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKILL---SSDDLWM
AtRSL4 K-TR-ATKG-TA-----TD-PQSLYARK-RRERINERLKTLOLQVLPNGTKVDISTMLEEAVHYVKFLQLQIKILL---SSDDLWM
AtRSL5 K-AK-ANRG-IA-----SD-PQSLYARK-RRERINDRLKTLQSLVLPNGTKVDISTMLEDAVHYVKFLQLQIKILL---SSEDLWM
BdRSLa KSPAPAIT--SP-----KD-PQSLAAKN-RRERISERLRTLOEMVLPNGTKVDMVTMLEKAI SYVKFLQVQVKVL---ATDEFWP
BdRSLb K-SK-AKAA-PA-----KD-PQSAVAKV-RRERISERLKVLDLQVLPNGTKVDMVTMLEKAITYVKFLQVQVKVL---ATDEFWP
BdRSLc K-SSAAATGTSP-----RKE-PQSQAAS-RRERIGERLRALQELVLPNGSKVDMVTMLDKAITYVKFMQLQLTVL---ETDAFWP
BdRSLd K-AR-AARG-AS-----TD-PQSLYARK-RRERINERLKTLOLQVLPNGTKVDMVTMLEEAVHYVKFLQLQIKILL---SSDDMMW
BdRSLe D-NTSGCKR-PS-----KN-MQSLYAKK-RRERINEKLRVLQQLIPNGTKVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKILL---SSDETWM
CtRSLa K-TK-ANRG-SA-----TD-PQSVYARK-RRERINERLRILQSLVLPNGTKVDISTMLEDAVQYVKFLQLQIKILL---SSDDLWM
GmRSLa K-SR-ATTG-AA-----TD-PQSLYARK-RRERINERLRILQNLVLPNGTKVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKILL---SSDDLWM
GmRSLb K-SR-ATTS-AA-----AD-PQSLYARK-RRERINERLRILQNLVLPNGTKVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKILL---SSEDLWM
LsRSLa K-RK-ASRG-SA-----TD-PQSVYARK-RRERINERLRILQNLVLPNGTKVDISTMLEEAVEYVKFLQLQIKILL---SSDDMMW
MaRSLa K-TR-SNRW-PA-----TD-PQSLYAKQ-RRERINARLRTLQNLVLPNGTKVDISTMLEEAVRYVKFLQLQIKILL---SSEDLWM
McRSLa K-TR-ASRG-SA-----TD-PQSLYARK-RRERINERLRVLQNLVLPNGTKVDISTMLEEAVNYVKFLQVQVKVL---SSDDMMW
OsRSLa S-PSFSPS--PN-----KEQPQSAAAKV-RRERISERLKVLDLQVLPNGTKVDLVTMLEKAI SYVKFLQVQVKVL---ATDEFWP
OsRSLb K-AKSAPTT-PT-----KD-PQSLAAKN-RRERISERLRILQELVLPNGTKVDLVTMLEKAI SYVKFLQVQVKVL---ATDEFWP
OsRSLc Y-SK-KQRA-MN-----KE-TQSSAAS-RRERISERLRALQELVPSGGKVDMVTMLDRAI SYVKFMQMLRVL---ETDAFWP
OsRSLd K-AR-AGRG-AA-----TD-PQSLYARK-RRERINERLKILOLQVLPNGTKVDISTMLEEAVHYVKFLQLQIKILL---SSDDMMW
OsRSLe K-AQ-SGHR-SA-----TD-PQSLYARK-RRERINERLKILOLQVLPNGTKVDISTMLEEAMHYVKFLQLQIKILL---SSDENWM
OsRSLf N-SR-GHQ-CG-----KD-TQSLYAKR-RRERINERLRILQSLVLPNGTKVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKILL---SSDDTWM
OsRSLg K-AC-KHSV-SA-----ESSQSYAKN-RRQRINERLRILQELIPNGTKVDISTMLEEAIQYVKFLHLQIKILL---SSDENWM
OsRSLh K-SR-AGRG-AA-----TD-PQSLYARK-RRERINERLKTLOLQVLPNGTKVDISTMLEEAVHYVKFLQLQIKILL---SSDENWM
OsRSLi G-TR-ANRG-AA-----TD-PQSLYARK-RRERINERLRILQNLVLPNGTKVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKILL---SSDDTWM
PpRSL1 K-PR-ARQG-SA-----ND-PQSLAARV-RRERISERLKVQLALIPNGDKVDMVTMLEKAI SYVQCLEFQIKML---KNDSLWP
PpRSL2 K-PR-ARQG-SA-----ND-PQSLAARV-RRERISERLKVQLALIPNGDKVDMVTMLEKAI SYVQCLEFQIKML---KNDSLWP
PpRSL3 K-PR-ARQG-SA-----TD-PQSVYARH-RRERINERLKTLOLQVLPNGAKVDIVTMLDEAIHYVKFLQLQVTL---KSDEYWM
PpRSL4 R-PR-VQRC-SA-----TD-PQSVHARA-RRERIAERLRKLQHLIPNGGKVDIVTMLDEAVHYVQFLKRVTL---KSDEYWM
PpRSL5 K-PR-ARQG-SA-----TD-PQSVYARH-RRERINERLKSLOLQVLPNGAKVDIVTMLDEAIHYVKFLQVQVLELL---KSDELWI
PpRSL6 K-PR-ARQG-SA-----TD-PQSVYARH-RRERINERLKNLQNLVLPNGAKVDIVTMLDEAIHYVKFLQVQVLELL---KSDEYWM
PpRSL7 R-PR-ARQG-SA-----TD-PQSVYARH-RRERINERLKTLOLQVLPNGEQVDIVTMLDEAIHYVKFLQVQVLELL---RSDDRWM
PcRSLa K-PK-SAAG-PA-----KD-LQSLAAKN-RRERISERLKVLDLQVLPNGSKVDLVTMLEKAI SYVKFLQVQVKVL---ATDELWP
PcRSLb K-PKPSAG-PA-----KD-PQSLAAKN-RRERISERLKMQLQVLPNGSKVDLVTMLEKAI SYVKFLQVQVKVL---ATDEFWP
PcRSLc K-TR-ASRG-AA-----TD-PQSLYARK-RRERINERLRILQTLVLPNGTKVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKILL---SSEDLWM
PcRSLd K-TR-ASRG-AA-----TD-PQSLYARK-RRERINERLRILQNLVLPNGTKVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKILL---SSEDLWM
PcRSLe K-TR-ATRG-AA-----TD-PQSLYARK-RRERINERLKILOLQVLPNGTKVDISTMLEEAVHYVMFLQLQIKILL---SSDDLWM
SmRSLa K-PR-AKQC-CA-----ND-PQSLAARQ-RRERISDRLKILOLQVLPNGSKVDLVTMLEKAI NYVKFLQVQVKVL---MNDEYWP
SmRSLb K-PR-AKQC-CA-----ND-PQSLAARQ-RRERISDRLKILOLQVLPNGSKVDLVTMLEKAI NYVKFLQVQVKVL---MNDEYWP
SmRSLc K-PR-ARQG-SA-----ND-PQSLAARH-RRERISDRLKILOLQVLPNSTKVDLVTMLEKAI NYVKFLQVQVKVL---TSDDYWP
SmRSLd K-PR-ARQG-SA-----ND-PQSLAARH-RRERISDRLKILOLQVLPNSTKVDLVTMLEKAI NYVKFLQVQVKVL---TSDDYWP
SmRSLe K-PR-AKQC-CA-----ND-PQSLAARQ-RRERISDRLKILOLQVLPNGSKVDLVTMLEKAI NYVKFLQVQVKVL---MNDEYWP
SmRSLf K-PR-AKQC-CA-----ND-PQSLAARQ-RRERISDRLKILOLQVLPNGSKVDLVTMLEKAI NYVKFLQVQVKVL---MNDEYWP
SmRSLg K-PR-AKQC-CA-----ND-PQSLAARQ-RRERISDRLKILOLQVLPNGSKVDLVTMLEKAI NYVKFLQVQVKVL---MNDEYWP
SmRSLh K-PR-AKQC-CA-----ND-PQSLAARQ-RRERISDRLKILOLQVLPNGSKVDLVTMLEKAI NYVKFLQVQVKVL---MNDEYWP
TaRSLa K-SK-AKVV-PT-----KD-PQSAVAKV-RRERISERLKVLDLQVLPNGTKVDMVTMLEKAI TYVKFLQVQVKVL---ATDEFWP
ZmRSLa K-AKLASTA-PT-----KD-PQSLAAKQRRERISERLRALQELVLPNGTKVDLVTMLEKAI SYVKFLQVQVKVL---ATDEFWP
ZmRSLb C-AR-ASRG-A-----ATE-PQSLYARK-RRERINERLRILQNLVLPNGTKVDISTMLEEAAQYVKFLQLQIKILL---SCDDTWM
ZmRSLc N-ARAAGRG-AAAATTITAE-PQSIYARV-RRERINERLKVLSLQVLPNGTKVDMVTMLEEAVHYVKFLQLQIRVLQLSSDDLWM
ZmRSLd C-TR-ASRG-G-----ATD-PQSLYARK-RRERINERLRILQNLVLPNGTKVDISTMLEEAAQYVKFLQLQIKILL---SSDDMMW
AtIND K-FNRRNWRIS-----DD-PQTVVARR-RRERISEKIRILKRIVPGGAKMDTASMLDEAIRYTKFLKRVRL---QPHSQIG

```

Tabla 2

Tabla 3

Gen	Referencia en la base de datos	% de identidad con RHD6	
		sobre la longitud completa	sobre el dominio bHLH
RHD6	At1g66470	100	100
RSL1	At5g37800	58,8	95,5
RSL2	At4g33880	19,1	75
RSL3	At2g14760	22,7	75
RSL4	At1g27740	23,2	73,1
RSL5	At5g43175	22,3	73,1

Tabla 4

Proteína	Identidad de secuencia AtRHD6	Proteína	Identidad de secuencia AtRHD6
AtRHD6	1	PpRSL1	0,625
AtRSLI	0,93	PpRSL2	0,611
AtRSL2	0,611	PpRSL3	0,583
AtRSL3	0,611	PpRSL4	0,513
AtRSL4	0,597	PpRSL5	0,597
AtRSL5	0,583	PpRSL6	0,611
BdRSLa	0,835	PpRSL7	0,527
BdRSLb	0,763	PtRSLa	0,791
BdRSLc	0,675	PtRSLb	0,847
BdRSLd	0,611	PtRSLc	0,597
BdRSLe	0,569	PtRSLd	0,597
CtRSLa	0,625	PtRSLe	0,611
GmRSLa	0,611	SmRSLa	0,708
GmRSLb	0,597	SmRSLb	0,708
LsRSLa	0,611	SmRSLc	0,722
MaRSLa	0,611	SmRSLd	0,722
MtRSLa	0,611	SmRSLe	0,625
OsRSLa	0,78	SmRSLf	0,625
OsRSLb	0,902	SmRSLg	0,625
OsRSLc	0,652	SmRSLh	0,625
OsRSLd	0,597	TaRSLa	0,777
OsRSLe	0,638	ZmRSLa	0,835
OsRSLf	0,597	ZmRSLb	0,561
OsRSLg	0,602	ZmRSLc	0,493
OsRSLh	0,611	ZmRSLd	0,589
OsRSLi	0,597	At/ND	0,424

Tabla 5

Nombre	Especie	Nombre del locus	Número de acceso GI
AtRHD6		AT1G66470	
AtRSLI		AT5G37800	
AtRSL2	<i>Arabidopsis thaliana</i>	AT4G33880	
AtRSL3		AT2G14760	
AtRSL4		AT1G27740	
AtRSL5		AT5G43175	
BdRSLa			
BdRSLb			
BdRSLc	<i>Brachypodium distachyon</i>		N/A
BdRSLd			

## ES 2 483 916 T3

BdRSLe			
CtRSLa	<i>Carthamus tinctorius</i>		125399878
GmRSLa	<i>Glycine max</i>		26056905
GmRSLb			15663066
LsRSLa	<i>Lactuca saligna</i>		83790803
MaRSLa	<i>Musa acuminata</i>		102139852
MtRSLa	<i>Medicago truncatula</i>		92870204
OsRSLa		0s01g02110	
OsRSLb		Os02g48060	
OsRSLc		0s06g30090	
OsRSLd		0s03g10770	
OsRSLe	<i>Oryza sativa ssp japonica</i>	0s03g42100	
OsRSLi		0s07g39940	
OsRSLf		0s11g41640	
OsRSLg		0s12g32400	
OsRSLh		0s12g39850	
PpRSLI			140084326
PpRSL2			140084333
PpRSL3			
PpRSL4	<i>Physcomitrella patens</i>		
PpRSL5			
PpRSL6			
PpRSL7			
PtRSLa			
PtRSLb			
PtRSLc	<i>Populus trichocarpa</i>		
PtRSLd			
PtRSLe			N/A
SmRSLa			
SmRSLh			
SmRSLb			
SmRSLc	<i>Selaginella moelendorffii</i>		
SmRSLd			
SmRSLe			
SmRSLf			
SmRSLg			
TaRSLa	<i>Triticum aestivum</i>		
ZmRSLa	<i>Zea mays</i>	AZM4_60871	
ZmRSLb		AZM4_70092	
ZmRSLc		AZM4_91750	
ZmRSLd		AZM4_86104	

### CEBADORES

A, Amplificación y secuenciación de los sitios de inserción de los mutantes de *A. thaliana*

5

Sitio de inserción de *rhd6-1*

AtRHD6-A: 5'-GGATTGATTTAATTACCATATTTAT-3'

LB2: 5'-CAAGTATCAAACGATGTG-3'

10

Sitio de inserción de *rhd6-2* (PCR inversa)

DL3: 5'-CACCG GTACCGACCGTTACCGACCG-3'

Ds3I2: 5'-TACCGGTACCGAAAACGAACGGGA-3'

15

Sitio de inserción de *rhd6-3*

AtRHD6-B: 5'-GTTCCCAATGGCACCAAGGTACA-3'

GABI-LB: 5'-CCCATTTGGACGTGAATGTAGACAC-3'

Sitio de inserción de *rs1-1*

AtRSL1-A: 5'-CGTGTGGACCGACGTCTGA

5 JL-202: 5'-CATTTTATAATAACGCTGCGGACATCTAC-3'

*B, Construcción del plásmido pRHD6::GFP-RHD6::RHD6t.* Amplificación del promotor *AtRHD6* + fragmento 5'UTR de BAC F28G11

RHD6prom-attB4F: 5'-GGGACAACCTTTGTATAGAAAAGTTGTTCTCAAAGAGGG  
ACAAGACCAAAGCCCATGAC-3'

RHD6prom-attB1R: 5'-GGGGACTGCTTTTTTGTACAAACTTGCTAGACACTAATA  
AGTTTGATAAGTGATTTTTTGT-3'

10

Amplificación de la región codificante *AtRHD6* + 3'UTR + fragmento terminador de BAC F28G11

RHD6term-attB2F: 5'-GGGGACAGCTTCTTGTACAAAGTGGCCATGGCACTCG  
TTAATGACCATCCCAACGAGA-3'

RHD6term-attB3R: 5'-GGGGACAACCTTTGTATAATAAAGTTGCTGATAAATCGAG  
ATCTTAGGTATGTCGTCC-3'

15 *C, Construcción del plásmido pRSL1::GFP-RSL1::RSL1t*

Amplificación del promotor *AtRSL1* + fragmento 5'UTR de ADN genómico de Col0

RSL1prom-attB4F: 5'- GGGGACAACCTTTGTATAGAAAAGTTGTGATAATGGATTG  
GAGAAAAATTAAAG-3'

RSL1prom-attB1R: 5'- GGGGACTGCTTTTTTGTACAAACTTGATTTGCAATGTTC  
GTTAATGAGTGAC -3'

20 Amplificación de la región codificante de *AtRSL1* + 3'UTR + fragmento terminador de ADN genómico de Col0

RSL1term-attB2F: 5'-GGGGACAGCTTCTTGTACAAAGTGGGTAATTACAT  
CTCAACCCCAAATTCTT-3'

RSL1term-attB3R: 5'-\_ACAACCTTTGTATAATAAAGTTGATGTATAAATTCGGAA  
GATGCTTAAAA -3'

*D, Construcción del plásmido p35S::PpRSL1*

25

Amplificación de la secuencia codificante de *RSL1* a partir de ADNc de Col0

35SPpRDL1 F: 5'-CCAGGATCCATGGCAGGTCCAGCAGGA-3'  
35SPpRDL2 R: 5'-CCAGTCGACTTAGTCAGCAGAAAGGCTGATT-3'

30

*E, Construcción del plásmido pPpRSL1-KO*

Amplificación del fragmento 1 de *PpRSL1* de ADN TS de *P. patens*

35 PpRSL1KO 1 F: 5'-CCTCTAGAAGTACTTGTGATCCACAGCCTA-3'  
PpRSL1KO 1 R: 5'-GGCTCGAGCCGTACTGGGTGGTTTG-3'

## ES 2 483 916 T3

Amplificación del fragmento 2 de *PpRSL1* de ADN TS de *P. patens*

PpRSL1KO 2 F: 5'-CCGTTAACTTCTACATGTTGCGTTATTTATGGT-3'  
PpRSL1KO 2 R: 5'-CCGGCGCGCCAATATTTATATAAATAAGCATAATACACTTCGA-3'

5

*F, Construcción del plásmido pPpRSL2-KO*

Amplificación del fragmento 1 de *PpRSL2* de ADN TS de *P. patens*

10 PpRSL2KO 1 F: 5'-GCAACGCGTGGGTTTGATCAAAGACGGAA-3'  
PpRSL2KO 1 R: 5'-GCTACTAGTCGTCAACCTAACCCAAACAT-3'

Amplificación del fragmento 2 de *PpRSL2* de ADN TS de *P. patens*

15 PpRSL2KO 2 F: 5'-GAGGGATCCGTGAGGTGAAAGCAGTGAAA-3'  
PpRSL2KO 2 R: 5'-CCAAAGCTTAGGCCTGTGAACTCGGACA-3'

*G, Amplificación de sondas marcadas Dig para transferencias de Southern*

20 Amplificación de la sonda de *PpRSL1* de ADN TS de *P. patens*

Sonda F de *PpRSL1*: 5'-GCTGCTAGGGTAACATAAACATTCTT-3'  
Sonda R de *PpRSL1*: 5'-CTGGACACTGGAATGAACCTA-3'

25 Amplificación de la sonda de *NptII* (*NEOMICIN FOSFOTRANSFERASA II*) de pBNRF

Sonda F de *NptII*: 5'-CCCATGGAGTCAAAGATTCA-3'  
Sonda R de *NptII*: 5'-CCGCGAATTCGAGCTCGGT-3'

30 Amplificación de la sonda de *PpRSL2* de ADN TS de *P. patens*

Sonda F de *PpRSL2*: 5'-CCCAAATATGCATTTTTAATCTTT-3'  
Sonda R de *PpRSL2*: 5'-GCGACAATCCAGCAGCCTCTAT-3'

35 Amplificación de la sonda de *AphIV* (*AMINOGLICÓSIDO FOSFOTRANSFERASA IV*) de pBHSNR

Sonda F de *AphIV*: 5'-GTAGGAGGGCGTGGATATGT-3'  
Sonda R de *AphIV*: 5'-CGAGTGCTGGGGCGT-3'

40 *H, Amplificación de la secuencia codificante de PpRSL2 de ADNc de protonema*

PpRSL2 RT-PCR F: 5'-GGGACCTCAAGGATGCAGCA-3'  
PpRSL2 RT-PCR R: 5'-CGAACTCAATAACGTCAGGA-3'

45 *I, RT-PCR*

RT-PCR de *AtAPT1* (*ADENIN FOSFORIBOSILTRANSFERASA 1*)

50 *AtAPT1* RT-PCR F: 5'-TCCCAGAATCGCTAAGATTGCC-3'  
*AtAPT1* RT-PCR R: 5'-CCTTTCCCTTAAGCTCTG-3'

RT-PCR de *AtRHD6*

55 *AtRHD6* RT-PCR F: 5'-CTCACACGGGAGAGAGCA-3'  
*AtRHD6* RT-PCR R: 5'-CTTCGATTCTTGGCTGCTA-3'

RT-PCR de *AtRSL1*

60 *AtRSL1* RT-PCR F: 5'-GCCTAGCAGCCAAGAACCGAA-3'  
*AtRSL1* RT-PCR R: 5'-CTCATCGGCTGCAAGTACCTTA-3'

RT-PCR de *PpRSL1*

65 *PpRSL1* RT-PCR F: 5'-CTGGTTGGTTAGGAGATCTTGCAT-3'  
*PpRSL1* RT-PCR R: 5'-GTTGTAATTTGGTCCATTTCTGCT-3'

RT-PCR de *PpRSL2*

5 PpRSL2 RT-PCR F: 5'-GGGACCTCAAGGATGCAGCA-3'  
PpRSL2 RT-PCR R: 5'-CGAACTCAATAACGTCAGGA-3'

RT-PCR de *PpGAPDH* (*GLICERALDEHÍDO 3-FOSFATO DESHIDROGENASA*)

10 PpGAPDH RT-PCR F: 5'-GAGATAGGAGCATCTGTACCGCTTGT-3'  
PpGAPDH RT-PCR R: 5'-CGCATGGTGGGATCGGCT-3'

SECUENCIAS

MALVNDHPNETNYLSKQNSSSSSEDLSSPGLDQPDAAAYAGGGGGGSSASSSSSTMNSDHQQH  
QGFVFPYSGEDHHNSLMDFNSSFLNFDHHESFPPPAISCGGSSGGGGFSFLEGNMMSYG  
FTNWNHQHMDIISPRSTETPQQKDWLYSDSTVVTTGSRNESLSPKSAGNKRSHGEST  
QPSKKLSSGVTGKTKPKPTTSPKDPQSLAAKNRRERISERLKIQLQELVPNGTKVDLVTML  
EKAISYVKFLQVQVKVLATDEFWPAQGGKAPDISQVKDAIDAILSSSQDRDNRNSNLITN

15 Secuencia de aminoácidos de RHD6 (At1g66470; NP\_176820.1 GI: 15219658 SEC ID N°: 1)

atggcactcggttaatgaccateccaacgagaccaattacttgtcaaaacaaaattctctcc  
tcttccgaagatctctcctcgccgggactggatcagccagatgcagcttatgccggtgga  
ggaggaggaggaggtcggttcgagcagtagcagcatgaattcagatcatcaacaacat  
caggggtttgtatttaccatccggtgaagatcatcacaactctttgatggatttcaac  
ggatcatcatttcttaactttgatcatcacgagagctttcctcctccagccataagctgt  
ggtggtagtagcgggtggggcggtctccttcttggagggcaacaacatgagctacggc  
ttcaaaaactggaatcatcaacatcatatggatattattagccctagatccaccgaaact  
ccccaaaggccagaaagactgggtatattctgattcaactgttgaaccactggttctaga  
aacgagtcctcttccgctaaatccgctggaacaaaacggttctcacacgggagagagcact  
caaccgctcgaagaaactgagtagcgggtgtgaccggaagaccaagcctaagccaacaact  
tcacctaaagatccacaaagcctagcagccaagaatcgaagagaaaggataagtgaacgt  
ctcaagatattgcaagaactgttcccaatggcaccaggttgatttggtgacaatgctt  
gaaaaggctattagttatgtcaagttccttcaagtacaagttaaggtattagcagccgat  
gagttttggccggctcaaggaggaaaagctcctgacatttctcaagttaaagacgccatt  
gatgccattctctcctcatcacaacgagacaggaattcgaatctgatcaccaattaa

20 Secuencia de nucleótidos de RHD6 (NM\_105318.2 GI: 30697352 SEC ID N°: 2)

MSLINEHCNE RNYISTPNSS EDLSSPQNCG LDEGASASSS STINSDHQNN QGFVFPYSGE  
TIEDHNSLMD FNASSFFTFD NHRSLISPVT NGGAFPVVDG NMSYSYDQWS HHQVDSISPR  
VIKTPNSFET TSSFGLTSNS MSKPATNHGN GDWLYSGSTI VNIGSRHEST SPKLAGNKR  
FTGENTQLSK KPSSGTNGKI KPKATTSPKD PQSLAAKNRR ERISERLKV LQELVPNGTKV  
DLVTMLEKAI GYVKFLQVQV KVLAADEFWP AQGGKAPDIS QVKEAIDAIL SSSQRDSNST  
RETSIAE

25 Secuencia de aminoácidos de RSL1 (At5g37800 SEC ID N°: 3)

## ES 2 483 916 T3

atgtcactcattaacgaacattgcaatgagcgttaattacatctcaaccccaattcttca  
gaagatctctcttcaccacagaattgoggattagacgaaggagcttcagcttcaagcagt  
agcaccataaattctgatcatcaaaataatcaagggtttggtttacccttccggggaa  
accattgaagatcataattctttgatggatttcaatgcttcatcattcttcaccttgat  
aatcaccgaagccttatctctcccgtgaccaacgggtggtgccttccgggtcgtggaacggg  
aacatgagttacagctatgatggctggagtcatcatcaagtggatagtagccctaga  
gtcatcaaaactccaaatagctttgaaacaacgagcagttttggattgacttcaactcc  
atgagtaaacccggccacaaacatggaaatggagactggttatactctggttcaactatt  
gtaaacatcggttcaaggcagcagtcacagtcacctaaactggctggcaataaacggcct  
ttcaccgggagagaacacacaactttcaagaagccgagtagcggtagcaatggaaagatc  
aagcctaaggcaacaacttcacctaaagatccacaaagcctagcagccaagaaccgaaga  
gaaaggataagcgaacgcctcaaggtattgcaagaactgtaccgaatggtaccaaggtg  
gatttggttaactatgcttgagaaagcaattggctatgtaagtttcttcaagtacaagtt  
aaggtacttgacccgatgagttttggccggcacaaggagggaagctccggacatttct  
caagttaaagaagctattgacgcaatcctctcatcatcacaacgagatagtaactcaact  
agagaaacaagtatagcagaataa

Secuencia de nucleótidos de RSL1 (SEC ID N°: 4)

MEAMGEWSNN LGGMYTYATE EADFMNQLLA SYDHPGTGSS SGAAASGDHQ GLYWNLGSHH  
NHLSLVSEAG SFCFSQESS YSAGNSGYTT VVPPTVEENQ NETMDFGMED VTINTNSYLV  
GEETSECDVE KYSSGKTLMP LETVVENHDD EESLLQSEIS VTTKSLTGS KKRSRATSID  
KNKRARVNKR AQKNVEMSGD NNEGEEEEGE TKLKKRKNKA MMSRQNSSTI FCTEEESNCA  
DQDGGGEDSS SKEDDPSKAL NLNGKTRASR GAATDPQSLY ARKRERERINE RLRILQNLVP  
NGTKVDISTM LEEAVHYVKF LQLQIKLLSS DDLWMYAPIA FNGMDIGLSS PR

5

Secuencia de aminoácidos de RSL2 (At4g33880; SEC ID N°: 5)

atggaagccatgggagaatggagcaacaacctcggaggaaatgtacacttatgcaaccgag  
gaagccgatttcatgaaccagcttctcgcctcttatgatcatcctggcaccggctcatcc  
tccggcgcagcagccagtggtgaccaccaaggcttgtattggaaccttggttctcatcac  
aacacaccttagcctcgtgtctgaagccggtagcttctgtttctctcaagagagcagcagc  
tacagcgtgggaacagcggatattacaccgtggttccaccacgggttgaagagaaccaa  
aatgagacaatggactttgggatggaagatgtgaccatcaatacaaaactcataccttggt  
ggtgaggagacaagtgagtgtagcttgagaaatactcttctggaaagactcttatgct  
ttggaacctgtagtgagaaccacgatgacgaggaaagcttgttgcaatctgagatctct  
gtgactactacaaaatctctcaccggctccaaaaagagatcccggtgccacatctactgat  
aaaaacaagagagcaagagtgaataagagggcccagaagaacgtagagatgagtggggat  
aacaatgaaggagaagaggaagaaggagagacgaagttgaagaaagaagaatggggca

# ES 2 483 916 T3

atgatgagtagacagaactcaagcaccactttctgtacggaggaagaatcaaactgcgct  
gatcaagacggtggaggagaagactcatcctctaaggaagatgatccctcaaaggcctc  
aacctcaatggtaaaacaagagccagtcgtggtgcagccaccgatcctcaaagcctctat  
gcaaggaaaagaagagaaaggattaacgagagactaaggattttacaaaatctcgtcccc  
aatggaacaaaggtcgatattagtagcaatgcttgaggaagcagttcattacgtcaaat  
ttgcagctccaaat taagttattgagctctgatgatctatggatgtatgcgccgattgct  
ttcaatgggatggacattggtctcagctcaccgagatga

Secuencia de nucleótidos de RSL2 (SEC ID N°: 6)

MEAMGEWSTG LGGIYTEAD FMNQLLASYE QPCGSSSET TATLIAYHHQ GSQWNGGFCF  
SQESSYSYGY CAAMPRQEED NNGMEDATIN INLYLVGEET SECDATEYSG KSLLPLETVA  
ENHDHSM LQP ENSLTTTTDE KMFNQCESSK KRTRATTTDK NKRANKARRS QKCVEMSGEN  
ENSGEEEYTE KAAGKRKTKP LKPQKCCSD DESNGGDTFL SKEDGEDSKA LNLNGKTRAS  
RGAATDPQSL YARVDISTML EEAVQYVKFL QLQIKRLLAI GTNHRNRSIP LWTARNRQIS  
KAHSRKRRLR RAVAKIIWSD EMTRFLELEI TLEKQAGNYR GKSLIEKGKE NVLVKFKKRF  
PITLWNKVK NRLDTLKKQY EIYPAKLRSH PLRFIPLLDV VFRDETVVVE ESWQPRRGVH  
RRAPVLDLSD SECPNNGGDE REDLMQNRER DHMRPPTPDW MSQTPMENSF TSANS DPPFA  
SQERSSTHTQ VKNVSRNRKR KQNPADSTLD RIAATMKKI

5

Secuencia de aminoácidos de RSL3 (At2g14760; SEC ID N°: 7)

atggaagccatgggagaatggagcaccggcctaggcgggaatatacagaggaagctgac  
ttatgaatcagctccttgccctcctatgagcaaccttgtggcggttcatcttcagagaca  
accgccacactcaccggcctaccaccaccagggttctcaatggaatgggtggcttttgcctc  
tctcaggagagcagtagttatagtggttactgcgcgggcgatgccacggcaagaagaagat  
aacaatgggatggaggacgcgacaatcaacacgaacttgtacctgttggtggaagagaca  
agtgaatgtgatgagcaggaataactccggtaaaagcctcttgcccttgggagactgtcgca  
gaaaaccacgaccatagtagctacagcctgagaactccttgaccacgaccactgatgag  
aaaatggtcaaccaatgtgagagttcaaagaaggagcgcgtgccacaacaactgataag  
aacaagagagccaacaaggcacgaaggagccagaaatgcgtagagatgagtgcgaaaat  
gaaaatagcggcgagaagaatatacgggagaaggctgcggggaagagaaagaccaaacca  
cttaagccgcaaaaagacttgttgttcggatgacgaatcaaacggtggagacactttcttg  
tccaaagaagatggcgaggactctaaggctctcaacctcaacggcaagactagggccagc  
cgcgggcgggccacagatcctcaaagcctttacgcaaggaaaagaagagagaggataaac  
gagaggctaaggattttgaacatctcgtccctaataatggaacaaagggttgatattagcagc  
atggtggaagaagcagtagcaatacgtcaaatttctacagctccaaattaagttattgagc  
tctgatgatctatggatgtatgcgcctattgcttacaacggaatggacattggccttgac  
ctaaaactcaatgcactgaccagatga

10

Secuencia de nucleótidos de RSL3 (SEC ID N°: 8)

# ES 2 483 916 T3

MDVFDGELE SLLGMFNFQ CSSSKEERPR DELLGLSSLY NGHLLHQHH NNVLSSDHHA  
FLLPDMFFPG AMPGGNLPAM LDSWDQSHHL QETSSLKRKL LDVENLCKTN SNCDVTRQEL  
AKSKKKQRVS SESNTVDESN TNWVDQSLN NSSDDEKASV TSVKKGKTRAT KGTATDPQSL  
YARKRREKIN ERLKTLQNLV PNGTKVDIST MLEEAVHYVK FLQLQIKLLS SDDLWMYAPL  
AYNGLDMGFH HNLLSRLM

Secuencia de aminoácidos de RSL4 (At1g27740; SEC ID N°: 9)

atggacgctttttgttgatggtgaattggagtctctcttggggatgttcaactttgatcaa  
tgttcatcatctaaagaggagagaccgagagcaggttgccttggcctctctagcctttac  
aatggtcatcttcatcaacatcaacaccataacaatgtcttatcttctgatcatcatgct  
ttcttgcctcctgatatggtccatttggtgcaatgccgggaggaaatcttccggccatg  
cttgattcttgggatcaaagtcacctccaagaaacgtcttctcttaagaggaaacta  
cttgacgtggagaatctatgcaaaactaactctaactgtgacgtcacaagacaagagctt  
gcgaaatccaagaaaaacagaggtaagctcggaaagcaatacagttgacgagagcaac  
actaattgggtagatggtcagagtttaagcaacagttcagatgatgagaaagcttcggtc  
acaagtgttaaaggcaaaactagagccaccaaaggacagccactgatcctcaaagcctt  
tatgctcggaaacgaagagagaagattaacgaaaggctcaagacactacaaaacctgtg  
ccaaacgggacaaaagtcgatataagcacgatgcttgaagaagcgggtccattacgtgaag  
ttcttgcagcttcagattaagttggtgagctcggatgatctatggatgtacgcaccattg  
gcttacaacggcctggacatggggttccatcacaaccttttgtctcggcttatgtga

5

Secuencia de nucleótidos de RSL4 (SEC ID N°: 10)

MENEAFVDGELESLLGMFNFQCSSNESSFCNAPNETDVFSSDDFFPFGTILQSNYAAVL  
DGSNHQINRNVDSRQDLLKPRKKQLSSESNLVTEPKTAWRDGQSLSSYNSSDDEKALGL  
VNSNLSKLRKAKANRGIASDPQSLYARKRRERINDRLKTLQSLVPNGTKVDISTMLEDA  
VHYVKFLQLQIKLLSSEDLWMYAPLAHNGLNMGHHLNLLSRLI

10

Secuencia de aminoácidos de RSL5 (At5g43175; SEC ID N°: 11)

atggagaatgaagctttttagatggtgaattggagtctcttttggggatgttcaacttt  
galcaatggtcatctaacgaatcgagcttttgcattgctccaaatgagactgatgttttc  
tcttctgatgatttcttccatttggtaaatctgcaaaagtaactatgcccgttctt  
gatggttccaaccacaaacgaaccgaaatgctgactcaagacaagatctgttgaacca  
aggaagaagcaaaaagtttaagctcggaaagcaatttgggtaccgagcctaaactgcttgg  
  
agagatggtcaaagcctaagcagttataatagttcagatgatgaaaaggcttttaggttta  
gtgtctaatacatcaaaaagcctaaaacgcaaagcgaagccaacagagggatagcttcc  
gatcctcagagcctatacgttaggaaacgaagagaaaggataaacgataggctaaagaca  
ttgcagagcctagltcctaattgggacaaaggtcgatataagcacaatgctggaagatgct  
gtccattacgtgaagttcctgcagcttcaaatcaagctcttgagttcagaagatctatgg  
atgtatgcacctcttgcctcacaatggtctgaatatgggactacatcacaatcttttgtct  
cgcttatttaa

15

Secuencia de nucleótidos de RSL5 (SEC ID N°: 12)

ES 2 483 916 T3

TSPKDPQSLAAKNRRERISERLKLQELVPNGTKVDLVTMLEKAISYVKFLQVQVKVLATDEFWPAQ  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de AtRHD6 (SEC ID N°: 13)

5 TSPKDPQSLAAKNRRERISERLKLQELVPNGTKVDLVTMLEKAIGYVKFLQVQVKVLADEFWPAQ  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de AtRLDI (SEC ID N°: 14)

GSANDPQSI AARVRRERISERLKLQALIPNGDKVDMVTMLEKAISYVQCLEFQIKMLKNDSLWPKA  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de PpRSLI (SEC ID N°: 15)

10 GSANDPQSI AARVRRERISERLKLQALIPNGDKVDMVTMLEKAITYVQCLELQIKMLKNDSIWPKA  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de PpRSL2 (SEC ID N°: 16)

15 GSATDPQSVYARHRREKINERLKS LQNLVPNGAKVDIVTMLDEA IHYVKFLQNQVELLKSDELWIYA  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de PpRSL5 (SEC ID N°: 17)

GSATDPQSVYARHRREKINERLKNLQNLVPNGAKVDIVTMLDEA IHYVKFLQTQVELLKSDEFWMFA  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de PpRSL6 (SEC ID N°: 18)

20 GSATDPQSVYARHRREKINERLKT LQHLVPNGAKVDIVTMLDEA IHYVQFLQLQVTLKSD EYWMYA  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de PpRSL3 (SEC ID N°: 19)

GSATDPQSVHARARREKIAERL RKLQHLIPNGGKVDIVTMLDEA VHYVQFLKRQVTLKSD EYWMYA  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de PpRSL4 (SEC ID N°: 20)

25 GSATDPQSVYARHRREKINERLKT LQRLVPNGEQVDIVTMLEEA IHFVKLEFQLELLRSDDRWMFA  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de PpRSL7 (SEC ID N°: 21)

GAATDPQSLYARKRRERINERL RILQNLVPNGTKVDISTMLEE AVHYVKFLQLQIKLLSDDLW MYA  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de At4g33880 (SEC ID N°: 22)

30 GAATDPQSLYARKRRERINERL RILQHLVPNGTKVDISTMLEE AVQYVKFLQLQIKLLSDDLW MYA  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de At2g14760 (SEC ID N°: 23)

35 GTATDPQSLYARKRREKINERL RKT LQNLVPNGTKVDISTMLEE AVHYVKFLQLQIKLLSDDLW MYA  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de At1g27740 (SEC ID N°: 24)

GIASDPQSLYARKRRERINDR LKTLQSLVPNGTKVDISTMLED AVHYVKFLQLQIKLLSSEDLW MYA  
Secuencia de aminoácidos de bHLH de At5g43175 (SEC ID N°: 25)

40 MAGPAGALWSTCDPQPIQQA EIFSGPDNQAGLMSFHVDTPFHWGSEPWALHSRSDDI ALMSPSLVHDI SPYDSVL  
HLSGVSGDVQDLVCGNPKFRQSGQWQSEFSYSVQDNMQDLLTNQFIPYNTSSLGLNHLSPNFDLDCAPVYNDT  
KAFGTVTHNRAVPS TNTQSAQHGS SSMVSSNRPI TSTA SPTTYGGPRTPSQTTQYGGSSMVTNSMEMFASAAPQ  
GIMTTSGLSGGCNSDLMLHPKRQH AHS LPP TTRDLTASEVVSGNSISNISGVGSFNSSQKSSASVMMSP LAASS

HMHKAAAVSEELKMASFNPGPFVPTQKKQOHEQD TMTSNRIWADKNNLGKISSSPIP IMGFEQSQQQSMNSSP  
VTSLGFQRQKMSMGSSPSITIIGFEQRQKQPMSSSSPISNMVFEPRQKQPMSSSSPISNIVFEQRQLPTVGSSP  
PISISGFEPKQPSLSNSPPLSNLGF EQRLQPMNSASPISNLPFEQQRQATMSNTRSAEPDSVESTTKWPLRMD  
GAIGGCAGLPSSQKAPVIMQPETGTMKCP IPRTMP SNAKACPAVQNANSVNKRPLTVDDKDQTGSMNKKSMQKFL  
GPQGCSRLES ISALAHQVQS TTSGRALGPALNTNLKPRARQGSANDPQSI AARVRRERISERLKLQALIPNG  
DKVDMVTMLEKAISYVQCLEFQIKMLKNDSLWPKALGPLPNTLQELLELAGPEFAGIDGKNTEESSEKPKKSALE  
VIELDGNQPSAD\*

45 Secuencia de aminoácidos de RHD SIX LIKE 1 de *Physcomitrella* (PpRSL1) (SEC ID N°: 26; ABO84930.1 GI: 140084327)

atggcaggtccagcaggagctttatggagtacttgtgatccacagcctattcaacaggcagagatatttagtgggt  
 cctgacaaccaagctgggttgatgtctttcatgtggatgcccggtccattggggatctgaacctgggctctc  
 cactctcgggtcagatgacatcgcttgatgtccccctcgttgttcacgacatcaccttatgattctgtcttg  
 catcttccggagtgtctgggatgtgcaagatttagttgctgggaatcccaaatctcgcaaatgggcaatgg  
 gggcagagcaggttttcatactctgttcaggacaacatgcaagatctcctaaccaaccagttcataccgtacaac  
 acatcttcatgggtttaaatcatctctccccgaatttcaccgacttggattgcgccaccggtatacaatgatacc  
 aaggcttttggcactgttacacacaacagggcagtcctcagcactaataccagagtgctcagcacgggagtctg  
 tctatgggttcaagtaaacaggccaatcactagcacagcttctcctactactcagatggaggtccgaggactcca  
 tcccaaacaccagtagcgggggttcatctatgggtaccaactcgatggaaatgtttgcttcagctgcacctcag  
 ggtattatgactacatctggcttgagtggcgggttgcaactcagacttgatgcatctgccgaagcggcagcatgct  
 cactctctcctcctaccactggcagagatttaactgcatctgaagtggatctggaaattcgatatacaaacatt  
 tccggggttggatcttttaacagcagccagaaaagcagtgcatccgtgatgattctctttagctgcttctct  
 cacatgcaaacaggtgctgctgtatctgaagaacttaagatggcaagttcaaccctgggtccattcgtacctcag  
 cagaacaaagcagcaacatgagcagcagatcagatgacctctaatcgtatagggcggataagaacaacttggga  
 aaaattagttcagccttccgatcaggggttggagcagagtcacacagcaatccatgagcaattcctcccc  
 gttaccagtttgggggttggagcaaggcaaaaaatgtccatgggttagctctccccatcacgatcatggattt  
 gagcaaacagcaaacctatgagtagttcttccccatttcaaacatggttttgaaccaagcaaaaaacag  
 ccaatgagtagctcttctcctatctcctaatattgtctttgagcaaacactcccaactgtgggtagctctcct  
 ccgatttcaatctcaggatttggagcaaacagaaacacatctttgagcaattctcctccccctctaatctgggt  
 tttgagcaaacgctacaacccatgagtaatgcatctcctatttccaacttaccctttgagcaacaaagacaacaa  
 gcaaacatgagtaaacaccagatctgcagaaccgattctgtcgagctaccacgaagtgcccttgcggatggat  
 ggtgccataggtggatgtgctggcttaccagcagtcagaaagctcctgttatcatgcagcctgagactgggact  
 atgaagtgtcctattccgaggaccatgccagcaatgctaaagcttggccagctgtgcagaatgctaatccgta  
 aacaagcgcctcttacgggtgatgacaaggaccaaactggatcgatgaataagaagtcgatgcaaaagttttg  
 ggacctcaaggtgtgagcagacttgaagatcagtgctttagctcaccaaaagtgagtaaacaaagc  
 gctcgtgctctagggcctgctttgaacaccaatctcaagcctcgtgcagcgaaggagtgccaatgatccgcag  
 agcatgtgctaggggtgcgaagagaagaataagtgagcggctcaagtttgcgaagccttgatcctaaccggt  
 gataaagtggatattggtcaccatgctggagaaggctatcagctacgtgcagtgctttggaatttcagattaagatg  
 ttaaaaaatgactctttgtggcctaaggccttggccctctaccgaacactttgcaagagcttctcgaacttget  
 gggccagagtttgcggcatagatggcaagaatactgaggagtcgtcagagaaaccgaagaatctgctcttgaa  
 gtaattgagttggacggcaatcagccttctgctgactaa

Secuencia de nucleótidos de RHD SIX LIKE 1 de *Physcomitrella* (PpRSL1) (SEC ID N°: 27; EF156393.1 GI: 140084326)

5

MNKKPMQKALGPQCSRLESISALAHQKVSQSASGRALGFPALNTNLKPRARQGSANDPQSIARVRRIISERLKV  
 VLQALIPNGDKVDMVTMLEKAITVYQCLELQIKMLKNDSIWPKALGPLPNTLQELLELAGPEFSGTESKNVEEPP  
 AKPKKSAPDVIEFDGNQPSADKE\*

Secuencia de aminoácidos de RHD SIX LIKE 2 de *Physcomitrella* (PpRSL2) (SEC ID N°: 28 ABO84931.1 GI: 140084334)

10

atgaataagaagcctatgcaaaaagctttgggacctcaaggatgcagcaggctagaagcatcagtgctttagct  
 catcaaaaagtgagtcagagtgcaagtggtcgtgcactagggcctgctctgaacaccaacctcaagcctcgtgct  
 cgtcaagggtgagtgccaatgacccacagagcattgcccgttaggggtcgaagagaagataagtgagcggctgaaa  
 gttttgcaagccttgatacctaagtgataggttagataggtgacatgctggagaaggctatcacctacgtg  
 cagtgctggaactccagattaagatgtaaagaatgattctatctggcccaaggcgttggacctctaccaaac

actcttcaagagcttctggagcttctggtgaccagaattttctggaacggaaagcaagaatgtagaggagcccca  
 gcgaagccaagaagaatcagctcctgacgttattgagttcgacggcaatcaaccttctgccgacaaagagtag

Secuencia de nucleótidos de RHD SIX LIKE 2 de *Physcomitrella* (PpRSL2) (SEC ID N°: 29; EF156394.1 GI: 140084333)

15

GSATDPQSVYARHRREKINERLKTLLQHLVPNGAKVDIVTMLDEAIHYVQFLQLQVTLKSDIYWMYA

Secuencia de aminoácidos de RHD SIX LIKE 3 de *Physcomitrella* (PpRSL3) (SEC ID N°: 30; ABO84932.1 GI: 140084346)

20

ggttcagcagctgatccgagagtgatagccagggcatagaaggagaagatcaacagcagcgttgaagacattta  
 cagcacttggtagcaaatggagctaaagtagacatcgtgacctgcttgacgaagcattcactacgtccaattt  
 ctgcagctccaagtgcagctggttgaagtcggatgaatattggatgtacgcc

Secuencia de nucleótidos de RHD SIX LIKE 3 de *Physcomitrella* (PpRSL3) (SEC ID N°: 31; EF156395.1 GI:140084345)

MTDLISILESSGSSREEMCPVAVPSSVASSCERLIWEGWTAQPSVPEESTTSKLLPKLLPELETSSYSALTLQQP  
DALSSILSVLHPFSHYSSASLELARNPDWSLKSSNPLRESSSEAGIRTSSFEGLYSGQHTTKKIHLGVIPYHLSE  
DQRQCAVSPPENECRLLSANSSGSLHWWHSIGPESPSTLAFHNIGIQHSTFEKCEPRGQSHSSWPAAAGTSPV  
QYFHAHSADNEGVEVVKQDDSQISKALATYQPHGDHSLVNSDRIASITSHSEDPGPKPGRRPAASYDTEMILS  
PSESFLTTPNMLSTLECVISGASNISDQYMNFRVREPQEQRLSSISDLSLIPDSHADPHSIGFTISGTFRTDSHGTV  
IRKNRIFLSDEESDFLPKKRSKYTVRGDFQMDRFDAVWGNITGLRGSSCPGNSVSMMAIYEFGPALNRNGRPRVQ  
RGSATDPQSVHARARREKIAERLRKQLHLPNGGKVDIVTMLDEAVHYVQFLKRQVILLKSDEYWMYATPTSYSR  
KFDDCSLVPGENN\*

5

Secuencia de aminoácidos de RHD SIX LIKE 4 de *Physcomitrella* (PpRSL4) (SEC ID N°: 32; ABO84933.1 GI:140084359)

ATGACCGATCTGATTTCGATCTTGGAGTCATCAGGGTCATCAGGAGGAGATGTGCCCTGTTGCTGTGCCAAGC  
TCCGTGGCTTCTTCTGTGAAAGGTTGATATGGGAGGGGTGGACTGCACAACCACTCCTGTGCGAAGAAAGCACC  
ACCAGCAAGTTACTTCCAAAGCTACTTCCAGAGCTCGAGACATCATCCTACTCTGCACTCACCTTCCAGCAACCT  
GATGCGCTCTCCAGCATACTTTCAGTCTCCACCCCTTTTCTCATTACAGTTCGGCCAGTTTAGAACTCGTTCGC  
AATCCTGACTGGAGCTTGAAATCTTCAAATCCTCTGCGGGAAAGCAGCTCGGAGGCTGGCATCCGAACCTCATCT  
TTCGAAGGCTTGTACTCTGGTCAGCACACCACCAAAAAGATTCAATTGGGGGTCATACCCTACCCTTGTCCGAA  
GATCAGCGCCAGTGCCTGTGAGTCCCGGAAAATGAGTGCCGCTACTGTCTGCAAATTCCTCTGGATCCCTT  
CACTGGTGGCATTCCATAGGCCCGAGTCTCCTTCTTACTCTTGCATTCCATAATATTGGGATCCAACACTCT  
ACCTTCGAAAAGTGTGAGCCTAGGGGCCAGTGCACCTCATGAGCCAGCGCCAGCGGCACGTCGCCAACAGTT  
CAATACTTTTCATGCCATTCTGCAGATAATGAAGGTGTGAGGTCGTCAGCAAGATGACTCGCAGATATCCAAG  
GCTCTGGCGACCTATCAACCCACGGCGACCATAGTCTCGTGCTAAATTCAGACCGCATTGCAAGCACAACCAGC  
CACTCAGAAGATCCTTGCGGCCCTAAACCTGGACGCAGACCAGCTGCATCATACGACACCAGATGATCTTTCAGC  
CCAAGTGAGAGTTTCTTGACAACCTCCAATATGTTATCAACGTTGGAGTGCCTAATATCCGGTGCAAGTAAACATA  
TCTGATCAGTATATGAACTTCGTGAGAGAACCGCAGGAGCAAAGGCTGTCTCTATCTCCGATCTGTCCCTTATT  
CCTGACAGCCACGGGATCCGCACAGTATCGGATTTATCTCTGGACCTTTAGAACAGACTCCCACGGAAGTGGGA  
ATAAGAAAGAACCGCATCTTTCTCAGTGATGAGGAATCCGACTTCTTGCCTAAGAAGCGATCCAAGTACACGGTC  
CGCGGCGATTTTCAGATGGATCGCTTCGACGCAGTTTGGGGGAATACCGGTCCTCGGGGATCTAGCTGTCTGGGA  
AATTCAGTATCCAGATGATGGCGAATTACGAATTCGGACCCGACTGAACAGGAACGGCAGGCCGCGAGTACAA  
CGTGGTTCGGCGACIGATCCGAGAGTGTACACGCGAGGGCGGAGGGAGAAAATCGCCGAGCGCTTGAGAAAAG  
TTGCAGCACCTCATTCCAAACGGCGGGAAGGTGGACATCGTAACCATGCTCGACGAAGCCGTTTACTATGTTTCAG  
TTTTTGAAGCGACAAGTTACGCTTCTGAAAATCCGACGAGTATGGATGTACGCCACGCCGACCTCGTACCGGAGC  
AAATTCGACGACTGCAGTCTGGTTCCCGCGGAGAACAACTGA

10

Secuencia de nucleótidos de RHD SIX LIKE 4 de *Physcomitrella* (PpRSL4) (SEC ID N°: 33; EF156396.1 GI: 140084358)

MVQLYMSSVEEQREIMVQPYVSSMDSGSTSGRQTPSCVQVQGSNTFETSINLWEEWTQASNGDDTVSTSNFLPEIS  
SFTSSRSLSFQQSDSLTTWMSGFPPLSQALSPDLSSHSSDPVDHPPAFMQEGLGPGDSILDYSPALTEMPKSSSK

HNSSDCLPYPAASAPDKMTDHELGSALISLAYDRGTVSRQLLRALGPLSPSSPLALQNLQNLGDFPWDASPSAM  
PWPMTTGHAYGPGATRISIPDHLANAINHLEGIAPSSASHASKPRHIDIF IAPNGTFDSTPGGWTPQYYDGSVT  
TDESVKAMKLIASLREAGHAEATIGFCTESKPSFLRGGDRITSPVDSFFGKCVGAKTSIKQACSGKHPLELEEIV  
DENSELNPTQLKRSLFENHPNALWSDQSMNGRELRSYSHLVGSSLTASQPMDI IAI GPALNTDGKPRAKRGS  
TDPQSVYARHRREKINERLKS LQNLVPNGAKVDIVTMLDEAIHYVKFLQNLQVELLKSDELWIYATPNKYNGMDS  
DLSDMYLQELLESRA\*

15

Secuencia de aminoácidos de RHD SIX LIKE 5 de *Physcomitrella* (PpRSL5) (SEC ID N°: 34; ABO84934.1 GI: 140084368)

ATGGTGCAGTTATACATGTCTCAGTTGAAGAGCAGCGGGAAACAATGGTACAGCCATACGTCTCAAGCATGGAC  
 TCAGGCTCAACGTCGGGGCGCCAGACGCCATCTTGCCTCGTTTCCAGCGGGAAGTAAACACATTTGAGACTTCGAAT  
 CTGTGGGAGGAATGGACGCAAGCATCGAACGGCGACGATACAGTCTCCACCAGCAATTTCTCCCGAAATCAGT  
 TCCITCACGTCGAGTCGTCTCTCCTTCCAGCAAAGCGACTCTCTCACCACCTGGATGTCAGGGTICCCGCCCTC  
 TCCAAACTGCCTTGAGCCCGGATCTTAGTCACTCTCCGACCCCGTGGATCATCCCCAGCATTTCATGCAGGAG  
 GGTTAGGCCCGGTGATTCTATTCTGGACTATTCCCCCGCTCTCACAGAGATGTACCCGAAAAGTAGTCCAAA  
 CATAATTCCTCGGATTGTTTACCTTACCCTGCGGCCAGTGCACCAGACAAAAAATGACTGATCAGGAAGTAGGT  
 TCGGCTATTTCCCTCGCGTATGATAGAGGCACCGTTTCCCGCCAGCTTCTTCGAGCCTTGGGCCCATGTGCGCT  
 TCATCGCCTCTAGCATGTCAGAATGGGCTGCAAAACCCGCTTGGGGACCCCTGGGATGCTTCTCCATCTGCAATG  
 CCGTGGCCAATGGCAACAACCCGGTCACTGCTTATGGACCAGGCGCCACCAGGACTTCTATTCCAGATCACTTAGCA  
 AATGCAATTAATCACCCTGGAGGGCATTCACCGTCCAGTCCGAGTCATGCATCGAAACCTCGTCACACTGATATT  
 TTCATTGCACCCAATGGCACGTTTCGATTTCGACGCCGGGAGGTTGGACACCGCAGTATTACGATGGGTCCGTCAGC  
 ACAGATGAGTCTGTGAAGGCGATGAAGTGTATTGCGTCCCTACGTGAAGCAGGCCACGCAGAGGCTACAATTGGA  
 TTCTGTACAGAGAGCAAGCCTAGTTTCTCAGGGGTGGGACAGAAACAACCTCGCCAGTGGACAGCTTCTTCGGC  
 AAATGTGTAGGGGCCAAAACGAGTATAAAGCAAGCCTGTTCTGGGAAACACCCCTCTGAACTTGAGGAGATCGTT  
 GATAGTGAACACAGTGAATTAATCCCAACCCAGCTCAAACGCTCTAAACTTTTGAAGTCAATCCGAATGCCTTG  
 TGGAGCGATCAGATATGAATGGAAGAGAAGTGCATCTACTCTCATTGGITGGCAGCAGTCTTACTGCATCG  
 CAGCCCATGGACATAATTGCAATTGGCCAGCGCTCAACACTGATGGCAAACCCAGGACAAAGCGGGGTTTCAGCA  
 ACCGATCCTCAGAGTGTTTACGCTAGACATAGGAGAGAAAAATCAACGAACGATTGAAGAGTTTACAAAACCTA  
 GTACCTAATGGAGCCAAGGTTGACATAGTAACCATGTGGACGAAGCTATAACATACGTCAAATTTTACAAAAT  
 CAAGTTGAGCTGCTGAAGTCCGACGAGTTGTGGATTTACGCAACACCAAATAAGTACAACGGCATGGACATTTCC  
 GACCTCTCTGACATGTATTTGCAGGAGCTGGAGTCACGTGCGTGA

Secuencia de nucleótidos de RHD SIX LIKE 5 de *Physcomitrella* (PpRSL5) (SEC ID Nº: 35; EF156397.1 GI: 140084367)

5

MVRFNYMPVQEQLAMTDQHTPSMDSVSSAGEKTSSCIVQQGNASETSNLWEWTQGSNGDDSVSTSNFLPEL  
 NSSTSSRLAFHQSDILSTWISGYHPLSQSSLSSEFSHTSDRENHPPAFMQEGLIPSGILILSDPALDITYRSSS  
 SDSLPYPTARIMDKALTDHELESAPLAYEKGCVPVQLRNLGPLSPSSPLAFQNLNPLRDPWDCSPSALPWS  
 NVTTASQTYGQVTRTFIPDHSASAIKLEAVATITAGYGASKPQHTDVFIEPNGTFQSTPAGWAPQFYDGEAT  
 GLLVKPMRAIASLGEAGCGEATSEFCFKTKPGLLKGDDTITSPVGSLLGDCKKAESSMKQVWPGRHLELVELVD  
 GEDTKSPTQLKRPKHSTDYANVLLSDHILKGAELRSYFHSGDVLNASQAMDIIVIGPALNTNGKPRAKRGSAT  
 DPQSVYARHRREKINERLKNLQNLVNGAKVDIVTMLDEAIIHYVKFLQTQVELLKSDEFWMFANPHNYNGIDISD  
 PSSMHSPELESI\*

Secuencia de aminoácidos de RHD SIX LIKE 6 de *Physcomitrella* (PpRSL6) (SEC ID Nº: 36; ABO84935.1 GI: 140084376)

10

ATGGTGCAGTTTAACTACATGTACCCGGTTCAAGAGCAGCTGGAAGCCATGACGGACCAACACACCCCAAGCATG  
 GATTCGGTCTCGTCGGCCGGAGAGAAGACATCCTCTTGCATCGTCCAGCAGGGAGGAAATGCATCCGAAACTTCA  
 AACTTGTGGGAAGAATGGACACAAGGGTCGAACGGCGACGATTCTGTCTCTACCAGCAACTTCTCCCGAACTG  
 AATTCCTCCACCTCCAGTCTGCTCGCATCCACCAAAGCGACATCTTTCCACTTGGATCTCAGGCTACCACCCA  
 CTCTCGCAAAGCAGCCIGAGTTCCGAATTCAGCCACACCTCCGACCCGCGAGAATCACCCCGCAGCATTCAATGCAA  
 GAGGGTTTAAATCCCCAGTGGTTTAAATCTTACTCTGATCTGCTCTCACAGATATTTATACGAGAAGCAGCTCC  
 TCGGACTCTTTGCCATACCCACGGCTAGGATCATGGACAAAGCATTGACCGATCACGAGCTTGAGTCTGCTGTC  
 CCACTTGCATATGAAAAGGCTGCGTTCTCCCGAGGTTCTGCGTAACCTAGGGCCATTGTCACCTTCTTCGCT  
 CTGGCATTCCAGAAATGGACTGCTAAACCCCTCAGGGACCCCTGGGATTCGTGTCCATCTGCATTGCCATGGTCA  
 AATGTGACCACAGCCAGCCAGACTTACGGTCAAGTGACAACCAGGACTTTCAATCCAGATCACTCTGCAAGTGA

ATCGACAAGTTGGAGGCCGTGCAACGATCACTGCCGGATACGGCGCGTCAAACCCACAACATACTGACGCTTTC  
 ATAGAACCCAACGGGACGTTTTCAGTCGACTCCGGCAGGGTGGGCACCGCAGTITTTACGATGGATCCGAGGCGAGC  
 GGCTGTGGTCAAGCAATGAGGGCCATCGCATCTCTGGTGAAGCCGGCTGTGGGGAGGACCACTAGTGAATTC  
 TGCACAAGACCAAGCCAGGACTTCTCAAAGTGGGGACACAATAACCTCGCCGGTGGTACCTIGTTGGGCGAT  
 TGCAAAAAAGCTGAGTCAAGTATGAAGCAAGTTTGGCCTGGAAAAACCCGCTTGAACCTCGTGAACACTAGTCAT  
 GGTGAAGACACCAATCAAGTCCACCCAGCTCAAACGGCCGAAACATTTCTACGGATTATGCGAATGTCTGTG  
 AGCGATCATATTTGAAAGGAGCGGAGCTGCGGTCTTACTTCCATTTCTGGTGTATGTTGGTCTAAATGCATCTCAA  
 GCATGGACATTATTGTAATTGGCCAGCCTTGAATACTAATGGCAAGCCGCGAGCTAAACGGGGTTACGCCACC  
 GATCCCCAGAGTGTGACGCTAGACATAGGCGAGAAAAATCAACGAACGACTGAAGAATTTACAAAATCTCGTG  
 CCAATGGAGCCAAGGTTGACATTGTGACCATGTAGACCAAGCCATACACTACGTCAAATTTCTGCAAACTCAA  
 GTGAGCTGCTGAAATCCGACGAGTTCTGGATGTTCCGAAATCCACAACTACAACGGCATAGATATCTCCGAT  
 CCTCTAGCATGCATTCGCCGGAGCTGGAGTCGAATATTAG

Secuencia de nucleótidos de RHD SIX LIKE 6 de *Physcomitrella* (PpRSL6) (SEC ID Nº: 37; EF156398.1 GI: 140084375)

ES 2 483 916 T3

GSATDPQSVYARHRREKINERLKLTLQRLVPNGEQVDIVTMLEEAIHFVKFLEFQLELLRSDDRWMFA

Secuencia de aminoácidos de RHD SIX LIKE 7 de *Physcomitrella* (PpRSL7) (SEC ID N°: 38; ABO84936.1 GI: 140084384)

5

Gggtcagctactgatcctcagagtgtgtacgcaaggcatcgccgggagaagattaacgagcgcctaaagacattg  
cagcgggttggttcctaacgggagaacaggtcgacattgtgaccatgctggaagaagccattcactttgtcaaattt  
ttggagttccaactggagctgttgcgatccgatgatcgctggatgttcgcc

Secuencia de nucleótidos de RHD SIX LIKE 7 de *Physcomitrella* (PpRSL7) (SEC ID N°: 39; EF156399.1 GI: 140084383)

10

LNTNLKPRAKQGCANDPQSIARQRERISDRKILQELIPNGSKVDLVTMLEKAINYVKFLQLQVKVLMNDEYW  
PPKGD

Secuencia de aminoácidos de SmRSLa de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 40)

15

CTCAACACTAATCTTAAGCCGCGAGCAAAGCAAGGTTGTGCTAATGATCCACAAAGCATTGCTGCCAGACAACGA  
AGAGAACGGATAAGTGACCGGCTTAAATCCTGCAGGAGCTCATAACAAATGGATCCAAGGTCGATCTGGTAACC  
ATGCTGGAGAAGGCCATCAACTACGTCAAGTCTTGCAATGCAAGTCAAAGTCTTATGAACGATGAGTATTGG  
CCACCAAAGGGAGAT

Secuencia de nucleótidos de SmRSLa de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 41)

20

LNTNLKPRAKQGCANDPQSIARQRERISDRKILQELIPNGSKVDLVTMLEKAINYVKFLQLQVKVLMNDEYW  
PPKGD

Secuencia de aminoácidos de SmRSLb de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 42)

CTCAACACTAATCTTAAGCCGCGAGCAAAGCAAGGTTGTGCTAATGATCCACAAAGCATTGCTGCCAGACAACGA  
AGAGAACGGATAAGTGACCGGCTTAAATCCTGCAGGAGCTCATAACAAATGGATCCAAGGTCGATCTGGTAACC  
ATGTTGGAGAAGGCCATCAACTACGTCAAGTCTTGCAATGCAAGTCAAAGTCTTATGAACGATGAGTATTGG  
CCACCAAAGGGAGAT

25 Secuencia de nucleótidos de SmRSLb de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 43)

LNTNFKPRARQGSANDPQSIARHRERISDRKILQELVPNSTKVDLVTMLEKAINYVKFLQLQVKVLTSDDYW  
P

30

Secuencia de aminoácidos de SmRSLc de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 44)

CTCAACACCAATTTCAAGCCTCGAGCCAGGCAGGGAAGCGCCAATGATCCCCAGAGCATCGCTGCTAGACATCGC  
CGGGAGAGGATCAGTGACAGGCTCAAGATCTTGCAAGAGCTCGTTCCAAACAGCACAAAGGTTGATCTAGTGACG  
ATGCTGGAGAAGGCCATCAATTACGTCAAGTCTCCAGCTGCAAGTTAAGGTGCTTACGTCGGACGACTACTGG  
CCA

Secuencia de nucleótidos de SmRSLc de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 45)

35

LNTNFKPRARQGSANDPQSIARHRERISDRKILQELVPNSTKVDLVTMLEKAINYVKFLQLQVKVLTSDDYW  
P

Secuencia de aminoácidos de SmRSLd de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 46)

CTCAACACCAATTTCAAGCCTCGAGCCAGGCAGGGAAGCGCCAATGATCCCCAGAGCATCGCTGCTAGACATCGC  
CGGGAGAGGATCAGTGACAGGCTCAAGATCTTGCAAGAGCTCGTTCCAAACAGCACAAAGGTTGATCTAGTGACG  
ATGCTGGAGAAGGCCATCAATTACGTCAAGTCTCCAGCTGCAAGTTAAGGTGCTTACGTCGGACGACTATTGG  
CCA

40

Secuencia de nucleótidos de SmRSLd de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 47)

ES 2 483 916 T3

LNTDGKPRAKRGSATDPQSIYARQRERINERLRALQGLVPNGAKVDIVTMLEEAINYVKFLQLQVKLLSSDEYW  
MYAPT

Secuencia de aminoácidos de SmRSLe de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 48)

CTAAACACCGACGGAAAGCCACGCGCAAAGCGTGGATCTGCCACGGACCCGCAAAGCATCTACGCTCGGCAAAGA  
AGAGAAAGGATCAACGAGCGTTTGTAGAGCGCTACAAGGACTCGTACCAAACGGAGCGAAGGTTGACATGTGACG  
ATGCTCGAGGAAGCCATCAACTATGTCAAGTTTTTGCAGCTGCAAGTAAAGCTGCTCAGCTCGGACGAGTATTGG  
ATGTACGCCCCACA

5

Secuencia de nucleótidos de SmRSLe de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 49)

LNTNGKPRAKRGSATDPQSVYARHRERINERLKLTLQHLVPNGAKVDIVTMLEEAIHYVKFLQLQVNMLSSDEYW  
IYAPT

10

Secuencia de aminoácidos de SmRSLf de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 50)

CTCAACACGAATGGCAAGCCCAGAGCAAAGCGTGGATCTGCAACAGATCCCCAAAGCGTTTACGCAAGGCACCGG  
AGAGAGAGGATCAACGAGAGGCTCAAACTTTACAACACCTTGTTCCAAATGGTGCAAAGGTTGACATAGTGACA  
ATGCTTGAAGAAGCAATACATTACGTGAAGTTTCTACAGCTGCAAGTCAACATGTTAAGCTCTGATGAGTACTGG  
ATTTATGCACCCACA

15

Secuencia de nucleótidos de SmRSLf de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 51)

LNTNGKPRAKRGSATDPQSVYARHRERINERLKLTLQHLVPNGAKVDIVTMLEEAIHYVKFLQLQVNMLSSDEYW  
TYAPT

Secuencia de aminoácidos de SmRSLg de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 52)

20

CTCAACACGAATGGCAAGCCCCGAGCAAAGCGTGGATCTGCAACAGATCCCCAAAGCGTTTATGCAAGGCACCGG  
AGAGAGAGGATCAACGAGAGGCTCAAACTTTACAACACCTTGTTCCAAATGGTGCAAAGGTTGACATGTGACA  
ATGCTTGAAGAAGCAATACATTACGTGAAGTTTCTACAGCTGCAAGTCAACATGTTAAGCTCTGATGAGTACTGG  
ACTTATGCACCCACA

Secuencia de nucleótidos de SmRSLg de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 53)

LNTDGKPRAKRGSATDPQSIYARQRERINERLRALQGLVPNGAKVDIVTMLEEAINYVKFLQLQVKLLSSDEYW  
MYAPT

25

Secuencia de aminoácidos de SmRSLh de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 54)

CTAAACACCGACGGAAAGCCACGCGCAAAGCGTGGATCTGCCACGGACCCGCAAAGTATCTACGCTCGGCAAAGA  
AGAGAAAGGATCAACGAGCGTTTGTAGAGCGCTACAAGGACTCGTACCAAACGGAGCGAAGGTTGACATGTGACG  
ATGCTCGAGGAAGCCATCAACTATGTCAAGTTTTTGCAGCTGCAAGTAAAGCTGCTCAGCTCGGACGAGTATTGG  
ATGTACGCCCCACA

30

Secuencia de nucleótidos de SmRSLh de *Selaginella moelendorffii* (SEC ID N°: 55)

MMAAQASSKRGMMLLPREAVLYDDEPSMPLEILGYHNGVGGGGCVDADYYSWSGSSSSSSSSVLSFDQAAVGGSS  
GGGARQLAFHPGGDDDDCAMWMDAAAGAMVENTSVVAGGGNNYCHRLQFHGGAAGFGLASPGSSVVDNGLEIHE  
SNVSKPPPPAAKKRACPSGEARAAGKQCRKGSKPNKAASASSPSPSPSPSPNKEQPQSAAAKVRRERISERL  
KVLQDLVPNGTKVDLVTMLEKAINYVKFLQLQVKVLATDEFWPAQGGKAPELSQVKDALDAILSSQHPNK\*

35

Secuencia de aminoácidos de OsRSLa de arroz (*Oryza sativa* subesp. Japonica) (SEC ID N°: 56;  
LOC\_Os01g02110.1 11971.m06853)

ATGATGGCAGCTCAGGCAAGCAGCAAGCGGGCATGCTGCTGCCACGGGAGGCGGTGCTCTACGACGACGAGCCC  
TCCATGCCGCTGGAGATCTTGGGCTACCACGGCAATGGCGTCGGCGGGCGGTGGCTGCGTTGACGCCGATTACTAC  
TACAGCTGGTCCGGGTCCAGCTCCAGCTCCAGCTCGTCCGGTGTCTAGCTTTGACCAGGCGGGCGGTCCGGCGGAGC  
GGCGGGCGGCTGCGCCCGGAGCTGGCTTCCATCCCGGGCGGCGACGACGACGACTGCGCCATGTGGATGGACGCC  
GCCGCCGGCGCCATGGTTCGAGAACACGTCTGTCTGCGCCGGCGGGCAACAACACTACTGTTCATCGCCTGCAGTTC  
CACGGCGGGCGCCCGGTTTTCGGACTCGCGAGCCAGGCTCGTCCGGTCTGTTGACAACGGCCTCGAAAATCCACGAG  
AGCAACGTCAGCAAGCCGCCACCGCCGGCAGCCAGAAGCGCGCATGCCCGAGCGGGCGAGGCGAGAGCAGCGGGG  
AAGAAGCAGTGCAGGAAAGGGAGCAAGCCAAACAAGGCTGCTTCTGCTTCTTCTCCTTCTCCTTCTCCTTCTCCT  
TCTCCTTCTCCTAACAAAGGAACAACCTCAAAGCGCCGCTGCAAAGGTAAGAAGAGAGCGGATCAGTGAGAGGCTC  
AAAGTTCTTACAGGATCTCGTGCCTAATGGCACAAAGGTAGACTTGGTACCATGCTAGAAAAGGCGATCAACTAC  
GTCAAATTCCTCCAGCTGCAAGTGAAGGTTTTGGCTACTGATGAGTCTGGCCGGCACAAGGAGGAAAGCACCA  
GAGCTCTCAAGTCAAGGACGCCTTGGACGCCATCCTATCTTCTCAGCATCCAAACAAATGA

Secuencia de nucleótidos de OsRSLa de arroz (SEC ID N°: 57; LOC\_Os01g02110.1 11971.m06853)

MRMALVRERAMVYGGGCDAAEFGGGFESSQMGYGHDAALDIDAALFGGYEAAAAGCALVQDGAAGWAGAGASS  
SVLAFDRAAQAEAECDAWIEAMDQSYGAGGEAAPYRSTTAVAFDAATGCFSLTERATGGGGGAGGRQFGLLFPS  
TSGGGVSPERAAPAPAPRGSQKRAHAESSQAMSPSKKQCGAGRKAGKAKSAPPTPTKDPQSLAAKNRRIISERL  
RILQELVPNGTKVDLVTMLEKAISYVKFLQLQVVKLATDEFWPAQGGKAPEISQVKEALDAIILSSSSPLMGLQLMN  
\*

5

Secuencia de aminoácidos de OsRSLb de arroz (SEC ID N°: 58; LOC\_Os02g48060.1 11972.m09840)

ATGCGCATGGCGCTGGTGCAGGGAGCGCGCATGGTGTACGGTGGAGGGTGCACGCCGAGGCGTTCGGCGGGCGGG  
TTCGAGTTCGTCAGATGGGGTACGGCCACGACGCGCTGCTCGACATCGACGCGGGCGGCGCTGTTCCGGGGGTAC  
GAGGCGGGCCAGCGCCGGGTGCGCCCTCGTGCAGGACGGCGCCGCGGGGTGGGGCGGGCGGGCGCGTTC  
TCGGTTCGGGTTGACACCGCGCCGCTCAGGCGGAGGAGCCGAGTGCAGCGCGTGGATCGAAGCCATGGACACG  
AGCTACGGCGCCGGCGGGCAGGCGCGCCGCTACCGGTCGACGACGCGCCGCTCGCTTCGACGCGGGCCACCGGCTGC  
TTCAGCCTGACGGAGAGAGCCACCGCGGGCGGGCGGGCGGGTGGGGCGCAGTTCGGGCTGCTGTTCCCGAGC  
ACGTCGGGGCGGGCGCTTCCCCGAACGCGCCGCGCCGGCGCCGGCGCCCGCGGCTCGCAGAAGCGGGCCAC  
GCGGAGTTCGTCAGGCCATGAGCCCTAGCAAGAAGCAGTGCAGCGCCGGCAGGAAGGCGGGCAAGCCAAAGTCG  
GCGCCGACCACCCCAACCAAGGACCCGCAAAGCCTCGCGCCAAAGAATCGGCGCGAGAGGATCAGCGAGCGGCTG  
CGGATCCTGCAGGAGCTCGTGCCCAACGGCACCAAGGTGCACCTCGTACCATGCTCGAGAAGGCCATCAGCTAC  
GTCAAGTTCCTCCAGCTTCAAGTCAAGGTTCTTGGCAGGACGAGTTCGCGCGGGCAGGGAGGAAAGGCGCCG  
GAGATATCCAGGTGAAGGAGGCGCTCGACGCCATCTTGTCTGCTCGTTCGCGGCTGATGGGACAACTCATGAAC  
TGA

10

Secuencia de nucleótidos de OsRSLb de arroz (SEC ID N°: 59; LOC\_Os02g48060.1 11972.m09840)

MAMVAGDEAMSVPHDVGVVVDPEAAGTAPFDAGAGYVPSYQCQYYYYYDDHHHPCSTELIHAGDAGSAVAVA  
YDGVVDGWHAAAAATSPSSSALTDFDGHGAEHSAVSWMDMDMAHGAAPPLIGYPTAATSSPSSCFSSGGSGD  
SGMVMVTTTTPRSAASGSQRRARPPSPLOQSELHEYSKQRANNKETQSSAAKSRRERISERLRALQELVPSG  
GKVDVMTMLDRAISYVKFMQMLRVLETDAFWPASDGPDI SRVKDALDAIILSSSSPSQKASPPRS\*

15

Secuencia de aminoácidos de OsRSLc de arroz (SEC ID N°: 60; LOC\_Os06g30090.1 11976.m07553)

ATGGCTATGGTGGCCGGCGACGAGGCGATGTCAGTGCCATGGCACGACGTCGGCGTTCGTCGACCCCGAGGCG  
GCCGGGACGGCGCCGTTTCGACGCCGGCGCCGGCTATGTCCCATCGTACGGTACGTGCCAATACTACTACTACTAC  
GACGACCACCACCACCCGTCAGCAGCAGGAGCTGATCCACGCGGGCGACGCTGGCAGTGGCGTTGCGGTTGCG  
TACGACGGCGTCGACGGCTGGGTTACGCGCCCGCCGACCCACTCCCCGTCCTCGTCACTGCGCTACCTTC  
GATGGTTCACGGCGCCGAGGAGCACAGCGAGTGTCTGGATGGACATGGACATGGACGCGCACGGCGCCGCGCCT  
CCCCAATCGGCTACGGCCCGACGGCGGGCAGCTCCTCCCCCTCCTCCTGCTTCAGCTCCGGCGGGCTCCGGCGAC  
AGCGGCATGGIGATGGTACCACCACCACCCGAGGAGCGCCGCGCCCTGTTTCGAGAGGGCGGGCAGCCCG  
CCGCGTCCGCGTTGCAGGGATCAGAGCTGCACGAGTACTCCAAGAAGCAGCGCCCAACAAGGAGACACAG  
AGCTCAGCTGCCAAGAGCCGGCGGGAGAGGATCAGCGAGCGGCTGAGGGCGTGCAGGAGCTGGTCCGCGAGCGG  
GGGAAGGTGGACATGGTACCATGCTGGACAGGGCCATCAGCTACGTCAAGTTCATGCAGATGCAGCTCAGGGTG  
CTGGAGACCGACGCTTCTGGCCGGCGTCCGACGGCGCCACGCGGACATCTCCGGGTCAAGGACGCGCTCGAC  
GCCATCATCTCTCCTCGTCTCGCCCTCGCAAAGGCTTCTCCTCCTCGGTCCGGCTAG

20

Secuencia de nucleótidos de OsRSLc de arroz (SEC ID N°: 61; LOC\_Os06g30090.1 11976.m07553)

# ES 2 483 916 T3

MEDSEAMAQLLGVQYFNDQEQQPAAAAPPAMYWPAHDAADQYYGSAPYCYMQQQQHYGCDGGAMVAGGDFV  
PEEQLVADPSFMVDLNLFEFEDQHGGDAGGAGSSAAAAAATKMPACKRKRVEDHKDESCTDNVARKKARSTAATV  
VQKKGKNAQSKKAQKGCASRSNQKESNGGGDGGNVQSSSTNYLSDDDSLSEMTSCSNVSSASKKSSLSSPAT  
GHGGAKARAGRAATDPQSLYARKRRERINERLKIQLNLPNGTKVDISTMLEEAVHYVKFLQLQIKLLSSDDMW  
MFAPAIYNGVNVGLDLKISPPQQQ\*

Secuencia de aminoácidos de OsRSLd de arroz (SEC ID N°: 62; LOC\_Os03g10770.1 11973.m06529)

ATGGAGGACTCGGAGGCGATGGCGCAGCTGCTCGGCGTGCAGTACTTCGGCAATGACCAGGAGCAGCAGCAGCCG  
GCGGCGGCGGCGCCGCGGCGATGACTGGCCGGCGCACGACGCGGCGGACAGTACTACGGCTCGGCGCCATAC  
TGCTACATGCAGCAGCAGCAGCATTACGGGTGCTACGACGGCGGCGGATGGTGCCGGCGGCGACTTCTTCGTG  
CCGGAGGAGCAGCTGGTGCCGACCCGAGCTTTCATGGTGGACCTGAACCTCGAGTTCGAGGACCAGCAGCGCGG  
GATGCTGGCGGCGCTGGGAGCAGCGCCGCGCGCGCCGCGCCACCAAGATGACACCGGCGTGAAGAGGAAG  
GTTGAGGATCACAAAGGATGAGAGCTGCACGGACAACGTCGCGAGGAAGAAGGCGCGCTCCACGGCAGCAACAGTG  
GTGCAGAAGAAGGTAATAAGAACGCGCAGTCAAAGAAGGCGCAGAAGGGCGGTCGAGCCGGAGCAGCAACCAG  
AAGGAGAGCAATGGCGGCGGCGACGGCGCAATGTGCAGAGCTCGAGCACCAACTACCTCTCTGATGACGACTCG  
CTGTCGCTGGAGATGACTTCGTGCAGCAACGTGAGCTCGGCGTCCAAGAAGTCGTGCTGTCATCGCCGGCGACC  
GGGACGGCGGCGGAAGGCGAGGGCCGGGCGGGGCGGCGACCGATCCGCAAAGCCTCTATGCCAGGAAGAGG  
AGAGAAAGGATCAATGAACGGCTAAAGATACTGCAGAACTTATCCCAAATGGAACCAAGGTGGACATCAGCAGG  
ATGCTTGAAGAAGCAGTTCACTACGTCAAGTTCTTGCACTCCAAATCAAGCTTCTGAGCTCGGATGATATGTGG  
ATGTTCCGCGCGATCGCGTACAACGGGGTCAACGTCGGGCTCGACCTCAAGATCTCTCCACCGCAGCAGCAATGA

5

Secuencia de nucleótidos de OsRSLd de arroz (SEC ID N°: 63; LOC\_Os03g10770.1 11973.m06529)

MESGGVIAEAGWSSLDMSQAEESEMMAQLLGTFCFSPNGEDDHHQELPWSVDTPSAYYLHCNGGSSAYSSTTSS  
NSASGSFTLIAPRSEYEGYVSDSNEAALGISIQEQGAAQFMDAILNRNGDPGFDDLADSSVNLDSIGASNKRK  
IQEQRLDDQTKSRKSAKKAGSKRGKAAQCEGEDGSI AVTNRQSLSCCTSENDSIGSQESPVAAKSNGKAQSGH

RSATDPQSLYARKRRERINERLKIQLNLPNGTKVDISTMLEEAMHYVKFLQLQIKLLSSDEMWMYAPAIYNGMN  
IGIDLNLSQH\*

10

Secuencia de aminoácidos de OsRSLe de arroz (SEC ID N°: 64; LOC\_Os03g42100.1 11973.m09268)

ATGGAGTCCGGAGGGGTGATCGCGGAGGCGGGGTGGAGCTCGCTCGACATGTCGTCGCGAGGCCGAGGAGTCGGAG  
ATGATGGCGCAGCTGCTTGAACCTGCTTCCCCTCCAATGGCGAGGATGATCATCACCAAGAGCTTCCITGGTTCG  
GTTGACACCCCACTGCTTACTACCTCCATTGCAATGGAGGTAGCTCAAGTGCAATACAGCTCTACCACTAGCAGC  
AACAGTGTAGTGGTAGCTTCACTTCACTTGCACCAAGATCTGAGTATGAGGGGTACTATGTGAGTGACTCTAAT  
GAGGCGGCCCTCGGGATCAGCATCCAGGAGCAAGGTGCAGCTCAGTTTCATGGATGCCATTCTCAACGGAACGGC  
GATCCGGGCTTCGATGATCTCGCTGACTCGAGCGTTAATCTGCTGGATTCCATCGGCGCTTCTAACAGAGAAAG  
ATTCAGGAGCAAGGCAGGCTAGATGACCAAACGAAAAGTAGGAAATCTGCGAAGAAGGCTGGCTCGAAGCGGGGA  
AAGAAGGCGGCGCAATGTGAAGGTGAAGATGGCAGCATTGCTGTCAACCAACAGGCAAAGCTTGAGCTGCTGCACC  
TCTGAAAATGATTCGATTGGTTCTCAAGAACTCCTGTTGCTGCTAAGTCGAATGGCAAGGCTCAATCTGGCCAT  
CGGTCAGCAACCGATCCCCAGAGCCTCTATGCAAGGAAAAGAAGAGAGAGGATCAATGAGAGGCTCAAGATTCTG  
CAGAACCTTGTACCAAATGGAACCAAAGTAGATATCAGCACTATGCTTGAAGAGGCAATGCATTACGTGAAGTTC  
TTGCAGCTTCAAATCAAGCTCCTCAGCTCTGATGAAATGTGGATGTACGCACCGATTGCTTACAACGGGATGAAC  
ATCGGGATCGATTGAACCTCTCTCAGCATTGA

15 Secuencia de nucleótidos de OsRSLe de arroz (SEC ID N°: 65; LOC\_Os03g42100.1 11973.m09268)

MDARCANIWSSADARSEEMIDQLKSMFWSSTDAEINFYSPDSSVNSCVTTSTMPSSLFLPLMDDEGFGTVQLM  
HQVITGNKRMFPMDEHFQQKPKKKTRTSRVSSSTITDYETSSELVNPSCSSGSSVGEDSIAATDGSVVLK  
QSDNSRHKQCKSDTQSLYARKRRERINERLRIQLNLPNGTKVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKLLSSDDTWMF  
APLAYNGMNMDLGHTLAENQE\*

20 Secuencia de aminoácidos de OsRSLf de arroz (SEC ID N°: 66; LOC\_Os11g41640.1 11981.m08005)

ATGGATGCAAGGTGIGCAAACATCTGGAGCTCTGCTGATGCAAGGAGTGAGGAATCTGAGATGATTGATCAACTA  
AAGTCCATGTTCTGGAGCAGCACTGATGCTGAAATCAACTTTTATTCTCCTGACAGTAGTGAAATCTTGTGTC  
ACAACACTAGCACAATGCCTAGCAGCTTGTCTTCTCCTCTGATGGATGATGAGGGATTGGCACAGTCAATTGATG  
CATCAGGTCATCACIGGGAACAAGAGGATGTTCCCATGGATGAGCACTTTGAGCAGCAGCAGAAGAAGCCGAAG  
AAGAAAACCCGAACCTCTCGCTCGGTATCAAGTAGTTCAACCATTACTGACTATGAGACTAGCTCTGAACCTGTC  
AATCCTAGCTGTTCTCCGGGAGCAGCGTCGGAGAGGATCAATIGCTGCAACTGATGGATCTGTAGTCTGAAA  
CAAAGTGACAATTCAAGAGGCCATAAGCAGTGCTCCAAGGATACACAAAGCCTCTATGCTAAGAGGAGAAGGGAA  
AGGATTAATGAGAGACTGAGAATACTTCAGCAGCTTGTTCCTAATGGCACTAAAGTTGACATCAGCACAATGCTG  
GAGGAAGCAGTTCAGTATGTCAAGTTTTGCAGTTGCAAAATAAGCTATTGAGCTCTGACGACACAATGGATGTTT  
CGCCCCCTAGCCTATAATGGCATGAACATGGATCTCGGTACTACTCTTGTCTGAAAACCAAGAATGA

Secuencia de nucleótidos de OsRSLf de arroz (SEC ID N°: 67; LOC\_Os11g41640.1 11981.m08005)

MECSFFEICNESEMIHLQSLFWSSDADPCFGSSSFLISSEGYDTMTTEFVNSSTNVCFDYQDSEFVSAEET  
TIGNKRKVMQDTEENELMTRNSKEVRTKMSVSKACKHSVSAESSQSYAKNRRQRINERLRLQLIPNGTKVDIS  
TMLEEAIQYVKFLHLQIKLLSSDEMWMYAPLAFDSGNNRLYQNSLSQE \*

5

Secuencia de aminoácidos de OsRSLg de arroz (SEC ID N°: 68; LOC\_Os12g32400.1 11982.m07043)

ATGGAATGCAGCTCCTTTGAAGCAATCTGCAATGAGTCGGAGATGATTGCGCATTGTCAGTCATTGTTCTGGAGC  
AGCAGCGATGCTGATCCTTGTGTTTGGTAGCTCATCATTTCTCTCATCAGTAGTGAGGGCTACGACACAATGACC  
ACAGAGTTTGTGAA TAGCAGCACAAATGTATGTTTGTATTACCAAGATGATAGCTTCGTTTCAGCAGAGGAGACT  
ACCATTGGTAACAAGAGAAAAGTTTCAGATGGATACTGAGAATGAGCTGATGACGAACCCGACAGGAAGATTCCG  
ACCAAGATGTCGGTGTCAAAAGCATGCAACATTTCTGTTCTGTCAGAGAGCTCACAGTCTTATTATGCAAAAGAAC

AGGAGACAGAGGATCAATGAGAGATTGAGAATACTGCAAGAACTGATCCCTAATGGAACAAAAGTTGACATCAGC  
ACAATGTTGGAGGAAGCAATTCAGTATGTCAAGTTTCTACACCTGCAAAATCAAGCTCTTGAGCTCTGATGAAATG  
TGGATGATGCGCCCCCTTGCTTTTGCAGTGGTAACAACAGGCTCTATCAGAACTCTCTGTCACAAGAGTAG

10

Secuencia de nucleótidos de OsRSLg de arroz (SEC ID N°: 69; LOC\_Os12g32400.1 11982.m07043)

MEGGGLIADMSWTVFDLPSSHSEEMMAQLFSAPFIHGEEEGHEQLPWFQSSNPNPCYSCNASSTAYSNSNASSI  
PAPSEYEGYCFSDSNEALGVSSSIAPHDLMSVQVQGATEFLNVI PNHSLDSFGNGELGHEDLDSVSGTNKRKQSA  
EGEFDGQTRGSKARKAEPKRAKARQTVEKDASVAIPNGSCSISDNDSSSQEVADAGATSKGKSRAGRGAATD  
PQSLYARKRRERINERLKTQLNLPNGTKVDISTMLEEAVHYVKFLQLQIKLLSSDEMWMYAPIAYNGMNI GLDL  
NIDI \*

15 Secuencia de aminoácidos de OsRSLh de arroz (SEC ID N°: 70; LOC\_Os12g39850.1 11982.m07769)

ATGGAGGGTGGAGGACTGATCGCCGATATGAGCTGGACCGTCTTCGACTTGCCATCGCACAGCGATGAGTCGGAG  
ATGATGGCGCAGCTCTTCAGTGCATTCCCCATCCATGGTGGAGGAGGAAGGCCATGAGCAGCTCCCATGGTTGAT  
CAATCTTCCAATCCATGCTACTATAGCTGCAATGCTAGCAGCACTGCATACAGCAACAGCAATGCTAGTAGCATT  
CCTGCTCCATCTGAGTATGAAGGATACTGCTTCAGTACTCAAATGAGGCCCTGGGTGCTCAGCTCCAGCATTGCA  
CCACATGACCTGAGCATGGTCCAGGTGCAAGGTGCAACTGAGTTTCTGAAATGTGATCCCAAACCTTCCCTTGAT  
TCATTCCGTAATGGCGAGCTGGGCCACGAGGATCTTGATTCCGTTAGTGGGACTAACAAGAGAAAACAGTCCGCA  
GAAGGAGAATTTGATGGCCAAACAAGAGGTTCAAAATGCGCGAGAAAGGCTGAACCGAAGCGAGCGAAGAAGGCC  
AAGCAAACGTGGAGAAGGATGCAAGTGTGCCATCCCAAATGGGAGCTGTTCCATTTCTGACAATGATTCCAGT  
TCATCCAGGAGGTTGTCAGATGCTGGTGCTACTTCGAAAGGCCAAATCCCGGGCTGGCCGCGGAGCAGCCACTGAT  
CCCCAGAGCCTCTATGCAAGGAAAAGGAGAGAGAGGATCAATGAGAGGCTCAAGACACTTCAGAACCTTGTGCC  
AATGGCACCAAAGTTGATATCAGCACCATGCTTGAGGAGGCAGTCCACTATGTGAAGTTCTGTCAGCTTCAGATC  
AAGCTCCTCAGCTCCGATGAAATGTGGATGTATGCGCCAATTGCGTACAACGGGATGAACATTGGGCTCGATCTG  
AACATTGATACATGA

20 Secuencia de nucleótidos de OsRSLh de arroz (SEC ID N°: 71; LOC\_Os12g39850.1 11982.m07769)

MAQFLGAHGDHCFYEQMDESMEAMAAMFLPGLDIDSNSSGCLNYDVPPQCWPQHGHSSSVTSFDPDPAHSYGSF  
EFPVMDPFIADLDAHCAIPYLTEDLISPFGHNHPSARVEEATKVVTPVATKRKSSAAMTASKKSKKAGKKDPIG  
SDEGGNTYIDTQSSSSCTSEEGNLEGNAPSSKKMGTRANRGAATDPQSLYARKRRERINERLRLQLNLPNGTK  
VDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKLLSSDDTWMYAPIAYNGVNI SNIDLNISSLQK \*

Secuencia de aminoácidos de OsRSLi de arroz (SEC ID N°: 72; LOC\_Os07g39940.1 11977.m08236)

MAQFLGAHGDHCFTYEQMDSESMEAMAAMFLPGLDTSNSSSGCLNYDVPPQCWFPQHGHSVTSFDPDPAHSYGSF  
 EFFVMDPFPFIADLDAHCAIPYLTEDLISPFGHNP SARVEEATKVVTPVATKRKSSAAMTASKSKKAGKKDPIG  
 SDEGGNTYIDTQSSSSCTSEEGNLEGNAPSSKKMGTRANRGAATDPQSLYARKRRERINERLRILQNLVPNGTK  
 VDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKLLSSDDTWMYAPIAYNGVNI SNIDLNISSLQK\*

Secuencia de nucleótidos de OsRSLi de arroz (SEC ID N°: 73; LOC\_Os07g39940.1 11977.m08236)

MALAKDRMGSVQTCPYNGNVMGDFSSMGSYGFDEYQKVAFYEEGNSTFEKTSGLMIKNLAMTSSPSSLGSPSSAI  
 SGELVVFQATDHAEEAHSLSFKGIGFDNIMHNNGSLLSFEQSSRVSQTSSQKDDYSAWEGNLSYNYQWNEMNPK  
 CNTSPRLMEDFNCFQRAGNFISMTGKENHGDWLYAESTIVADSIQDSATPDASSFHKRPNMGESMQALKKQCNA  
 TKPKPKSAAGPAKDLQSI AAKNRRERISERLKVLDLVPNGSKVDLVTMLEKAI SYVKFLQLQVVKVLATDELWP  
 VQGGKAPDISQVKEAIDALLSSQTKDGNSSSSPK\*

5

Secuencia de aminoácidos de PtRSLa de *Populus trichocarpa* (SEC ID N°: 74)

ATGGCACTTGCCAAGGACCGTATGGGATCGGTTCAAACCTTGCCCTATAATGGAAATGTGATGGGGGATTTTTC  
 TCCATGGGGTCTTACGGATTTGATGAATATCAGAAGGTAGCATTATGAAGAGGGAAATAGCACCTTTGAGAAA  
 ACCAGTGGGCTTATGATCAAGAATTTAGCTATGACCTCTTCTCTTCTTCTTGGCAGTCCGAGCAGCGGATT  
 TCTGGTGAATTAGTGTTCAGGCTACTGACCATCAAGCTGAGGAAGCTCATTCTTTGATCAGCTTCAAAGGTATC  
 GGATTCGATAACATCATGCATAATAATGGATCTTTGCTTAGCTTTGAGCAAAGTAGTAGGGTTTCTCAAACCTAGT  
 AGCCAGAAAGATGACTACTCAGCCTGGGAGGGTAATTTGAGTTACAAC TACCAGTGAACGAAATGAATCCAAAA  
 TGTAACACAAGTCCCGGTTGATGGAAGATTTAATTGCTTTCAAAGAGCTGGCAACTTCATTTCCATGACTGGA  
 AAGGAAAATCATGGTGTGATTGGTTATACGCTGAATCCACAATTGTGTCTGATAGCATTCAGGATTCTGCAACACCA  
 GATGCCAGCAGCTTCCATAAGCGTCC TAATATGGGAGAGAGTATGCAGGCTCTAAAGAAGCAATGCAACAATGCA  
 ACAAAAAAGCCAAAACCGAAGTCCGCAGCAGGTCCAGCTAAGGATCTACAGAGTATGCTGCCAAGAATCGACGA  
 GAGAGGATTAGCGAGAGGCTTAAGGTATTGCGAGGATTTAGTCCC TAATGGCTCAAAGGTTGATTTGGTTACTATG  
 CTAGAGAAAGCCATTAGTTATGTTAAGTTTCTTCAATTGCAAGTAAAGGTGTTAGCCACTGATGAATTATGGCCA  
 GTTCAAGGTGGTAAAGCTCCTGATATTTCTCAAGTAAAGGAAGCCATCGATGCCCTACTCTCATCTCAGACTAAA  
 GACGGAAACTCAAGCTCAAGCCCAAAGTAA

10

Secuencia de nucleótidos de PtRSLa de *Populus trichocarpa* (SEC ID N°: 75)

MALAKDRMDSVQTCALYGNVMGDLSSLGPNYRFDEEGDRNFEKNSALMIKNLAMSPPSPSLGSPSSANSSELVQ  
 ATDNQVEEAHSLINFKGTGFD SIMHANGSLISFEQSNRVSQTSSHKDDYSAWEGNLSYNYQWNQINPKCNANPRL  
 MEDLNCYQSASNFNSITNSAEKENHGDWLYTHESTIVTDSIPDSATPDASSFHKRPNMGESMQALKKQKQDSATKK  
 PKPKSAGPAKDPQSI AAKNRRERISERLKMQLDLPNGSKVDLVTMLEKAI SYVKFLQLQVVKVLATDEFWVQGG  
 KAPDISQVKGAIDATLSSQTKDRNSNSSK\*

15

Secuencia de aminoácidos de PtRSLb de *Populus trichocarpa* (SEC ID N°: 76)

ATGGCACTTGCCAAGGACCGTATGGATTTCGGTTCAAACCTTGCCCTTTATGGAAATGTGATGGGGGATCTTTTC  
 TCCTTGGGGCCTAATTATAGATTTGATGAAGAGGGAGATAGGAACTTTGAGAAAAATAGTGCCTTATGATCAAG  
 AATTTAGCTATGAGCCCTTCTCCTCTCTCTTGGCAGTCCAAGCAGTGCAAATCTGGTGAAC TAGTGTTCAG  
 GCTACTGACAATCAAGTTGAGGAAGCTCATTCTTTGATCAACTCAAAGGTACCGGATTTGATAGTATCATGCAT  
 GCTAATGGATCTTTGATTAGCTTTGAGCAAAGTAATAGGGTTTCTCAAACCTAGTAGTCACAAAGATGACTACTCT  
 GCTTGGGAGGGTAAATTTGAGTTGCAATTACCAGTGAACCAAATCAATCCAAAA TGTAACGCAAATCTCGGTTG  
 ATGGAAGATCTTAATTGCTATCAAAGTGCAAGCAACTTCAACTCCATAACCAACAGTGCTGAAAAGGAAAACCAT  
 GGTGATTGGTTATACACTCATGAATCCACAATTGTTACTGATAGCATTCCCGATTCTGCAACACCAGATGCCAGC  
 AGCTTCCATAAGCGTCCCAATATGGGAGAGAGTATGCAGGCTCTAAAGAAGCAACGCGACAGCGCCACAAAAAG  
 CCGAAACCCAAAGTCTGCTGGTCCAGCTAAGGATCCACAAAGTATGCTGCCAAGAAATCGACGAGAGCGGATTAGC  
 GAGCGCCTTAAGATGTTGAGGATTTAGTCCCTAACGGCTCCAAGGTTGATTTGGTTACTATGCTAGAGAAAGCC  
 ATTAGTTATGTTAAGTTTCTTCAATTGCAAGTAAAGGTGTTGGCCACTGATGAATCTGGCCAGTTCAAGGTGGT  
 AAAGCTCCTGATATTTCTCAAGTAAAGGAGCCATTGATGCCACTCTCATCTCAGACTAAAGACAGAAATTC  
 AACTCAAGCTCAAAGTGA

20

Secuencia de nucleótidos de PtRSLb de *Populus trichocarpa* (SEC ID N°: 77)

MAEGEWSSLGGMYTSEEADFMAQLLGNCPNQVDSSSNFVGPSSFWPNHEPTTDMEGANECLFYSLDFANINLHHF  
 SQGSSSYSGSGILFPNTSQDSYYMSDHPILANNNSSMSDFCMGDSYLVEGDDCSNQEMSNSEEPGGNQTV  
 ALPENDINGFRAKREPEMASELPLEDKSSNPPQISKKRSRNSGDAQKKNRNASSKKSQKVASTSNNDEGSNAGLN  
 ASSGCCSEDESNAHSELNRGASSLSKGTATLNSGKTRASRGAATDPQSLYARKRRERINERLRILQTLVPNG  
 TKVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKLLSSEDLWYAPIAYNGMDIGLDHLKVTAP\*

ES 2 483 916 T3

Secuencia de aminoácidos de PtRSLc de *Populus trichocarpa* (SEC ID N°: 78)

ATGGCAGAGGGAGAGTGGAGTTCTCTTGGTGGAAATGTACACTAGTGAGGAGGCTGATTTTCATGGCACAGTTGCTT  
GGTAACTGTCCCTAATCAGGTTGATTCAAGTTCAAACCTTTGGAGTTCCATCTAGTTTCGGCCTAACCACGAACCA  
ACAACGGACATGGAAGGGCTAATGAATGTTTATTTTATTCTTTGGATTTTGCTAATATTAATTTGCACCATTTT  
TCACAAGGGAGTAGTAGTTATAGTGGTGGCAGTGGCATTCTTTTTCCCAACACAAGCCAAGATAGCTACTACATG  
AGTGATTCTCATCCAATTTTGGCTAACATAATAGCTCAATGTCAATGGATTTTTCATGGGAGACTCATATCTC  
GTTGAAGGCGATGACTGCTCAAACCAAGAAAATGAGCAATAGCAATGAGGAGCCTGGTGGAAACCAGACTGTAGCT  
GCTCTTCTGAAAACGATTTTCGGGCCAAGAGAGAACCAGAGATGCCAGCTTCTGAAC TACCCCTGGAAGACAAA  
AGCAGCAACCCACCTCAGATTTCTAAGAAAAGATCACGAAATTCAGGAGATGCTCAAAGAACAAGAGGAATGCA  
AGTTCAAAGAAGAGCCAGAAGGTTGCC TCGACTAGCAACAATGATGAAGGAAGTAATGCTGGCCTTAATGGCCCT  
GCCTCAAGCGGTTGCTGCTCAGAGGATGAATCCAATGCCCTCATGAGCTCAATAGAGGAGCGAGTTCAAGTTTG  
AGCTCGAAAAGGACTGCAACTCTCAACTCAAGTGGCAAAAACAAGAGCCAGCAGGGGGGCGCCACTGATCCCCAG  
AGTCTCTATGCAAGGAAAAGAAGAGAAAATAAATGAGAGGCTGAGAATTCACAAACCCTTGTCCTCAACGGA  
ACAAAAGTTGACATTAGCACAAATGCTTGAAGAAGCTGTCCAGTATGTGAAGTTTTTGAACCTCAAATTAAGCTG  
CTAAGCTCTGAGGACTGTGGATGTATGCGCTTACGCTTACAACGGGATGGACATCGGTCTTGATCATCTGAAG  
GTACCGCACCATGA

5 Secuencia de nucleótidos de PtRSLc de *Populus trichocarpa* (SEC ID N°: 79)

MEPIGATAEGEWSSLSGMYTSEEADFMELLVNCPNPQVDS SSSSFGVPSFVFNHES TMNMEGANEC LLYSLDIA  
DTNLYHFSQVSSGYSGELSNGNVEESGGNQTVAALPEPESNLQPKRESKMPASELP LEDKSRKPPENSKKRSRRT  
GDAQKNKRNVRSKKSQKVASTGNND EESNGGLNPGVSSGCCSEDES NASQELNGGASSLS SKGTTTLNSSGKTR  
ASKGAATDPQSLYARKRRERINERLRILQNLV PNGTKVDI STMLEEAVQYVKFLQLQIKLLSSEDLW MYAPIAYN  
GMDIGLDHLKLTTPRRL\*

10 Secuencia de aminoácidos de PtRSLd de *Populus trichocarpa* (SEC ID N°: 80)

ATGGAGCCTATTGGAGCCACTGCGGAGGGAGAGTGGAGTTCTCTTAGTGGAATGTACACAAGTGAGGAGGCTGAT  
TTTCATGGAACAGTTGCTTGTCAACTGTCTCTCTAATCAGGTTGATTCAAGTTCAAGCTTTGGAGTTCCATCTAGT  
TTTTGGCCTAACCATGAATCAACAATGAACATGGAAGGGCCAAATGAATGTTTATTGTATTCTTTGGATATTGCT  
GATACTAATCTGTACCATTTTTTACAAGTGAGCAGTGGTTATAGTGGTGAATIGAGCAATGGAAATGTGGAAGAG  
TC TGGTGGAAACCAGACTGTAGCTGCTCTTCTTGAACCTGAAAGCAATTTGC AACCCAAGAGAGAA TCAAAGATG  
CCAGCATCTGAACTACCCCTGGAAGATAAAAGCAGAAAGCCACCTGAGAATCCAAGAAAAGATCACGACGTACG  
GGAGATGCCCAAAAAGAACAAGAGGAATGTAAGGTCAAAGAAGAGCCAGAAGGTTGCCTCGACTGGCAACAATGAT  
GAAGAAAGCAATGGTGGCCTTAATGGTCTGTCTCAAGCGGTTGCTGCTCAGAGGATGAATCCAATGCCTCCAG  
GAGCTCAATGGAGGAGCGAGTTCAAGTTTGAGCTCAAAGGGACAACAACCTCAACTCAAGTGGCAAAAACAAGA  
GCCAGTAAGGGGGCAGCCACTGATCCCCAGAGCCTCTATGCAAGGAAAAGAAGAGAAAATAAATGAGAGGCTG  
AGAATTCTACAAAACCTTGTCCTCAATGGAACAAAGTTGACATTAGCACAA TGCTTGAAGAGGCTGTCCAGTAT  
GTGAAGTTTTTGAACCTCAAATTAAGCTGCTAAGCTCTGAAGACCTGTGGATGTATGCTCCTATCGGTACAAT  
GGTATGGACATCGGTCTTGATCATCTGAAGCTTACCACACCAAGACGATTGTAG

Secuencia de nucleótidos de PtRSLd de *Populus trichocarpa* (SEC ID N°: 81)

MNIQAMEAFRDGELWNFSRMFSMEEPDCTPELLGQCSFLQDTDEGLHFTIPSAFFPAPESDASMAEDES LFYSWH  
TPNPNLHFDSESSNNSNSSSSVFLPYSSHESYFFNDSNP IQATNNNSMSMDIMDEEN IGLFMPLFPEIAMAETA  
CMNGDMSGDKTGDLDDNLKPAANDVLAKGLQLKRKLDVPEPIANTLDDMKKKARVTRNVQKTRKVGQSKKNQKNA  
PDISHDEEESNAGPDGQSSSSCSSEEDNASQSDSKVSGVLNSNGKTRATRGAATDPQSLYARKRRERINERLKI  
LQNLV PNGTKVDI STMLEEAVHYVNF LQLQIKLLSDDDLW MYAPLAYNGIDIGLNQKLSMFL\*

15 Secuencia de aminoácidos de PtRSLe de *Populus trichocarpa* (SEC ID N°: 82)

ATGAATACGCAGGCTATGGAAGCCTTTCGTGATGGAGAATTATGGAACCTCAGCAGAATGTTCTCCATGGAAGAG  
CCTGATTGCACCCCAGAATTACTTGGTCAGTGCTCTTTTCTTCAGGATACTGATGAAGGATTGCATTTTACAATC  
CCATCAGCTTTTCTCCCTGCTCCTGAATCCGACGCGAGCATGGCTGAGGACGAGAGTTTGTTTTATTCTTGGCAT  
ACTCCCAACCCCAATTGCATTTTGGATTCTCAAGAAAGTAGTAATAACAGTAATTC TAGCAGTAGTGTATTCTT  
CCCTATTCCAGCCATGAATCCTACTTCTCAATGATTCTAATCCCATTCAAGCTACGAACAATAACTCTATGTGCC  
ATGGATATTATGGATGAGGAAAATATTGGCTTGTTTATGCCACTTTTTCTGAAATTGCAATGGCAGAAACTGCC  
TGATGAATGGAGATATGAGCGGTGACAAAACAGGAGATTTAGATGATAATCTGAAGCCAGCAGCTAATGATGTT

CTGGCCAAGGGATTGCAGCTCAAAAGGAAGCTTGATGTTCCAGAACCAATAGCCAACACATTGGACGACATGAAG  
AAAAAAGCCCGGGTTACAAGAAATGTGCAAAAGACTAGGAAGGTTGGACAGTCAAAAAAAAAATCAGAAGAACGCA  
CCAGATATTAGCCATGATGAAGAAGAGAGTAATGCTGGACCAGACGGACAAAGTCCAGCAGTTGTAGTTCAGAA  
GAGGACAATGCCCTCAGGATTCTGATTCCAAGGTTTCTGGAGTCTCAATTCCAATGGAAAAACAAGAGCTACT  
AGGGGAGCTGCCACAGACCCCCAGAGCCTTTATGCAAGGAAAAGAAGGGAGAGGATAAACGAGAGACTGAAAATC  
TTGCAGAACTTGTCCCTAACGGAACCAAGGTTGATATCAGCACGATGCTAGAAGAGGCAGTCCATTACGTAAAC  
TTTTTGCAGCTTCAAATCAAGCTTTTGGACTCGGATGATCTATGGAATGATGCACCCTTGGCTTACAATGGAATA  
GATATTGGACTCAACCAGAAGCTCTCTATGTTTCTATGA

Secuencia de nucleótidos de PiRSLe de *Populus trichocarpa* (SEC ID N°: 83)

MAQESTWSSF DATMLAEESRMIAQLLSNYQCFGEQDRDVGCELPPSSCCSSHAADSCYCSANENS NPGLCYW  
SQSGDESDGAHAIGTVPVFTNHCLVGDQVAVNQTL SIHEPTAAHAEMPKRKIESHASEDDFRRQSSKKKLQAPTN  
ALKSVKKARPGRNQKS IVCGDEEENNRSSGRSCCSYSSEEDSQAFQADLNAKTRSNRWPATDPQSLYAKQRRER  
INARLRTLQNLVPNGTKVDI STMLEEAVRYVKFLQLQIKLLSSDELWMYAPVVHSGMIDGQVNSEIFVSANTRNE  
WF\*

5

Secuencia de aminoácidos de MaRSLa de *Musa acuminata* (SEC ID N°: 84; GI102139852, ABF70010.1)

atggctcaggagtcaacttggagctcgtttgatgctacaatgcttgctgaggaggagtcccgaatgatcgcaaaa  
ttgctcagcaactaccagtgttttggcgagcaagatcgagatggtggatgctgtgaactcccgccatcgtcttgt  
tgttcttctcatgcagctgattcatgttactgttggtcagcaaatgagaacagtaacccgggtttgtgctactgg  
tctcagagtggagatgaatccgatggagcacaatcgcaactggtgctgctcctcagcaaccattgcttgggtg  
ggagatcaagtcgctgtgaatcaactttgagcattcagcaacctactgctgctcatgcagagatgccaaagcgc  
aagatagagctctcatgcttctgaagatgatttccgctcgtcaaaagttctaagaaaaagcttcaggctccgacgaat  
gctctgaagagcgtgaagaaggcacgacctgggaggaaccagaagagcattgtgtgtgggtgatgaggaagagaac  
aatgccaggagcagtgccgggagtgctgcagctacagctctgaggaagactcacaagctttccaggctgatctt  
aatgcaaaaaacacgatcgcaatcgatggccagccacagatcctcaaagcctctatgcaaaagcaagaagggaaga  
atcaatgctagattgaggacattgcagaacctggtgctaatggaactaaagttgacattagcacaatgctcgaa  
gaagctgttctgttacgtcaagttcttgcagctgcagataaaagcttttgagctcgatgagctgtggatgtacgct  
cctgttgtccacagtgggatgattgatggccaagtcaactcagagatatttgtgtctgcaataactcgtaatgag  
tggttctga

10

Secuencia de nucleótidos de MaRSLa de *Musa acuminata* (SEC ID N°: 85).

MEPIGTFPEGEWDFFRKMFASEDHEYYSQQFLDQNSLLLGENDGLNNGTQSTFCTAEIGENERMFYSFDHAHIQN  
SNYIPQTQENSYNSNSASDDTNYYFSYPNHVLENNINNCISNDFRMDENLFASSVPSLNEIVMEENVRMNEDSA  
SDDHIVEKNGYNTQIMEFFDLHTKHEMQMKLKRKLDVI EVEVPVEEKINNNPKKPRVSDNGQGCMKNARSKKNH  
KVIASHEEEMTEEINRGSNGNSSSSNISEDDNASQENSGGTTLNSNGKTRASRGSATDPQSLYARKRRERINERL  
RVLQNLVPNGTKVDI STMLEEAVNYVKFLQTIKLLSSDDMWMYAPLAYNGLDLGLNLNLNSSLPL\*

15 Secuencia de aminoácidos de MiRSLa de *Medicago truncatula* (SEC ID N°: 86; AC140548.11 GI:156231148)

ES 2 483 916 T3

atggaacctataggtactttccctgaaggagaatgggattttctttcgcaaaatgtttgcaagtgaagatcatgaa  
tattactcacaacaatttcttgatcaaaattcacttcttctaggggaaaatgatgggtgaaacaatggaacacag  
tccacattttgcaactgctgaaattggtgaaaatgagcgtatgttttattctttgatcatgctcatatccaaaac  
tctaactatattcctcaaaactcaagagaatagttacaatagcaattctagtctagtgatgatacaaaactat  
tttagttatcctaatcatgtactagaaaataatattaataattgtatatccaatgattttcgcatggatgagaat  
ttgtttgcttctctgttccatcccttaatgagattgtaatggaagagaatgtgagaatgaatgaagattctgca  
agtgatgatcatatgtggagaaaaatggttacaatactcaaaatggaaccttttgatcttcacaccaagcat  
gagatgcaaatgaagctcaaaaggaaacttgatgtgatagaagtggaggttcccgttgaagaaaaataacaac  
aatccgaagaaaaaacctcgtgtttcgaatgatggccaaggatgcatgaaaaatgcaaggtcaaagaagaaccac  
aaagttattgctagccatgaagaggagatgacagaagagattaatagaggatcaaatggaatagtcttagtagt  
aacatttctgaggatgataatgcttctcaagaaaatagtggaggaactctcaactcaaatgggaagacaaga  
gctagtagaggatctgcaacagatcccaaagtctatatgcaaggaaaagaagagagagaataaatgaacgacta  
agagtttcaaaaatcttgtaccaaacggaacaaaggttgatcatcagtacaatgcttgaagaggcagcaattat

gtgaaatttttacagactcaaatcaagcttttgagctctgatgatatgtggatgtatgcaccacttgcctacaat  
ggacttgaccttgactcaatctcaacctcaacagctctctaccactatga

Secuencia de nucleótidos de MiRSLa de *Medicago truncatula* (SEC ID N°:87, AC140548.11 GI:156231148)

XFLCFSQSSSSSTDMSGNNIFSITSSGAYSCDPEANFDSVSMVLCGLDAKFSPHSFQDDNSNQINENTDEESS  
LDPWKLA IADNNLQAKREYEMMVSEPVVD RSRNLENLAKRLKSSIEVSKTLRSKSGKNSKSASVSNDEDDRSL  
SLQAQRNSCF SQSDSNAYLEPNNGASKDPAPPNLHRKSRATTGAATDPQSLYARKRRERINERLRILQLNLPNGT  
KVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKLLSSDDLWMY

5

Secuencia de aminoácidos de GmRSLa de semilla de soja (SEC ID N°: 88)  
(gi|26056905|gb|CA799819.1|CA799819)

ATTTTTGTGTTTTCTCACAAAGGGAGTAGCTCCAGTACTGATAAATAGTGGTAATAATATCTTTTCCATTACAAGTA  
GTGGAGCCTACTCCTGTGATCCAGAAGCAAACCTTTGATTCTGTGTCCATGGTTTIGTGCCTTGGAGATGCCAAAT  
TTAGTCCCATAGTTTTCAATGTGATGACAACCTCAAACCAACAGATAAATGAAAACACTGATGAAGAGTCAAGTC  
TAGACCCATGGAAGTTGGCTATAGCTGACAATAATTTGCAGGCTAAGAGGGAGTATGAAATGATGGTTCTGAAC  
CTGTAGAAGTGGATAGAAGCAGAAACCTGGAGAACCCTAGCAAAAAGACTAAAGAGTTCAATAGAGGTTCAAAAA  
CATTGAGGAGTGCTAAATCAGGGAAAATTCAAAATCTGCTTCAGTGAGCAACGATGAAGATGATAGAAGCTTGA  
GCCTCCAAGCCCAAAGGAATAGCTGTTTTTCACAGAGTGACTCTAATGCTTATCTGGAGCCAAATGGAGGGGCAT  
CAAAAGATCCTGACCTCCCAATTTGCATAGAAAATCAAGAGCAACTACCGGTGCTGCCACTGATCCACAGAGCC  
TCTATGCAAGAAAGAGAAGAGAAGAAATAAATGAAAGGTTGAGAATACTGCAAAATCTTGTTCCCAACGGAACCTA  
AGGTGGATATCAGCACCATGCTTGAGGAAGCTGTCCAATACGTGAAGTTTTTACAGCTCCAATTAAGCTTCTGA  
GCTCTGACGATCTGTGGATGTAT

10

Secuencia de nucleótidos de GmRSLa de semilla de soja (SEC ID N°: 89)  
(gi|26056905|gb|CA799819.1|CA799819)

XNLENLPKRLKSSIEVPKTSRNAKSRKNSKSASISNDEDDRSLSLQVQRNNSCF SQSDSNAYLEPNNGASKDPAP  
PNLDRKSRATTSAAADPQSLYARKRRERINERLRILQLNLPNGTKVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKLLSSEDLW  
MYAPIVYNGINIGLDLGISPTKGRSM\*

15

Secuencia de aminoácidos de GmRSLb de semilla de soja (SEC ID N°: 90)  
(gi|15663066|gb|BI700437.1|BI700437)

GAAACCTGGAGAACCCTACCAAAAAGACTAAAGAGCTCAATAGAGGTCCTCAAAAACATCGAGGAATGCTAAATCAA  
GGAAAAATTCAAAATCTGCTTCAACTAGCAACGATGAAGATGATAGAAGCTTGAGCCTCCAAGTCCAAGGAATA  
ATAGCTGTTTTTCACAGAGTGACTCTAATGCTTATCTTGAGCCAAATGGAGGGGCATCAAAAGATCCTGCACCTC  
CTAATTTGGATAGAAAATCAAGAGCAACTACCAGTGCCGCCGCTGATCCACAGAGCCTCTATGCAAGAAAGAGAA  
GAGAAAGAATAAATGAAAGGCTGAGAATACTGCAAAATCTTGTCCTCAACGGAACCTAAGGTGGATA TCAGCACCA  
TGCTTGAAGAAGCTGTCCAATACGTTAAGTTTTTACAGCTCCAATTAAGCTTCTGAGCTCTGAAGATTTGTGGA  
TGTATGCTCCAATTTGTTTACAATGGAATAAACATTGGACTAGACCTCGGTATTTCTCCAACCAAAGGAAGATCAA  
TGTGATAGCATAGCAATTAAGAGGATATAATATTTCAATTAACCTTA

20

Secuencia de nucleótidos de GmRSLb de semilla de soja (SEC ID N°: 91).  
(gi|15663066|gb|BI700437.1|BI700437)

XRSKEAEILSSNGKRKASRGSATDPQSVYARKRRERINERLRILQNLVPNGTKVDISTMLEEAVEYVKFLQLQIK  
LLSSDDMMYAPIAYDGMIDIGLHSTTIPSSSTR\*

Secuencia de aminoácidos de LsRSLa de *Lettuce saligna* (SEC ID N°: 92)  
(gi|83790803|gb|DW051020.1|DW051020 CLLX3812.b1\_H18.ab1)

5  
TGAGATCAAAGAGGCTGAAATTCGAGCTCAAATGGCAAGAGAAAAGCAAGTAGGGGGTTCAGCAACTGATCCAC  
AAAGTGTCTATGCACGGAAAAGAAGAGAAAAGAAATTAACGAACGTTTAAGAATATACAAAATCTTGTTCCTAATG  
GTACAAAGTTGATATAAGCACAATGCTTGAAGAGGCTGTTGAGTACGTGAAGTTTTGTCAGCTTCAAATCAAGC  
CTTTGAGCTCCGATGATATGTGGAIGTATGCTCCGATTGCATACGATGGAATGGACATTGGGCTTCATCAACAA

CCATCCCATCATCGTCAACAAGATAATGCAAAGTTGGGCTATCCATATTGTCACATTTTTGTTGAATAAAAAGGCA  
ATCGATAACAAAATTCAAAGTTTATAAAGAGTACACATTTATGC

Secuencia de nucleótidos de LsRSLa de *Lettuce saligna* (SEC ID N°: 93)  
(gi|83790803|gb|DW051020.1|DW051020 CLLX3812.b1\_H18.ab1)

10  
MASKRATTRELRAMYDDEPSSMSLELFGYHGVVVDGDDENDDTATLPQLSFVDNFKGGCGSAADYYSWAYNASG  
GTPGASSSSTSSVLSFEHAGGAGHQLAYNSGTGDDDCALWMDSMADHQHGAARFGFMNPGSADVPEIQESSIKQ  
PAKSAQKRSSSGGEAQAAAKKQCGGGRKSKAKVVPTKDPQSAVAKVRRERISERLKVLDLVPNGTKVDMVTMLE  
KAITVYVKFLQLQVKVLATDEFWPVQGGKAPELSQVKALDAILSSQQQP\*

Secuencia de aminoácidos de TaRSLa de *Triticum aestivum* (SEC ID N°: 94)  
(gi|25232820|gb|CA654295.1|CA654295)

15  
ATGGCGAGCAAGCGGGCCACCACGGGGAGCTCCGGGCGATGTACGACGACGAGCCCTCCTCCATGTCCCTCGAG  
CTCTTCGGCTACCATGGCGTGGTCTCGACGGTGACGATGAAAACGACGACACTGCCACCGCCCTGCCCCAGCTC  
TCCTTCGTCGACAACTTCAAAGGTGGGTGCGGGTCCGGCGGACTACTACAGCTGGGCGTACAACGCCCTCCGGC  
GGGACGCCGGGCGCTCCTCCAGCTCCACCTCGTCCGTGCTCAGCTTTGAGCATGCCGGCGGTGCCGGTATCAG  
CTGGCTTATAATTCGGGCACAGGCGAGGATGACTGCGCGCTCTGGATGGACAGCATGGCCGATCATCAGCACGGC  
GCGGCCAGGTTTGGGTTCATGAACCCAGGGTCCGGCCGATGTCGTCCAGAAATCCAGGAGAGCAGCATCAAGCAG  
CCGGCAAGTCTGCGCAGAAGCGCTCGAGCTCGGGTGGTGAGGCGCAAGCAGCGGCGAAGAAGCAGTGTGGAGGA  
GGCAGGAAGAGCAAGGCCAAAGTTGTCCTACCAAGGATCTCAGAGCGCTGTTGCAAAGGTCCGAAGAGAGCGC  
ATCAGTGAGAGGCTCAAAGTTCTGCAGGATCTGTACCCACGGCAGCAAGGTGGACATGGTACCATGCTCGAG  
AAGGCAATCACCTATGTCAAGTTCTGCAGCTGCAAGTCAAGGTGTTGGCGACCGACGAGTTCTGGCCGGTGCAA  
GGAGGGAAGGCGCGGAGCTCTCCCAAGTGAAGACCGCGCTGGACGCCATCCTTTCTTCCAGCAGCAACCTAG

Secuencia de nucleótidos de TaRSLa de *Triticum aestivum* (SEC ID N°: 95)  
(gi|25232820|gb|CA654295.1|CA654295)

20  
DSQI IHPMPCDELHKS LI \*LYHIRRRYPYVVF TDGESTSFARPLLNDSRIRGELLLTLSTTKHKVTIASSMRRSY  
SMMHDHEKS \*KIQRKRSQKLVSKGNESEADHDAVFGQIMKMGSDNDSNWPRESSTSPRPKEAANLNSNGKTKAN  
RGSATDPQSVYARKRRERINERLRILQSLVPNGTKVDISTMLEDAVQYVKFLQLQIKPLSSDDLWMYAPIAYNGM  
ETGLDSTIPSPR \*RLSKVAASFLLKKGKPGA

Secuencia de aminoácidos de CtRSLa de cártamo *Carthamus tinctorius* (SEC ID N°: 96)  
(gi|125399878|gb|EL411863.1|EL411863 CFFS9477.b1\_118.ab1)

25  
GATTCACAGATAATCCACCCTATGCCGTGTGATGAACTCCACAAATCCTTAATTTAATTTGATCCACATCAGGCGA  
CGTTATCCATATTTGGTGTTCACIGAITGGTAAAAGCACATCTTTCGCGCGACCTTACTCAATGACTCAAGAATT  
AGAGGTGAACTATTGCTTACACTATCTACTACTAAACATTGTAAGTACTGCCAGTTCATGAGACGTTTCGTAT  
AGCATGATGCATGATCATGAGAAAAGCTAAAAGATACAGCGCAGAAAAGAGCCAGAAGCTCGTTTTCTAAAGGCAAC  
GAAAGTGAAGCTGACCATGATGCAGTTTTTGGGCAATAATGAAAATGTGTGGATCTGACAAATGACTCGAATTGG  
CTCGGGAGTCGAGCACAAGTCCAAGACCAAAGAGGCTGCAAAATCTGAACTCAAATGGGAAGACAAAAGCAAAT  
AGGGGGTCAGCAACGGATCCACAAAGTGTCTACGCACGGAAGAGAAGAGAACGAATTAATGAACGGTTAAGAATA  
CTACAGAGTCTGGTTCCTAATGGTACAAAGGTTGATATAAGCACAATGCTTGAAGATGCTGTCCAGTATGTGAAA  
TTTTTGCAAGTCCAAATCAAGCCGTTGAGCTCTGATGATCTGTGGATGATGCCCCATCGCGTACAACGGGATG  
GAGACGGGCTTGATTTCTACGATCCCTTCGCCAAGGTGAAGACTATCCAAAGTTGCCGCATCTTTTTTCTTGAAA  
AAAGGGAAGCCTGGGCAA

Secuencia de nucleótidos de CtRSLa de cártamo *Carthamus tinctorius* (SEC ID N°: 97)  
(gi|125399878|gb|EL411863.1|EL411863 CFFS9477.b1\_118.ab1)



Secuencia de nucleótidos de BdRSLc (SEC ID Nº: 103)

MEAGGLISEAGWTFDFPSQGESEI MSQ L LGAFPSHLEEGHQDLWPYQASDPSYYDCNLNTSSESNASSLAVPS  
 ECMGYLLGDSSESLDLSSCIAPNDLNLVQEQDATEFLNMTPNLSLDLRNGESSCEDLTSVGPNTNKRKHS SAEEG  
 IDCQARGQKFARKAEPKRTKKTQSGWEVAVATRNGSTASCCTSDDDSNASQESADTGVC PKGKARAARGASTDP  
 QSLYARKRRERINERLKLTLQTLVPNGTKVDMSIMLEEAVHYVKFLQLQIKVLSDDMMWYAPLAYNGMNI GLDLN  
 IYTPERWRTASAAPSTEGREYAGVDRISDLDPGILGDIVSLLP TAE GARTQILKRRWRHIWRCSAPLNLDCCTLV  
 ARGGGREAEDELVGLIPSILSSHQGTGRRFHVPSSRHS DRAATIEAWLQSAALDNLQELDLWCHTHTYLYDYVPLP  
 PAVFRFSATVVRVVTIANCNLRDSAVQGLQFPQLKQLGFKDIIIMEDSLHMHIAACPDL ECLMIERSLGFACVRIN  
 SLSLRSIGVSTDHPHPHELQFVELVIDNAPCLKRLHLEMCYHLDMHITVISAPKLETLSCCSSVRSSTKLSFG  
 SAAIQGLHIDS LTTVVRTVQILAVEMHSLCLDTIIDFMKCFPLQKLYIKSFVSGNNWQORKHRNVIKSLDIRLK  
 TIALESYGGNQSDIN FVTFVFLNARVLELMTF DVCSEHYTVEFLAEQYRKLQLDKRASRAARFHFTSNRCVRGIP  
 YIGRAELFLPIKCSHVDTSPNLSSFRLSAVFSVCITRNLLRLKKAMWVISLYSPEFTKQVAVHNP NEMPF\*

5 Secuencia de aminoácidos de BdRSLd (SEC ID Nº: 104)

ATGGAGGCTGGAGGGCTGATTTCTGAGGCTGGCTGGACCATGTTTGACTTCCCCTCGCAAGGCGAGGAATCAGAG  
 ATCATGTGCGAGCTGCTAGGCGCCTTCCCCTCCCATCTTGAGGAAGGCCATCAGGATCTGCCTTGGTACCAGGCT  
 TCTGACCCACTACTATGACTGTAATCTTAATACAAGTAGTGAAAGCAATGCTAGTAGTCTTGCTGTTCCATCC  
 GAGTGTATGGGCTACTATTTGGGTGATCAAGTGAGTCCCTGGACCTGAGCTCCGACCAAAATGACCTG  
 AACTTGGTCCAGGAGCAAGATGCAACTGAGTTTCTGAATATGACACCAAATCTTCCCCTTGATTTACGIGGGAAT  
 GGTGAGTGCAGCTGCGAGGATCTCACTTCGGTTCGGTCTCTACTAACAAGCGAAAGCACTCCTCGGCAGAGAAGGA  
 ATCGACTGCCAAGCAAGAGGCCAGAAATTCGCCAGAAAGGCTGAACCGAAGCGAACAAAGAAGACCAAGCAAAGC  
 GGATGGGAGGTTGCTGTTGCCACCAGGAATGGAAGCACAGCGAGCTGCTGCACCCTTGATGATGACTCAAACGCT  
 TCTCAAGAATCTGCAGATACCGGTGTTTGTCCGAAAGGCAAGGCTCGGGCTGCCCGTGGCGCATCAACTGATCCC  
 CAGAGCCTCTATGCAAGGAAAAGGAGGGAAAGGATCAATGAGAGACTGAAGACACTGCAGACCCTTGTGCCAAT  
 GGAACCAAAGTAGATATGAGCACCATGCTTGAGGAGGCAGTCCACTACGTGAAGTTCCCTGCAGCTTCAGATCAAG  
 GTCTTGAGCTCTGATGATATGTGGATGATGCGCCGCTAGCATACAACGGGATGAACATTTGGGCTTGATCTGGAAC  
 ATATATACTCCGGAGAGGTGGAGGACAGCGTCCGCGGCGCCCTCAACCGAAGGGCGTGAATACGCCGGCGTCGAC  
 CGCATCAGCGACCTCCCGACGGCATCTCGGCGACATCGTCTCGTTGCTCCCCACCGCCGAAGGAGCCCGCACC  
 CAGATCCTCAAGCGCAGGTGGCGCCACATCTGGCGCTGCTCCGCCCTCTCAACCTCGATTGCTGTACCTTGGTC  
 GCCCGTGGCGGGCCGTGAGGCTGAAGATGAACTCGTCCGTCTCATACCGTCCATCCTTTCTTCTCAACAAGGC  
 ACCGGCCGCGCTTCCACGTCCCCCTCGTCGCGCCACTTGACCGAGCTGCTACCATGGAAGCCTGGCTCCAACT  
 GCTGCCCTCGACAACTCCAGGAGCTCGATTTATGGTGCACCCACACTATCTTTACGACTATGTTCCGCTGCCA  
 CCCGCCGCTTTTCCGCTTCTCCGCCACCGTCCGTTGTTGTCACCATCGCAAATTTGAACCTCCGTGACAGCGCGTC  
 CAAGGCCTTCAATTTCCACAACCTTAAACAGCTCGGATTCAAAGATATCATCATCATGAGGATTTCGTCGACCAC  
 ATGATTGCTGCGTGTCCAGATCTCGAGTGTGATGATGAAAGGAGCTTAGGTTTGTCTGCGTCCGGATCAAT  
 TCCCTTAGTCTTAGAAGCATCGGTGTGAGCACTGACCACCTCACCACATGAGCTCCAGTTTGTGGAACCTCGTC  
 ATTGATAATGCACCTTGTCTTAAGAGATTGCTCCATCTTGAATGTGTTATCACCTTGACATGCATATAACAGTA  
 ATCTCCGCGCCTAAACTGGAGACCTTGAGCTGCTGTTCTTCTGTGAGTCCCTCCACCAAACCTCTCGTTTGGC  
 TCCGCGGCCATTACAGGATTGCACATGATAGCTTAACAACAGTGGTGGCAGTGTCCAAATTTAGCTGTAGAG  
 ATGCATTTCTTTGCTAGACACAAT TATTGACTTCATGAAATGCTTTCCATGTCTGCAGAAGTGTACATTAAG  
 TCATTTGTAAGTGGAAACAATTTGGTGGCAACGTAAACACCGGAACGTTATCAAATCCCTTGACATCCGCTCTCAAG  
 ACAATAGCGTTGAAAGTTATGGGGCAATCAGTCTGACATCAACTTTGTACATTTCTTTGTCTGAAACGCGAGA  
 GTGCTAGAGTTGATGACATTTGACGTTGTTCTGAGCATTACACTGTGGAGTCTTTGGCAGAGCAATATAGGAAG  
 CTTACAGCTAGATAAGAGGGCTTCAAGAGCCGCTCGGTTCCATTTTACAAGTAACCGATGTGTCCGTTGATTCCG  
 TATATCGGACGTGCCGAGCTATTCTTGCCATCAAATGTTCTCATGTTGACACCAGTCCAAACTTGAGTAGTTTC  
 CGTTTGTCTGCAGTATTTTCAAGTTTGTATTACCCGGAACCTTTTGCCTTTAAAAAAGCTATGTGGGTCATTAGT  
 TTGATATTCTCCAGAATTTACAAAACAAGTGGCCGTGCACAATCCCAATGAAATGCCGTTTTAG

10 Secuencia de nucleótidos de BdRSLd (SEC ID Nº: 105)

MEAKCGAIWSSIDARSEDSEMI AHLQSMFWSNSDVALNLCSNTSGNSCVTASTLPSSLFLPLVDNESYGAAPSV  
 DTGMDSCFDHQHSITGHKRISHMDEQMKTTRKKSRTVPSVSKALGSSLVDNQMNADIFNQSSSCSSGSDS IGT  
 SEKSIVANQSDNTSGCKRPSKNMQSLYAKRRERINEKLRVLQQLIPNGTKVDISTMLEEAVQYVKFLQLQIKVL  
 SDETWMYAPLAYNGMDIGLTLALRTAANQE\*

Secuencia de aminoácidos de BdRSLe (SEC ID Nº: 106)

ATGGAGGCCAAGTGTGGAGCTATTTGGAGCTCTATCGATGCGAGGAGCGAGGACTCTGAGATGATTGCTCACCTG  
 CAGTCCATGTTCTGGAGCAACAGTGTGTTGCTCTCAACCTCTGTTTCGTCAAACACCAGTGGCAATTCITGIGTC  
 ACAGCTAGCACATTGCTTAGCAGCTTGTTCCTTCCTCTGTGCGATAATGAGAGC TATGGTGCAGCGCCATCGGTG  
 GACACCGGCATGGATTTCATGCTTTGATCACCAGCATCAGAGCATTACTGGTCACAAGAGGATATCGCACATGGAT  
 GAGCAGATGAAGAAGACGAGAAAGAAGTCCCGGACTGTTCCATCGGTATCAAAGGCTCTGGGTTCCAGCCTAGTC  
 GATAATCAGATGAATGCTGACATTTTCAATCAGAGCTCCTCTGCTGCAGCTCGGAGAGAAGATTCAATTGGAACA  
 TCTGAGAAATCCATTGTTGCAAACCAGAGTGACAATACGAGTGGTTGTAAGCGGCC TCAAAGAATATGCAAAGC  
 CTTTATGCAAAGAAGAGAAGAGAGAGATCAACGAGAAGTTGAGAGTACTGCAGCAGCTGATTCCCAATGGCACC  
 AAAGTTGACATCAGCACAATGTTGGAGGAAGCAGTTCAGTATGTCAAGTTTCTGCAGCTGCAAATAAAGGTCTTA  
 AGCTCTGACGAGACATGGATGTATGCGCCCTCGCTACAATGGTATGGACATCGGTCTCACTCTCGCTCTGAGA  
 ACTGCTGCAAACCAAGAGTGA

Secuencia de nucleótidos de BdRSLe (SEC ID N°: 107)

MALVREHGGYGGFDSVEAAAFDTLGYGHGASLGF DASSALFEGGGYAAGGGDAWAGAGASTVLA FNRTTAAAV  
 GVEEEEECDAWIDAMDEDDQSSGPAAPPEARHALTASVGF DASTGCFLLTERASSSSGGAGRPFGLLPSTSS  
 SGGTPERTAPVRVPQKRTYQAVSPNKKHCGAGRKASKAKLASTAPT KDPQSLAAKQNRRE RISRRLRALQELVFN  
 GTKVDLVTMLEKAISYVKFLQLQVKVLATDEFWPAQGGKAPEISQVREALDAILSSAS

5

Secuencia de aminoácidos de ZmRSLa de *Zea mays* (AZM4\_60871: SEC ID N°: 108)

ATGGCGTTGGTGAGGGAGCACGGTGGGTACTACGGAGGCTTCGACAGCGTCGAGGCGGCGGCCTTCGACACGCTC  
 GGCTACGGCCACGGCGCTCGCTGGGCTTTGACCGCTGCTCGGCGCTGTTTCGGGGAAGGCGGTTATGCGGCGGGC  
 GCGGGGACGCTGGGCGGGCGGGGGCGTCGACCGTCTGGCGTTCAACCGCACAAACGGCAGCGGGCGGCGGTG  
 GGTGTGGAAGAGGAGGAGGAGGAGTGCGACCGTGGATCGACGCTATGGACGAGGACGACCAGAGCTCCGCGCCCC  
 GCCGCGGGCGCCAGAGGCGCGCCACGCGCTGACGGCTCCGTGGGTTTCGACGCCTCCACGGGGTGTCTTACC  
 CTGACGGAGAGGGCGTCTGTCGTCAGGCGGAGCGGGCGCCCGTTCGGCTGCTGTTCCCGAGCAGCTGCTCG  
 TCGGGCGGCAGCGCCGAGCGCACGGCGCGGTGCGCTCCCGCAGAAACGGACCTACCAGGCTGTGAGCCCCAAC  
 AAGAAGCACTCGGGCGGGCAGGAAGGCGAGCAAGGCCAAGCTCGCGTCCACAGCCCCAACCAAGATCCCCAG  
 AGCCTCGCGGCCAAGCAGAACC GGCGGAGCGGATCAGCGAGCGGCTGCGGGCGCTGCAGGAGCTGGTGCCCAAC  
 GGCACCAAGGTCGACCTGGTCACCATGCTCGAGAAGGCCATCAGCTACGTTAAGTTCTCCAGTTGCAAGTCAAG  
 GTTCTGGCAACAGACGAATTC TGGCCGGCACAGGGAGGGAAGGCGCCGGAGATCTCCAGGTGAGGGAGGCGCTC  
 GACGCCATCTTGTCGTCGGCGTCC

10

Secuencia de nucleótidos de ZmRSLa de *Zea mays* (AZM4\_60871: SEC ID N°: 109)

MAQFLGAADDDHCFTYEYEHVDESMEAIALFLPTLDTSANFSSSCFNAYVPPQCPDPD HSSSVTSLLDPAENF  
 EFFVRDPLPPSGFDPHCAVAYLTEDSSPLHGKRSSVIEEEAANAAPA AKKRKAGAA MQGSKSRKASKKDNIGDA  
 DDDGGYACVDTQSSSSCTSEDGNFEGNTN SSSKTCARASGAATEPQSLYARKRRERINERLRLQLNLPVNGTK  
 VDISTMLEAAQYVKFLQLQIKLLSDDTWMYAPIAYNGINIGNVDLNIYSLQK\*

15 Secuencia de aminoácidos de ZmRSLb de *Zea mays* (AZM4\_70092: SEC ID N°: 110)

ATGGCTCAGTTTCTTGGGGCGGCTGATGATCACTGCTTCACTACGAGTATGAGCATGTGGATGAGTCCATGGAA  
 GCAATAGCAGCCCTGTTCTTGCC TACCCTTGACACCGACTCCGCCAACTTCTCTCTAGCTGTTTCAACTATGCT  
 GTCCTTCCAGTGTCTGGCCTCAGCCAGACCATAGCTCTAGCGTTACCAGTTGCTTGTATCCAGCCGAGAACITTI  
 GAGTTTCCAGTCAGGGACCCGCTCCCCCAAGCGGCTTCGATCCACATTGCGCTGTGCGCTACCTCACTGAGGAT  
 TCGAGCCCTCTGCATGGCAAACGTTTCATCAGTCAATTGAGGAAGAAGCAGCCAACGCCGACCTGCTGCTAAGAAG  
 AGGAAGGCTGGTGTGCAATGCAGGGATCAAAGAAATCCAGGAAGGCGAGCAAAAAGGATAACATCGGGCAGGCC  
 GACGATGATGGCGGCTATGCCTGTGTGACACGCAAAGCTCCAGTAGCTGCACC TCCGAGGACGGGAAC TCGAA  
 GGAAATACGAATCAAGCTCCAAGAAGACCTGCGCCAGGGCCAGCCGCGGAGCAGCAACTGAACCTCAGAGTCTC  
 TATGCAAGGAAGAGGAGAGAGAGGATCAACGAAAGGTTGAGAATCTTGCAAGCTTGCAGAACTTGGTTCCAAATGGAACAAAA  
 GTAGACATTAGCAGGATGCTCGAGGAAGCGGCGCAGTATGTCAGTTTTCACAGCTCCAGATTAAAGTGTGAGC  
 TGTGACGACACATGGATGTATGCGCCAATCGCGTACAAATGGAATTAACATCGGCAATGTTGATCTGAACATCTAC  
 TCTCTGCAAAAAGTAA

20 Secuencia de nucleótidos de ZmRSLb de *Zea mays* (AZM4\_70092: SEC ID N°: 111)

MEDGGLXSEAGAWAELGTGGDESEELVAQLLGAFFRSHGEEGRHQLLWSDDQASSDDVHGDGSLAVPLAYDGCCG  
 YLSYSGSNSDELPLGSSSRAAPAGGPPPEELLGAAETEYLNVAADHPFFKWCNGEGLDGPTSVVGT LGLGSGR  
 KRARKKSGDEDEDPSTAIASGSGPTSCCTTSDSDSNASPLESADAGARRPKGNENARAAGRGAATAATTTAE PQS  
 IYARVRRERINERLKVQLQSLVPNGTKVDMSTMLEEAVHYVKFLQLQIRVLQLLSSDDTWMYAPIAYNGMGIIDL  
 RMHGQDR\*

# ES 2 483 916 T3

Secuencia de aminoácidos de ZmRSLc de *Zea mays* (AZM4\_91750: SEC ID N°: 112)

ATGGAGGACGGAGGGTTGRTACAGCGAGGCCGGCGCCTGGGCCGAGCTCGGCACCGCGCGGACGAGTCGGAGGAG  
CTGGTGGCGCAGCTGCTGGGCGCCTTCTTCCGGTCCCACGGCGAGGAAGGCCGGCACCAGCTGCTTGGTCTGAC  
GACCAAGCTTCTTCCGACGACGTGCACGGCGACGGCAGCCTTGCCGTGCCGCTCGCATAACGACGGCTGCTGCGGC  
TATCTGAGTACTCAGGTAGCAACTCGGACGAGCTCCCCCTCGGGAGCAGCTCCCGCGCTGCGCCAGCAGGTGGC  
CCACCGGAGGAGCTGCTCGGTGCAGCTGAGACTGAGTACCTGAATAATGTGGCCGCCGAGACCATCCCTTCTTC  
AAATGGTGTGGGAATGGTGAGGGTCTGGATGGTCCGACGAGCGTCTGTGGGACGCTTGGGCTTGGCTCGGGCCGG  
AAACGCGCGCGCAAGAAGAGCGGGGACGAAGACGAAGACCCGAGCACGGCCATCGCCAGCGGAAGCGGCCCCACG  
AGCTGCTGACTACCTCCGACAGCGACTCAAACCGGTCTCCTCTGGAGTCCGCGGACGCGCGGCTCGTCCGCCC  
AAGGGCAACGAGAATGCCCGGGCAGCTGGCCGCGCGCGGGCGGCGGCGACGACGACAGCGGAGCCCCAGAGC  
ATCTACGCAAGGGTACGGAGGGAGCGGATCAACGAGAGGCTCAAGGTGCTGCAGAGCCTGGTGCCCAACGGCACC  
AAGGTGGACATGAGCACCATGCTCGAGGAGGCCGTCCTACTACGTCAAGTCTTGCAGCTTCAAGTCAAGGTTGCTG  
CAGCTCCTGAGCTCCGACGACAGTGGATGTACGGCCCCATCGCGTACAACGGGATGGGCATCGGGATCGACCTC  
CGCATGCATGGACAGGACAGATGA

Secuencia de nucleótidos de ZmRSLc de *Zea mays* (AZM4\_91750: SEC ID N°: 113)

5

SKSRKASKKDCIVDDDDVYVDPQSSGCTSEEGNFEGNTYSSAKKTCTRASRGGATDPQSLYARKRRERINERL  
RILQNLVPNGTKVDISTMLEEAAQYVKFLQLQIKLLSSDDMWMYAPIAYNGINISNVDLNIPALQK\*

Secuencia de aminoácidos de ZmRSLd de *Zea mays* (AZM4\_86104: SEC ID N°: 114)

TCAAAGAAATCCAGGAAGGCGAGCAAAAAAGATTGTATTGTCGATGACGACGATGTCTATGTTGACCCGCAAAGC  
TCCGGTAGCTGCACCTCCGAGGAGGGGAATTTTGAAGGGAATACGTATTCAAGCGCAAAAAGACCTGCACCAGG  
GCCAGCCGCGGAGGAGCAACTGATCCTCAGAGTCTCTATGCAAGGAAGAGGAGAGAGGATCAATGAAAGGTTG  
AGAATCTTGCAGAACTTGGTCCCCAATGGAACAAAGGTTGACATTAGTACGATGCTCGAGGAAGCAGCACAGTAT  
GTCAAATTTTTACAGCTTCAAGATTAAGCTGTTGAGCTCTGACGACATGTGGATGTATGCGCCAATCGCGTACAAT  
GGATCAACATCAGCAATGTTGATCTGAACATCCCTGCA

10

Secuencia de nucleótidos de ZmRSLd de *Zea mays* (AZM4\_86104: SEC ID N°: 115)

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para aumentar la longitud y/o la longevidad de pelos radiculares y/o del número de pelos radiculares en una planta que comprende:
  - 5           aumentar la expresión de un polipéptido relacionado con RHD6 mediante la incorporación de un ácido nucleico heterólogo que codifica un polipéptido relacionado con RHD6 que comprende una secuencia de aminoácidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con la SEC ID N°: 1
  - 10          en una célula vegetal mediante transformación, expresión de dicho ácido nucleico heterólogo en las células de dicha planta, y
  - regeneración de la planta a partir de una o más células transformadas donde la longitud y/o la longevidad de pelos radiculares y/o el número de pelos radiculares están aumentados en relación con las plantas control en las que la expresión del polipéptido relacionado con RHD6 no está aumentada.
- 15   2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 en el que dicho polipéptido relacionado con RHD6 comprende la SEC ID N°: 1.
3. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 en el que la planta tiene tolerancia aumentada en condiciones deficientes en nutrientes en relación con las plantas control.
- 20   4. Un método de acuerdo con la reivindicación 3 en el que las condiciones deficientes en nutrientes se seleccionan del grupo que consiste en condiciones deficientes en nitrato, deficientes en fosfato o deficientes en hierro.
5. Un método de acuerdo con la reivindicación 1 en el que la planta tiene una producción o una secreción aumentadas de un compuesto fitoquímico segregado por las raíces en relación con las plantas control.
- 25   6. Un método de acuerdo con las reivindicaciones 1-5 en el que el ácido nucleico heterólogo comprende una secuencia de nucleótidos que tiene al menos un 90 % de identidad de secuencia con una cualquiera de la SEC ID N°: 2.
- 30   7. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en el que el ácido nucleico heterólogo está unido operativamente a un promotor.
8. Un método de acuerdo con la reivindicación 7 en el que el promotor es un promotor constitutivo.
- 35   9. Un método de acuerdo con la reivindicación 7 en el que el promotor es un promotor específico de raíces.
10. Un método de acuerdo con la reivindicación 7 en el que el promotor es un promotor inducible.
- 40   11. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 en el que el ácido nucleico heterólogo está comprendido en un vector.
12. Un método de acuerdo con una reivindicación anterior en el que la planta es una planta agrícola seleccionada del grupo que consiste en *Lithospermum erythrorhizon*, *Taxus spp*, tabaco, curcubitáceas, zanahoria, hortalizas del género *Brassica*, melón, plantas del género *Capsicum*, vid, lechuga, fresa, semillas oleaginosas del género *Brassica*, remolacha azucarera, trigo, cebada, maíz, arroz, semillas de soja, guisante, sorgo, girasol, tomate, patata, pimiento, crisantemo, clavel, linaza, cáñamo y centeno.
- 45

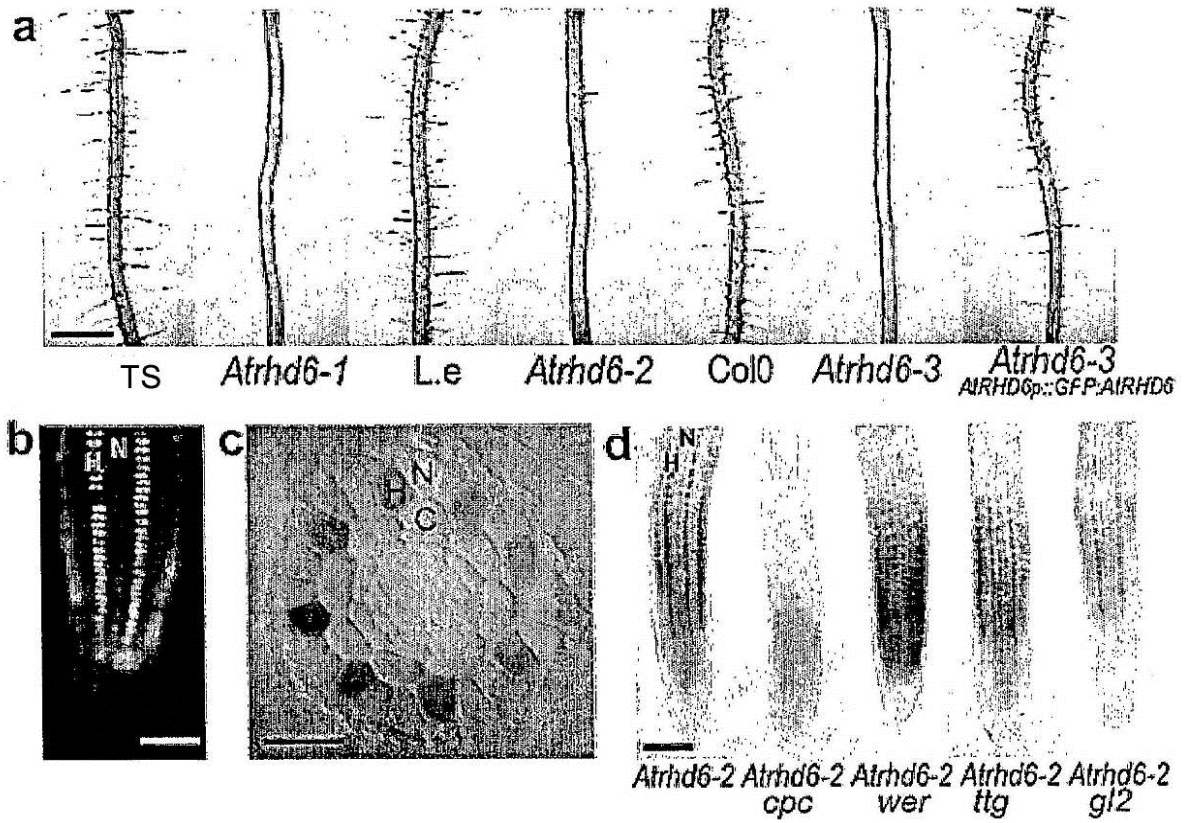


Figura 1

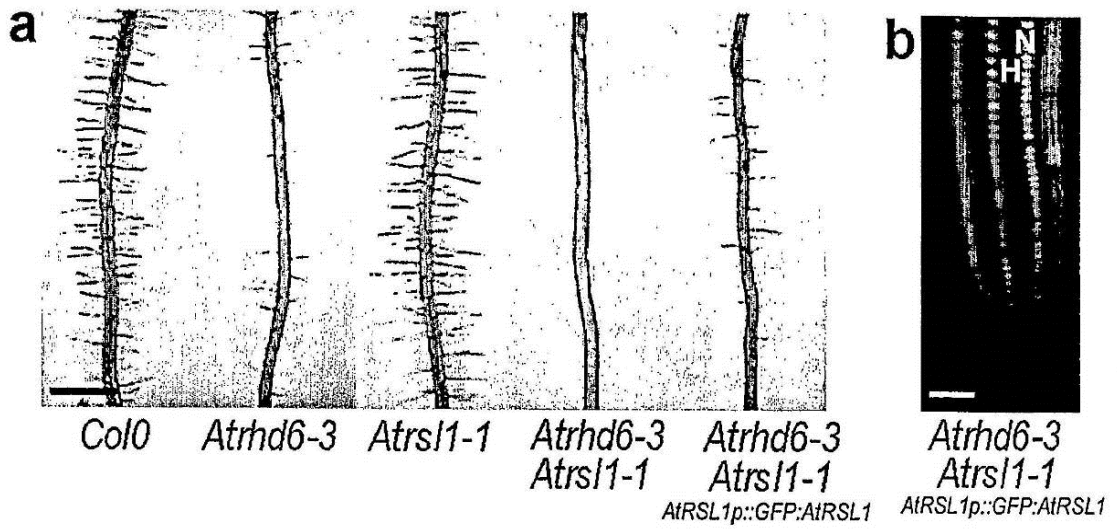


Figura 2

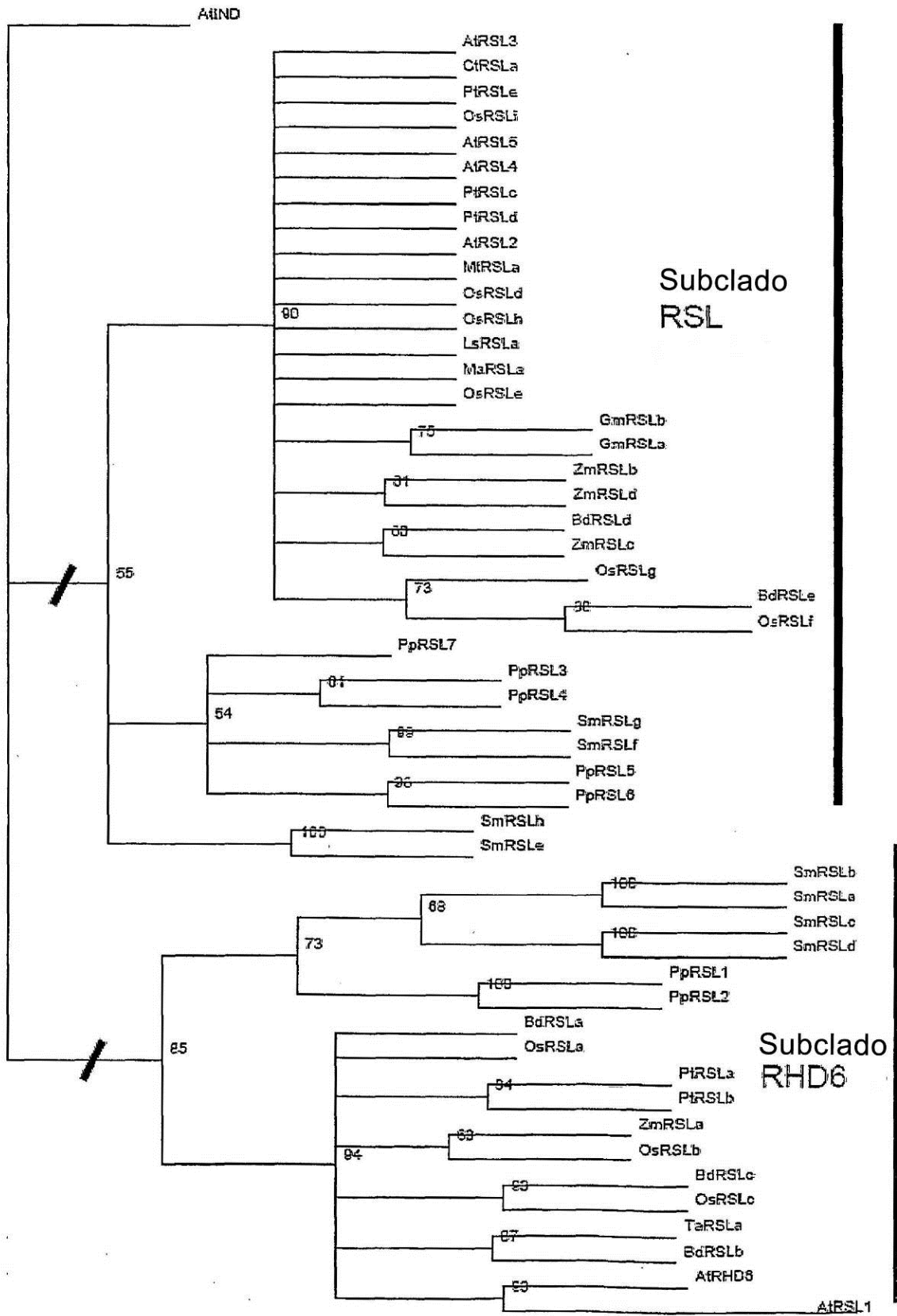


Figura 3

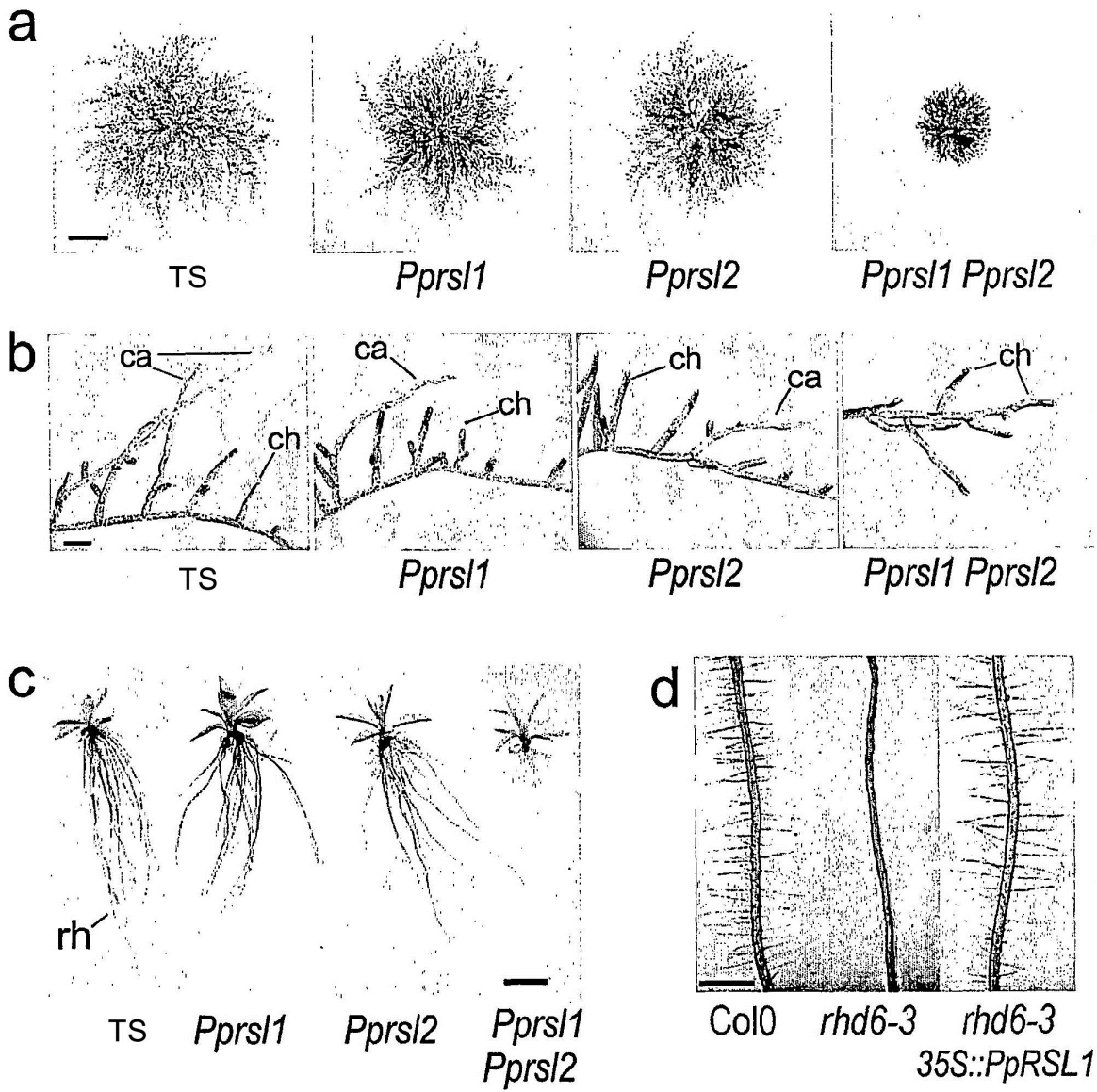
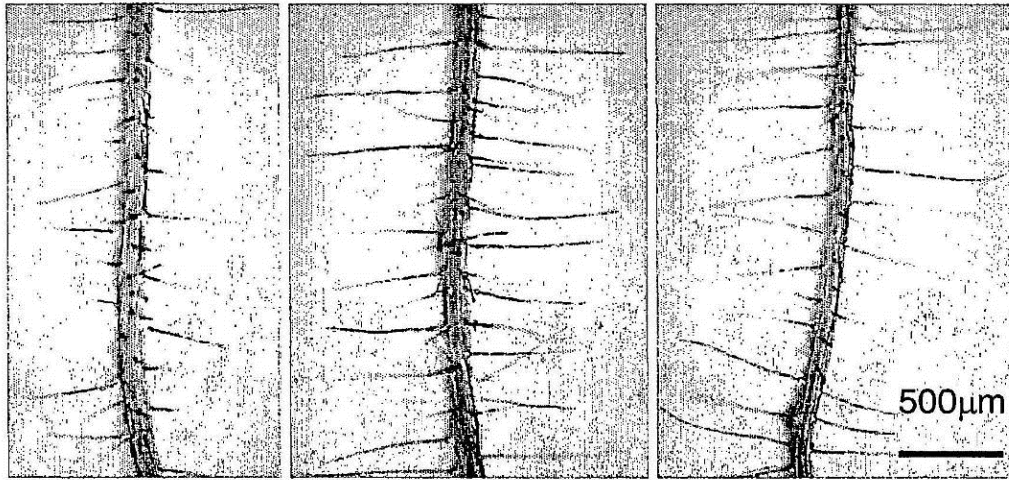
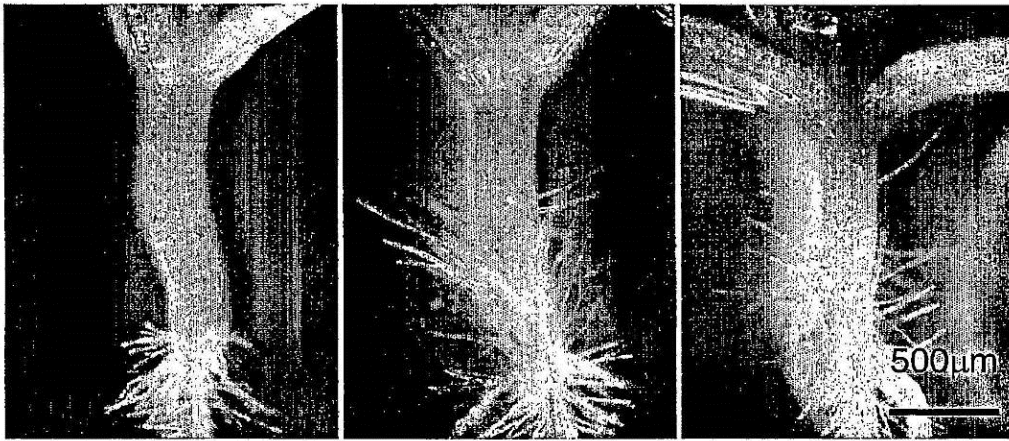


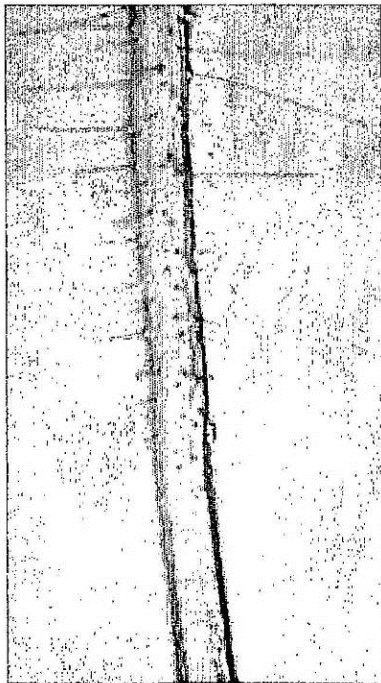
Figura 4



A

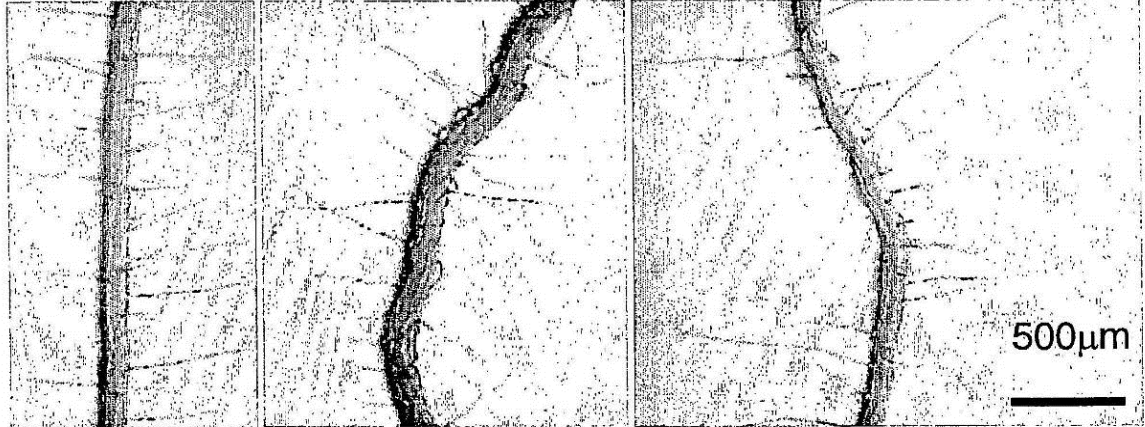


B

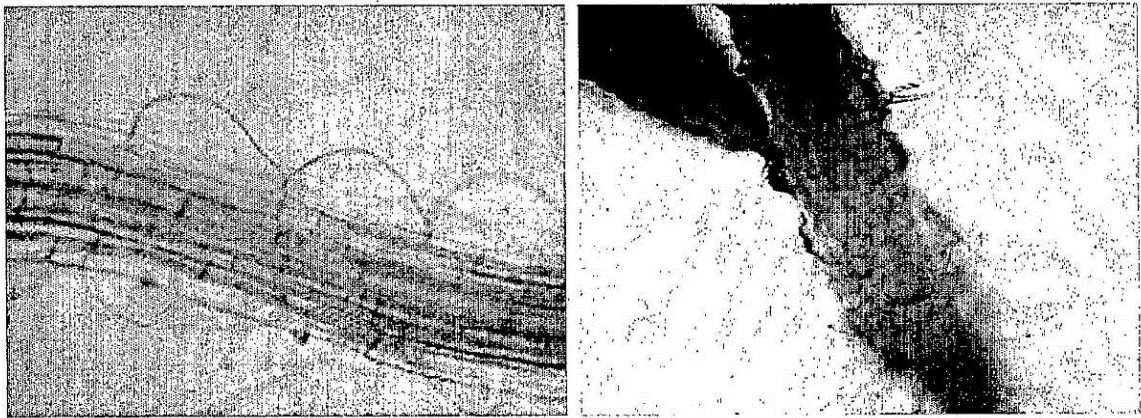


C

Figura 5



A



B

Figura 6

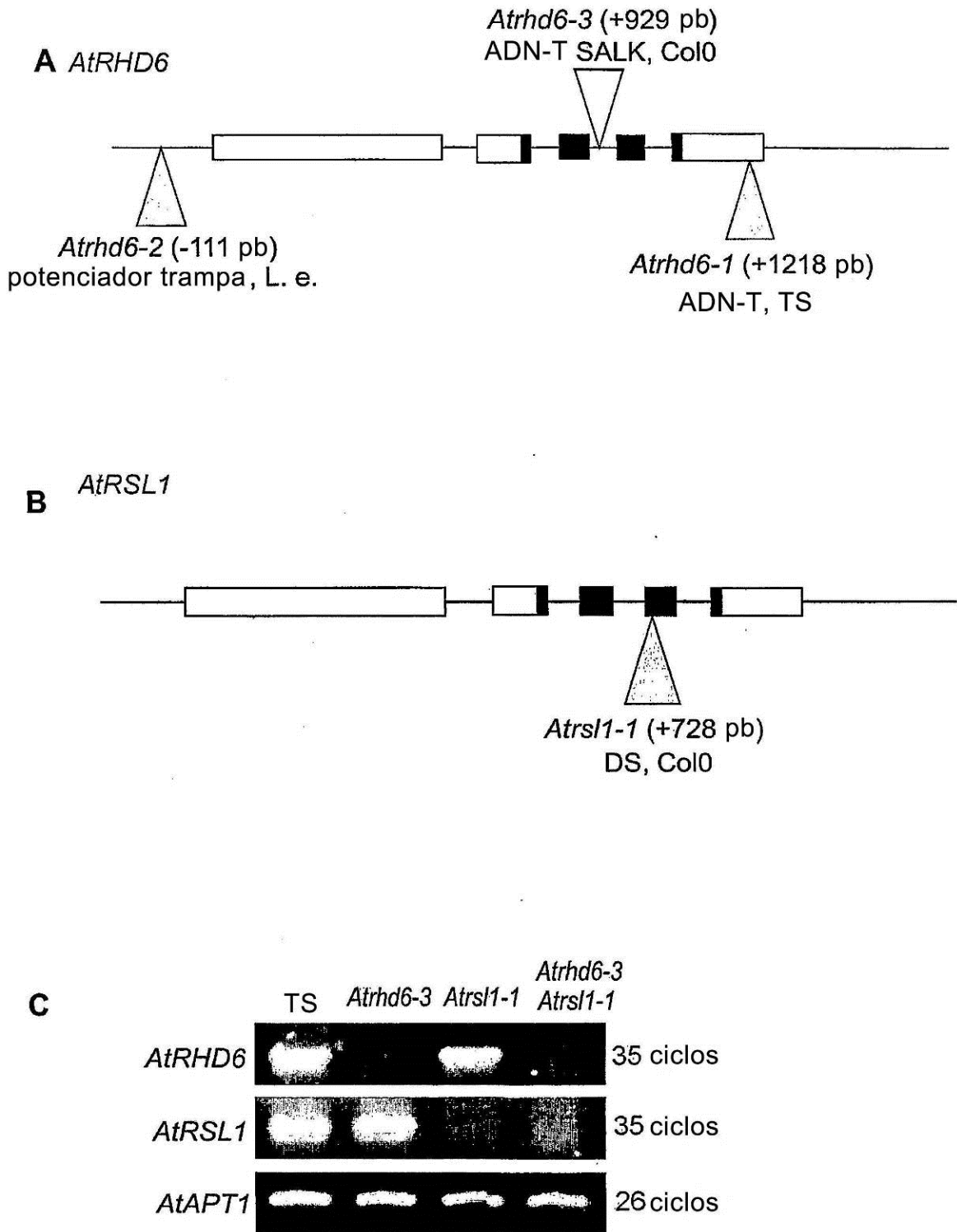


Figura 7

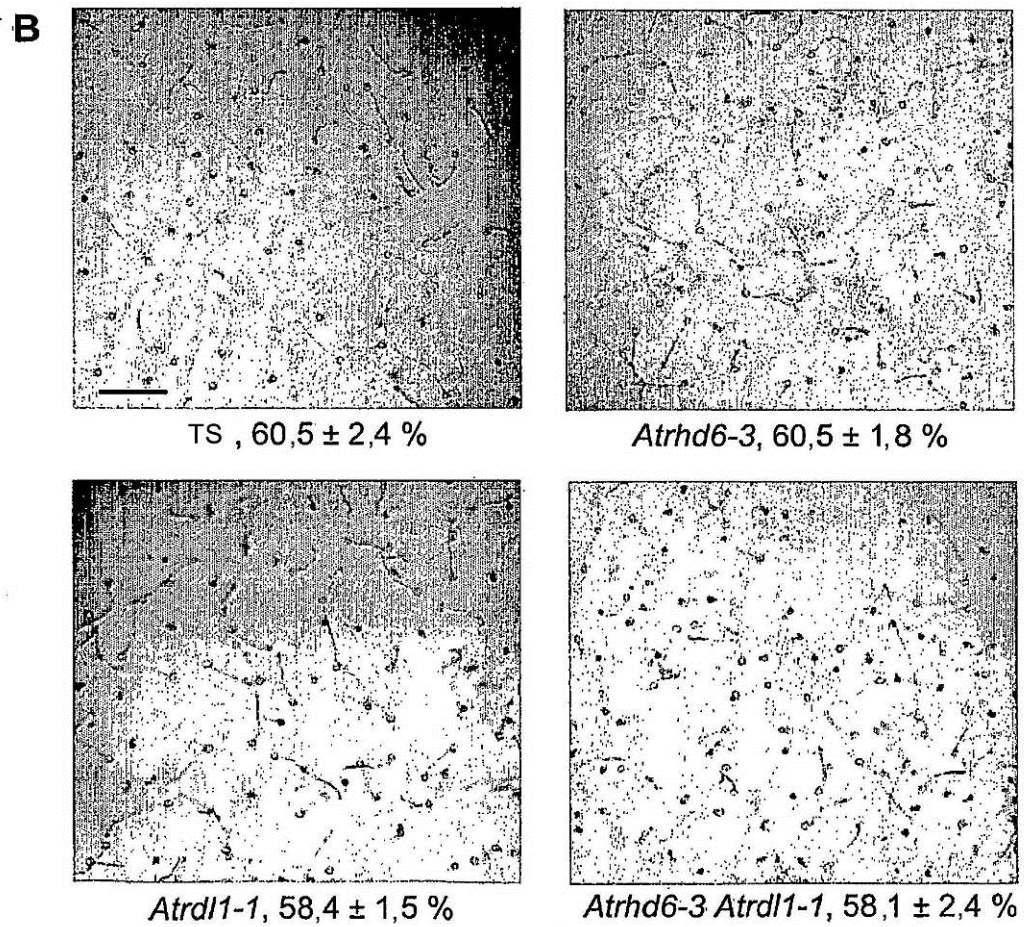
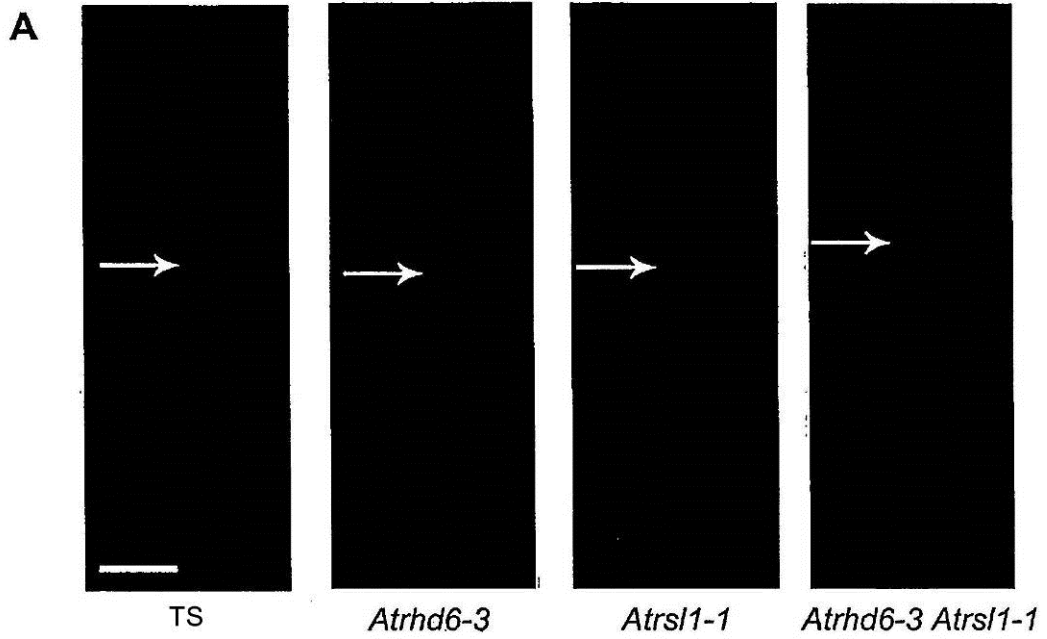


Figura 8

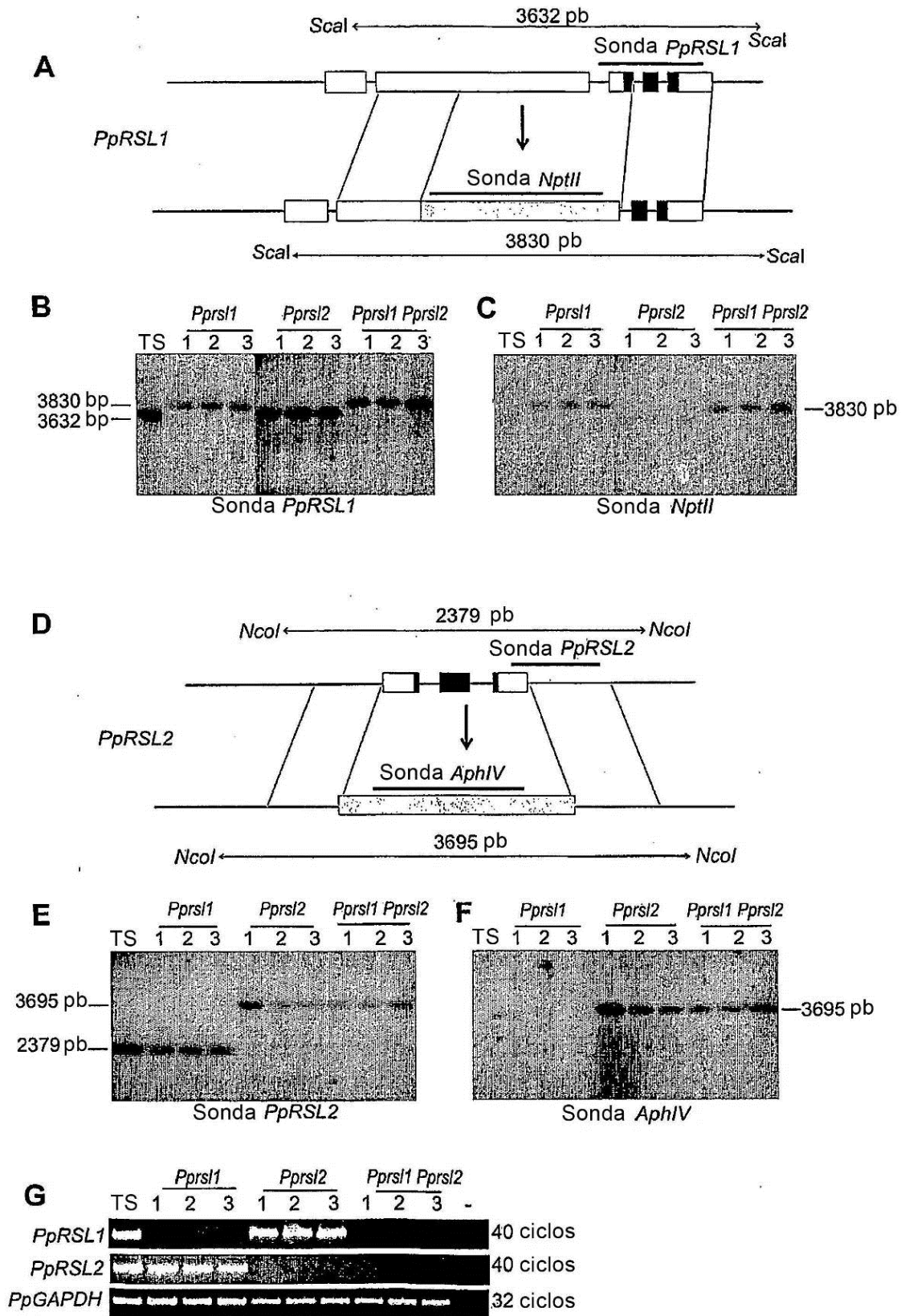


Figura 9



Figura 10