

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 768 523**

51 Int. Cl.:

**A01N 33/24** (2006.01)  
**A01N 37/44** (2006.01)  
**A01N 41/08** (2006.01)  
**C12N 15/82** (2006.01)  
**A01N 25/00** (2006.01)  
**A01C 1/06** (2006.01)  
**A01H 5/10** (2008.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.08.2014 PCT/EP2014/067333**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **19.02.2015 WO15022365**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.08.2014 E 14750736 (2)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.11.2019 EP 3032952**

54 Título: **Método para mejorar la tolerancia a la sequía en plantas**

30 Prioridad:

**13.08.2013 US 201361865549 P**  
**27.12.2013 US 201314142285**  
**10.03.2014 US 201414203261**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**23.06.2020**

73 Titular/es:

**PLANTRESPONSE BIOTECH, S.L. (50.0%)**  
**Circuelos, s/n, Edificio Centro de Empresas,**  
**Campus UPM Montegancedo**  
**28223 Pozuelo de Alarcon, Madrid, ES y**  
**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES**  
**CIENTÍFICAS (50.0%)**

72 Inventor/es:

**BORJA Y TOME, MARISÉ;**  
**BONET GIGANTE, JULIO;**  
**MOLINA FERNÁNDEZ, ANTONIO;**  
**SALINAS MUÑOZ, JULIO y**  
**CATALA RODRÍGUEZ, RAFAEL**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 768 523 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

Método para mejorar la tolerancia a la sequía en plantas

5 **Campo técnico**

La invención se refiere a métodos para mejorar rasgos en plantas u organismos fotosintéticos, incluyendo tolerancia mejorada a la sequía.

10 **Antecedentes**

15 Cuando las plantas se exponen a condiciones en las que el contenido reducido de agua en el suelo debido a la escasez de lluvias o riego lleva a una absorción de agua deficiente, lo que se podría llamar condiciones de estrés por sequía, las funciones fisiológicas de las células se pueden deteriorar y de ese modo pueden surgir diversos trastornos en la planta. Cuando se someten a tal factor de estrés, las plantas presentan una variedad de respuestas mecanicistas como medidas de protección, con un efecto adverso resultante sobre el crecimiento, desarrollo, y productividad. Comúnmente se observan pérdidas significativas en la calidad y el rendimiento.

20 Si bien se ha sabido que las fitohormonas y algunas sustancias químicas tales como reguladores del crecimiento vegetal tienen efectos sobre las plantas en la reducción del estrés por sequía tal como estrés por sequía o estrés por humedad excesiva (véase *Journal of Plant Growth Regulation* (2010) 29: 366-374), esos efectos no son necesariamente satisfactorios en la práctica. Por ejemplo, los osmolitos orgánicos son pequeños solutos utilizados por las células de numerosos organismos y tejidos sometidos a estrés por agua para mantener el volumen celular. Compuestos similares son acumulados por algunos organismos sometidos a estrés anhidrobiótico, térmico y posiblemente presión. Estos solutos son aminoácidos y derivados, polioles y azúcares, metilaminas, compuestos de metilsulfonio y urea. A excepción de la urea, a menudo se llaman "solutos compatibles", un término que indica la falta de efectos perturbadores sobre macromoléculas celulares y que implica intercambiabilidad. Sin embargo, no siempre pueden existir estas características, y el uso práctico no puede darse por hecho ya que los niveles altos pueden causar la sobreestabilización de proteínas y algunas propiedades protectoras de los osmolitos son perjudiciales en ausencia de un perturbador por compensar (Yancey, PH (2005). *J. Exp Biol* 208 (Pt 15): 2819-30). Por ejemplo, el osmolito glicinobetaina (betaína) proporciona osmoprotección en bacterias, plantas y animales, y protege los componentes celulares contra condiciones duras *in vitro*, sin embargo, la manipulación genética de la producción de betaína en tres especies diferentes que carecen de ella, *Arabidopsis*, *Brassica napus* y tabaco (*Nicotiana tabacum*), mediante la expresión constitutiva de un gen de colina oxidasa bacteriana solo confirió una tolerancia moderada al estrés en algunas pero no todas las líneas transgénicas productoras de betaína y las respuestas al estrés tal como por salinidad, sequía, y congelación fueron variables entre las tres especies. Por otra parte, se observó un costo de adecuación en las tres especies (Jun H, Hariji et al *Physiol Plant* (2000) 122: 747-56). También se ha usado betaína para producir una planta tolerante a la sequía en los documentos WO 96/41532 A1, WO 95/35022 A1 y WO 97/08951 A1 y se ha usado cloruro de colina para el mismo fin en el documento US 6 455 468 B1. El documento ES 2 347 399 A1 muestra que TMAO es útil para aumentar la resistencia al frío y el documento US 2013/130902 A1 divulga que con el fin de aumentar la biodisponibilidad de silicato, se puede formular un silicato de metal alcalino en presencia de un primer y un segundo compuesto osmolito (compuesto N-metilado) tal como TMAO, y un tercer compuesto osmolito.

45 En consecuencia, se necesitan estrategias alternativas para producir plantas tolerantes al estrés por sequía.

**Compendio de la invención**

50 Las siguientes realizaciones y aspectos de las mismas se describen e ilustran junto con los sistemas, herramientas y métodos, que están destinados a ser ejemplares e ilustrativos, no limitantes en su alcance.

En un primer aspecto, la invención se refiere a un método para producir una planta u organismo fotosintético tolerante al estrés por sequía que comprende:

55 aplicar al menos un tratamiento de una cantidad efectiva de N-óxido de trimetilamina (TMAO); N-óxido de trimetilamina dihidrato, N-óxido de N,N-dimetildecilamina (DDAO) a una planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla; en donde la cantidad eficaz de TMAO, TMAO dihidrato o DDAO es desde 0,1 a 10 g por litro para rociado o irrigación, o en donde el al menos un tratamiento es un tratamiento de semilla y la cantidad eficaz del TMAO, TMAO dihidrato o DDAO es desde 0,1 g a 1000 g por 100 kg de semilla; y cultivar dicha planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla, en donde se produce una planta u organismo fotosintético tolerante a la sequía.

65 Varias realizaciones se exponen en la Descripción Detallada según lo dispuesto en la presente memoria y según lo realizado en las reivindicaciones. Se debe entender, sin embargo, que este Compendio no contiene todos los aspectos y realizaciones de la presente invención, no está destinado a ser limitante o restrictivo de manera alguna, y



que la/s invención/es como se describe en el presente documento la/s entienden los expertos en la materia para abarcar mejoras y modificaciones evidentes a la misma.

5 Las ventajas adicionales de las presentes invenciones serán fácilmente evidentes a partir del siguiente debate, particularmente cuando se toma junto con los dibujos acompañantes y las listas de secuencias.

#### Breve descripción de las listas de secuencias

- 10 SEQ ID NO: 1 divulga la secuencia de ácido nucleico *At FMO GS-OX5* (NM\_101086.4) (At1g12140).  
 SEQ ID NO: 2: divulga la secuencia de aminoácidos *At FMO GS-OX5* (NM\_101086.4) (At1g12140).  
 SEQ ID NO: 3 divulga la secuencia de ácido nucleico *Br FMO GS-OX1* (FJ376070.1).  
 SEQ ID NO: 4 divulga la secuencia de aminoácidos *Br FMO GS-OX1* (FJ376070.1).  
 SEQ ID NO: 5 divulga la secuencia de ácido nucleico *Cs FMO GS-OX3* (XM\_004150596.1) (LOC101212991).  
 SEQ ID NO: 6 divulga la secuencia de aminoácidos *Cs FMO GS-OX3* (XM\_004150596.1) (LOC101212991).  
 15 SEQ ID NO: 7 divulga la secuencia de ácido nucleico *Cs FMO GS-OX3* (XM\_004150602.1) (LOC101220318).  
 SEQ ID NO: 8 divulga la secuencia de aminoácidos *Cs FMO GS-OX3* (XM\_004150602.1) (LOC101220318).  
 SEQ ID NO: 9 divulga la secuencia de ácido nucleico *Cs FMO GS-OX3* (XM\_004170413.1) (LOC101220079).  
 SEQ ID NO: 10 divulga la secuencia de aminoácidos *Cs FMO GS-OX3* (XM\_004170413.1) (LOC101220079).  
 SEQ ID NO: 11 divulga la secuencia de ácido nucleico *Cs FMO GS-OX3* (XM\_004164404.1) (LOC101227975).  
 20 SEQ ID NO: 12 divulga la secuencia de aminoácidos *Cs FMO GS-OX3* (XM\_004164404.1) (LOC101227975).  
 SEQ ID NO: 13 divulga la secuencia de ácido nucleico *Mt FMO GS-OX5* (XM\_003611223.1) (MTR\_5g012130).  
 SEQ ID NO: 14 divulga la secuencia de aminoácidos *Mt FMO GS-OX5* (XM\_003611223.1) (MTR\_5g012130).  
 SEQ ID NO: 15 divulga la secuencia de ácido nucleico *Os FMO* (NC\_008403.2).  
 SEQ ID NO: 16 divulga la secuencia de aminoácidos *Os FMO* (NP\_001065338.1).  
 25 SEQ ID NO: 17 divulga la secuencia de ácido nucleico *Vv FMO GS-OX3-3* (XM\_003631392.1) (LOC100255688).  
 SEQ ID NO: 18 divulga la secuencia de aminoácidos *Vv FMO GS-OX3-3* (XM\_003631392.1) (LOC100255688).  
 SEQ ID NO: 19 divulga la secuencia de ácido nucleico *Vv FMO GS-OX3-2* (XM\_003631391.1) (LOC100255688).  
 SEQ ID NO: 20 divulga la secuencia de aminoácidos *Vv FMO GS-OX3-2* (XM\_003631391.1) (LOC100255688).  
 SEQ ID NO: 21 divulga la secuencia de ácido nucleico *Vv FMO GS-OX3-2* (XM\_003635084.1) (LOC100242032).  
 30 SEQ ID NO: 22 divulga la secuencia de aminoácidos *Vv FMO GS-OX3-2* (XM\_003635084.1) (LOC100242032).  
 SEQ ID NO: 23 divulga la secuencia de ácido nucleico *Gh FMO-1* (DQ122185.1).  
 SEQ ID NO: 24 divulga la secuencia de aminoácidos *Gh FMO-1* (DQ122185.1).  
 SEQ ID NO: 25 divulga la secuencia de ácido nucleico *Zm FMO* (NM\_001157345.1).  
 SEQ ID NO: 26 divulga la secuencia de aminoácidos *Zm FMO* (NP\_001150817.1).  
 35 SEQ ID NO: 27 divulga la secuencia de ácido nucleico *Pt FMO GS-OX* (XM\_002329873.1).  
 SEQ ID NO: 28 divulga la secuencia de aminoácidos *Pt FMO GS-OX* (XM\_002329873.1).  
 SEQ ID NO: 29 divulga la secuencia de ácido nucleico *Pt FMO GS-OX* (XM\_002318967.1).  
 SEQ ID NO: 30 divulga la secuencia de aminoácidos *Pt FMO GS-OX* (XM\_002318967.1).  
 SEQ ID NO: 31 divulga la secuencia de ácido nucleico *Pt FMO GS-OX* (XM\_002329874.1).  
 40 SEQ ID NO: 32 divulga la secuencia de aminoácidos *Pt FMO GS-OX* (XM\_002329874.1).  
 SEQ ID NO: 33 divulga la secuencia de ácido nucleico *Gm FMO* (NM\_003538657.1).  
 SEQ ID NO: 34 divulga la secuencia de aminoácidos *Gm FMO* (XP\_003538705.1).  
 SEQ ID NO: 35 divulga la secuencia de ácido nucleico *Sl FMO GS-OX* (XM\_004241959.1) (LEFL1075CA11).  
 SEQ ID NO: 36 divulga la secuencia de aminoácidos *Sl FMO GS-OX* (XP\_004242007.1) (LEFL1075CA11).  
 45 SEQ ID NO: 37 divulga la secuencia de ácido nucleico *Sl FMO GS-OX* (SGN-U584070) (Solyc06g060610).  
 SEQ ID NO: 38 divulga la secuencia de aminoácidos *Sl FMO GS-OX* (SGN-U584070) (Solyc06g060610).  
 SEQ ID NO: 39 divulga la secuencia de ácido nucleico *Hs FMO-3* (NC\_000001.10 (171,060,018..171,086,961)).  
 SEQ ID NO: 40 divulga la secuencia de aminoácidos *Hs FMO-3* (NP\_001002294.1).  
 SEQ ID NO: 41 divulga la secuencia de ácido nucleico *Oc FMO-3* (NC\_013681.1).  
 50 SEQ ID NO: 42 divulga la secuencia de aminoácidos *Oc FMO-3* (NP\_001075714.1).  
 SEQ ID NO: 43 divulga la secuencia consenso de la SEQ ID No. de polipéptidos de 2 a 38.  
 SEQ ID NO: 44 divulga la 5'UTR en combinación con la secuencia de ADN de *AtFMO GS*.

#### Breve descripción de las figuras

55 Las figuras acompañantes, ilustran algunas, pero no las únicas o exclusivas realizaciones, y/o características de ejemplo. Se pretende que las figuras y realizaciones divulgadas en este documento se consideren ilustrativas en vez de limitantes.

60 La Figura 1 muestra desde la izquierda, plantas de tomate regadas con agua y a la derecha, plantas regadas con TMAO dihidrato 5,5 g/l después de la recuperación de la sequía.

65 La Figura 2 muestra un árbol filogenético basado en las similitudes de proteínas utilizando el algoritmo de alineamiento libre, llamado CLUSS, para agrupar familias de proteínas de las secuencias de polipéptido de FMO de *Arabidopsis thaliana*, vid, *Populus trichocarpa*, arroz, soja, melón, tomate, sorgo, maíz, trigo, cebada, conejo y ser humano.

La Figura 3 muestra, desde la parte inferior, plantas de *Arabidopsis thaliana* Col-0 (etiquetadas Col-0) de tipo salvaje, en el medio (etiquetas FOM X3), plantas transgénicas de *Arabidopsis thaliana* que sobreexpresan tres copias de la secuencia At FMO GS-OX5 y en el panel superior plantas transgénicas de *Arabidopsis thaliana* (etiquetadas FOM X8) que sobreexpresan ocho copias de la secuencia At FMO GS-OX5 después de la recuperación de la sequía.

La Figura 4a es un mapa de una construcción de ADN que puede utilizarse para obtener plantas de *Arabidopsis thaliana* para la sobreexpresión constitutiva de la secuencia At FMO GS-OX5, que incluye (de 5' a 3'), un promotor (PRONOS), un marcador seleccionable (NPTII), un promotor constitutivo (35S) y una secuencia que codifica la proteína FMO (RCI5) integrada de forma estable en un vector pROK2.

La Figura 4b es un segundo mapa de una construcción de ADN que puede utilizarse para obtener plantas de *Arabidopsis thaliana* para la sobreexpresión constitutiva de la secuencia At FMO GS-OX5, que incluye (de 5' a 3'), un promotor (PRONOS), un marcador seleccionable (NPTII), un promotor inducible por estrés (PRORD29A) y una secuencia que codifica la proteína FMO (RCI5) integrada de forma estable en un vector pROK2.

La Figura 5a es un mapa de una construcción de ADN que puede utilizarse para obtener plantas de *Zea mays* para la sobreexpresión constitutiva de la secuencia que codifica la proteína Zm FMO que incluye (de 5' a 3'), promotor constitutivo (Ubiquitina), una secuencia que codifica la proteína FMO (Zm FMO), un segundo promotor (35S) y un marcador seleccionable (higromicina) integrada de forma estable en un vector pCAMBIA 1300.

La Figura 5b es un mapa de una construcción de ADN que puede utilizarse para obtener plantas de *Solanum lycopersicum* para la sobreexpresión de la secuencia que codifica la proteína SI FMO GS-OX1, que incluye (de 5' a 3'), un promotor inducible por estrés (PRORD29A), una secuencia que codifica la proteína FMO (SI FMO GS-OX1), un segundo promotor (35S) y un marcador seleccionable (higromicina) integrada de forma estable en un vector pCAMBIA 1300.

#### Descripción detallada de la invención

La presente divulgación incluye métodos para producir plantas u organismos fotosintéticos tolerantes al estrés por sequía, incluyendo tolerancias a, pero sin limitarse a sequía, humedad excesiva, así como uso eficiente de agua donde se producen rendimientos normales con menos aporte de agua. Estos métodos incluyen la aplicación de compuestos orgánicos, tal como N-óxido de trimetilamina ("TMAO") o un análogo de TMAO, un derivado de TMAO, o TMAO dihidrato a plantas o semillas para producir una planta tolerante al estrés por sequía. La presente divulgación también incluye plantas u organismos fotosintéticos tolerantes al estrés por sequía, incluyendo tolerancias a, pero sin limitarse a sequía y humedad excesiva. Estas plantas y organismos fotosintéticos tolerantes al estrés por sequía pueden producirse a través de la aplicación de compuestos orgánicos, tal como N-óxido de trimetilamina ("TMAO") o un análogo de TMAO, un derivado de TMAO, o TMAO dihidrato para inducir la tolerancia al estrés por sequía, permitiendo la producción de plantas y organismos fotosintéticos con más biomasa, fruta o semilla en comparación con plantas y organismos fotosintéticos que no han sido tratados con compuestos orgánicos para producir tolerancia al estrés por sequía.

De ese modo, en un primer aspecto, la invención se refiere a un método para producir una planta u organismo fotosintético tolerante a la sequía (primer método) que comprende:

aplicar al menos un tratamiento de una cantidad efectiva de trimetilamina N- (TMAO), N-óxido de trimetilamina dihidrato, o N-óxido de N,N-dimetildecilamina (DDAO) a una planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla, en donde la cantidad eficaz del TMAO, TMAO dihidrato o DDAO es desde 0,1 a 10 g por litro para rociado o irrigación, o en donde el al menos un tratamiento es un tratamiento de semillas y la cantidad eficaz del TMAO, TMAO dihidrato o DDAO es desde 0,1 g a 1000 g por 100 kg de semilla; y

cultivar dicha planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla, en donde se produce una planta u organismo fotosintético tolerante al estrés por sequía

Como se utiliza en la presente memoria el término "estrés por sequía" se usa indistintamente con estrés hídrico. El término "estrés por sequía" como se utiliza en la presente memoria puede ser inducido en plantas en condiciones en que un contenido de agua reducido en el suelo, debido a la escasez de lluvia o de riego, lleva al deterioro o disminución de la absorción de agua por la planta u organismo fotosintético. El estrés hídrico puede desencadenar en las plantas un deterioro de las funciones fisiológicas de las células, lo que conduce a diversos trastornos. Si bien las condiciones que inducen estrés por sequía pueden variar dependiendo del tipo de suelo donde se cultivan las plantas, los ejemplos de las condiciones incluyen pero no se limitan a: una reducción en el contenido de agua en el suelo del 15% en peso o menos, más severamente el 10% en peso o menos, y aún más severamente el 7,5% en peso o menos; o el valor pF del suelo de 2,3 o más, más severamente 2,7 o más, y aún más severamente 3,0 o más.

- 5 Como se presentó anteriormente, se divulga uno o más métodos para producir plantas u organismos fotosintéticos tolerantes al estrés hídrico, incluyendo pero sin limitarse a la tolerancia a la sequía o exceso de humedad, en las plantas en donde una aplicación de N-óxido de trimetilamina o "TMAO", en donde TMAO incluye pero no se limita a, TMAO dihidrato, derivado químico de TMAO, o un análogo químico de TMAO, a una planta o semilla para reducir el estrés hídrico en la planta cuando la planta se expone a condiciones de estrés hídrico. Además, las metilaminas (por ejemplo, N-óxido de trimetilamina (TMAO)) pueden aumentar el plegamiento de la proteína y la unión al ligando y contrarrestar las perturbaciones por urea (por ejemplo, en elasmobranquios y riñón de mamífero), iones inorgánicos, y presión hidrostática en animales del mar profundo (Yancey, 2005, citado *supra*).
- 10 Según la invención, el derivado químico de TMAO es N-óxido de N,N-dimetildecilamina (DDAO). Se divulga que el análogo químico de TMAO es un compuesto N-metilado. En una divulgación, el compuesto N-metilado se selecciona del grupo que consiste en carnitina, sarcosina, ácido N-metil aspártico, N-metil taurina.
- 15 El uno o más métodos para producir una planta u organismo fotosintético tolerante a estrés hídrico es aplicable a una variedad de plantas incluyendo plantas monocotiledóneas o dicotiledóneas, incluyendo sin limitarse a plantas transgénicas. Como se utiliza en la presente memoria, las plantas transgénicas incluyen plantas, u organismo fotosintético, que han sido modificados genéticamente para contener construcciones de ADN como se debatirá adicionalmente en la presente memoria. Los métodos para producir una planta o un organismo tolerante al estrés hídrico pueden ser aplicables a la planta entera u organismo o una parte de una planta, por ejemplo, en un órgano, tejido, una célula o una parte de una célula vegetal, por ejemplo, en un orgánulo, que comprende introducir en, y expresar en, la planta o célula de planta un ácido nucleico que codifica una monooxigenasa o proteína FMO, y que media un aumento en la producción de TMAO endógeno y, por tanto, la tolerancia al estrés hídrico, tal como un aumento de la tolerancia a la sequía o un aumento de la tolerancia a la humedad excesiva.
- 20 Una o más realizaciones que se describen en la presente memoria pueden proporcionar además métodos para producir una planta u organismo fotosintético tolerante al estrés hídrico que comprende aplicar una cantidad suficiente efectiva de TMAO, TMAO dihidrato o DDAO a una planta u organismo que ha sido expuesto a o que se va a exponer a condiciones de estrés hídrico.
- 25 De ese modo, en una realización preferida, el primer método para producir una planta u organismo fotosintético tolerante a la sequía además comprende aplicar al menos un segundo tratamiento de una cantidad efectiva de TMAO, TMAO dihidrato, o DDAO a dicha planta u organismo fotosintético tolerante a la sequía, previamente tratado con TMAO, TMAO dihidrato o DDAO.
- 30 Este método además puede incluir una aplicación de tratamiento de semilla, un tratamiento de pulverización o un tratamiento de riego del TMAO, TMAO dihidrato o DDAO. En una realización preferida, el al menos un tratamiento de una cantidad efectiva de TMAO, TMAO dihidrato o DDAO es un tratamiento de semilla. Se divulga que una cantidad efectiva de tratamiento de semilla con TMAO puede incluir un tratamiento de semilla de TMAO en una cantidad de 0,1 a 1000 g por 100 kg de semillas, de 0,1 a 1000 g por 100 kg de semillas, o de 0,1 a 100 g por 100 kg de semillas, de 0,1 a 10 g por 100 kg de semillas o de 0,1 g a 5 g por 100 kg de semillas. En el método de la invención en donde el al menos un tratamiento es un tratamiento de semilla, la cantidad eficaz de TMAO, TMAO dihidrato o DDAO es desde 0,1 g a 1000 g por 100 kg de semilla.
- 35 En una divulgación más preferida, dicha cantidad efectiva de TMAO en un tratamiento de semilla está entre 0,1 g a 1000 g por kg de semilla. En otra divulgación preferente, dicha cantidad efectiva de TMAO en un tratamiento de semilla está entre 1 g a 100 g por kg de semilla. En otra divulgación preferente, dicha cantidad efectiva de TMAO en un tratamiento de semilla está entre 1 g a 100 g por kg de semilla, entre 0,1 a 10 g por kg de semillas o 0,1 g a 5 g por kg de semillas
- 40 En otra divulgación preferente, el al menos un tratamiento de dicha cantidad efectiva de TMAO es un tratamiento de riego o un tratamiento de pulverización. En una divulgación preferente, la cantidad efectiva de dicho TMAO está entre 0,01 a 10000 g por litro para dicho tratamiento de riego o tratamiento de pulverización. Según la invención, la cantidad efectiva de dicho TMAO, TMAO dihidrato o DDAO es de 0,1 a 10 g por litro para dicho tratamiento de riego o tratamiento de pulverización. En otra realización, la cantidad efectiva es de 0,1 a 5 g por litro para dicho tratamiento de riego.
- 45 En otra divulgación, el al menos un tratamiento de dicha cantidad efectiva de TMAO en los métodos divulgados en el presente documento comprende dos o más compuestos diferentes seleccionados del grupo que consiste en TMAO, TMAO dihidrato, un derivado químico de TMAO, tal como N-óxido de N,N-dimetildecilamina (DDAO), o un análogo químico de TMAO, tal como un compuesto N-metilado tal como carnitina, sarcosina, ácido N-metil aspártico, N-metil taurina del mismo. Según la invención, el al menos un tratamiento de dicha cantidad eficaz de TMAO, TMAO dihidrato o DDAO comprende dos o más compuestos diferentes seleccionados del grupo que consiste en TMAO, TMAO dihidrato y DDAO.
- 50 El uso de TMAO, TMAO dihidrato, un derivado o análogo químico de TMAO y sales aceptables para uso agrícola, en donde las sales aceptables para uso agrícola pueden incluir, pero no se limitan a, una mezcla de fosfato de amonio,
- 55

nitrito de amonio, nitrito de potasio, y nitrito de calcio en una proporción de 2-2-1-1 para reducir el estrés hídrico en una planta.

En otra realización, dicha planta u organismo fotosintético tolerante al estrés hídrico tiene una producción de biomasa, semilla o fruta que es el 6%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, incluyendo o más que la producción de biomasa, semilla o fruta de las plantas u organismos fotosintéticos con estrés hídrico donde una cantidad efectiva de TMAO no se ha aplicado a la planta u organismo fotosintético no tolerante con estrés hídrico. En realizaciones preferentes, la producción de biomasa, semilla o fruta está entre el 6% y el 30% o más, entre el 31% y el 50% o más, entre el 51% y el 70% o más, entre el 71% y el 100% o más que la producción de biomasa, fruta o semilla de plantas u organismos fotosintéticos con estrés hídrico donde una cantidad efectiva de TMAO no se ha aplicado a la planta u organismo fotosintético no tolerante. La descripción de un intervalo debe considerarse que ha divulgado específicamente todos los subintervalos posibles, así como los valores numéricos individuales dentro del intervalo.

La producción de biomasa, fruta o semilla puede medirse mediante cualquier método conocido en la técnica.

El estrés hídrico en plantas producido utilizando los métodos de la invención puede reconocerse o identificarse comparando un cambio en los fenotipos de la planta que se describen en más detalle posteriormente entre plantas que han estado expuestas a condiciones de estrés hídrico y las plantas que no han sido expuestas a las mismas condiciones de estrés hídrico. El estrés hídrico en una planta u organismo fotosintético puede estar indicado por un cambio en uno o más de los siguientes fenotipos de plantas, que pueden servir como indicadores del estrés hídrico en las plantas: (1) porcentaje de germinación, (2) tasa de establecimiento de plántulas, (3) número de hojas saludables, (4) longitud de la planta, (5) peso de la planta, (6) área foliar, (7) color de la hoja, (8) número o peso de semillas o frutas, (9) calidad de las cosechas, (10) tasa de formación de flores o tasa de formación de frutas, (11) rendimiento de fluorescencia de clorofila, (12) contenido de agua, (13) temperatura de la superficie de la hoja, y (14) capacidad de transpiración.

El estrés hídrico puede cuantificarse como "intensidad de estrés" donde la intensidad de estrés está representada de la siguiente manera: "Intensidad de estrés" =  $100 \times \frac{\text{cualquiera de los fenotipos de planta en plantas que no han sido expuestas a estrés hídrico}}{\text{el fenotipo de planta en plantas que han sido expuestas a agua}}$ .

Los métodos que se describen en la presente memoria se aplican a plantas que han sido expuestas a o van a ser expuestas a condiciones de estrés hídrico cuya intensidad de estrés representada por la ecuación anterior es de 105 a 450, preferentemente de 110 a 200, y más preferentemente de 115 a 160. La descripción de un intervalo debe considerarse que ha divulgado específicamente todos los posibles subintervalos, así como valores numéricos individuales dentro de ese intervalo. En una planta expuesta a condiciones de estrés hídrico, una influencia puede constatarse en al menos uno de los fenotipos anteriores. Es decir, se observa como: (1) disminución en el porcentaje de germinación, (2) disminución de la tasa de formación de plántulas, (3) disminución en el número de hojas sanas, (4) disminución en la longitud de la planta, (5) disminución de peso de la planta, (6) disminución en la tasa de incremento del área foliar, (7) pérdida de color de la hoja, (8) disminución en el número o peso de semillas o frutas, (9) deterioro de la calidad de las cosechas, (10) disminución en la tasa de formación de flor o formación de fruta, (11) disminución en el rendimiento de fluorescencia de clorofila, (12) disminución del contenido de agua, (13) aumento de temperatura de la superficie de la hoja, o (14) disminución de la capacidad de transpiración, entre otros, y la magnitud del estrés hídrico en la planta puede medirse usando eso como indicador.

Los métodos que se describen en la presente memoria están dirigidos a métodos para reducir el estrés hídrico en una planta u organismo mediante la producción de una planta u organismo tolerante al estrés hídrico aplicando el TMAO a la planta que ha sido expuesta a o será expuesta a condiciones de estrés hídrico. El efecto de reducir el estrés hídrico de una planta puede evaluarse comparando los indicadores fenotípicos anteriores entre una planta tratada con TMAO y una planta que no ha sido tratada con TMAO después de que las plantas u organismos se expongan a condiciones de estrés hídrico. Las etapas en que las plantas u organismos tratados con TMAO pueden exponerse a las condiciones de estrés hídrico incluyen todas las etapas de crecimiento de las plantas, incluyendo un período de germinación, un período de crecimiento vegetativo, un período de crecimiento reproductivo y un período de cosecha. El período de aplicación de TMAO como se utiliza en la presente memoria puede ser cualquier etapa de crecimiento de las plantas u organismos, y los ejemplos de los mismos incluyen el período de germinación antes de la siembra, en el momento de la siembra, y después de la siembra y antes o después de la aparición; el período de crecimiento vegetativo tal como en el momento del cultivo de plántulas, en el momento del trasplante de plántula, en el momento de cortar o unir, o en el momento del cultivo después de la plantación establecida; el período de crecimiento reproductivo tal como antes de la floración, en la floración, después de la floración, inmediatamente antes de la formación de espiga o durante el período de formación de espigas; y el período de cosecha tal como antes del programa de cosecha, antes del programa de maduración, o un período de iniciación de coloración de frutas. Las plantas a las que se debe aplicar TMAO pueden ser plantas que han sido expuestas a o serán expuestas a las condiciones de estrés hídrico. Es decir, el compuesto también puede ser aplicado preventivamente a plantas antes de ser expuestas a las condiciones de estrés hídrico además de plantas que han sido expuestas a las condiciones de estrés hídrico.

En otra realización preferente, el método de la invención además comprende aplicar sales o cualquier otro aditivo a dicha planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla y cultivar dicha planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla en donde se produce una planta u organismo fotosintético tolerante a la sequía.

5 El TMAO utilizado en los métodos que se describen en la presente memoria puede utilizarse solo, o en combinación con varios ingredientes inertes tal como vehículos sólidos, vehículos líquidos, y tensioactivos como se describe en adelante.

10 Los ejemplos de un vehículo sólido utilizado en la formulación con TMAO puede incluir polvos, polvos finos o gránulos tal como minerales tal como arcilla caolín, arcilla de atapulgita, bentonita, montmorillonita, arcilla ácida blanca, pirofilita, tale, tierra de diatomeas y calcita; materiales orgánicos naturales tal como polvo de maíz raquis y polvo de cáscara de nuez; materiales orgánicos sintéticos tal como urea; sales tal como carbonato de calcio y sulfato de amonio; y materiales inorgánicos sintéticos tal como óxido de silicio hidratado sintético.

15 Los ejemplos de un vehículo líquido pueden incluir hidrocarburos aromáticos tal como xileno, alquilbenceno y metilnaftaleno; alcoholes tal como 2-5 propanol, etilenglicol, propilenglicol, y éter monoetílico de etilenglicol; cetonas tal como acetona, ciclohexanona y isoforona; aceite vegetal tal como aceite de soja y aceite de semilla de algodón; e hidrocarburos alifáticos de petróleo, ésteres, dimetilsulfóxido, acetonitrilo y agua.

20 Ejemplos de tensioactivos incluyen tensioactivos aniónicos tal como sales de éster de sulfonato de alquilo, sales de sulfonato de alquilarilo, sales de sulfosuccinato de dialquilo, sales de éster fosfato de polioxietileno alquil aril éter, sales de lignosulfonatos y policondensados de formaldehído sulfonato de naftaleno; y tensioactivos no iónicos tal como polioxietileno alquil aril éteres, copolímeros en bloque de polioxietileno alquilpolioxipropileno y ésteres de ácidos grasos de sorbitano; y tensioactivos catiónicos tal como sales de alquiltrimetilamonio.

25 Los ejemplos de otros agentes auxiliares de formulación incluyen polímeros solubles en agua tal como alcohol polivinílico y polivinilpirrolidona, polisacáridos tal como goma arábica, ácido algínico y la sal del mismo, CMC (carboximetilcelulosa), goma xantana, materiales inorgánicos tal como silicato de magnesio aluminio y sol de alúmina, conservantes, agentes colorantes, y agentes de estabilización tal como PAP (fosfato ácido de isopropilo) e hidroxitolueno butilado (BHT).

30 Los métodos para la producción de una planta u organismo fotosintético tolerante a estrés hídrico como se describen en la presente memoria pueden llevarse a cabo aplicando una cantidad efectiva del TMAO a plantas o sitios de crecimiento de plantas. Como se utiliza en la presente memoria una cantidad efectiva de TMAO puede incluir un intervalo de 0,1 a 1.000 g por litro por 1-10 kg de semillas. Cuando se incorpora en el suelo completo, una cantidad efectiva de TMAO puede variar de 0,1 a 1.000 g o 1 a 500 g, por 1.000 m<sup>2</sup> de suelo. Cuando el tratamiento con TMAO se utiliza como una emulsión, un polvo humectable, un agente de fluidez, o puede utilizarse una microcápsula para el tratamiento mediante pulverización de la planta después de la dilución con agua. En este caso, la concentración del TMAO puede variar de 0,01 a 10,000 ppm, o de 1 a 5,000 ppm. Puede utilizarse una formulación en polvo y un gránulo de TMAO para el tratamiento de estrés hídrico sin dilución del TMAO. En el tratamiento de semillas o el tratamiento de bulbos, un ejemplo del peso de TMAO por 100 kg de semillas puede variar de 0,1 a 1000 g, así como de 1 a 30 g. Los ejemplos de las semillas o bulbos utilizados en los métodos que se describen en la presente memoria incluyen aquellos que tienen un peso de 100 g o menos, incluyendo 20 g o menos, 0,5 g o menos, así como 50 mg o menos. En el tratamiento de plántulas, un ejemplo del peso del TMAO por plántula puede variar de 0,01 a 20 mg, incluyendo de 0,5 a 8 mg. En el tratamiento del suelo antes o después de sembrar plántulas, el peso del TMAO por 1.000 m<sup>2</sup> puede variar de 0,1 a 1000 g, incluyendo de 10 a 100 g.

35 Se puede aplicar TMAO a una variedad de plantas en diversas formas o lugares, tal como follaje, brotes, flores, frutas, mazorcas o espigas, semillas, bulbos, tubérculos de tallo, raíces y plántulas. Como se utiliza en la presente memoria, bulbos significan tallo discoide, rizomas, tubérculos de raíces y rizóforos. En la presente especificación, TMAO puede aplicarse también a esquejes y esquejes de tallo de caña de azúcar.

40 Los siguientes son ejemplos de los sitios de crecimiento de plantas que incluyen el suelo antes o después de la siembra de las plantas. Cuando TMAO se aplica a plantas o sitios de crecimiento de plantas, TMAO se aplica a las plantas diana una vez o más. TMAO puede aplicarse como tratamiento al follaje, órganos florales o mazorcas o espigas de plantas, tal como pulverización del follaje; tratamiento de semillas, tal como esterilización de semilla, recubrimiento de semilla o inmersión de semilla; tratamiento de plántulas; tratamiento de bulbos; y tratamiento de las tierras de cultivo de plantas, tal como tratamiento del suelo. TMAO puede aplicarse sólo a sitios específicos de plantas, tal como órgano floral en la temporada de floración incluyendo antes de la floración, durante la floración y después de la floración, y la mazorca o espiga en la temporada de formación de espigas, o puede aplicarse a las plantas enteras.

45 TMAO puede aplicarse como un tratamiento del suelo en forma de una pulverización sobre el suelo, incorporación en el suelo, y perfusión de un líquido químico en el suelo (riego de líquido químico, inyección en el suelo, y goteo de líquido químico). La colocación de TMAO durante el tratamiento del suelo incluye, pero no se limita a un hoyo de plantación, surco, alrededor de un hoyo de plantación, alrededor de un surco, toda la superficie de tierras de cultivo,

las partes entre el suelo y la planta, área entre raíces, área debajo del tronco, surco principal, caja de cultivo, bandeja de cultivo de plántula y lecho de semilla, cultivo de plántula. El tratamiento del suelo con TMAO puede ser antes de la siembra, en el momento de la siembra, inmediatamente después de la siembra, período de cultivo, antes de la plantación establecida, en el momento de la plantación establecida y período de crecimiento después de la plantación establecida.

Cuando se aplica TMAO como un tratamiento de suelo, dos o más clases de TMAO pueden aplicarse simultáneamente a la planta, por ejemplo, TMAO y TMAO dihidrato, o TMAO dihidrato y un óxido de aril amina, o puede aplicarse un fertilizante sólido tal como un fertilizante en pasta que contiene TMAO al suelo. TMAO puede mezclarse en un líquido de riego, y, los ejemplos del mismo incluyen inyectar a las instalaciones de riego (tubo de riego, tubería de riego, aspersión, etc.), mezclar en el líquido de inundación entre los surcos, mezclar en un medio hidropónico y similares.

Alternativamente, un líquido de riego se puede mezclar con TMAO de antemano y, por ejemplo, ser utilizado para el tratamiento mediante un método de riego apropiado incluyendo el método de riego mencionado anteriormente y los otros métodos tal como aspersión e inundación. TMAO también se puede aplicar enrollando un cultivo con una formulación de resina procesada generando una hoja o cordón, poniendo un cordón de la formulación de resina alrededor de un cultivo de modo que el cultivo esté rodeado por el cordón, y/o colocando una hoja de la formulación de resina en la superficie del suelo cerca de la raíz de un cultivo.

En otra realización, TMAO puede utilizarse para el tratamiento de semillas o bulbos, así como un tratamiento de pulverización de semillas con TMAO en el que se atomiza una suspensión de TMAO se atomiza y pulveriza sobre una superficie de semilla o superficie de bulbo. Un tratamiento de extensión también puede ser utilizado en donde un polvo humectable, una emulsión o un agente fluido de TMAO se aplica a semillas o bulbos con una pequeña cantidad de agua añadida o aplicada como está sin dilución. Además, puede utilizarse un tratamiento de inmersión en el que las semillas se sumergen en una solución de TMAO durante un cierto período de tiempo, tratamiento de recubrimiento con película, y tratamiento de recubrimiento con pellas.

TMAO puede utilizarse para el tratamiento de plántulas, incluyendo tratamiento de pulverización compuesto por pulverización de las plántulas completas con una dilución que tiene una concentración adecuada de ingredientes activos preparadas por dilución de TMAO con agua. Como con el tratamiento de semilla, también se puede usar un tratamiento de inmersión que está comprendido por la inmersión de plántulas en la dilución, tratamiento de recubrimiento para adherir TMAO formulado en una formulación en polvo a las plántulas completas.

TMAO se puede tratar al suelo antes o después de la siembra de plántulas incluyendo la pulverización de una dilución que tiene una concentración adecuada de ingredientes activos preparada diluyendo TMAO con agua y aplicando la mezcla a plántulas o el suelo alrededor de las plántulas después de la siembra de las plántulas. También puede ser utilizado un tratamiento de pulverización de TMAO formulado en una formulación sólida tal como un gránulo al suelo alrededor de las plántulas en la siembra de las plántulas.

TMAO puede utilizarse para el tratamiento de hidroponía. Los ejemplos pueden incluir disolver o suspender TMAO en un medio de cultivo convencionalmente utilizado para cultivos hidropónicos, en una concentración dentro de un intervalo de 0,0001 a 10 g/litro.

TMAO puede utilizarse en el momento del cultivo de tejidos o cultivo de células de una planta para fomentar la tolerancia al estrés hídrico. TMAO puede disolverse o suspenderse en un medio de cultivo convencionalmente utilizado para el cultivo de tejido de planta u otros organismos, tal como un medio de cultivo Murashige y Skoog ("MS"). Los ejemplos pueden incluir una concentración dentro de un intervalo de 0,0001 a 10 g/litro. En este caso, según un método habitual, se pueden añadir de manera apropiada sacáridos como una fuente de carbono, diversas fitohormonas y similares.

Se divulga que el método para producir una planta tolerante a la sequía comprende una primera etapa en donde la planta es pulverizada con una solución que contiene N-óxido de trimetilamina (TMAO), N-óxido de trimetilamina dihidrato, un derivado químico de TMAO o un análogo químico de TMAO seguido por el riego con una solución que contiene N-óxido de trimetilamina (TMAO), N-óxido de trimetilamina dihidrato, un derivado químico de TMAO o un análogo químico de TMAO. En una realización preferente, el tratamiento de pulverización inicial se lleva a cabo con una solución que contiene una cantidad efectiva de TMAO que está entre 0,01 a 10000 g por litro, más preferentemente entre 0,1 a 1000 g por litro, entre 0,1 a 100 g por litro, entre 0,1 y 10 g por litro, entre 0,1 g a 5 g por litro para dicho tratamiento de pulverización. En otra divulgación, el tratamiento de riego se lleva a cabo con una solución que contiene una cantidad efectiva de TMAO que está entre 0,01 a 10000 g por litro, más preferentemente entre 0,1 a 1000 g por litro, entre 0,1 a 100 g por litro, entre 0,1 y 10 g por litro, entre 0,1 g a 5 g por litro para dicho tratamiento de riego.

En una divulgación preferente, el método para producir una planta tolerante a la sequía comprende una primera etapa en donde la semilla es tratada con una solución que contiene N-óxido de trimetilamina (TMAO), N-óxido de trimetilamina dihidrato, un derivado químico de TMAO o un análogo químico de TMAO seguido por el riego o



5 pulverización de la planta con una solución que contiene N-óxido de trimetilamina (TMAO), N-óxido de trimetilamina dihidrato, un derivado químico de TMAO o un análogo químico de TMAO. En una divulgación preferente, el tratamiento inicial de semilla se lleva a cabo con una cantidad efectiva de TMAO que está entre 0,01 a 10000 g por kg de semilla, más preferentemente entre 0,1 a 1000 g por kg de semilla, entre 0,1 a 100 g por kg de semilla, entre 0,1 y 10 g por kg de semilla o entre 0,1 g a 5 g por kg de semilla. En otra divulgación, el tratamiento de riego se lleva a cabo con una solución que contiene una cantidad efectiva de TMAO que está entre 0,01 a 10000 g por litro, más preferentemente entre 0,1 a 1000 g por litro, entre 0,1 a 100 g por litro, entre 0,1 y 10 g por litro, entre 0,1 g a 5 g por litro para dicho tratamiento de riego.

10 Se pueden usar una variedad de bulbos o semillas en los métodos que se describen en la presente memoria incluyendo, pero sin limitarse a las plantas en las familias Solanaceae y Cucurbitaceae, así como plantas seleccionadas de los géneros de planta *Calibrachoa*, *Capsicum*, *Nicotiana*, *Nierembergia*, *Petunia*, *Solanum*, *Cucurbita*, *Cucumis*, *Citrullus*, *Glycine*, tal como *Glycine max* (soja), *Calibrachoa × hybrida*, *Capsicum annuum* (pimiento), *Nicotiana tabacum* (tabaco), *Nierembergia scoparia* (chucho), *Petunia × hybrida*, *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (papa), *Solanum melongena* (berenjena), *Cucurbita maxima* (zapallo), *Cucurbita pepo* (calabaza, zucchini), *Cucumis metuliferus* (melón africano espinudo) *Cucumis melo* (melón), *Cucumis sativus* (pepino) y *Citrullus lanatus* (sandía). Varias plantas monocotiledóneas, en particular las que pertenecen a la familia Poaceae se pueden utilizar con los métodos que se describen en la presente memoria, que incluyen, pero sin limitación, plantas seleccionadas de los géneros de planta *Hordeum*, *Avena*, *Secale*, *Triticum*, *Sorghum*, *Zea*, *Saccharum*, *Oryza*, *Hordeum vulgare* (cebada), *Triticum aestivum* (trigo), *Triticum aestivum* subsp. *spelta* (espelta), *Triticale*, *Avena sativa* (avenas), *Secale cereale* (centeno), *Sorghum bicolor* (sorgo), *Zea mays* (maíz), *Saccharum officinarum* (caña de azúcar) y *Oryza sativa* (arroz). Los ejemplos adicionales de plantas en que se puede producir estrés hídrico usando los métodos que se describen en la presente memoria incluyen los siguientes cultivos: trigo sarraceno, remolacha, canola, colza, girasol, caña de azúcar, tabaco y guisantes; hortalizas: hortalizas solanáceas tales como pimiento y patata, hortalizas cucurbitáceas; hortalizas crucíferas tales como, rábano japonés, nabo, rábano, colinabo, repollo chino, repollo, mostaza castaña, brócoli y coliflor, hortalizas asteráceas tales como, bardana, guirnalda crisantemo, alcaucil y lechuga; hortalizas liliáceas tales como, cebolleta, cebolla, ajo, espárragos, hortalizas amiáceas tales como zanahoria, perejil, apio y chirivía, hortalizas quenopodiáceas tales como espinaca, acelga, hortalizas lamiáceas tales como, *Perilla frutescens*, menta, albahaca; fresa, boniato, *Dioscorea japonica*, colocasia; flores; plantas de follaje; pastos; frutas: frutos de pepita (manzana, pera, pera japonesa, membrillo chino y membrillo, etc.), frutos de hueso, (melocotón, ciruela, nectarina, *Prunus mume*, cerezas, albaricoque y ciruelas, etc), frutos cítricos (*Citrus unshiu*, naranja, mandarina, limón, lima, pomelo, etc.), frutos secos (castañas, nueces, avellanas, almendras, pistachos, anacardos, nueces de macadamia, etc), bayas (zarzamoras, arándanos, moras, frambuesas, etc), uva, caqui, aceituna, nispero, plátano, café, palmera datilera, cocos, etc.; y árboles diferentes de los árboles frutales; té, morera, plantas de flores, arbolado de las carreteras (fresno, abedul, cerezo silvestre, eucalipto, *Ginkgo biloba*, lila, arce, *Quercus*, álamo, árbol de Judas, *Liquidambar formosana*, plátano de sombra, zelkova, tuya del Japón, abeto, cicutá, enebro, *Pinus*, *Picea*, y *Taxus cuspidata*). Los ejemplos de plantas en las que se puede producir tolerancia al estrés hídrico pueden incluir arroz, maíz, canola, soja y trigo.

40 Las "plantas" mencionadas anteriormente incluyen plantas transgénicas, que expresan otros rasgos de genes.

Como se utiliza en la presente memoria, "plantas" significa todas las plantas dicotiledóneas o monocotiledóneas, incluyendo, pero no se limita a plantas dicotiledónea o monocotiledónea anuales y perennes a modo de ejemplo, pero sin limitación, a los del género *Glycine*, *Vitis*, *Asparagus*, *Populus*, *Pennisetum*, *Lolium*, *Oryza*, *Zea*, *Avena*, *Hordeum*, *Secale*, *Triticum*, *Sorghum*, *Saccharum* y *Lycopersicum*. El término planta también puede incluir, pero sin limitación la clase de Liliatae (Monocotyledoneae o plantas monocotiledóneas). El término incluye plantas maduras, semillas, brotes y plántulas, y partes, material de propagación, órganos de planta, tejido, protoplastos, callos y otros cultivos, por ejemplo, cultivos celulares derivados de los anteriores y todos los otros tipos de asociaciones de células de planta que proporcionan unidades funcionales o estructurales. "Plantas maduras" significa todas las plantas en cualquier estado de desarrollo más allá del estadio de plántula. Plántula significa una planta inmadura joven en un estadio de desarrollo temprano.

Las plantas dicotiledóneas incluyen, pero sin limitación plantas maduras, semillas, brotes y plántulas, y partes, material de propagación, órganos de planta, tejido, protoplastos, callos y otros cultivos, por ejemplo, cultivos celulares derivados de los anteriores y todos los otros tipos de asociaciones de células de planta que proporcionan unidades funcionales o estructurales. Plantas maduras significa plantas en el estadio desarrollo más allá del estadio de plántula. Plántula significa una planta inmadura joven en un estadio de desarrollo temprano.

60 Como se utiliza en la presente memoria "organismos fotosintéticos" puede incluir, pero no se limita a organismos tal como *Arthrospira* spp., *Spirulina* spp., *Synechococcus elongatus*, *Synechococcus* spp., *Synechosystis* spp., *Synechosystis* spp., y *Spirulina plantensis*, *Calothrix* spp., *Anabaena flos-aquae*, *Aphanizomenon* spp., *Anabaena* spp., *Gleotrichia* spp., *Oscillatoria* spp. y *Nostoc* spp.; algas unicelulares eucariotas tal como pero sin limitarse a *Chaetoceros* spp., *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlamydomonas* spp., *Chlorella vulgaris*, *Chlorella* spp., *Cyclotella* spp., *Didymosphenia* spp., *Dunaliella tertiolecta*, *Dunaliella* spp., *Botryococcus braunii*, *Botryococcus* spp., *Gelidium* spp., *Gracilaria* spp., *Hantzschia* spp., *Hematococcus* spp., *Isochrysis* spp., *Laminaria* spp., *Nannochloropsis* spp., *Navicula* spp., *Nereocystis luetkeana*, *Pleurochrysis* spp., *Postelsia palmaeformis*, y *Sargassum* spp.

5 En otra divulgación, se proporcionan uno o más métodos para la producción de un producto que se describe en la presente memoria puede comprender: a) cultivar las plantas que se describen en la presente memoria u obtenible por los métodos que se describen en la presente memoria y b) producir el producto a partir de o por las plantas de la divulgación y/o partes, por ejemplo, semillas, de estas plantas.

10 También se divulga una semilla de planta tratada con una cantidad efectiva de N-óxido de trimetilamina (TMAO), N-óxido de trimetilamina dihidrato, un derivado químico de TMAO, un derivado químico de TMAO, tal como N-óxido de N,N-dimetildecilamina (DDAO), o un análogo químico de TMAO, tal como un compuesto N-metilado tal como carnitina, sarcosina, ácido N-metil aspártico, N-metil taurina del mismo.

15 En una divulgación preferente la semilla de planta es tratada con una cantidad efectiva de dicho TMAO entre 0,1 a 1.000 g por kg de semillas, preferentemente entre 0,1 a 100 g por kg de semillas, más preferentemente de 0,1 a 10 g por kg de semillas y aún más preferentemente de 0,1 a 5 g por kg de semillas.

La descripción de un intervalo debe considerarse que ha específicamente divulgado todos los subintervalos posibles, así como los valores numéricos individuales dentro de ese intervalo.

20 En otra realización el método puede comprender las etapas a) cultivar las plantas de la invención, b) retirar las partes cosechables como se define anteriormente de las plantas y c) producir el producto a partir de o por las partes de la planta u organismo.

También se divulga una planta tolerante al estrés hídrico producida haciendo crecer la semilla de planta divulgada en el presente documento.

25 Las plantas u organismos tolerantes al estrés hídrico se pueden producir en el sitio donde la planta ha crecido, las plantas y/o partes de las mismas pueden ser retiradas del sitio donde las plantas se han cultivado para producir el producto. Por lo general, la planta se cultiva, las partes cosechables deseadas se retiran de la planta, si es posible en ciclos repetidos, y el producto es elaborado a partir de las partes cosechables de la planta. La etapa de cultivar la planta se puede llevar a cabo sólo una vez cada vez que se realizan los métodos de la invención, al tiempo que permite veces repetidas de las etapas de producción de productos, por ejemplo, por retirada repetida de las partes cosechables de las plantas de la divulgación y procesamiento adicional si es necesario de estas partes para llegar al producto. Es posible que la etapa de cultivar las plantas de la divulgación se repita y las plantas o partes cosechables se almacenen hasta que entonces se realice la producción del producto una vez para las plantas o partes de plantas acumuladas. Además, las etapas de cultivar las plantas y producir el producto se pueden realizar con una superposición en el tiempo, incluso simultáneamente en gran medida o secuencialmente. Generalmente las plantas se cultivan durante algún tiempo antes de que se produzca el producto.

40 También se divulga una planta tolerante al estrés hídrico producida a través de la aplicación de al menos un tratamiento de una cantidad efectiva de TMAO a una planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla.

45 En una realización preferente, la planta de estrés hídrico de la invención tiene una producción de semilla de planta que es el 6% o más que la producción de biomasa, fruta o semilla de plantas u organismos fotosintéticos con estrés hídrico no tolerantes donde una cantidad efectiva de TMAO no ha sido aplicada. En otra realización preferente la planta de estrés hídrico tiene una producción de biomasa, fruta o semilla de planta que es el 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 110%, 120%, 130%, 140%, 150%, incluyendo o más que la producción de biomasa, fruta o semilla de plantas u organismos fotosintéticos con estrés hídrico no tolerantes donde una cantidad efectiva de TMAO no ha sido aplicada.

50 En una realización preferente, la producción de semilla está entre el 6% y el 30% o más, entre el 31% y el 50% o más, entre el 51% y el 70% o más, entre el 71% y el 100% o más que la producción de semilla de plantas u organismos fotosintéticos con estrés hídrico no tolerantes donde una cantidad efectiva de TMAO no ha sido aplicada.

55 En otra divulgación la planta tolerante al estrés hídrico producida a través de la aplicación de al menos un tratamiento de una cantidad efectiva de TMAO a una planta, parte de planta, organismo fotosintético y al menos un segundo tratamiento de una cantidad efectiva de TMAO se aplica a dicha planta u organismo fotosintético tolerante al estrés hídrico.

60 En otra divulgación preferente de la planta tolerante al estrés hídrico, dicho al menos un tratamiento de dicha cantidad efectiva de TMAO comprende dos o más compuestos diferentes seleccionados del grupo que consiste en TMAO dihidrato, derivado químico de TMAO, o un análogo químico de TMAO.

65 En otra realización preferente, la planta tolerante al estrés hídrico de la invención se produce mediante un tratamiento adicional de sales o cualquier otro aditivo a una planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla



y haciendo crecer dicha planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla en donde se produce una planta u organismo fotosintético tolerante al estrés hídrico.

5 En otra divulgación los productos producidos por los métodos que se describen en la presente memoria son productos de plantas tal como, pero sin limitarse a, un alimento, pienso para ganado, un suplemento alimenticio, suplemento de pienso, fibra, cosmético y/o fármaco. Los productos alimenticios se consideran composiciones utilizadas para la nutrición y/o para complementar la nutrición. Los piensos para ganado y suplementos de la alimentación animal, en particular, están considerados como productos alimenticios.

10 En otra divulgación los métodos para la producción se utilizan para elaborar productos agrícolas tal como, pero sin limitarse a, extractos de plantas, proteínas, aminoácidos, hidratos de carbono, grasas, aceites, polímeros, vitaminas, y similares. Sírvase tener en cuenta que es posible que el producto vegetal consista en uno o más productos agrícolas en gran medida.

15 También se divulgan métodos para producir plantas transgénicas u organismos fotosintéticos tolerantes al estrés hídrico que incluyen, pero no se limitan a introducir en forma estable una construcción en la planta u organismo fotosintético donde la construcción incluye un gen o genes tal como SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO: 2 que codifica una proteína monooxigenasa o proteína FMO tal como la proteína FMO GS-OX5. La sobreexpresión, ya sea constitutiva o inducida por estrés, de la proteína monooxigenasa media un incremento en la expresión de TMAO en una planta u organismo fotosintético a través de la catalización de la oxidación de metabolitos endógenos que contienen nitrógeno nucleofílico. Divulgaciones adicionales pueden comprender una planta transgénica u organismo que sobreexpresa un gen tolerante al estrés hídrico, tal como SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO: 2 que codifica una proteína FMO, donde el gen está operativamente ligado a un promotor constitutivo o un promotor inducible por estrés y ha sido integrado en forma estable en el genoma de la planta u organismo en condiciones apropiadas para la sobreexpresión de una proteína con tolerancia al estrés hídrico.

20 También se divulga un método para producir una planta u organismo fotosintético con una tolerancia al estrés hídrico, tal como una planta monocotiledónea o dicotiledónea, que comprende introducir en y sobreexpresar en la planta u organismo fotosintético un ácido nucleico o aminoácido tal como SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO: 2 que codifica una proteína monooxigenasa, tal como la proteína FMO GS-OX5.

25 También se divulga una planta u organismo fotosintético tolerante al estrés hídrico, en donde la planta u organismo fotosintético tolerante al estrés hídrico sobreexpresa las proteínas FMO en el genoma nuclear de la planta u organismo fotosintético o el genoma de cloroplasto de la planta.

30 De ese modo, se divulga un método para producir una planta tolerante al estrés hídrico, en donde el método comprende transformar una planta con una secuencia que codifica una proteína FMO operativamente ligada a un promotor en condiciones apropiadas para la sobreexpresión de la proteína FMO en la planta de al menos tres veces con respecto al nivel de expresión de la proteína FMO endógena, en donde la sobreexpresión de la secuencia que codifica la proteína FMO en dicha planta tolerante al estrés hídrico cataliza la oxidación de metabolitos endógenos que contienen nitrógeno nucleofílico.

35 En una divulgación preferente la secuencia que codifica la proteína FMO codifica una secuencia de aminoácidos seleccionada de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38 SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43.

40 En otra divulgación preferente el promotor es un promotor constitutivo. En otra divulgación preferente, la sobreexpresión de la secuencia que codifica la proteína FMO es sobreexpresión constitutiva. En una divulgación preferente, la proteína FMO se sobreexpresa al menos 8 veces con respecto a los niveles de expresión de la proteína FMO endógena.

45 En otra divulgación preferente, el promotor es un promotor inducible por estrés, más preferentemente, el estrés es estrés hídrico.

50 En otra divulgación, la sobreexpresión de la secuencia que codifica la proteína FMO es inducida por un estrés, preferentemente estrés hídrico.

55 La sobreexpresión constitutiva o sobreexpresión inducida por estrés de la monooxigenasa o proteína FMO media un incremento en la expresión de TMAO en una planta u organismo fotosintético, incrementando la tolerancia de la planta u organismo con respecto a varias formas de estrés hídrico en comparación con plantas de tipo salvaje, parte de plantas de tipo salvaje, organismos fotosintéticos de tipo salvaje o células de plantas de tipo salvaje. La monooxigenasa o proteína FMO puede sobreexpresarse en la planta u organismo fotosintético como un todo o una parte, se proporciona, por ejemplo, en un órgano, tejido, célula o una parte de una célula de planta, por ejemplo, en un orgánulo. La proteína monooxigenasa comprende una secuencia que codifica aminoácidos que tiene al menos el

80% de identidad con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43, y/o la región 5'-no traducida (5'UTR). La sobreexpresión de la proteína media un aumento de la expresión en una planta u organismo fotosintético, incrementando la tolerancia de la planta o el organismo a diversas formas de estrés hídrico en comparación con las plantas de tipo salvaje. A modo de ejemplo, las proteínas humanas FMO3 y FMO1 tienen una identidad del 53% y el 84% con las proteínas FMO3 de conejo (véase Lawton et al, 1994, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, Vol. 308, 254-257).

Divulgaciones adicionales proporcionan una construcción de ADN que comprende una o más secuencias que codifican la proteína FMO operativamente ligada a un promotor constitutivo o un promotor inducible por estrés en donde las proteínas FMO están integradas de forma estable en un genoma de ADN de planta u organismo fotosintético en condiciones apropiadas para la sobreexpresión de la construcción de ADN en la planta u organismo fotosintético. El promotor constitutivo o promotor inducible por estrés en la construcción de ADN induce la sobreexpresión de las proteínas FMO en la planta u organismo fotosintético mediando de ese modo un incremento en la expresión de TMAO en una planta u organismo fotosintético, incrementando la tolerancia de la planta u organismo fotosintético a diversas formas de estrés hídrico en comparación con las plantas de tipo salvaje u organismos fotosintéticos de tipo salvaje.

Se divulgan construcciones de ADN para la sobreexpresión de proteínas FMO en plantas transgénicas u organismos fotosintéticos. Dichas construcciones de ADN pueden representarse como se muestra en las Figuras 4a, 4b, 5a, y 5b.

Como se muestra en la Figura 4a, se proporciona una construcción para la sobreexpresión de una proteína FMO en una planta de *Arabidopsis thaliana*, donde mirando en el extremo 5' de la construcción, una secuencia codificante del promotor constitutivo, tal como *PRO<sub>NOS</sub>*, está provista de un sitio de inicio de transcripción. Un marcador seleccionable, tal como NPTII está provisto de una región de terminación de transcripción, NOS ter en el extremo 3' del marcador seleccionable. Un promotor constitutivo, tal como el promotor *CaMv35S*, (35S) está provisto de un sitio de inicio de transcripción. La secuencia que codifica la proteína FMO *RCI5* (SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO:2) está provista de una región de terminación de transcripción, NOS ter en el extremo 3' de la secuencia que codifica la proteína FMO. Cada uno de estos componentes está operativamente ligado al siguiente, es decir, la secuencia de codificación del promotor constitutivo, *PRO<sub>NOS</sub>*, está operativamente ligada al extremo 5' del marcador seleccionable, NPTII, la secuencia de proteína y la secuencia de proteínas marcadoras seleccionables está operativamente ligada al extremo 5' de la secuencia codificante del promotor constitutivo *CaMv35S* que está operativamente ligada al extremo 5' de la secuencia que codifica la proteína FMO *RCI5*. Para la sobreexpresión, puede utilizarse el vector de expresión pROK2. La construcción de ADN después se integra en una planta u organismo fotosintético tal como una planta de *Arabidopsis thaliana* y se producen organismos fotosintéticos que sobreexpresan la proteína At FMO *GS-OX5*, donde el promotor constitutivo induce la sobreexpresión de la proteína FMO. La sobreexpresión de la secuencia que codifica la proteína FMO en la planta u organismo fotosintético cataliza la oxidación de metabolitos endógenos que contienen nitrógeno nucleofílico.

Como se muestra en la Figura 4b, se proporciona una construcción para la sobreexpresión de una proteína FMO en una planta de *Arabidopsis thaliana*, donde mirando el 5' de la construcción una secuencia codificante de promotor, tal como *PRO<sub>NOS</sub>*, está provista de un sitio de inicio de transcripción. Un marcador seleccionable, tal como NPTII está provisto de una región de terminación de transcripción, el sitio NOS en el extremo 3' del marcador seleccionable. Un promotor inducible por estrés, tal como el promotor *PRO<sub>RD29A</sub>*, con un sitio HindIII en el extremo 5' y un sitio BamHI en el extremo 3', está provisto de un sitio de inicio de transcripción. La secuencia que codifica la proteína FMO *RCI5* (SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO:2) está provista de una región de terminación de transcripción, el sitio NOS ter en el extremo 3' de la secuencia que codifica la proteína FMO. Cada uno de estos componentes está operativamente ligado al siguiente, es decir, la secuencia de codificación del promotor, *PRO<sub>NOS</sub>*, está operativamente ligada al extremo 5' del marcador seleccionable, NPTII, la secuencia codificante de la proteína y la secuencia codificante de la proteína marcadora seleccionable está operativamente ligada al extremo 5' de la secuencia codificante del promotor constitutivo *PRO<sub>RD29a</sub>* que está operativamente ligada al extremo 5' de la secuencia que codifica la proteína FMO *RCI5*. Para la sobreexpresión, puede utilizarse el vector de expresión pROK2. La construcción de ADN después se integra en una planta u organismo fotosintético tal como una planta de *Arabidopsis thaliana* y se producen los organismos que sobreexpresan la proteína At FMO *GS-OX5*, donde el promotor inducible por estrés induce la sobreexpresión de la proteína FMO. La sobreexpresión de la secuencia que codifica la proteína FMO en el organismo fotosintético cataliza la oxidación de metabolitos endógenos que contienen nitrógeno nucleofílico.

Como se muestra en la Figura 5a, se proporciona una construcción para la sobreexpresión de una proteína FMO en una planta de *Zea mays*, donde mirando en el 5' una secuencia de codificación del promotor constitutivo, tal como el promotor de *Ubiquitina*, está provista de un sitio de inicio de transcripción. La secuencia que codifica la proteína FMO *SI FMO GX-OX1* (SEQ ID NO: 25 o SEQ ID NO:26) está provista de una región de terminación de transcripción, el sitio NOS ter en el extremo 3' de la secuencia que codifica la proteína FMO. Un promotor constitutivo, tal como el promotor *CaMv35S*, (35S) está provisto de un sitio de inicio de transcripción. Un marcador

seleccionable, tal como higromicina está provisto de una región de terminación de transcripción, NOS ter en el extremo 3' del marcador seleccionable. Cada uno de estos componentes está operativamente ligado al siguiente, es decir, la secuencia codificante del promotor constitutivo, Ubiquitina, está operativamente ligada al extremo 5' de la secuencia que codifica la proteína FMO *ZM FMO*, la secuencia que codifica la proteína FMO está operativamente ligada al extremo 5' de la secuencia codificante del promotor constitutivo, tal como el promotor *CaMv35S*, (35S) que está operativamente ligada al extremo 5' de la secuencia codificante de la proteína marcadora seleccionable. Para la sobreexpresión, puede utilizarse el vector de expresión pCAMBIA 1300. La construcción de ADN después se integra en una planta u organismo fotosintético tal como una planta de *Zea mays* y se producen los organismos que sobreexpresan la proteína *ZM FMO*, donde el promotor constitutivo induce la sobreexpresión de la proteína FMO y la sobreexpresión de la secuencia que codifica la proteína FMO en el organismo fotosintético cataliza la oxidación de metabolitos endógenos que contienen nitrógeno nucleofílico.

Como se muestra en la Figura 5b, se proporciona una construcción para la sobreexpresión de una proteína FMO en una planta de *Solanum lycopersicum*, donde mirando el 5' un promotor inducible por estrés, tal como el promotor *PRO<sub>RD29a</sub>*, está provisto de un sitio de inicio de transcripción. La secuencia que codifica la proteína FMO *SI FMO GS-OX1* (SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 37 o SEQ ID NO: 38) está provista de una región de terminación de transcripción, el sitio NOS ter en el extremo 3' de la secuencia que codifica la proteína FMO. Un promotor constitutivo, tal como el promotor *CaMv35S*, (35S) está provisto de un sitio de inicio de transcripción. Un marcador seleccionable, tal como higromicina está provisto de una región de terminación de transcripción, NOS ter en el extremo 3' del marcador seleccionable. Cada uno de estos componentes está operativamente ligado al siguiente, es decir, la secuencia codificante del promotor inducible por estrés, promotor *PRO<sub>RD29a</sub>*, está operativamente ligada al extremo 5' de la secuencia que codifica la proteína FMO *SI FMO GS-OX1*, la secuencia que codifica la proteína FMO está operativamente ligada al extremo 5' del promotor constitutivo, tal como el promotor *CaMv35S*, secuencia codificante (35S) que está operativamente ligada al extremo 5' de la secuencia codificante de proteína marcadora seleccionable. Para la sobreexpresión, puede utilizarse el vector de expresión pCAMBIA 1300. La construcción de ADN después se integra en un organismo fotosintético tal como una planta de *Solanum lycopersicum* y se producen los organismos que sobreexpresan la proteína *SI FMO GS-OX1*, donde el promotor inducible por estrés induce la sobreexpresión de la proteína FMO y la sobreexpresión de la secuencia que codifica la proteína FMO en organismo fotosintético cataliza la oxidación de metabolitos endógenos que contienen nitrógeno nucleofílico.

También se divulga una construcción de ADN para la sobreexpresión de una secuencia que codifica la proteína FMO en organismos fotosintéticos, en donde la construcción de ADN comprende un promotor y la secuencia que codifica la proteína FMO, en donde dicho promotor está operativamente ligado a dicha secuencia que codifica la proteína FMO, en donde la secuencia que codifica la proteína FMO se selecciona de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38, SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43.

Como se utiliza en la presente memoria, "ácidos nucleicos" significa biopolímeros de nucleótidos que están unidos entre sí a través de enlaces fosfodiéster (polinucleótidos, ácidos polinucleicos). Dependiendo del tipo de azúcar en los nucleótidos (ribosa o desoxirribosa), se distinguen las dos clases de los ácidos ribonucleicos (ARN) y los ácidos desoxirribonucleicos (ADN).

Como se indicó anteriormente, se divulga un método para producir plantas tolerantes al estrés hídrico, incluyendo pero sin limitarse a tolerancia a la sequía o humedad excesiva, en plantas en donde una aplicación de N-óxido de trimetilamina o "TMAO", en donde TMAO incluye pero no se limita a, TMAO dihidrato, derivado químico de TMAO, o un análogo químico de TMAO, a una planta o semilla para reducir el estrés hídrico en la planta cuando la planta se expone a condiciones de estrés hídrico. Este método para producir una planta tolerante al estrés hídrico es aplicable a una variedad de plantas incluyendo plantas monocotiledóneas o dicotiledóneas, incluyendo, pero sin limitarse a plantas transgénicas. Como se utiliza en la presente memoria, las plantas transgénicas incluyen plantas, u organismo fotosintético, que han sido genéticamente modificados para que contengan construcciones de ADN foráneas tal como se debatirá después en la presente memoria. Los métodos para producir una planta u organismo tolerante al estrés hídrico pueden ser aplicables a la planta u organismo completo o una parte de una planta, por ejemplo en un órgano, tejido, una célula o una parte de una célula de planta, por ejemplo en un orgánulo, que comprende introducir en, y expresar en, la planta o células de planta un ácido nucleico que codifica una monooxigenasa o proteína FMO, y que media un incremento en la producción de TMAO endógeno y por ello una tolerancia al estrés hídrico, tal como un incremento en la tolerancia a la sequía o un incremento en la tolerancia a la humedad excesiva.

Las metilaminas (por ejemplo, N-óxido de trimetilamina (TMAO)) pueden aumentar el plegamiento de la proteína y la unión al ligando y contrarrestar las perturbaciones por urea (por ejemplo, en elasmobranchios y riñón de mamífero), iones inorgánicos, y presión hidrostática en animales del mar profundo (Yancey, 2005, citado supra).

También se divulga un método para la tolerancia al estrés hídrico en una planta, una parte de planta, o una célula de planta, donde el método comprende la etapa de incrementar la expresión y/o actividad de una proteína

monooxigenasa en la planta, parte de planta, o célula de planta en comparación con la planta de tipo salvaje, parte de planta de tipo salvaje o célula de planta de tipo salvaje.

5 Como se debate anteriormente, los métodos que se describen en la presente memoria están dirigidos a métodos para reducir el estrés hídrico en una planta u organismo mediante la producción de una planta u organismo fotosintético tolerante al estrés hídrico mediante la sobreexpresión de FMO respecto de la planta que ha sido  
 10 expuesta a o será expuesta a condiciones de estrés hídrico. El efecto de la reducción del estrés hídrico de una planta u organismo fotosintético puede evaluarse comparando los indicadores de fenotipo anteriores entre una sobreexpresión de FMO y una planta que no sobreexpresa FMO después de que las plantas u organismos fotosintéticos se exponen a condiciones de estrés hídrico. Las etapas en las que las plantas u organismo fotosintético que sobreexpresan FMO pueden exponerse a condiciones de estrés hídrico incluyen, por ejemplo, todas las etapas de crecimiento de las plantas, incluyendo un período de germinación, un período de crecimiento vegetativo, un período de crecimiento reproductivo y un período de cosecha.

15 Una variedad de semillas o bulbos puede utilizarse en los métodos que se describen en la presente memoria incluyendo pero sin limitarse a plantas en las familias Solanaceae y Cucurbitaceae, así como plantas seleccionadas de los géneros de planta *Calibrachoa*, *Capsicum*, *Nicotiana*, *Nierembergia*, *Petunia*, *Solanum*, *Cucurbita*, *Cucumis*, *Citrullus*, *Glycine*, tal como *Glycine max* (Soja), *Calibrachoa x hybrida*, *Capsicum annuum* (pimiento), *Nicotiana tabacum* (tobaco), *Nierenbergia scoparia* (chuchu), *Petunia x hybrida*, *Solanum lycopersicum* (tomate), *Solanum tuberosum* (papa), *Solanum melongena* (berenjena), *Cucurbita maxima* (zapallo), *Cucurbita pepo* (calabaza, zucchini), *Cucumis metuliferus* (melón africano espinudo) *Cucumis melo* (melón), *Cucumis sativus* (pepino) y *Citrullus lanatus* (sandía). Varias plantas monocotiledóneas, en particular las que pertenecen a la familia se pueden utilizar con los métodos que se describen en la presente memoria, que incluyen, pero sin limitación, plantas seleccionadas de los géneros de planta *Hordeum*, *Avena*, *Secale*, *Triticum*, *Sorghum*, *Zea*, *Saccharum*, *Oryza*,  
 20 *Hordeum vulgare* (cebada), *Triticum aestivum* (trigo), *Triticum aestivum* subsp. *spelta* (espelta), x *Triticosecale* (Triticale), *Avena sativa* (avenas), *Secale cereale* (centeno), *Sorghum bicolor* (sorgo), *Zea mays* (maíz), *Saccharum officinarum* (caña de azúcar) y *Oryza sativa* (arroz). Los ejemplos adicionales de plantas en que se puede producir estrés hídrico usando los métodos que se describen en la presente memoria incluyen los siguientes cultivos: trigo sarraceno, remolacha, canola, colza, girasol, caña de azúcar, tabaco y guisantes; hortalizas: hortalizas solanáceas tales como pimiento y patata, hortalizas cucurbitáceas; hortalizas crucíferas tales como, rábano japonés, nabo, rábano, colinabo, repollo chino, repollo, mostaza castaña, brócoli y coliflor, hortalizas asteráceas tales como, bardana, guirnalda crisantemo, alcaucil y lechuga; hortalizas liliáceas tales como, cebolleta, cebolla, ajo, espárragos, hortalizas amiáceas tales como zanahoria, perejil, apio y chirivía, hortalizas quenopodiáceas tales como espinaca, acelga, hortalizas lamiáceas tales como, *Perilla frutescens*, menta, albahaca; fresa, boniato, *Dioscorea japonica*, colocasia; flores; Plantas de follaje; pastos; frutas: frutos de pepita (manzana, pera, pera japonesa, membrillo chino y membrillo, etc), frutas de hueso, (melocotón, ciruela, nectarina, *Prunus mume*, cerezas, albaricoque y ciruelas, etc), frutas cítricas (*Citrus unshiu*, naranja, mandarina, limón, lima, pomelo, etc), frutos secos (castañas, nueces, avellanas, almendras, pistachos, anacardos, nueces de macadamia, etc), bayas (zarzamoras, arándanos, moras, frambuesas, etc), uva, caqui, aceituna, nispero, plátano, café, palmera datilera, cocos, etc.; y árboles diferentes de los árboles frutales; té, morera, plantas de flores, arbolado de las carreteras (fresno, abedul, cerezo silvestre, eucalipto, *Ginkgo biloba*, lila, arce, *Quercus*, álamo, árbol de Judas, *Liquidambar formosana*, plátano de sombra, zelvova, tuya del Japón, abeto, cicuta, enebro, *Pinus*, *Picea*, y *Taxus cuspidata*). Los ejemplos de plantas en las que se puede producir tolerancia al estrés hídrico pueden incluir arroz, maíz, canola, soja y trigo. Las "plantas" mencionadas anteriormente incluyen plantas transgénicas, que expresan otros rasgos de genes.

45 Como se utiliza en la presente memoria, "plantas" significa todas las plantas dicotiledóneas o monocotiledóneas, incluyendo, pero sin limitarse a la clase de Liliatae (Monocotyledoneae o plantas monocotiledóneas). El término incluye las plantas maduras, semillas, brotes y plántulas, y partes, material de propagación, órganos de planta, tejido, protoplastos, callos y otros cultivos, por ejemplo, cultivos celulares derivados de los anteriores y todos los otros tipos de asociaciones de células de planta que dan unidades funcionales o estructurales. "Plantas maduras" se refiere a las plantas en cualquier etapa de desarrollo más allá de la etapa de plántula. Plántula significa una planta joven, inmadura en una etapa temprana de desarrollo.

55 Las plantas dicotiledóneas incluyen las plantas maduras, semillas, brotes y plántulas y partes, material de propagación, órganos de plantas, tejido, protoplastos, callos y otros cultivos, por ejemplo, cultivos celulares derivados de los anteriores y todos los otros tipos de asociaciones de células de planta que dan unidades funcionales o estructurales. Plantas maduras se refiere a las plantas en cualquier etapa de desarrollo más allá de la etapa de plántula. Plántula significa una planta joven, inmadura en una etapa temprana de desarrollo.

60 "Planta" también comprende plantas dicotiledóneas o monocotiledóneas anuales o perennes e incluye a modo de ejemplo, pero sin limitarse a, aquellas del género *Glycine*, *Vitis*, *Asparagus*, *Populus*, *Pennisetum*, *Lolium*, *Oryza*, *Zea*, *Avena*, *Hordeum*, *Secale*, *Triticum*, *Sorghum*, *Saccharum* y *Lycopersicum*.

65 Como se debate anteriormente, otra divulgación proporciona un método para producir una planta u organismo fotosintético, tal como una planta monocotiledónea o dicotiledónea, con una tolerancia al estrés hídrico, que comprende introducir en y expresar en la planta u organismo fotosintético un ácido nucleico o aminoácido tal como

SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO: 2, que codifica una proteína monooxigenasa, tal como la proteína FMO GS-OX5. Un ejemplo de la proteína monooxigenasa puede incluir pero no se limita a una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43, en donde la secuencia de nucleótidos comprende al menos una molécula de ácido nucleico. La secuencia de aminoácidos puede tener una identidad porcentual del 80% o más de las secuencias enumeradas anteriormente y/o la región 5'-no traducida (5'UTR) en comparación con la secuencia original.

Los métodos que se describen en la presente memoria también incluyen a) introducir en una célula de planta u organismo fotosintético un casete de expresión recombinante que comprende la molécula de ácido nucleico en una unión operable con un promotor que está activo en una planta u organismos fotosintéticos; b) regenerar una planta u organismo fotosintético a partir de la célula de planta u organismo fotosintético, y c) expresar la molécula de ácido nucleico para generar o para incrementar una tolerancia al agua en la planta u organismo fotosintético.

La divulgación también se refiere a una planta tolerante al estrés hídrico producida mediante los métodos divulgados en el presente documento.

Los métodos que se describen en la presente memoria además proporcionan organismos fotosintéticos o una planta, que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que codifica una proteína FMO (SEQ ID NOs: 1-43), un casete de expresión de ADN, o un vector que comprende el casete de expresión de ADN, o que comprende una célula que comprende la molécula de ácido nucleico tal como la proteína FMO (SEQ ID NOs: 1-43), el casete de expresión, o el vector. Los ejemplos pueden incluir generar una planta transgénica que es tolerante al estrés hídrico, que puede comprender la molécula de ácido nucleico, tal como una secuencia que codifica la proteína FMO (SEQ ID NOs: 1-43), un casete de expresión de ADN, un vector que comprende el casete de expresión, o una célula que comprende la molécula de ácido nucleico, el casete de expresión, o el vector. Puede generarse un material o composición de propagación de la planta que comprende una molécula de ácido nucleico tal como la secuencia que codifica la proteína FMO (tal como SEQ ID NOs: 1-43), un casete de expresión de ADN que comprende la secuencia que codifica la proteína FMO, o un vector que comprende el casete de expresión, o una célula que comprende la molécula de ácido nucleico, el casete de expresión, o el vector para proporcionar una planta, parte de planta, o célula de planta tolerante a la sequía.

Como se debate anteriormente y se muestra en la Figura 2, las proteínas FMO que se describen en la presente memoria pueden incluir una secuencia de nucleótidos exógena que codifica una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% de identidad con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43, en una planta u organismo fotosintético, una parte de una planta, o una célula de planta, y expresando la secuencia de nucleótidos en la planta u organismo fotosintético, la parte de la planta, o la célula de la planta. Además, la secuencia de nucleótidos puede incrementarse en la planta u organismo fotosintético, la parte de la planta, o la célula de la planta en comparación con la planta original, o de tipo salvaje, parte de la planta, o célula de la planta.

Los métodos de sobreexpresión e incremento de una proteína FMO como se describe en la presente memoria, incluyendo una o más construcciones de ADN para su uso en la sobreexpresión de la proteína FMO, integración estable de la proteína FMO en un genoma de ADN de planta u organismo fotosintético y la sobreexpresión de la construcción de ADN en la planta u organismo fotosintético, puede utilizarse en una variedad de plantas, incluyendo pero sin limitarse a: soja, patata, algodón, colza, colza oleaginosa, canola, girasol, alfalfa, trébol, plátano, mora, arándano, fresa, frambuesa, melón cantalupo, zanahoria, coliflor, café, pepino, berenjena, uva, melón verde, lechuga, mango, melón, cebolla, papaya, pimienta, piña, calabaza, espinaca, zapallo, tabaco, tomate, sandía, manzana, melocotón, pera, cereza, ciruela, brócoli, col, coliflor, coles de Bruselas, colirrábano, grosellas, aguacate, naranja, limón, pomelo, mandarina, alcachofa, cereza, nuez, cacahuete, endivias, puerros, arrurruz, remolacha, yuca, nabo, rábano, boniato; guisante, judías, caña de azúcar, césped, *Miscanthus*, *Panicum virgatum*, trigo, maíz, maíz dulce, arroz, mijo, sorgo, cebada, centeno, así como varios tipos de organismos fotosintéticos incluyendo pero sin limitarse a diatomeas, algas eucariotas y cianobacterias

Como se muestra en la Figura 2, los genes con elevada identidad con respecto a *FMO GS-OX5* median funciones similares. Como se muestra en la Figura 2 los genes, ácidos nucleicos utilizados o proteínas expresadas pueden tener el 40% o más de identidad, incluyendo pero sin limitarse a al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o más de identidad, en comparación con la respectiva secuencia *FMO GS-OX5* de *Arabidopsis* (At1g12140) (SEQ ID NO: 1) [secuencia de ADNc con UTR] o la secuencia de proteínas SEQ ID NO.: 2). Los genes con las homologías más elevadas respecto a At1g12140 de *Solanum lycopersicum SIFMO GS-OX1* (Solyc06g060610) (SEQ ID NO: 37 y SEQ ID NO: 38), *SIFMO GS-OX2* (AK324297.1), *Vitis vinifera VvFMO GS-OX3-1* (SEQ ID NO: 21 y SEQ ID NO: 22) (LOC100242032), *VvFMO GS-OX3-2* (LOC100255688) (SEQ ID NO: 19 SEQ ID NO: 20), *VvFMO GS-OX3-3* (LOC100255688) (SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 18), *Populus trichocarpa PtFMO-*

GS-OX3 (XM\_002329873.1) (SEQ ID NO: 27 y SEQ ID NO: 28), *PtFMO* GS-OX2 (XM\_002318967.1) (SEQ ID NO: 29 y SEQ ID NO: 30), *PtFMO* GS-OX1 (XP002318210.1), *Oryza sativa* *OsFMO*-OX (Os10g40570.1) (SEQ ID NO: 15 y SEQ ID NO: 16), *Glycine max* *GmFMO* (Glyma11g03390.1) (SEQ ID NO: 33 y SEQ ID NO: 34), *Cucumis sativus* *CsFMO* GS-OX3-1 (LOC101227975) (SEQ ID NO: 11 y SEQ ID NO: 12), *CsFMO* GS-OX3-2 (LOC101220079) (SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 10), *CsFMO* GS-OX3-3 (LOC101220318) (SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 8), *CsFMO* GS-OX3-4 (LOC101212991) (SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 6), *Brassica rapa* subsp. *pekinensis* *BrFMO* GS-OX1 (FJ376070.1), *Medicago truncatula* *MtFMO* GS-OX5 (MTR\_5g012130) (SEQ ID NO: 13 y SEQ ID NO: 14), *Zea mays* *ZmFMO* (GRMZM2G089121\_P01) (SEQ ID NO: 25 y SEQ ID NO: 26), *Gossypium hirsutum* *GhFMO*-1 (DQ122185.1) SEQ ID NO: 23 y SEQ ID NO: 24) *Homo sapiens* *HsFMO*-3 (NP\_001002294.1) (SEQ ID NO: 39 y SEQ ID NO: 40) y *Oryctolagus cuniculus* *OcFMO*-5 (NP\_001075714.1) SEQ ID NO: 41 y SEQ ID NO: 42) probablemente ejercen funciones similares en la planta u organismo fotosintético como el polipéptido FMO GS-OX5 de *Arabidopsis* (*AtFMO* GS-OX5). Como se debate anteriormente, la Figura 2 proporciona un árbol filogenético de las secuencias de polipéptidos detalladas más arriba de FMO de *Arabidopsis thaliana*, vid, *Populus trichocarpa*, arroz, soja, melón, tomate, sorgo, maíz, trigo, cebada, ser humano y conejo.

Como se muestra en la Figura 2, la expresión equivalente de proteínas FMO puede esperarse para las secuencias que tienen el 40% o más de identidad, incluyendo pero sin limitarse a al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99% o más de identidad, en comparación con otras secuencias de FMO tal como la respectiva secuencia de FMO GS-OX5 de *Arabidopsis*.

Como se utiliza en la presente memoria, "proteína FMO" o "polipéptido FMO" significa una proteína con el 100% de la secuencia completa o partes de la secuencia, que media un aumento de la expresión de TMAO en una planta u organismo fotosintético a través de la catalización de la oxidación de metabolitos endógenos que contienen nitrógeno nucleofílico y confiriendo tolerancia mejorada al estrés hídrico cuando se expresa en plantas u organismos fotosintéticos. "Proteína FMO" se entiende que quiere decir una secuencia que comprende un dominio N-terminal, un dominio de flavina monooxigenasa y un dominio C-terminal (Li et al., *Plant Physiol.* 148(3):1721-33 (2008). Por ejemplo, el polipéptido que se emplea en el método, tiene una actividad que está involucrada en las respuestas de defensa al estrés hídrico y aumenta TMAO endógeno. Un polipéptido puede ser identificado como un FMO si es capaz de catalizar la conversión de trimetilamina (TMA) a TMAO en presencia de FAD y NADPH. La actividad se puede determinar en un ensayo in vitro como se muestra, por ejemplo, en el ejemplo 2.2 de la solicitud WO20100348261.

El término "sobreexpresión", como se utiliza en la presente memoria, significa que una célula determinada produce un aumento en el número de una cierta proteína en relación con una célula normal. A los efectos de la presente divulgación, el nivel original de expresión de tipo salvaje también podría ser cero, es decir ausencia de expresión o expresión inapreciable. Se entenderá que la proteína FMO que se sobreexpresa en células según los métodos de la invención puede ser de la misma especie que la célula de planta en donde la sobreexpresión se está llevando a cabo o puede obtenerse de una especie diferente. En el caso en donde la proteína FMO endógena se sobreexpresa, los niveles de la proteína FMO son al menos tres veces con respecto al mismo polipéptido que se produce de forma endógena por la célula de la planta. En el caso en donde una proteína heteróloga FMO se sobreexpresa, los niveles de la proteína heteróloga FMO son de al menos tres veces los niveles de la proteína endógena FMO. En una divulgación preferente, la proteína FMO se sobreexpresa al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10 o más veces con respecto a la proteína endógena FMO.

En una divulgación, la planta divulgada en el presente documento ha sido transformada por la introducción de una proteína FMO homóloga o heteróloga de manera que la actividad de FMO en un lisado celular de dicha planta es al menos 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, 100 veces o más con respecto a la actividad de FMO en la planta no transformada. La actividad FMO en el lisado celular se puede determinar como se describe en el ejemplo 2.2 de la solicitud PCT WO20100348261, en donde el extracto se pone en contacto con TMA en presencia de FAD y NADPH y se determina la producción de TMAO.

En otra divulgación, la sobreexpresión de la proteína FMO homóloga o heteróloga debe ser suficiente para incrementar los niveles de TMAO endógenos al menos 2 veces, al menos 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 20 veces, 30 veces, 40 veces, 50 veces, 60 veces, 70 veces, 80 veces, 90 veces, 100 veces o más con respecto a los niveles endógenos de TMAO medidos en ausencia de estrés, en donde el estrés es estrés abiótico, incluyendo estrés por sequía, estrés salino, estrés osmótico, estrés por grumo, estrés UV y estrés por calor. Los niveles de TMAO se pueden determinar mediante cualquier método conocido en la técnica, incluyendo, por ejemplo, el método descrito en la solicitud PCT WO20100348261 basado en la reducción de TMAO a TMA en presencia de  $TiCl_3$  y detectando la cantidad de TMA formado en la reacción.

La proteína FMO está codificada por ejemplo, por una molécula de ácido nucleico que comprende una molécula de ácido nucleico seleccionada del grupo que consiste en: (a) molécula de ácido nucleico que codifica al menos un polipéptido que comprende la secuencia que se muestra en la secuencia de ácidos nucleicos que codifica la proteína FMO, tal como proteína FMO GS-OX5 (SEQ ID NO: 1) o las partes funcionales de la proteína, expresa y media un



incremento en la tolerancia al estrés hídrico, incluyendo un incremento en la tolerancia a la sequía. Como se debate en los métodos anteriormente, la proteína FMO se introduce en y se expresa en la planta u organismo fotosintético o célula de planta o una parte de la misma, o la proteína FMO puede expresarse en forma endógena según los métodos que se describen en la presente memoria.

A modo de ejemplo la secuencia de ácidos nucleicos que codifica la proteína FMO puede seleccionarse del grupo que consiste en: (a) una molécula de ácido nucleico que codifica al menos un polipéptido que comprende la secuencia que se muestra en SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43; (b) una molécula de ácido nucleico que comprende al menos un polinucleótido de la secuencia que se muestra en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44; (c) una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido cuya secuencia tiene al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, al menos el 97%, al menos el 98% o al menos el 99%, identidad con una cualquiera de las secuencias que se muestran en el párrafo (a) o (b) detallado anteriormente donde la molécula de ácido nucleico detallada en los párrafos (a) y (b) anteriormente tienen una función biológica similar o igual que una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido; (e) molécula de ácido nucleico según (a) a (d) que codifica un fragmento o un epitopo de la secuencias como se muestra en los párrafos (a) y (b), en donde el fragmento es un fragmento funcional que confiere tolerancia al estrés por sequía; (f) una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido que es reconocido por un anticuerpo monoclonal dirigido contra un polipéptido que está codificado por las moléculas de ácidos nucleicos como se muestra en (a) a (d); (g) molécula de ácido nucleico que hibrida en condiciones rigurosas con el complemento de una molécula de ácido nucleico como se muestra en (a) a (d); y (h) molécula de ácido nucleico que puede aislarse de una genoteca de ADN utilizando una molécula de ácido nucleico como se muestra en (a) a (d) o sus fragmentos-partes de al menos 15 nt, 20 nt, 30 nt, 50 nt, 100 nt, 200 nt o 500 nt, como sonda en condiciones de hibridación rigurosas; (i) un ácido nucleico que codifica la misma proteína FMO que las secuencias de ácidos nucleicos detalladas en los párrafos (a) a (d) anteriormente, pero que difieren de las secuencias de (a) a (d) anteriormente debido a la degeneración del código genético; o una secuencia complementaria de la misma.

Otras proteínas heterólogas codificadas por el gen quimérico incluyen polipéptidos que forman epítopos inmunológicamente activos, y enzimas que catalizan la conversión de metabolitos intracelulares, con la consiguiente acumulación de metabolitos seleccionados en las células.

Como se utiliza en la presente memoria, el término "secuencia/s" se utiliza por razones de simplificación, y se refiere, dependiendo del contexto, al ácido nucleico y/o secuencias de aminoácidos descritas en este documento. El experto en la materia sabrá del contexto a qué se refieren. El término "fragmento de ADN" como se usa en el presente documento se entiende que quiere decir porciones del ADN que codifican una proteína cuando su actividad biológica consiste en la mediación de un aumento de la tolerancia al estrés por sequía. El término "fragmentos de la proteína" como se utiliza en la presente memoria se refiere a porciones de la proteína cuya actividad biológica comprende mediar un aumento en la tolerancia al estrés por sequía en las plantas.

"Cantidad de polipéptido" como se utiliza en la presente memoria significa, por ejemplo, el número de moléculas, o moles, de moléculas de polipéptido FMO en un organismo, un tejido, una célula o un tal sustrato o producto agroquímico, producto fitosanitario por compartimento celular. Incrementar la cantidad de polipéptido significa el aumento molar en el número de los respectivos polipéptidos en un organismo, un tejido, una célula o un compartimento celular. Por ejemplo, por uno de los métodos que se describen en la presente memoria más adelante, en comparación con un control adecuado, por ejemplo, la (planta control) de tipo salvaje de la misma especie y género a la que este método no ha sido aplicado, en condiciones de otra manera idénticas (tal como, por ejemplo, condiciones de cultivo, edad de las plantas y similares). El incremento en este contexto equivale a al menos el 5%, al menos el 10% o al menos el 20%, así como al menos el 40% o el 60%, al menos el 70% o el 80%, y al menos el 90%, 95%, 99%, 100%, más que el 100%, incluyendo el 150%, 200% o 300%.

La identidad entre dos secuencias de ácidos nucleicos se entiende que quiere decir la identidad de la secuencia de ácidos nucleicos respecto de en cada caso la longitud de secuencia completa, que se calcula mediante la comparación con la ayuda del algoritmo de programa GAP (Wisconsin Package Versión 10.0, University of Wisconsin, Genetics Computer Group (GCG), Madison, USA; Altschul et al., Nucleic Acids Res. 25, 3389 (1997)), que establece los siguientes parámetros:\

Ponderación de hueco: 50	ponderación de longitud: 3
Correspondencia promedio: 10	Falta de correspondencia promedio: 0

Por ejemplo, una secuencia que tiene al menos el 80% de identidad con la secuencia SEQ ID NO: 1 a nivel de ácido nucleico se entiende que quiere decir una secuencia que, en la comparación con la secuencia SEQ ID NO: 1 por el algoritmo de programa anterior con el conjunto de parámetros anteriores, tiene al menos el 80% de identidad.

La identidad entre dos polipéptidos se entiende que quiere decir la identidad de la secuencia de aminoácidos respecto de en cada caso la longitud de secuencia completa que se calcula mediante la comparación con la ayuda del algoritmo de programa GAP (Wisconsin Package Versión 10.0, University of Wisconsin, Genetics Computer Group (GCG), Madison, USA), que establece los siguientes parámetros:

Ponderación de hueco: 8                      ponderación de longitud: 2  
Correspondencia promedio: 2.912    Falta de correspondencia promedio: -2.003

Por ejemplo, una secuencia que tiene al menos el 80% de identidad a nivel de polipéptido con la secuencia SEQ ID NO: 2 se entiende que quiere decir una secuencia que, en la comparación con la secuencia SEQ ID NO: 2 por el algoritmo de programa anterior con el conjunto de parámetros anteriores, tiene al menos el 80% de identidad.

La tolerancia al estrés por sequía de una planta u organismo como se describe en la presente memoria se obtiene introduciendo y sobreexpresando una secuencia de ácido nucleico tal como pero sin limitarse a SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43. Adicionalmente, es posible incrementar la sobreexpresión endógena o actividad de estas secuencias en una planta u organismo mediante métodos conocidos por el experto en la materia. Por ejemplo, un incremento en la sobreexpresión endógena puede obtenerse por la mutación de una región UTR, tal como 5'-UTR, una región promotora, una región codificante genómica para el centro activo, para sitios de unión, para señales de localización, para dominios, grupos y similar, tal como, por ejemplo, de las regiones de codificación para el N-terminal, la proteína FMO o los dominios C-terminales. La expresión o actividad endógena puede incrementarse según la divulgación por mutaciones que afectan la estructura secundaria, terciaria o cuaternaria de la proteína.

Las mutaciones se pueden insertar, por ejemplo, por una mutagénesis EMS. Los dominios pueden ser identificados por programas informáticos adecuados tal como, por ejemplo, SMART o InterPRO, por ejemplo, como se describe en Andersen P., *The Journal of Biol. Chemistry*, 279, 38 o 39053, (2004) o Mudgil, Y., *Plant Physiology*, 134, 59, (2004), y la bibliografía citada en los mismos. Los mutantes apropiados entonces pueden identificarse por ejemplo por TILLING (por ejemplo, según lo descrito por Henikoff, S., et al., *Plant Physiol.* 135: 630-6 (2004)).

La introducción y sobreexpresión de una secuencia según los métodos que se describen en la presente memoria en una planta u organismo fotosintético, o el incremento o modificación o mutación de una secuencia endógena, en su caso de una o ambas regiones no traducidas, en una planta u organismo fotosintético se combina con el incremento de la cantidad de polipéptido, función o actividad de otros factores de resistencia, tal como un inhibidor de la proteína Bax 1 (BI-1), tal como una proteína inhibidora de Bax 1 de *Hordeum vulgare* (No. de Acceso a GenBank: AJ290421), de, *Nicotiana tabacum* (No. de Acceso a GenBank: AF390556), arroz (No. de Acceso a GenBank: AB025926), *Arabidopsis* (No. de Acceso a GenBank: AB025927) o tabaco y aceite de semilla de colza (No. de Acceso a GenBank: AF390555, Bolduc N et al. (2003) *Planta* 216, 377 (2003)) o de ROR2 (por ejemplo, de cebada (No. de Acceso a GenBank: AY246906), SnAP34 (por ejemplo, de cebada (No. de Acceso a GenBank: AY247208) y/o de la proteína de unión luminal BiP por ejemplo de arroz (No. de Acceso a GenBank AF006825). Un aumento puede lograrse, por ejemplo, por mutagénesis o la sobreexpresión de un transgén, entre otras cosas.

Una molécula de ácido nucleico, como se utiliza en la presente memoria, comprende la secuencia no traducida en el extremo terminal 3' y 5' de la región génica de codificación: al menos 500, o 200, o 100 nucleótidos de la secuencia corriente arriba del extremo terminal 5' de la región codificante y al menos 100, o 50, o 20 nucleótidos de la secuencia corriente abajo del extremo terminal 3' de la región génica codificante.

Además, las secuencias de ácido nucleico son secuencias de ácidos nucleicos aisladas. Una molécula de ácido nucleico "aislada" está separada de otras moléculas de ácidos nucleicos que están presentes en el origen natural del ácido nucleico. Un ácido nucleico "aislado" preferentemente no contiene secuencias que flanquean naturalmente el ácido nucleico en el ADN genómico del organismo del que procede el ácido nucleico (por ejemplo, secuencias que se encuentran en el extremo terminal 5' y 3' del ácido nucleico, sin embargo, esto no afecta las divulgaciones mencionadas anteriormente que comprenden las regiones 5'- y 3'-UTR). En diferentes divulgaciones, la molécula aislada puede comprender por ejemplo menos de aproximadamente 5 kb, 4 kb, 3 kb, 2 kb, 1 kb, 0,5 kb o 0,1 kb de secuencias de nucleótidos que flanquean de forma natural la molécula de ácido nucleico en el ADN genómico de la célula de la que se origina el ácido nucleico. Todas las moléculas de ácidos nucleicos mencionados aquí pueden ser por ejemplo ARN, ADN o ADNc.

Las moléculas de ácidos nucleicos pueden aislarse utilizando técnicas convencionales de biología molecular y la información de secuencia aquí contenida. Usando algoritmos comparativos, es posible identificar por ejemplo una secuencia homóloga, o regiones de secuencias conservadas, homólogas, a nivel de ADN o aminoácidos. Las porciones esenciales de esta secuencia o la totalidad de la secuencia homóloga se pueden utilizar como sonda de hibridación usando técnicas estándar de hibridación (tal como, por ejemplo, se describe en Sambrook et al.: *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*, 2ª ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.,



1989) para aislar aún más las secuencias de ácidos nucleicos que son útiles en el método de otros organismos mediante la selección de genotecas de ADNc y/o genotecas genómicas.

Por otra parte, una molécula de ácido nucleico o una parte de la misma puede aislarse por medio de la reacción en cadena de polimerasa ("PCR"), donde se utilizan cebadores de oligonucleótidos basados en las secuencias especificadas en el presente documento o partes de las mismas (por ejemplo, es posible aislar una molécula de ácido nucleico que comprende la secuencia completa o parte de la misma por medio de PCR utilizando cebadores de oligonucleótidos que se han generado sobre la base de la misma secuencia). Por ejemplo, el ARNm se puede aislar a partir de células (por ejemplo, mediante el método de extracción de tiocianato de guanidinio por Chirgwin et al., *Biochemistry* 18, 5294 (1979)) y el ADNc preparar a partir del mismo por medio de transcriptasa inversa (por ejemplo, transcriptasa inversa Moloney MLV, obtenible de Gibco/BRL, Bethesda, Md. o transcriptasa inversa AMV, disponible de Seikagaku Amerika, Inc., St. Petersburg, Fla.). Los cebadores de oligonucleótidos sintéticos para la amplificación mediante PCR se pueden generar sobre la base de las secuencias divulgadas en la presente memoria. Un ácido nucleico puede amplificarse utilizando ADNc o, alternativamente, ADN genómico como molde y cebadores de oligonucleótidos apropiados por medio de técnicas estándar de amplificación por PCR. El ácido nucleico amplificado de ese modo puede clonarse en un vector apropiado y caracterizarse por medio de análisis de secuencia de ADN. Los oligonucleótidos que corresponden a una secuencia de nucleótidos que codifican una proteína se pueden preparar por métodos sintéticos estándar, por ejemplo, utilizando un sintetizador de ADN automático.

Como se utiliza en la presente memoria "introducción" o "introducir" comprende todos los métodos, incluyendo, pero sin limitarse a transfección, transducción o transformación, que son adecuados para introducir directa o indirectamente, en una planta o una célula, compartimiento, tejido, órgano o semilla, una secuencia de ácido nucleico, o generar éste en los mismos. La introducción puede conducir a una presencia transitoria o estable de una secuencia de ácidos nucleicos.

También se describe en la presente memoria el producto obtenido de una planta u organismo fotosintético que comprende una molécula de ácido nucleico, un casete de expresión de ADN, o un vector que comprende el casete de expresión, o que comprende una célula que comprende la molécula de ácido nucleico, el casete de expresión, o el vector, o planta que es tolerante al estrés por sequía, obtenida por el método que comprende utilizar la molécula de ácido nucleico, un casete de expresión de ADN, un vector que comprende el casete de expresión, o una célula que comprende la molécula de ácido nucleico, el casete de expresión, o el vector, de una planta u organismo fotosintético producible por el método que se describe en la presente memoria o de una planta, parte de planta, semilla transgénica, organismo fotosintético o planta transgénica.

También se divulga un cultivo de tejido de células producidas a partir de la planta de la divulgación (tolerante al estrés por sequía producida por el método divulgado en el presente documento), en donde las células del cultivo de tejido se producen a partir de una parte de planta elegida de hojas, polen, embriones, cotiledones, hipocotilo, células meristemáticas, raíces, ápices de raíz, pistilos, anteras, flores, y tallos. Como entiende un experto en la materia, dichas hojas, polen, embriones, cotiledones, hipocotilo, células meristemáticas, raíces, ápices de raíz, pistilos, anteras, flores, y tallos comprenden la proteína FMO.

También se divulga una planta regenerada a partir del cultivo de tejido de la invención. Como puede entender un experto en la materia dicha planta regenerada comprende una proteína FMO.

También se divulga un método para producir un organismo fotosintético que sobreexpresa una o más secuencias que codifican la proteína FMO en dicho organismo fotosintético, que comprende:

cultivar una planta transformada con una secuencia que codifica una proteína FMO operativamente ligada a un promotor en donde la proteína FMO y promotor están integrados en forma estable en el genoma nuclear de dicho organismo fotosintético o genoma de cloroplasto de dicha planta en condiciones apropiadas para la sobreexpresión de la proteína FMO en el organismo fotosintético, en donde la sobreexpresión de la secuencia que codifica la proteína FMO en dicho organismo fotosintético cataliza la oxidación de metabolitos endógenos que contienen nitrógeno nucleofílico.

En una divulgación preferente, una o más proteína FMO comprende una o más secuencias de aminoácidos seleccionadas de SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38 SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43

En otra divulgación preferente, una o más proteína FMO comprende al menos una variante funcionalmente equivalente de una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 95% de identidad con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38 SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43..

En otra divulgación preferente, en donde una o más proteína FMO comprende al menos una variante funcionalmente equivalente de una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 90% de identidad con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38 SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43.

En otra divulgación preferente, una o más proteína FMO comprende al menos una variante funcionalmente equivalente de una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 80% de identidad con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38 SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43.

En otra divulgación preferente, en donde una o más proteína FMO comprende al menos una variante funcionalmente equivalente de una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 70% de identidad con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38 SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43

En otra divulgación preferente, una o más proteína FMO comprende al menos una variante funcionalmente equivalente de una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 60% de identidad con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38 SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43.

En otra realización preferente, una o más proteína FMO comprende al menos una variante funcionalmente equivalente de una secuencia de aminoácidos que tiene al menos el 50% de identidad con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38 SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43.

"Variante funcionalmente equivalente ", se entiende que quiere decir todas aquellas proteínas derivadas de la secuencia de FMO por la modificación, inserción y/o deleción de uno o más aminoácidos, siempre que la función se mantenga sustancialmente, en particular la capacidad de generar TMAO a partir de TMO (trimetilamina).

Otra divulgación proporciona un método para la producción de un producto, aquí el método para la producción de un producto, que comprende: a) cultivar una planta que comprende la molécula de ácido nucleico divulgada en la presente memoria, un casete de expresión de ADN como se divulga en la presente memoria, o un vector que comprende el casete de expresión, o que comprende una célula que comprende la molécula de ácido nucleico, el casete de expresión, o el vector o es obtenible por el método de la divulgación; b) producir el producto a partir de o por la planta y/o parte, o semillas de la planta.

Otra divulgación es el método para la producción de un producto, que comprende: a) cultivar una planta que comprende la molécula de ácido nucleico, un casete de expresión de ADN, o un vector que comprende el casete de expresión, o que comprende una célula que comprende la molécula de ácido nucleico, el casete de expresión, o el vector o es obtenible por el método y retirar la planta, parte de planta, planta transgénica, o semilla transgénica ; y b) producir el producto de o por la planta, parte de planta, planta transgénica, o semilla transgénica de la planta.

Como se utiliza en la presente memoria "epitopo" se entiende que quiere decir las regiones de un antígeno que determinan la especificidad de los anticuerpos (el determinante antigénico). Por consiguiente, un epitopo es la porción de un antígeno que realmente entra en contacto con el anticuerpo.

Tales determinantes antigénicos son aquellas regiones de un antígeno contra las que los receptores de células T reaccionan y, como consecuencia, producen anticuerpos que se unen específicamente al determinante antigénico/epitopo de un antígeno. En consecuencia, los antígenos, o sus epitopos, son capaces de inducir la respuesta inmune de un organismo con la consecuencia de la formación de anticuerpos específicos que están dirigidos contra el epitopo. Los epitopos consisten por ejemplo en secuencias lineales de aminoácidos en la estructura primaria de las proteínas, o de estructuras de proteínas terciarias o secundarias complejas. Se entiende que un hapteno quiere decir un epitopo que se disocia del contexto del entorno antígeno. Aunque haptenos tienen por definición un anticuerpo dirigido contra ellos, los haptenos, bajo ciertas circunstancias, no son capaces de inducir una respuesta inmune en un organismo, por ejemplo, después de una inyección. Para este fin, los haptenos se acoplan a las moléculas portadoras. Un ejemplo que se puede mencionar es dinitrofenol (DNP), que, después del acoplamiento a BSA (albúmina de suero bovino), se ha utilizado para generar anticuerpos que se dirigen contra DNP (Bohn, A., König, W. (1982), *Immunology* 47 (2), 297).

Los haptenos son sustancias (sustancias con frecuencia de bajo peso molecular o sustancias pequeñas) que, si bien ellas mismas no activan la respuesta inmune, de hecho, desencadenarán una respuesta cuando se acopla a un vehículo molecular grande. Los anticuerpos generados de ese modo también incluyen los que pueden unirse al hapteno solo.

Otra divulgación se refiere a un anticuerpo contra un polipéptido de proteína FMO como se describe, en particular a un anticuerpo monoclonal que se une al polipéptido FMO que comprende una secuencia de aminoácidos o consiste en la misma, como se muestra en la secuencia que se muestra en SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43.

Estos anticuerpos pueden ser utilizados para identificar y aislar polipéptidos divulgados en el presente documento, de organismos, incluyendo plantas, tal como plantas monocotiledóneas, así como plantas dicotiledóneas. Los anticuerpos pueden ser monoclonales, policlonales o sintéticos por naturaleza o además consistir en fragmentos de anticuerpo tal como fragmentos Fab, Fv o scFv, que se forman por la degradación proteolítica. Los fragmentos Fv de "cadena sencilla" (scFv) son fragmentos de cadena sencilla que, unidos a través de una secuencia enlazadora flexible, sólo comprenden las regiones variables de las cadenas de anticuerpos ligera y pesada. Tales fragmentos scFv también se pueden producir como derivados de anticuerpos recombinantes. Una presentación de tales fragmentos de anticuerpos en la superficie de fagos filamentosos hace posible la selección directa, a partir de genotecas de fagos combinatorios, de moléculas de scFv que se unen con alta afinidad. Los anticuerpos monoclonales se pueden obtener según el método descrito por Köhler y Milstein in *Nature* 256, 495 (1975).

Cribar genotecas de ADNc o genotecas genómicas de otros organismos, incluyendo la planta y organismos fotosintéticos mencionados en la presente memoria, que son apropiados como huéspedes de transformación, utilizando las secuencias de ácidos nucleicos que se describen en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44; o partes de las mismas como sonda es también un método conocido por los expertos para identificar homólogos en otras especies. En este contexto, las sondas obtenidas de la secuencia de ácido nucleico como se muestra en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44; tienen una longitud de al menos 20 bp, o al menos 50 bp, o al menos 100 bp, o al menos 200 bp, o al menos 400 bp. La sonda también puede tener una longitud de una o más kilobases, por ejemplo, 1 kb, 1,5 kb o 3 kb. Una hebra de ADN que es complementaria a las secuencias descritas en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44 o un fragmento de la misma hebra con una longitud de entre 20 bp y varias kilobases también puede emplearse para el cribado de genotecas.

En una divulgación adicional, las secuencias que codifican las proteínas FMO puede hibridarse en condiciones estándar con las moléculas de ácidos nucleicos descritas por SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44; y que codifican las proteínas FMO, con las moléculas de ácido nucleico que son complementarias a las anteriores o con partes de las anteriores y que, como las secuencias completas, codifican polipéptidos que esencialmente tienen propiedades idénticas, propiedades funcionales preferentes, respecto de los polipéptidos descritos en SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42 o SEQ ID NO: 43 también pueden usarse.

Como se utiliza en la presente memoria "condiciones de hibridación estándar" se ha de entender en el sentido amplio y significa, dependiendo de la aplicación, condiciones de hibridación rigurosas o de lo contrario menos rigurosas. Tales condiciones de hibridación se describen, entre otras, en Sambrook J, et al. 1989, páginas 9.31 a 9.57 o en *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, N. y. (1989), 6.3.1 a 6.3.6. Los expertos en la materia, basándose en sus conocimientos técnicos, elegirían las condiciones de hibridación que les permitan diferenciar entre hibridaciones inespecíficas y específicas.

Por ejemplo, las condiciones durante la etapa de lavado se pueden seleccionar entre condiciones de baja rigurosidad (con aproximadamente 2\*SSC a 50°C) y condiciones de alta rigurosidad (con aproximadamente 0,2\*SSC a 50°C, preferentemente a 65°C) (20\*SSC: citrato de sodio 0,3 M, NaCl 3 M, pH 7,0). Además, la temperatura durante la etapa de lavado se puede elevar desde condiciones de baja rigurosidad a temperatura ambiente, aproximadamente 22°C, a condiciones de mayor rigurosidad a aproximadamente 65°C. Los dos parámetros, la

temperatura y la concentración de sal, se pueden variar de forma simultánea o al contrario por separado, manteniendo en cada caso el otro parámetro constante. Durante la hibridación, es posible emplear agentes desnaturizantes tales como, por ejemplo, formamida o SDS. En presencia de formamida al 50% la hibridación se lleva a cabo preferentemente a 42°C. Algunos ejemplos de condiciones preferidas para la etapa de hibridación y de lavado se detallan en la presente memoria a continuación:

Las condiciones de hibridación pueden seleccionarse, por ejemplo, entre las siguientes condiciones:

- 4\*SSC a 65°C,
- 6\*SSC a 45°C,
- 6\*SSC, 100 [ $\mu$ ]g/ml de ADN de esperma de pescado fragmentado desnaturizado a 68°C,
- 6\*SSC, SDS al 0,5%, 100 [ $\mu$ ]g/ml de ADN de esperma de salmón desnaturizado a 68°C,
- 6\*SSC, SDS al 0,5%, 100 [ $\mu$ ]g/ml de ADN de esperma de salmón fragmentado desnaturizado, formamida al 50% a 42°C,
- formamida al 50%, 4\*SSC a 42°C,
- formamida al 50% (vol/vol), seroalbúmina bovina al 0,1%, Ficoll al 0,1%, polivinilpirrolidona al 0,1%, tampón fosfato de sodio 50 mM pH 6,5, NaCl 750 mM, citrato de sodio 75 mM a 42°C,
- 2\* o 4\*SSC a 50°C (condición de baja rigurosidad),
- formamida del 30 al 40%, 2\* o 4\*SSC a 42°C (condición de baja rigurosidad), o
- tampón fosfato de sodio 500 mM pH 7,2, SDS al 7% (g/v), EDTA 1 mM, ADN monocatenario 10 [ $\mu$ ]g/ml, BSA al 0,5% (g/v) (véase Church and Gilbert, *Proc. Natl. Acad. Science. U.S.A* 81: 1991 (1984))

(2) Las etapas de lavado se pueden seleccionar, por ejemplo, entre las siguientes condiciones:

- a) NaCl 0,015 M/citrato de sodio 0,0015 M/SDS al 0,1% a 50°C,
- b) 0,1\*SSC a 65°C,
- c) 0,1\*SSC, SDS al 0,5% a 68°C,
- d) 0,1\*SSC, SDS al 0,5%, formamida al 50% a 42°C,
- e) 0,2\*SSC, SDS al 0,1% a 42°C, o
- f) 2\*SSC a 65°C (condición de baja rigurosidad).

Otros ejemplos de condiciones de hibridación se seleccionan según lo presentado a continuación:

Se elige un tampón de hibridación que comprende formamida, NaCl y PEG 6000. La presencia de formamida en el tampón de hibridación desestabiliza las moléculas de ácidos nucleicos bicatenarios, por lo cual la temperatura de hibridación se puede bajar a 42°C sin reducir de ese modo la rigurosidad. El uso de la sal en el tampón de hibridación aumenta la velocidad de renaturalización de un dúplex de ADN, en otras palabras, la eficiencia de hibridación. Si bien el PEG aumenta la viscosidad de la solución, que tiene un efecto negativo en las tasas de renaturalización, la presencia del polímero en la solución aumenta la concentración de la sonda en el medio restante, lo que aumenta la velocidad de hibridación. La composición del tampón es:

Tampón de hibridación:  
 tampón fosfato de sodio 250 mM pH 7,2  
 EDTA 1 mM  
 SDS al 7% (g/v)  
 NaCl 250 mM  
 ADNmc 10 [ $\mu$ ]g/ml  
 polietilenglicol (PEG) 6000 al 5%  
 formamida al 40%

Las hibridaciones se llevan a cabo durante aproximadamente 12 horas a 42°C, durante la noche, por ejemplo. Los filtros se lavan a continuación 3\* con 2\*SSC + SDS al 0,1% durante en cada caso aproximadamente 10 minutos.

Como se utiliza en la presente memoria la "modificación" de las secuencias de nucleótidos o secuencias de aminoácidos comprende mutarlos, o mutaciones. A los efectos que se describen en la presente memoria, se entiende que las "mutaciones" son la modificación de la secuencia de ácidos nucleicos de una variante del gen en un plásmido o en el genoma de un organismo. Las mutaciones se pueden generar por ejemplo como consecuencia de errores durante la replicación, o por medio de mutágenos. La tasa de mutación espontánea en el genoma de la célula de los organismos es muy baja, sin embargo, los expertos en la materia conocen una multiplicidad de mutágenos biológicos, químicos o físicos y métodos para la mutación de secuencias de nucleótidos de forma dirigida o al azar, y por lo tanto, en última instancia potencialmente también para la modificación de la secuencias de aminoácidos que codifican.

Las mutaciones comprenden sustituciones, adiciones, supresiones o de uno o más residuos de ácido nucleico. Se entiende que las sustituciones son el intercambio de bases de ácidos nucleicos individuales, en donde se distingue entre transiciones (sustitución de una base de purina por una base de purina, y de una base de pirimidina por una

base de pirimidina) y transversiones (sustitución de una base de purina por una base de pirimidina, o viceversa).

Se entiende que la adición o inserción quiere decir la incorporación de residuos de ácidos nucleicos adicionales en el ADN, lo que puede dar lugar a cambios de marco de lectura. En el caso de tales desplazamientos del marco de lectura, se distingue entre inserciones/adiciones en marco e inserciones fuera del marco. En el caso de las inserciones/adiciones en marco, el marco de lectura se conserva, y se forma un polipéptido que se alarga por el número de los aminoácidos codificados por los ácidos nucleicos insertados. En el caso de inserciones/adiciones fuera del marco, el marco de lectura original se pierde, y la formación de un polipéptido funcional y completo en muchos casos ya no es posible, lo cual por supuesto depende del sitio de la mutación.

Las deleciones describen la pérdida de uno o más pares de bases, que conduce igualmente a cambios de marco de lectura en marco o fuera del marco y las consecuencias que esto conlleva en lo que respecta a la formación de una proteína intacta.

Los expertos en la materia estarán familiarizados con los agentes mutagénicos (mutágenos) que se pueden utilizar para generar mutaciones al azar o dirigidas y tanto con los métodos como con las técnicas que se pueden emplear. Tales métodos y mutágenos se describen por ejemplo en van Harten AM ("*Mutation breeding: theory and practical applications*", Cambridge University Press, Cambridge, Reino Unido (1998)), Friedberg E., G. Walker, Siede W. ("*DNA Repair and Mutagenesis*", Blackwell Publishing (1995)), o Sankaranarayanan K., Gentile J.M., Ferguson L.R. ("*Protocols in Mutagenesis*", Elsevier Health Sciences (2000)).

Los métodos y procesos habituales de la biología molecular tales como, por ejemplo, el kit de mutagénesis *in vitro*, "LA PCR *in vitro* Mutagenesis Kit" (Takara Shuzo, Kyoto), o mutagénesis por PCR usando cebadores adecuados, se puede emplear para introducir mutaciones dirigidas.

Como se ha mencionado anteriormente, existe una multiplicidad de mutágenos químicos, físicos y biológicos. Los mencionados en la presente memoria a continuación se dan a modo de ejemplo, pero no por limitación.

Los mutágenos químicos se pueden dividir según su mecanismo de acción. De ese modo, existen análogos de base (por ejemplo, 5-bromouracilo, 2-aminopurina), agentes alquilantes mono y bifuncionales (agentes monofuncionales tales como etil metil sulfonato, sulfato de dimetilo, o agentes bifuncionales tales como dicloroetil sulfito, mitomicina, nitrosamina nitrosoguanidina-dialquilo, derivados de N-nitrosoguanidina) o sustancias intercalantes (por ejemplo, acridina, bromuro de etidio).

Los ejemplos de mutágenos físicos son las radiaciones ionizantes. Las radiaciones ionizantes son ondas electromagnéticas o radiaciones corpusculares que son capaces de ionizar moléculas, es decir de eliminar electrones de las mismas. Los iones que permanecen son en la mayoría de los casos altamente reactivos de manera que, en caso de que se formen en el tejido vivo, son capaces de infligir un gran daño, por ejemplo, al ADN y por lo tanto inducir mutaciones (a baja intensidad). Los ejemplos de las radiaciones ionizantes son la radiación gamma (energía de fotones de aproximadamente un megaelectronvoltio MeV), radiación de rayos X (energía de fotones de varios o muchos kiloelectronvoltios de keV) o también luz ultravioleta (luz UV, energía de fotones de más de 3,1 eV). La luz UV provoca la formación de dímeros entre bases, los dímeros de timidina son los más comunes, y estos dan lugar a las mutaciones.

Los ejemplos de la generación de mutantes mediante el tratamiento de las semillas con agentes mutagenizantes puede incluir etil metil sulfonato (EMS) (Birchler, J. A. y Schwartz, D., *Biochem. Genet.* 17 (11-12), 1173 (1979); Hoffmann, G. R., *Mutat. Res.* 75 (1), 63 (1980)) o radiación ionizante se ha añadido ahora el uso de mutágenos biológicos, por ejemplo, transposones (por ejemplo, Tn5, Tn903, Tn916, Tn1000, May B. P. et al., *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 100 (20), 11541 (2003)) o métodos biológicos moleculares tal como la mutagenesis por inserción de ADN-T (Feldman, K. A., *Plant Journal* 1, 71 (1991), Koncz, C., et al., *Plant Mol. Biol.* 20: 963-76 (1992)).

Para generar variantes de genes mutados, se pueden utilizar mutágenos químicos o biológicos. Entre los agentes químicos, se prefiere especialmente generar mutantes mediante el uso de mutagénesis por EMS (etil metil sulfonato). Entre la generación de mutantes que utilizan mutágenos biológicos, se puede utilizar la mutagénesis de ADN-T o la mutagénesis de transposón.

De ese modo, por ejemplo, es posible emplear polipéptidos en los métodos que se describen en la presente memoria, que se obtienen como resultado de una mutación de una secuencia de nucleótidos tal como SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44.

Como se utiliza en la presente memoria el término "recombinante" significa por ejemplo con respecto a una secuencia de ácidos nucleicos, un casete de expresión o un vector que comprende la secuencia de ácidos nucleicos o un organismo transformado con la secuencia de ácidos nucleicos, casete de expresión o vector, todas aquellas

5 construcciones u organismos que son el resultado de métodos recombinantes y en los que (a) la secuencia de ácidos nucleicos proteína FMO o (b) una secuencia de control genético, por ejemplo un promotor, que está operativamente ligado a la secuencia que codifica el ácido nucleico FMO, o (c) (a) y (b) no se encuentran en su entorno genético natural o han sido modificadas por métodos recombinantes, siendo posible que la modificación sea, por ejemplo, una sustitución, adición, eliminación o inserción de uno o más residuo/s de nucleótidos.

10 Medio genético natural significa el locus cromosómico natural en el organismo de origen, o la presencia en una genoteca genómica. En el caso de una genoteca genómica, el medio genético natural de la secuencia de ácido nucleico se retiene preferentemente al menos en parte. El medio flanquea la secuencia de ácido nucleico al menos de un lado y tiene una longitud de secuencia de al menos 50 pb, al menos 500 pb, al menos 1000 pb, al menos 5000 pb. Un casete de expresión de origen natural -por ejemplo, la combinación de origen natural del promotor constitutivo de proteína FMO con el gen de proteína correspondiente FMO - se convierte en un casete de expresión recombinante cuando éste se modifica por medio de métodos, sintético no naturales ("artificiales") tal como, por ejemplo, mutagenización. Se han descrito métodos adecuados (Patente Estadounidense No. 5.565.350, WO 00/15815).

15 Como se utiliza en la presente memoria, el término "transgénico" se refiere a un organismo, por ejemplo, una planta, célula de planta, callo, tejido de planta, o parte de planta que en forma exógena contiene el ácido nucleico, construcción recombinante, vector o casete de expresión que se describen en la presente memoria o una parte de los mismos que se introduce por procesos no esencialmente biológicos, preferentemente por transformación agrobacteriana. La construcción recombinante o parte de la misma se integra de forma estable en un cromosoma, de modo que se transmite a generaciones sucesivas por propagación clonal, propagación vegetativa o propagación sexual.

20 Una planta transgénica, célula de planta o tejido a los efectos de los métodos y productos aquí descritos de ese modo se entiende como que quiere significar un ácido nucleico exógeno FMO, construcción recombinante, vector o casete de expresión incluyendo uno o más ácidos nucleicos FMO es integrado en el genoma por medio de tecnología genética.

25 En otra preferente, dicha una o más secuencias que codifica la proteína FMO comprende al menos una molécula de ácido nucleico exógena que codifica al menos un polipéptido que comprende la secuencia como se muestra en SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38 SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43.

30 En otra divulgación preferente dicho una o más secuencias que codifica la proteína FMO comprende una molécula de ácido nucleico exógena que codifica un polipéptido en donde el polipéptido tiene al menos el 90% de identidad respecto de la secuencia como se muestra en SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38 SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43.

35 En otra divulgación preferente, dicho una o más secuencias que codifica la proteína FMO comprende una molécula de ácido nucleico exógena que codifica un polipéptido en donde el polipéptido tiene al menos el 80% de identidad respecto de la secuencia como se muestra en SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:10, SEQ ID NO:12, SEQ ID NO:14, SEQ ID NO:16, SEQ ID NO:18, SEQ ID NO:20, SEQ ID NO:22, SEQ ID NO:24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO:28, SEQ ID NO:30, SEQ ID NO:32, SEQ ID NO:34, SEQ ID NO:36, SEQ ID NO:38 SEQ ID NO:40, SEQ ID NO:42 y SEQ ID NO:43.

40 En otra divulgación preferente, dicha una o más secuencias que codifica la proteína FMO comprende una molécula de ácido nucleico exógena que comprende al menos un polipéptido en donde el polipéptido tiene al menos el 70% de identidad respecto de la secuencia como se muestra en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44.

45 El término ácido nucleico "exógeno" se refiere a un ácido nucleico que se ha introducido en una planta por medio de tecnología genética. Un ácido nucleico "exógeno" puede no estar presente en una planta en su forma natural, ser diferente del ácido nucleico en cuestión como se encuentra en una planta en su forma natural, o puede ser idéntico a un ácido nucleico que se encuentra en una planta en su forma natural, pero no integrado en su entorno genético natural. El significado correspondiente de "exógeno" se aplica en el contexto de la expresión de la proteína. Por ejemplo, una planta transgénica que contiene un transgén, es decir, un ácido nucleico exógeno, puede, en comparación con la expresión de los genes endógenos, encontrar un aumento sustancial de la expresión del gen respectivo o proteína en total. Una planta transgénica según los métodos y productos que se describen en la

presente memoria incluye un ácido nucleico exógeno FMO integrado en cualquier sitio genético y opcionalmente la planta también puede incluir el gen endógeno en la dotación genética natural.

En una divulgación, un método para aumentar la tolerancia al estrés por sequía en una planta u organismo puede incluir incrementar los niveles de TMAO incrementando la expresión de una proteína FMO o un fragmento funcional de la misma, o una variante de ajuste de la misma en la planta u organismo fotosintético, en donde la proteína FMO está codificada por (i) un ácido nucleico exógeno que tiene al menos el 50% de identidad, al menos el 60% de identidad, al menos el 70% de identidad de secuencia, al menos el 80 %, al menos el 90%, al menos el 95 %, al menos el 98%, al menos el 99% de identidad de secuencia, o aún el 100% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44 ; o una variante de ajuste de las mismas; (ii) un aminoácido exógeno que codifica una proteína que tiene al menos el 50% de identidad, al menos el 60%, al menos el 70% de identidad de secuencia, al menos el 80 %, al menos el 90%, al menos el 95 %, al menos el 98%, al menos el 99% de identidad de secuencia, o aún el 100% de identidad de secuencia con SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41, un fragmento funcional de la misma; la proteína codificada confiere tolerancia al estrés por sequía respecto de las plantas de control; (iii) un ácido nucleico exógeno capaz de hibridar en condiciones rigurosas con una secuencia complementaria de cualquiera de los ácidos nucleicos según (i) o (ii); que codifica una proteína FMO; en donde la molécula de aminoácido codifica un polipéptido que tiene propiedades esencialmente idénticas al polipéptido que se describe en SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 10, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 14, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 22, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 39; SEQ ID NO: 41; la proteína codificada confiere tolerancia mejorada al estrés por sequía respecto a las plantas control; y/o por (iv) un ácido nucleico exógeno que codifica la misma proteína FMO que cualquiera de los ácidos nucleicos de (i) a (iii) anteriormente, pero que difiere de los ácidos nucleicos de (i) a (iii) anteriormente debido a la degeneración del código genético es una divulgación adicional.

El incremento de la tolerancia al estrés por sequía en la planta u organismo fotosintético también puede obtenerse mediante la manipulación de la expresión de la propia proteína de planta, es decir la proteína endógena, que corresponde a la proteína, o de una secuencia de nucleótidos endógena, que constituye una secuencia, y que puede comprender también la región 5'- y 3'-UTR. Es, entonces, una secuencia de nucleótidos o péptidos endógena que media un aumento de la tolerancia al estrés por sequía o es una secuencia de aminoácidos que codifica dicha proteína. Esta manipulación se puede lograr mediante cualquier modificación de la secuencia, a menudo una mutación, pero también por ejemplo mediante una modificación de la secuencia de ADN promotora del gen que codifica la proteína. Dicha modificación, que resulta en una tasa de expresión aumentada modificada del gen endógeno, se puede efectuar por medio de la delección o inserción de secuencias de ADN. Como regla general, una modificación de la región 5'-UTR en total, y/o de la secuencia promotora de genes endógenos dará lugar a una modificación de la cantidad expresada del gen y/o la función del producto génico o gen expresado, y por lo tanto también a una modificación de la actividad que se puede detectar en la célula o en las plantas. La modificación de la región 5'-UTR en total, y/o de la secuencia promotora del gen endógeno también puede conducir a una modificación de la cantidad de, y/o la función de, una proteína en la célula. Sírvase tener en cuenta que un aumento en la función o expresión se entiende que quiere decir en el presente documento, la mejora o activación de la expresión o función de la proteína endógena, incluyendo una expresión nueva, aumento de la actividad de la proteína, y una mejora o aumento por la expresión de una proteína transgénica o un factor.

Otro método para incrementar la actividad y contenido de la proteína endógena puede incluir aumentar los factores de transcripción que están implicados en la transcripción del gen endógeno correspondiente, por ejemplo, por medio de la sobreexpresión. Los medios para sobreexpresar los factores de transcripción son conocidos por el experto en la materia y se describen también para las proteínas en el contexto de la presente divulgación.

Además, un aumento de la expresión del gen endógeno como se describe en la presente memoria se puede alcanzar por una proteína reguladora, que no está presente en el organismo no transformado, que interactúa con el promotor de estos genes. Tal regulador puede tomar la forma de una proteína química que consiste en un dominio de unión a ADN y un dominio activador de la transcripción, como se describe por ejemplo en el documento WO 96/06166.

La secuencia de ADNc que codifica la proteína (o el ARNm incluyendo la/s secuencia/s UTR) para la expresión en una célula de una planta u organismo fotosintético que, tras la expresión del ADN en ARN y la transcripción del ARN para producir un péptido codificado o polipéptido, mejora la capacidad de la planta u organismo fotosintético o célula de planta para soportar un estrés biótico o abiótico, o mejora el valor o rendimiento de la planta u organismo fotosintético, o un cultivo o producto producido a partir de la planta u organismo fotosintético.



La introducción en una planta u organismo de un casete de expresión que comprende, por ejemplo, la proteína FMO (SEQ ID NO: 1-44) en un organismo fotosintético o células de planta, tejido de planta, órganos de planta tal como cloroplasto, partes o semillas de las mismas ventajosamente puede llevarse a cabo utilizando vectores que comprenden casetes de expresión. El casete de expresión puede introducirse en el vector (por ejemplo, el vector pROK2, o el vector pCAMBIA) a través de un sitio de escisión de restricción adecuado. El plásmido obtenido se introduce primero en células de *E. coli*. Las células de *E. coli* transformadas se seleccionan correctamente, se cultivan y se obtiene el plásmido recombinante usando métodos con los que el experto está familiarizado. Pueden utilizarse análisis de restricción y secuenciación para verificar la etapa de clonación.

Los vectores pueden tomar la forma de, por ejemplo, plásmidos, cósmidos, fagos, virus o más agrobacterias y se pueden introducir por medio de vectores plásmidos. Los ejemplos de vectores son las que hacen posible una integración estable del casete de expresión en el genoma huésped.

Están disponibles una variedad de métodos (Keown et al., *Métodos in Enzymology* 185, 527(1990)) para la introducción de una construcción deseada en una planta u organismo, que se denomina transformación (o transducción o transfección). De ese modo, el ADN o ARN puede introducirse, por ejemplo, directamente por medio de microinyección o por bombardeo con micropartículas recubiertas con ADN. También, es posible permeabilizar químicamente la célula, por ejemplo, utilizando polietilenglicol, de manera que el ADN pueda alcanzar la célula por difusión. El ADN también puede introducirse en la célula por medio de la fusión de protoplastos con otras unidades que comprenden ADN tal como minicélulas, células, lisosomas o liposomas. Un método adecuado adicional de introducción de ADN es la electroporación, donde las células se permeabilizan en forma reversible por medio de un impulso eléctrico. Los ejemplos de dichos métodos se han descrito en Bilang et al., *Gene* 100, 247 (1991); Scheid et al., *Mol. Gen. Genet.* 228, 104 (1991); Guerche et al., *Plant Science* 52, 111 (1987); Neuhauser et al., *Theor. Appl. Genet.* 75, 30 (1987); Klein et al., *Nature* 327, 70(1987); Howell et al., *Science* 208, 1265 (1980); Horsch et al., *Science* 227, 1229 (1985); DeBlock et al., *Plant Physiology* 91, 694 (1989); "*Methods for Plant Molecular Biology*" (Weissbach y Weissbach, eds.) Academic Press Inc. (1988); y "*Methods in Plant Molecular Biology*" (Schuler y Zielinski, eds.) Academic Press Inc. (1989).

En las plantas, los métodos anteriormente descritos para la transformación y regeneración de plantas a partir de tejido de planta o células de planta se explotan para los fines de transformación transitoria o estable. Los métodos adecuados son principalmente transformación de protoplastos por medio de absorción de ADN inducida por polietilenglicol, el método biolístico con cañón de genes, conocido como el método de bombardeo de partículas, electroporación, incubación de embriones secos en solución que comprende ADN y microinyección.

La transformación también se puede efectuar por infección bacteriana por medio de *Agrobacterium tumefaciens* o *Agrobacterium rhizogenes*. Los métodos se describen por ejemplo en Horsch et al. *Science* 225, 1229 (1985).

Si se utilizan agrobacterias para la transformación, el casete de expresión puede estar integrado en plásmidos específicos, que pueden ser o bien un servicio de transporte o un vector intermedio o un vector binario. Si se utiliza un plásmido Ti o Ri para la transformación, al menos el borde derecho, pero en la mayoría de los casos tanto el borde derecho como el izquierdo, del ADN-T de plásmido Ti o Ri como región flanqueante está vinculado con el casete de expresión a ser introducido.

Los vectores binarios son capaces de replicarse en una variedad de organismos incluyendo, pero sin limitarse a *E. coli* y en *Agrobacterium*. Como regla general, comprenden un gen marcador de selección y un enlazador o polienlazador flanqueado por la secuencia de borde de ADN-T derecho e izquierdo. Se pueden transformar directamente en *Agrobacterium* (Holsters et al., *Mol. Gen. Genet.* 163, 181 (1978)). El gen marcador de selección, por ejemplo, el gen *nptII*, que media la resistencia a kanamicina, permite que la agrobacteria se seleccione. El *Agrobacterium* que, en el presente caso, actúa como el organismo huésped ya debe comprender un plásmido Ti auxiliar con la región vir, que es necesaria para la transferencia del ADN-T a la célula de la planta. Un *agrobacterium* transformado de ese modo puede ser utilizado para transformar las células de planta. Se ha estudiado el uso de ADN-T para la transformación de las células de planta y se describe en gran detalle (documento EP 120 516; Hoekema, in "The Binary Plant Vector System", *Offsetdrukkerij Kanters B. V.*, Alblisserdam, Capítulo V; An et al. *EMBO J.* 4, 277 (1985)). Se conocen varios vectores binarios y en algunos casos están disponibles en el mercado, tal como, por ejemplo, pBI101.2 o pBIN19 (Clontech Laboratories, Inc. USA).

En el caso de que el ADN o ARN se inyecte o someta a electroporación en las células de planta, no es necesario que el plásmido utilizado cumpla requisitos particulares. Pueden utilizarse plásmidos sencillos tal como los de la serie pUC. Si se deben regenerar plantas intactas a partir de células transformadas, es necesario que un gen marcador de selección adicional esté ubicado en el plásmido.

Las células transformadas de forma estable, es decir aquellas que comprenden el ADN introducido integrado en el ADN de la célula huésped, se pueden distinguir de las células no transformadas cuando un marcador de selección es constituyente del ADN introducido (McCormick et al, *Plant Cell Reports* 5, 81 (1986)). Por ejemplo, cualquier gen que sea capaz de mediar una resistencia a antibióticos o herbicidas (tal como kanamicina, G 418, bleomicina, higromicina o fosfotricina) puede actuar como un marcador. Las células transformadas que expresan dicho gen



5 marcador son capaces de sobrevivir en presencia de concentraciones de un antibiótico o herbicida adecuado que destruye un tipo salvaje no transformado. Los ejemplos incluyen el gen *bar*, que media la resistencia al herbicida fosfotricina (Rathore et al., *Plant Mol. Biol.* 21 (5), 871 (1993)), el gen *nptII*, que media la resistencia a kanamicina, el gen *hpt*, que media la resistencia a higromicina, o el gen EPSP, que media la resistencia al herbicida glifosato. Las plantas resultantes se pueden reproducir e hibridar de la forma usual. Dos generaciones o más deben cultivarse con el fin de asegurar que la integración genómica es estable y hereditaria.

10 Métodos adicionales pueden describirse en Jones et al. ("Techniques for Gene Transfer", in "*Plantas transgénicas*", Vol. 1, *Engineering and Utilization*, editado por Kung S. D. y Wu R., Academic Press, páginas 128-143 (1993), y en Potrykus, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* 42, 205 (1991)). Es preferible clonar la construcción que debe expresarse en un vector que sea apropiado para transformar *Agrobacterium tumefaciens*, por ejemplo, en pBin 19 (Bevan et al., *Nucl. Acids Res.* 12, 8711 (1984)).

15 Cuando se ha generado una célula de planta transformada, se puede obtener una planta intacta usando métodos conocidos para un experto en la materia. Un ejemplo de un material de partida usado aquí son cultivos de callos. La formación de brotes y raíces a partir de esto como biomasa celular aún no diferenciada puede ser inducida de una manera conocida. Las plántulas obtenidas pueden ser plantadas y reproducirse.

20 Un experto en la materia también conoce métodos para regenerar parte de plantas y plantas intactas a partir de células de planta. Por ejemplo, se utilizan para este fin los métodos descritos por Fennell et al., *Plant Cell Rep.* 11, 567 (1992); Stoeger et al., *Plant Cell Rep.* 14, 273 (1995); Jahne et al., *Theor. Appl. Genet.* 89, 525 (1994).

25 Las moléculas recombinantes de ácido nucleico que se describen en la presente memoria comprenden los siguientes elementos en la orientación 5'-3': secuencias reguladoras de un promotor de que está activo en las células de planta, una secuencia de ADN en enlace operativo con la misma, en su caso, secuencias reguladoras que, en la célula de planta, pueden actuar como señales de transcripción, terminación y/o poliadenilación en vinculación operable con la misma.

30 En las construcciones de expresión/casetes de expresión recombinantes, una molécula de ácido nucleico cuya expresión (transcripción y, en su caso, traducción) genera una proteína FMO está en unión operativa con al menos un elemento de control genético (por ejemplo, un promotor) que asegura la sobreexpresión en las plantas. Si la construcción de expresión debe ser introducida directamente en la planta u organismo fotosintético y la proteína FMO generada en la misma en plantas u organismos fotosintéticos, entonces se prefieren elementos de control genético específicos de plantas (por ejemplo, promotores). Sin embargo, la proteína FMO también puede generarse en otros organismos o in vitro y entonces se introduce en la planta. En este contexto, se da preferencia a todos los elementos de control genético eucariotas o procariotas (por ejemplo, promotores) que permiten la sobreexpresión en la planta seleccionada en cada caso para la producción.

40 Se proporciona una construcción de vector recombinante o construcción/casete de expresión que comprende: (i) un ácido nucleico que tiene al menos el 50% de identidad, al menos el 60% de identidad, al menos el 70% identidad de secuencia, al menos el 80 %, al menos el 90%, al menos el 95 %, al menos el 98%, al menos el 99% identidad de secuencia, o incluso el 100% identidad de secuencia con SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44 ; o una variante de ajuste de las mismas; (ii) un aminoácido que codifica una proteína que tiene al menos el 50% de identidad, al menos el 60% de identidad, al menos el 70% de identidad de secuencia, al menos el 80 %, al menos el 90%, al menos el 95 %, al menos el 98%, al menos 99% de identidad de secuencia, o incluso el 100% de identidad de secuencia con SEQ ID NOs: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 39 o 41; la proteína codificada confiere tolerancia mejorada al estrés por sequía respecto de las plantas control; (iii) un ácido nucleico capaz de hibridar en condiciones rigurosas con una secuencia complementaria de cualquiera de los ácidos nucleicos según (i) o (ii); que codifica una proteína FMO; en donde la molécula de ácido nucleico codifica un polipéptido que tiene propiedades esencialmente idénticas respecto al polipéptido que se describe en SEQ ID NOs: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 39 o 41; la proteína codificada confiere tolerancia mejorada al estrés por sequía respecto a las plantas control; y/o (iv) un ácido nucleico que codifica la misma proteína FMO que cualquiera de los ácidos nucleicos de (i) a (iii) anteriormente, pero que difieren de los ácidos nucleicos de (i) a (iii) anteriormente debido a la degeneración del código genético, operativamente ligado a (b) un promotor y (c) una secuencia de terminación de transcripción.

60 Las disposiciones son aquellas en las que la secuencia de ácido nucleico que se expresa de forma recombinante se coloca después de la secuencia que actúa como promotor, de modo que las dos secuencias están unidas covalentemente entre sí. En este contexto, la distancia entre la secuencia promotora y la secuencia de ácidos nucleicos que debe expresarse de forma recombinante es menor que 200 pares de base, o menos de 100 pares de base, o menos de 50 pares de base.

65 La generación de un enlace funcional y la generación de un casete de expresión puede llevarse a cabo por medio de recombinación habitual y técnicas de clonación como se describe por ejemplo in Sambrook J. (1989), en Silhavy T.

- J., Berman M. L. y Enquist L. W. "Experiments with Gene Fusions", Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor (N.Y.) (1984), en Ausubel F. M. et al., "Current Protocols in Molecular Biology", Greene Publishing Assoc. y Wiley Interscience (1987) y en Gelvin et al., en "Plant Molecular Biology Manual" (1990). Sin embargo, es posible posicionar, entre las dos secuencias, además secuencias que ejercen por ejemplo la función de un enlazador con sitios específicos de escisión de enzimas de restricción, o de un péptido de señal. La inserción de secuencias también puede llevar a la expresión de proteínas de fusión. Es preferible que el casete de expresión, que consiste en una unión de la secuencia promotora y secuencia de ácidos nucleicos que debe expresarse, pueda estar presente en forma de vector integrado y insertado en un genoma de planta genoma por, por ejemplo, transformación.
- 5 El método que se describe en la presente memoria ventajosamente se puede combinar con otros métodos que implican una resistencia a patógenos (por ejemplo, contra insectos, hongos, bacterias, nematodos y similares), tolerancia al estrés u otra mejora de las características de las plantas. Los ejemplos se mencionan entre otros en Dunwell J. M., *J. Exp. Bot.* 51, (Spec No) 487 (2000).
- 10 Las moléculas de ácidos nucleicos que se describen en la presente memoria pueden comprender moléculas de ácidos nucleicos que codifican proteínas FMO GS-OX5 de *Arabidopsis* según los polinucleótidos SEQ ID NO: 1, y las secuencias de ácidos nucleicos que son complementarias a la misma como se muestra en la Figura 2, y las secuencias que se obtienen debido a la degeneración del código genético, donde las moléculas de ácidos nucleicos no consisten en SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44. Las moléculas nucleicas que se describen en la presente memoria pueden comprender moléculas de ácidos nucleicos que codifican las proteínas FMO GS-OX3 de plantas de pepino según los polinucleótidos SEQ ID NOs: 5, 7, 9, 11, y las secuencias de ácidos nucleicos que son complementarias a la misma, y la secuencias que se obtienen debido a la degeneración del código genético, donde las moléculas de ácidos nucleicos no consisten en SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44.
- 15 Los casetes de expresión transgénicos también pueden desarrollarse para la expresión de proteínas FMO donde los casetes pueden comprender una de las secuencia de ácidos nucleicos molécula de ácido nucleico incluyendo pero sin limitarse a SEQ ID NO: 1 SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44; o un fragmento de las mismas. En los casetes de expresión transgénicos, la secuencia de ácidos nucleicos que codifican las proteínas FMO de *Arabidopsis* está ligada a al menos un elemento de control genético como se define anteriormente de tal manera que la expresión (transcripción y, si corresponde, traducción) puede efectuarse en cualquier organismo, habitualmente en plantas dicotiledóneas. Los elementos de control genético que son apropiados para este fin se describen más arriba. Los casetes de expresión transgénicos también pueden comprender otros elementos funcionales como se define anteriormente.
- 20 Dichos casetes de expresión pueden comprender una secuencia de ácido nucleico que esencialmente idéntica a una molécula de ácido nucleico como se muestra en SEQ ID No.:1 SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, SEQ ID NO: 11, SEQ ID NO: 13, SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 19, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 25, SEQ ID NO: 27, SEQ ID NO: 29, SEQ ID NO: 31, SEQ ID NO: 33, SEQ ID NO: 35, SEQ ID NO: 37, SEQ ID NO: 39, SEQ ID NO: 41 o SEQ ID NO: 44; o un fragmento de las mismas, donde la secuencia de ácido nucleico está en orientación sentido o en orientación antisentido respecto a un promotor y, por tanto, puede dar lugar a la expresión de ARN sentido o antisentido, siendo el promotor un promotor que está activo en plantas, habitualmente un promotor que puede ser inducido por el ataque de patógenos. También se proporcionan en el presente documento vectores transgénicos que abarcan los casetes de expresión transgénicos.
- 25 Un promotor es una región de ADN, que incluye secuencias suficientes para causar la transcripción de una secuencia asociada (posterior). El promotor puede estar regulado, es decir, no actuar constitutivamente para causar la transcripción de la secuencia asociada. Si es inducible, existen secuencias presentes en el mismo que median la regulación de la expresión de modo que la secuencia asociada se transcriba solo cuando una molécula inductora esté presente. El promotor puede ser cualquier secuencia de ADN que muestre actividad transcripcional en las células de planta elegidas, parte de plantas, o plantas. El promotor puede ser inducible o constitutivo. Puede ser de origen natural, puede estar compuesto por porciones de diferentes promotores de origen natural, o puede ser parcial o totalmente sintético. Además, la ubicación del promotor con relación al inicio de la transcripción se puede optimizar. Muchos promotores adecuados para su uso en plantas u organismos fotosintéticos son bien conocidos en la técnica, como lo son las secuencias de nucleótidos, que mejoran la expresión de una secuencia expresable asociada.
- 30 Una variedad de promotores puede utilizarse en los métodos que se describen en la presente memoria incluyendo un promotor inducible por sequía, un promotor de epidermis, un promotor específico de mesófilo, o un promotor inducido por estrés (por ejemplo, RD29 (Singh et al. *Plant Cell Rep* 30:1019–1028(2011)). El promotor puede

seleccionarse del grupo que consiste en un promotor inducido por: estrés osmótico, estrés por sequía, estrés por frío, estrés por calor, estrés oxidativo, deficiencia de nutrientes, infección por un hongo, infección por un oomiceto, infección por un virus, infección por una bacteria, infestación de nematodos, infestación de plagas, infestación de malezas, herbivoría.

5 Los promotores se pueden seleccionar basándose en el resultado deseado. Es decir, los ácidos nucleicos se pueden combinar con promotores constitutivos, preferentes de los tejidos o de otros promotores para la expresión en la célula huésped de interés. El promotor puede ser inducible o constitutivo. Puede ser de origen natural, puede estar compuesto por porciones de diferentes promotores de origen natural, o puede ser parcialmente o totalmente sintético. La guía para el diseño de los promotores es comúnmente conocida en la técnica. Además, la ubicación del promotor con relación al inicio de la transcripción se puede optimizar. Muchos promotores adecuados para uso en plantas son bien conocidos en la técnica, como lo son las secuencias de nucleótidos, que mejoran la expresión de una secuencia expresable asociada. Un ejemplo de una construcción de ADN con un promotor adecuado puede incluir una secuencia de nucleótidos en unión operativa con un promotor inducible por estrés o un promotor específico de la epidermis y/o mesófilo.

20 Promotores específicos de plantas significa, en principio, cualquier promotor que sea capaz de controlar la expresión de genes, en particular los genes foráneos en plantas o parte de plantas, células de planta, tejido de plantas, cultivos de plantas. Aquí, la expresión puede ser por ejemplo constitucional, inducible o dependiente del desarrollo.

En una divulgación preferente, el promotor es un promotor constitutivo, preferentemente un promotor inducible por estrés, más preferentemente un promotor inducible por estrés hídrico.

25 Como se utiliza en la presente memoria promotor "constitutivo" significa aquellos promotores que aseguran la sobreexpresión en numerosos tejidos durante un periodo de desarrollo de la planta relativamente largo, en todo momento durante el desarrollo de la planta. En particular, un promotor vegetal o un promotor obtenido de un virus de planta con los métodos que se describen en la presente memoria incluyendo, pero sin limitarse a la transcripción 35S del virus mosaico de la coliflor *CaMV* (Franck et al. *Cell* 21, 285 (1980); Odell et al. *Nature* 313, 810 (1985); Shewmaker et al. *Virology* 140, 281 (1985); Gardner et al. *Plant Mol Biol* 6, 221 (1986)) o el promotor 19S *CaMV* (Patente Estadounidense No. 5.352.606; WO 84/02913; Benfey et al. *EMBO J.* 8, 2195-2202 (1989)). Un promotor constitutivo apropiado adicional es el promotor de la subunidad pequeña rubisco (SSU) (Patente Estadounidense No. 4.962.028), el promotor de *Agrobacterium nopaline* sintasa, el promotor doble TR, el promotor *Agrobacterium* OCS (octopina sintasa), el promotor Ubiquitina (Holtorf S et al. *Plant Mol Biol* 29, 637 (1995)), el promotor Ubiquitina 1 (Christensen et al. *Plant Mol Biol* 18, 675 (1992); Bruce et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 86, 9692 (1989)), el promotor Smas, el promotor cinamil-alcohol dehidrogenasa (Patente Estadounidense No. 5.683.439), los promotores de subunidades vacuolar ATPase o el promotor de una proteína enriquecida en prolina de trigo (documento WO 91/13991), y otros promotores de genes cuya expresión constitutiva en plantas es conocida para los expertos incluyendo el promotor del gen nitrilasa-1 (nit1) de *A. thaliana* (No. de Acceso a GenBank: Y07648.2, Nucleotide 2456-4340, Hillebrand et al. *Gene* 170, 197 (1996)).

40 De ese modo, en una divulgación preferente, la sobreexpresión de una o más secuencias que codifican la proteína FMO en los métodos de la divulgación es una sobreexpresión constitutiva.

45 Los promotores específicos de semilla son, por ejemplo, el promotor de faseolina (Patente Estadounidense No. 5.504.200; Bustos et al. *Plant Cell* 1(9), 839 (1989)), del gen 2S albúmina (Joseffson et al. *J Biol Chem* 262, 12196 (1987)), de legumina (Shirsat et al. *Mol Gen Genet* 215(2), 326 (1989)), del USP (proteína de semilla desconocida; Bäumllein et al. *Mol Gen Genet* 225(3), 459 (1991)), del gen napin (Patente Estadounidense No. 5.608.152; Stalberg et al. *L Planta* 199, 515 (1996)), del gene que codifica la proteína de unión a sacarosa (documento WO 00/26388) o el promotor de legumina B4 (LeB4; Bäumllein et al. *Mol Gen Genet* 225, 121 (1991); Bäumllein et al. *Plant Journal* 2(2), 233 (1992); Fiedler et al. *Biotechnology* (NY) 13(10), 1090 (1995)), el promotor de oleosina de *Arabidopsis* (documento WO 98/45461), el promotor Bce4 de *Brassica* (documento WO 91/13980). Otros promotores específicos de semillas apropiados son los de los genes que codifican la glutenina de alto peso molecular (G-APM), gliadina, enzima de ramificación, ADP glucosa pirofosfatasa (AGPasa) o sintasa de almidón. Otros promotores pueden incluir aquellos que permiten la expresión específica de las semillas en monocotiledones tal como maíz, cebada, trigo, centeno, arroz, etc. Es posible y ventajoso emplear el promotor del gen *lpt2* o *lpt1* (documentos WO 95/15389, WO 95/23230) o los promotores que se describen en el documento WO 99/16890 (promotores del gen hordeína, del gen glutelina, del gen orizina, del gen prolamina, del gen gliadina, del gen zeína, del gen kasirina o del gen secalina).

60 Los promotores específicos de raíces, raíces de almacenamiento, o tubérculos, por ejemplo, el promotor clase I de patatina (B33) o el promotor del inhibidor de la catepsina D de patata

65 Los promotores específicos de hojas son, por ejemplo, el promotor de la FBPase citosólica de la patata (documento WO 97/05900), el promotor SSU (subunidad pequeña) del rubisco (ribulosa-1.5-bisfosfato carboxilasa) o el promotor ST-LSI de la patata (Stockhaus et al. *EMBO J.* 8, 2445 (1989)). Los promotores específicos de la epidermis son, por ejemplo, el promotor del gen OXLP ("proteína similar a oxalato oxidasa"; Wei et al. *Plant Mol. Biol.* 36, 101 (1998)) y

un promotor que consiste en el promotor GSTA1 y el intron WIR1a (documento WO 2005/035766) y el promotor GLP4 (documento WO 2006/1288832 PCT/EP 2006/062747).

Los ejemplos de otros promotores específicos de tejido son: promotores específicos de flores, por ejemplo, el promotor fitoeno sintasa (documento WO 92/16635) o el promotor del gen Prr (documento WO 98/22593) y promotores específicos de anteras, por ejemplo, el promotor 5126 (Patente Estadounidense No. 5.689.049, 5.689.051), el promotor glob-I y el promotor [gamma]-zeina.

Los casetes de expresión también pueden comprender un promotor químicamente inducible (artículo de revisión: Gatz et al *Annu Rev. Plant Physiol Plant Mol Biol* 48, 89 (1997)) a través del cual la expresión del gen exógeno en la planta puede ser controlado en un punto particular en el tiempo. De la misma manera también pueden utilizarse promotores de este tipo, tal como por ejemplo, el promotor PRP1 (Ward et al. *Plant Mol Biol* 22, 361 (1993)), un promotor inducible por ácido salicílico (documento WO 95/19443), un promotor inducible por bencenosulfonamida (documento EP 0 388 186), un promotor inducible por tetraciclina (Gatz et al. *Plant J* 2, 397 (1992)), un promotor inducible por ácido abscísico (documento EP 0 335 528) y un promotor inducible por etanol o ciclohexanona (documento WO 93/21334).

Los promotores inducibles por patógenos que hacen posible una expresión sólo cuando sea necesario (es decir en el caso de un ataque por patógenos). En una divulgación, el método por lo tanto utiliza promotores que están activos en plantas que son promotores inducibles por patógenos. Los promotores inducibles por patógenos comprenden los promotores de genes que se inducen como resultado del ataque de patógenos, tal como por ejemplo, genes de proteínas PR, proteínas SAR, [beta]-1,3-glucanasa, quitinasa, etc. (por ejemplo Redolfi et al. *Neth J Plant Pathol* 89, 245 (1983); Uknes, et al. *Plant Cell* 4, 645 (1992); Van Loon *Plant Mol Biol* 4, 111 (1985); Marineau et al. *Plant Mol Biol* 9, 335 (1987); Matton et al. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 2, 325 (1987); Somssich et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 83, 2427 (1986); Somssich et al. *Mol Gen Genetics* 2, 93 (1988); Chen et al. *Plant J* 10, 955 (1996); Zhang y Sing *Proc Natl Acad Sci USA* 91, 2507 (1994); Warner, et al. *Plant J* 3, 191 (1993); Siebertz et al. *Plant Cell* 1, 961 (1989)).

Un promotor adicional para la sobreexpresión de las proteínas FMO como se describe en la presente memoria puede incluir promotores inducibles por lesión tal como el del gen pinII (*Ryan Ann Rev Phytopath* 28, 425 (1990); Duan et al. *Nat Biotech* 14, 494 (1996)), del gen wun1 y wun2 (Patente Estadounidense No. 5.428.148), del gen win1 y win2 (Stanford et al. *Mol Gen Genet* 215, 200 (1989)), del gen systemin (McGurl et al. *Science* 225, 1570 (1992)), del gen WIP1 (Rohmeier et al. *Plant Mol Biol* 22, 783 (1993); Eckelkamp et al. *FEBS Letters* 323, 73 (1993)), del gen MPI (Corderok et al. *Plant J* 6(2), 141 (1994)) y similar.

Una fuente de otros promotores inducibles por patógenos puede incluir la familia de genes relacionados con la patogénesis (PR). Una serie de elementos en estos promotores han demostrado ser ventajosos. De ese modo, la región de nucleótidos del nucleótido -364 al nucleótido -288 en el promotor de PR-2d media la especificidad de salicilato (Buchel et al. *Plant Mol Biol* 30, 493 (1996)). En el tabaco, esta región se une a una proteína nuclear cuya abundancia se incrementa por salicilato. Los promotores PR-1 de tabaco y *Arabidopsis* (documentos EP-A 0 332 104, WO 98/03536) también son adecuados como promotores inducibles por patógenos. También son útiles, ya que son particularmente específicamente inducidos por patógenos, los promotores "PR-5 ácido" (aPR5) de cebada (Schweizer et al. *Plant Physiol* 114, 79 (1997)) y trigo (Rebmann et al. *Plant Mol Biol* 16, 329 (1991)). Las proteínas PR5 se acumulan en aproximadamente 4 a 6 horas después del ataque de patógenos y sólo muestran muy poca expresión de fondo (documento WO 99/66057). Un enfoque para obtener un incremento en la especificidad inducida por patógenos es la generación de promotores sintéticos a partir de combinaciones de elementos sensibles a patógenos conocidos (Rushton et al. *Plant Cell* 14, 749 (2002); documentos WO 00/01830; WO 99/66057). Otros promotores inducibles por patógenos de diferentes especies son conocidos para el experto (documentos EP-A 1 165 794; EP-A 1 062 356; EP-A 1 041 148; EP-A 1 032 684).

Otros promotores inducibles por patógenos comprenden el promotor Flachs Fis1 (documento WO 96/34949), el promotor Vst1 (Schubert et al. *Plant Mol Biol* 34, 417 (1997)) y el promotor sesquiterpeno ciclasa EAS4 de tabaco (Patente Estadounidense No. 6.100.451).

Otros promotores son los que son inducidos por estrés abiótico o biótico, tal como, por ejemplo, el promotor inducible por patógenos del gen PRP1 (o promotor gst1), por ejemplo, procedente de la patata (documento WO 96128561; Ward et al *Plant Mol Biol* 22, 361 (1993)), el promotor hsp70 o hsp80 inducible por calor del tomate (Patente Estadounidense No. 5.187.267), el promotor alfa-amilasa inducible por frío de la patata (documento WO 96/12814) y el promotor PPDK inducible por la luz o el promotor pinII inducible por lesión (documento EP-A 0 375 091).

En una divulgación, los métodos que se describen en la presente memoria emplean promotores específicos del tejido mesófilo tal como, por ejemplo, el promotor del gen germen de trigo 9f-3.8 (No. de Acceso a GenBank: M63224) o el promotor de cebada GerUn (documento WO 02/057412). Los promotores son particularmente ventajosos ya que ambos son inducibles por patógenos y específicos del tejido mesófilo. También es adecuado el promotor de *Arabidopsis* CAB-2 específico del tejido mesófilo (No. de Acceso a GenBank: X15222), y el promotor de

*Zea mays* PPCZm1 (No. de Acceso a GenBank: X63869) u homólogos de los mismos. Específico de tejido mesófilo significa que la transcripción de un gen está limitada a tan pocos tejidos de plantas como sea posible que comprenden el tejido mesófilo como resultado de la interacción específica de elementos en cis presentes en los factores de transcripción y la secuencia promotora que se unen a estos elementos; preferentemente, significa una transcripción que está limitada al tejido mesófilo.

Promotores específicos de mesófilo adicionales incluyen PPCZm1 (=PEPC; Kausch, *Plant Mol. Biol.* 45, 1 (2001)); OsrbcS (Kozuka et al., *Plant Phys.* 102, 991- (1993)); OsPPDK, acc. AC099041; TaGF-2.8, acc. M63223 (Schweizer, *Plant J.* 20, 541 (1999)); TaFBPase, acc. X53957; TaWIS1, acc. AF467542 (documento US 2002/115849); HvBIS1, acc. AF467539 (documento US 2002/115849); ZmMIS1, acc. AF467514 (documento US 2002/115849); HvPR1a, acc. X74939 (Bryngelsson et al., *Molecular Plant-Microbe Interactions* 7 (2), 267 (1994)); HvPR1b, acc. X74940 (Bryngelsson et al., *Molecular Plant-Microbe Interactions* 7 (2), 267 (1994)); HvB1.3gluc, acc. AF479647; HvPrx8, acc. AJ276227 (Kristensen et al., *Molecular Plant Pathology* 2 (6), 311(2001)); y HvPAL, acc. X97313 (Wei, *Plant Molecular Biology* 36, 101 (1998)).

Los ejemplos de promotores específicos de la epidermis son, por ejemplo, WIR5 (=GstA1), acc. X56012 (Dudler & Schweizer, no publicado); GLP4, acc. AJ310534 (Wei, *Plant Molecular Biology* 36, 101 (1998)); GLP2a, acc. AJ237942 (Schweizer, *Plant J.* 20, 541 (1999).); Prx7, acc. AJ003141 (Kristensen, *Molecular Plant Pathology* 2 (6), 311(2001)); GerA, acc. AF250933 (Wu, *Plant Phys. Biochem.* 38 o 685 (2000)); OsROC1, acc. AP004656; RTBV, acc. AAV62708, AAV62707 (Klötli, *PMB* 40, 249 (1999)) y Cer3 (Hannoufa, *Plant J.* 10 (3), 459 (1996)).

Los ejemplos de promotores adicionales adecuados para la expresión de las proteínas FMO incluyen promotores específicos de la maduración de la fruta tales como, por ejemplo, el promotor específico de la maduración de la fruta del tomate (documentos WO 94/21794, EP 409 625). Los promotores dependientes del desarrollo incluyen algunos de los promotores específicos de tejido debido a que el desarrollo de los tejidos individuales se produce naturalmente de una manera dependiente del desarrollo.

Los promotores constitutivos y específicos de hoja y/o tallo, inducible por patógeno, específico de raíz, específicos del tejido mesófilo se pueden usar con promotores constitutivos, inducibles por patógeno, específicos del tejido mesófilo y específicos de raíz.

Otra posibilidad para promotores adicionales que posibilitan la expresión en tejidos de plantas adicionales o en otros organismos tales como, por ejemplo, bacterias *E. coli* que están operativamente ligados a la secuencia de ácidos nucleicos por expresar o sobreexpresar. Todos los promotores descritos anteriormente en principio son adecuados como promotores de planta u organismo fotosintético.

Se describen otros promotores que son adecuados para la expresión en las plantas (Rogers et al. *Meth in Enzymol* 153, 253 (1987); Schardl et al. *Gene* 61, 1 (1987); Berger et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 86, 8402 (1989)).

Por otra parte, los expertos en la materia son capaces de aislar promotores adecuados adicionales por medio de métodos de rutina. De ese modo, los expertos en la técnica pueden identificar, por ejemplo, otros elementos de ácido nucleico regulatorio específico de la epidermis, con la ayuda de métodos habituales de biología molecular, por ejemplo, con experimentos de hibridación o con estudios de unión ADN-proteína. En la presente, una primera etapa implica, por ejemplo, el aislamiento del tejido deseado en el organismo deseado de las que se aíslan las secuencias regulatorias, a partir de la cual se aísla el ARN poli (A)+ total y se establece una genoteca de ADNc. En una segunda etapa, los clones de la primera genoteca cuyas correspondientes moléculas de ARN poli(A)+ solo se acumulan en el tejido deseado se identifican por medio de la hibridación con la ayuda de los clones de ADNc que se basan en las moléculas de ARN poli(A)+ provenientes de otro tejido. Luego, los promotores con elementos reguladores específicos de tejidos se aíslan con la ayuda de estos ADNc así identificados. Por otra parte, los expertos en la materia cuentan con otros métodos basados en PCR disponibles para el aislamiento de promotores específicos de tejido adecuados.

Las secuencias de ácidos nucleicos presentes en los vectores o casetes de expresión que se describen en la presente memoria pueden estar operativamente ligadas a otras secuencias de control genético además de un promotor. El término secuencias de control genético tiene un significado amplio y significa todas las secuencias que tiene una influencia en la aparición o la función de la molécula de ácido nucleico recombinante de la divulgación. Por ejemplo, las secuencias de control genético modifican la transcripción y traducción en los organismos procarionóticos o eucarióticos. Los casetes de expresión también pueden comprender un promotor con una especificidad 5'-anterior mencionada anteriormente a partir de la secuencia de ácidos nucleicos particular que se va a expresar en forma transgénica, y una secuencia terminadora como secuencia de control genético adicional 3'-posterior, y si es apropiado otros elementos regulatorios convencionales, en cada caso operativamente ligados a la secuencia de ácidos nucleicos para expresar en forma transgénica.

Las secuencias de control genéticas también comprenden, otros promotores, elementos promotores o promotores mínimos capaces de modificar las propiedades de control de la expresión. En consecuencia, es posible, por ejemplo, a través de las secuencias de control genético que se produzca adicionalmente la expresión específica de tejido en

forma dependiente de determinados factores de estrés adicionalmente. Los elementos correspondientes se describen, por ejemplo, para estrés hídrico, ácido abscísico (Lam E y Chua N H, *J Biol Chem* 266(26): 17131(1991)) y estrés por calor (Schoffl. F et al., *Molecular & General Genetics* 217(2-3): 246, 1989).

- 5 Es posible en principio usar todos los promotores naturales con sus secuencias regulatorias similares a las mencionadas anteriormente para el método de la divulgación. En forma adicional también es posible usar de modo ventajoso promotores sintéticos.

10 Las secuencias de control genético también comprenden las regiones no traducidas 5' (5'-UTR), intrones o región 3' no codificadora de genes tales como, por ejemplo, el intrón de actina 1, o los intrones de Adh1-S 1, 2 y 6 (generalmente: *The Maize Handbook*, Capítulo 116, Freeling y Walbot, Eds., Springer, New York (1994)). Se ha demostrado que estos pueden cumplir una función significativa en la regulación de la expresión génica. En consecuencia, se ha mostrado que las secuencias no traducidas 5' son capaces de aumentar la expresión transitoria de los genes heterólogos. Un ejemplo de un potenciador de la traducción que se puede mencionar es la secuencia líder 5' del virus del mosaico del tabaco (Gallie et al. *Nucl Acids Res* 15, 8693 (1987)) y similares. Además, se puede fomentar la especificidad del tejido (Rouster J et al. *Plant J* 15, 435 (1998)). Por ejemplo, es la 5'-UTR natural del gen AtFMO GS-OX5 o ZmFMO, sin embargo el uso del promotor de los métodos que se describen en la presente memoria induce los niveles de expresión más altos, por ejemplo, el estrés por sequía induce un aumento de tres veces en el nivel de expresión, en particular respecto de la secuencia de la SEQ ID NO: 1, 25, o una secuencia con al menos el 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95%, 97% o en particular el 99% o más identidad con esta. La molécula de ácido nucleico recombinante puede comprender de modo ventajoso una o más de las llamadas secuencias potenciadoras en unión operable con los promotores, lo que hace posible el aumento de la expresión transgénica de la secuencia de ácidos nucleicos. Las secuencias ventajosas adicionales tales como elementos regulatorios adicionales o terminadores también se pueden insertar en el extremo 3' de las secuencias de ácidos nucleicos para expresar en forma recombinante. Las secuencias de ácidos nucleicos para expresar en forma recombinante pueden estar presentes en una o más copias en la construcción del gen.

30 Las señales de poliadenilación adecuadas como secuencias de control son señales de poliadenilación de plantas puede incluir las que corresponden esencialmente a las señales de poliadenilación de T-ADN de *Agrobacterium tumefaciens*, en particular al gen 3 del T-ADN (octopina sintasa) del plásmido Ti pTiACHS (Gielen et al. *EMBO J* 3: 835 (1984)) o equivalentes funcionales de los mismos. Ejemplos de secuencias de terminación particularmente adecuados son el terminador OCS (octopina sintasa) y el terminador NOS (nopalina sintasa).

35 Las secuencias de control significan las secuencias que hacen la recombinación homóloga o inserción en el genoma de un organismo huésped posible o permiten la supresión del genoma. En la recombinación homóloga, por ejemplo, el promotor natural de un gen particular puede ser sustituido específicamente por un promotor con especificidad para la epidermis embrionaria y/o la flor.

40 Una molécula de ácido nucleico recombinante y un vector de la molécula pueden comprender otros elementos funcionales. El término elemento funcional tiene un significado amplio y significan todos los elementos que tienen una influencia sobre la producción, replicación o función de las moléculas de ácidos nucleicos, los vectores o los organismos transgénicos de la divulgación. Los ejemplos no restrictivos que se pueden mencionar son los marcadores de selección que confieren una resistencia a un inhibidor del metabolismo tal como 2-desoxiglucosa 6-fosfato (documento WO 98/45456), antibióticos o biocidas, herbicidas, por ejemplo, kanamicina, G 418, bleomicina, higromicina o fosfotricina. Los ejemplos que se pueden mencionar son: secuencias de ADN que codifican las fosfotricina acetiltransferasas (PAT), que inactivan inhibidores de la glutamina sintasa (gen de bar y pat), 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (genes de la EPSP sintasa) que confieren resistencia a glifosato (R) (N (fosfonometil) glicina), el gen *gox*, que codifica la enzima degradadora de glifosato (R) (glifosato oxidorreductasa), el gen *deh* (que codifican una deshalogenasa que inactiva dalapon), y genes *bxn* que codifican las enzimas nitrilasa que degradan bromoxinilo, el gen *aasa*, que confiere una resistencia al antibiótico espectinomina, el gen de la neomicina fosfotransferasa (SPT), que hace posible una resistencia a la estreptomina, el gen de la neomicina fosfotransferasa (NPTII), que confiere una resistencia a la kanamicina o geneticidina, el gen de higromicina fosfotransferasa (HPT), que media una resistencia a higromicina, el gen de acetolactato sintasa (ALS), que media la resistencia a herbicidas de sulfonilurea (por ejemplo, variantes de ALS mutadas con, por ejemplo, la mutación S4 y/o Hra), y el gen acetolactato sintasa (ALS), que media la resistencia a herbicidas de imidazolinona.

60 Los genes indicadores o marcadores seleccionables son genes que codifican proteínas fácilmente cuantificables y aseguran a través de un color intrínseco o actividad enzimática una evaluación de la eficiencia de transformación o la ubicación o tiempo de expresión incluyendo pero sin limitarse a proteínas indicadoras (Schenborn E. y Groskreutz D. *Mol Biotechnol.*; 13(1):29 (1999) tal como la proteína de fluorescencia verde (GFP) (Sheen et al. *Plant Journal* 8(5):777 (1995); Haselhoff et al *Proc Natl Acad Sci USA* 94(6):2122 (1997); Reichel et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 93(12):5888 (1996); Tian et al. *Plant Cell Rep* 16:267 (1997); WO 97/41228; Chui et al. *Curr Biol* 6:325 (1996); Leffel et al. *Biotechniques*. 23(5):912-8 (1997)), la cloranfenicoltransferasa, una luciferasa (Ow et al. *Science* 234:856 (1986); Millar et al. *Plant Mol Biol Rep* 10:324 (1992)), el gen aequorina (Prasher et al. *Biochem Biophys Res Commun* 126(3):1259 (1985)), la [beta]-galactosidasa, el gen del locus R (codifica una proteína que regula la producción de pigmentos antocianina (coloración roja) en el tejido de planta y de ese modo hace posible el análisis



directo de la actividad promotora sin la adición de los adyuvantes adicionales o sustratos cromogénicos; Dellaporta et al., IEn: *Chromosome Structure and Function: Impact of New Concepts, 18<sup>a</sup> Stadler Genetics Symposium*, 11:263, (1988), con [beta]-glucuronidasa (Jefferson et al., EMBO J., 6, 3901, 1987).

5 Los orígenes de replicación (ORI) que aseguran la replicación de los casetes o vectores de expresión pueden incluir por ejemplo E. coli. Los ejemplos que pueden mencionarse son ORI (origen de replicación del ADN), el ori de pBR322 o el ori de P15A (Sambrook et al.: 1989).

10 Los elementos que son necesarios para la transformación de la planta mediada por Agrobacterium, tal como, por ejemplo, el borde derecho o izquierdo del ADN-T o la región vir.

15 Para seleccionar las células transformadas con éxito, se requiere generalmente introducir un marcador de selección o seleccionable que confiere a las células transformadas con éxito una resistencia a un biocida (por ejemplo, un herbicida), un inhibidor del metabolismo tal como 2-desoxiglucosa 6-fosfato (documento WO 98/45456) o un antibiótico. El marcador de selección permite la selección de las células transformadas de las células no transformadas (McCormick et al Cell. Planta Reports 5:81 (1969)).

20 También se divulga una planta producida por el método de la divulgación. Como entiende el experto en la materia, dicha planta comprende la proteína FMO,

25 También se divulga un cultivo de tejido de células producidas a partir de la planta de la reivindicación 45, en donde dichas células del cultivo de tejido se producen a partir de una parte de planta elegida de hojas, polen, embriones, cotiledones, hipocotilo, células meristemáticas, raíces, ápices de raíz, pistilos, anteras, flores, y tallos. Como entiende el experto en la materia, dichas hojas, polen, embriones, cotiledones, hipocotilo, células meristemáticas, raíces, ápices de raíz, pistilos, anteras, flores, y tallos comprenden la proteína FMO.

En una divulgación preferente, dicha planta es una planta monocotiledónea o dicotiledónea.

30 Una divulgación adicional de la presente divulgación se refiere a plantas que, como resultado de procesos naturales o inducción artificial, comprenden una o más mutaciones en una molécula de ácido nucleico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos como se muestra en SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41 o 44, donde la mutación produce un incremento de la actividad, función o cantidad de polipéptido de uno de los polipéptido codificado por las moléculas de ácidos nucleicos como se muestra en las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41 o 44. Por ejemplo una mutación generada, e identificada, por TILLING.

35 Como consecuencia, otra divulgación puede incluir una planta que comprende una secuencia de ácidos nucleicos que comprende una mutación que produce, en las plantas o partes de la misma, un incremento de la actividad de una de las proteínas codificadas por las moléculas de ácidos nucleicos de la divulgación. Por ejemplo, las mutaciones involucran uno o más residuos de aminoácidos que son identificados en la secuencia de consenso en las figuras como conservados o muy conservados.

40 En consecuencia, una divulgación que se describe en la presente memoria proporciona una planta transgénica, parte de planta transgénica, o célula de planta transgénica que sobreexpresa una FMO exógena, incluyendo la proteína FMO sobreexpresada en la planta, parte de planta o célula de planta está codificada por (i) un ácido nucleico exógeno que tiene al menos el 50% de identidad con SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37 o 40, o una variante de ajuste de la misma; o por (ii) un aminoácido exógeno que codifica una proteína que tiene al menos el 50% de identidad con SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40 o 42, la proteína codificada confiere tolerancia mejorada al estrés por sequía respecto a las plantas control; (iii) un ácido nucleico exógeno capaz de hibridar en condiciones rigurosas con una secuencia complementaria de cualquiera de los ácidos nucleicos según (i) o (ii); que codifica una proteína FMO; en donde la molécula de aminoácido codifica un polipéptido que tiene propiedades esencialmente idénticas al polipéptido que se describe en SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40 o 42; la proteína codificada confiere tolerancia mejorada al estrés por sequía respecto a las plantas control; y/o por (iv) un ácido nucleico exógeno que codifica la misma proteína FMO que cualquiera de los ácidos nucleicos de (i) a (iii) anteriormente, pero que difiere de los ácidos nucleicos de (i) a (iii) anteriormente debido a la degeneración del código genético.

45 También se proporcionan en la presente memoria plantas transgénicas transformadas con al menos a) una secuencia de ácido nucleico que comprende las moléculas de ácidos nucleicos como se muestra en SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41 o 44; las secuencias de ácidos nucleicos que son complementarias a la misma, o la molécula de aminoácidos que codifica los polipéptidos como se muestra en SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42 o 43; b) un casete de expresión transgénico que comprende una de las secuencias de ácidos nucleicos, o un vector, y células, cultivos celulares, tejido, partes - tal como por ejemplo hojas, raíces y similar o material de propagación en el caso de

organismos de plantas – obtenidos de dichos organismos. Debe notarse que esta divulgación también puede incluir una planta distinta de *Arabidopsis thaliana*.

Los organismos huésped o microorganismos de partida, en el presente documento "organismos transgénicos" son plantas como se define anteriormente. En una divulgación, el organismo transgénico es una planta madura, semilla, brote y plántula, y partes, material de propagación y cultivos derivados de los mismos, cultivos de células, por ejemplo. Como se utiliza en la presente memoria, "planta madura" significa plantas en cualquier etapa de desarrollo más allá de la etapa de plántula. "Plántula" significa una planta inmadura joven en una etapa temprana de desarrollo. Las plantas que son particularmente preferidas como organismos huésped son plantas a las que puede aplicarse el método para obtener una tolerancia al estrés por sequía según los criterios mencionados anteriormente. En una divulgación, la planta es una planta dicotiledónea como se debate anteriormente. En otra divulgación, la planta es una planta monocotiledónea como se debate anteriormente. Los organismos transgénicos se pueden generar con los métodos que se describen anteriormente para la transformación o transfección de los organismos.

Otras divulgaciones que se describen en la presente memoria incluyen el uso de organismos transgénicos y células, cultivos celulares, partes - tal como, por ejemplo, raíces, hojas y similares, en el caso de los organismos transgénicos de plantas, y material de propagación transgénico tal como semillas o frutas para la preparación de alimentos o piensos para ganado, productos farmacéuticos o productos químicos finos. También se incluyen variedades de apilamiento en las que se combinan una pluralidad de rasgos ventajosos tal como rasgos clásicos de herbicidas mencionados anteriormente o genes con tolerancia a herbicidas, genes de resistencia a insectos dañinos, genes productores de sustancia antipatógena, rasgos mejorados en los ingredientes oleaginosos o rasgos que tienen contenido de aminoácidos de refuerzo.

Las partes de la planta transgénica también se proporcionan en el presente documento y comprenden el ácido nucleico FMO o proteína FMO. Las mismas pueden ser semillas, raíces, hojas y/o flores que comprenden el ácido nucleico FMO o proteína FMO o partes de los mismos. Las partes preferidas de plantas de soja son las habas de soja que comprenden el ácido nucleico FMO o proteína FMO. También se proporcionan productos derivados de plantas transgénicas como se describen en la presente memoria, sus partes o partes cosechables de las mismas, incluyendo harina o aceite, tal como harina de soja o aceite de soja, que comprende el ácido nucleico FMO o proteína FMO. Una divulgación es el método para la producción de un producto, en donde el producto es harina o aceite, preferentemente, harina de soja o aceite de soja.

En una divulgación que se describe en la presente memoria, el método para la producción de un producto comprende: a) cultivar las plantas que se describen en la presente memoria o son obtenibles por los métodos que se describen en la presente memoria y b) producir el producto a partir de o mediante las plantas de la divulgación y/o partes, por ejemplo, semillas, de estas plantas.

En otra divulgación los productos producidos por los métodos que se describen en la presente memoria son productos de plantas tal como, pero sin limitarse a, alimento, pienso para ganado, un suplemento alimenticio, suplemento de pienso para ganado, fibra, cosmético y/o fármaco. Los productos alimenticios se consideran composiciones utilizadas para la nutrición y/o para complementar la nutrición. Los piensos para ganado y suplementos de la alimentación animal, en particular, están considerados como productos alimenticios.

En otra divulgación el método comprende las etapas a) cultivar las plantas de la divulgación, b) retirar las partes cosechables como se define anteriormente de las plantas y c) producir el producto a partir de o por las partes de la planta transgénica u organismo.

El producto puede ser producido en el lugar donde la planta ha sido cultivada, las plantas y/o sus partes pueden ser retiradas del sitio donde las plantas se han cultivado para producir el producto. Por lo general, la planta se cultiva, las partes cosechables deseadas se retiran de la planta, si es posible en ciclos repetidos, y el producto se elabora a partir de las partes cosechables de la planta. La etapa de cultivar la planta puede ser llevada a cabo sólo una vez cada vez que se realizan los métodos divulgados en el presente documento, al tiempo que permite veces repetidas de las etapas de producción de productos, por ejemplo, por retirada repetida de las partes cosechables de las plantas de la divulgación y procesamiento adicional si es necesario de estas partes para llegar al producto. Es posible que la etapa de cultivar las plantas de la divulgación se repita y las plantas o partes cosechables se almacenen hasta que entonces se realice la producción del producto una vez para las plantas acumuladas o parte de plantas. Además, las etapas de cultivar las plantas y producir el producto se pueden realizar con una superposición en el tiempo, incluso simultáneamente en gran medida o secuencialmente. Generalmente las plantas se cultivan durante algún tiempo antes de que se produzca el producto.

En otra divulgación los métodos para la producción se utilizan para elaborar productos agrícolas tal como, pero sin limitarse a, extractos de plantas, proteínas, aminoácidos, hidratos de carbono, grasas, aceites, polímeros, vitaminas, y similares. Téngase en cuenta que es posible que un producto de planta consista en uno o más productos agrícolas en gran medida.



Las plantas transgénicas producidas como se describe en la presente memoria pueden cruzarse con plantas transgénicas similares o con plantas transgénicas que carecen de ácidos nucleicos de la divulgación o con plantas no transgénicas, utilizando métodos conocidos de reproducción de plantas, para preparar semillas. Además, las células de planta transgénicas o plantas que se describen en la presente memoria pueden comprender, y/o cruzarse con otra planta transgénica que comprende uno o más ácidos nucleicos exógenos, creando de ese modo un “apilamiento” de transgenes en la planta y/o su progenie. La semilla entonces se planta para obtener una planta transgénica fértil cruzada que comprende el ácido nucleico FMO. La planta transgénica fértil cruzada puede tener el casete de expresión particular heredado a través de un progenitor hembra o de un progenitor macho. La segunda planta puede ser una planta endogámica. El transgénico fértil cruzado puede ser un híbrido. También se divulgan en el presente documento semillas de cualquiera de estas plantas transgénicas fértiles cruzadas. Las semillas divulgadas en el presente documento pueden ser cosechadas de plantas transgénicas fértiles y pueden ser usadas para cultivar generaciones de progenie de plantas transformadas de esta divulgación incluyendo líneas de plantas híbridas que comprenden el ácido nucleico exógeno.

Por ello otra divulgación puede incluir un método para reproducir una planta tolerante al estrés por sequía que comprende las etapas de: (a) cruzar una planta transgénica que se describe en la presente memoria o una planta obtenible por un método que se describe en la presente memoria con una segunda planta; (b) obtener una semilla o semillas resultantes de la etapa de cruzamiento que se describe en (a); (c) plantar la semilla o semillas y cultivar la semilla o semillas para generar plantas; y (d) seleccionar de las plantas las plantas que expresan una proteína FMO, codificada por (i) un ácido nucleico exógeno que tiene al menos el 60% de identidad con SEQ ID NOs: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41 o 44, o una variante de atuste de las mismas; (ii) un ácido nucleico exógeno que codifica una proteína que tiene al menos el 60% de identidad con SEQ ID NOs: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42 o 43; la proteína codificada confiere tolerancia mejorada al agua respecto de las plantas control; (iii) un ácido nucleico exógeno capaz de hibridar en condiciones rigurosas con una secuencia complementaria de cualquiera de los ácidos nucleicos según (i) o (ii); que codifica una proteína FMO; en donde la molécula de ácido nucleico codifica un polipéptido que tiene propiedades esencialmente idénticas al polipéptido que se describe en SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42 o 43; preferentemente la proteína codificada confiere tolerancia mejorada al estrés hídrico respecto a las plantas control; y/o por (iv) un ácido nucleico exógeno que codifica la misma proteína FMO que cualquiera de los ácidos nucleicos de (i) a (iii) anteriormente, pero que difiere de los ácidos nucleicos de (i) a (iii) anteriormente debido a la degeneración del código genético.

Otra divulgación proporcionada en la presente memoria es un método para la mejora de la planta que comprende (a) obtener una planta transgénica mediante cualquiera de los métodos de la presente divulgación; (b) combinar dentro de una célula de planta el material genético de al menos una célula de planta de la planta de (a) con el material genético de al menos una célula que difiere en uno o más genes de las células de planta de las plantas de (a) o cruzar la planta transgénica de (a) con una segunda planta; (c) obtener la semilla de al menos una planta generada a partir de una célula de planta de (b) o la planta del cruzamiento de la etapa (b); (d) plantar las semillas y cultivar las semillas para generar plantas; y (e) seleccionar de las plantas, plantas que expresan el ácido nucleico que codifica la proteína FMO GS-OX5; y opcionalmente (f) producir el material de propagación a partir de las plantas que expresan el ácido nucleico que codifica la proteína FMO GS-OX5. Las plantas transgénicas pueden seleccionarse mediante métodos conocidos como se describe anteriormente (por ejemplo, por la detección de la presencia de uno o más marcadores que están codificados por los genes expresables en plantas co-transferidos con el gen FMO o por cribado del ácido nucleico de FMO mismo), la expresión de un gen estructural puede, por supuesto, también efectuarse, o estar influida, independientemente de los métodos que se describen en la presente memoria o el uso del objeto que se describe en la presente memoria.

La práctica que se describe en la presente memoria emplea, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de química, biología molecular, microbiología, ADN recombinante, genética, inmunología, biología celular, cultivo celular y biología transgénica, que están dentro del alcance de la técnica. (Véase, por ejemplo, Maniatis, et al., *Molecular Cloning*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1982); Sambrook, et al., (1989); Sambrook y Russell, *Molecular Cloning, 3rd Ed.*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (2001); Ausubel, et al., *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons (incluyendo actualizaciones periódicas) (1992); Glover, *DNA Cloning*, IRL Press, Oxford (1985); Russell, *Molecular biology of plants: a laboratory course manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1984); Anand, *Techniques for the Analysis of Complex Genomes*, Academic Press, NY (1992); Guthrie y Fink, *Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology*, Academic Press, NY (1991); Harlow y Lane, *Antibodies*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1988); *Nucleic Acid Hybridization*, B.D. Hames & S.J. Higgins eds. (1984); *Transcription and Translation*, B.D. Hames & S.J. Higgins eds. (1984); *Culture Of Animal Cells*, R.I. Freshney, A.R. Liss, Inc. (1987); *Immobilized Cells and Enzymes*, IRL Press (1986); B. Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); the treatise, *Methods In Enzymology*, Academic Press, Inc., NY); *Methods In Enzymology*, Vols. 154 y 155, Wu, et al., eds.; *Immunochemical Methods In Cell and Molecular Biology*, Mayer y Walker, eds., Academic Press, London (1987); *Handbook Of Experimental Immunology*, Volumes I-IV, D.M. Weir y C.C. Blackwell, eds. (1986); Riott, *Essential Immunology*, 6th Edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford (1988); Fire, et al., *RNA Interference Technology: From Basic Science to Drug Development*, Cambridge University Press, Cambridge (2005); Schepers, *RNA Interference in Practice*, Wiley VCH (2005); Engelke, *RNA Interference (RNAi): The Nuts &*

*Bolts of siRNA Technology*, DNA Press (2003); Gott, *RNA Interference, Editing, and Modification: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology)*, Human Press, Totowa, NJ (2004); y Sohail, *Gene Silencing by RNA Interference: Technology and Application*, CRC (2004)).

5 Todos los términos y realizaciones descritas anteriormente son igualmente aplicables a este aspecto de la invención.

\*\*\*

10 La invención se describirá por medio de los siguientes ejemplos que han de considerarse como meramente ilustrativos y no limitantes del ámbito de la invención.

### Ejemplos

15 Los siguientes ejemplos se proporcionan para ilustrar adicionalmente varias aplicaciones y no están destinados a limitar la invención más allá de las limitaciones expuestas en las reivindicaciones anexas.

#### Métodos generales

##### *Material biológico y condiciones de cultivo*

20 Para la sobreexpresión de la proteína FMO, se obtuvieron plantas transgénicas de *Arabidopsis* que sobreexpresan el gen FMO GS-OX5 (SEQ ID NO: 1 o SEQ ID NO:2) y se describen como RC15-OE (documento ES 2347399B1) (genotipos FMOX3 y FMOX8 que se muestra en la Figura 3) y semillas de tipo salvaje (Col-0) de *Arabidopsis thaliana* usando el siguiente método.

25 El ADNc de RC15 se ligó en el sitio SmaI, después del promotor CaMv35S en el vector pROK2 (Baulcombe et al., 1986) (que se muestra en la construcción de la Figura 4a), para obtener el X3 y X8. Una vez que se verificó la presencia de la construcción (tal como la construcción que se describe en Figura 4a y Figura 4b) en el plásmido recombinante por secuenciación del ADN, se introdujo en la cepa C58C1 de *Agrobacterium tumefaciens* (Deblaere et al., 1985). La transformación de *Arabidopsis* Col se realizó siguiendo el método de inmersión floral (Clough y Bent 1998). Las plantas se sembraron en macetas de plástico que contienen la misma cantidad de sustrato saturado en agua. Las placas que contienen 16 macetas con 5 plantas por maceta se colocaron en una cámara de cultivo en condiciones de luz de día corto hasta que se desarrollaron 12 hojas. Luego, las placas se transfirieron al invernadero en condiciones de luz de día largo y las macetas se colocaron individualmente en vasos de plástico transparentes con el fin de evitar derrame de agua durante los riegos. Las plantas regadas normales para cada genotipo también se colocaron en las placas como controles. Se utilizaron un total de 4 placas, con genotipos distribuidos de manera diferente dentro de cada placa. No se observaron diferencias fenotípicas entre los genotipos.

40 A fin de determinar el análisis de biomasa de la planta, las plantas de *Arabidopsis* se cultivaron durante tres (3) semanas en condiciones de día corto (10 horas luz, 14 horas de oscuridad, 21°C luz y 20°C por la noche, 65% de humedad). Se obtuvo el peso fresco de las rosetas individuales, Col-0 (n=10) y RC15-OE (documento ES 2347399B1) (genotipos FMOX3 y FMOX8) dos semanas después de la siembra (n=10). Se registró el rendimiento de las semillas de plantas completamente crecidas que se cultivaron durante 3 semanas en condiciones de día corto y luego se transfirieron durante 3 semanas adicionales en condiciones de día largo. Las semillas se recolectaron 45 semanas después de las plantas individuales (n=10).

##### *Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)*

50 Se determinó el contenido de TMAO en las plantas mediante la recolección de tres hojas por tratamiento y congelándolas en nitrógeno líquido antes de la determinación de RMN. Se trataron al menos tres plantas independientes por experimento.

##### *Material biológico y condiciones de cultivo para el invernadero*

55 En cada uno de los experimentos de marchitamiento o agua limitada se sembraron 480 semillas (de pimiento, cebada, tomate, pepino o maíz), que producen 384 plantas en macetas de 512 cm<sup>3</sup> (4 plantas por maceta). Las plantas se cultivaron en condiciones de cámara a 21°C durante 3 semanas. Luego, las plantas se trasladaron a un invernadero, donde la temperatura promedio fue de 25°C a 28°C. Los tratamientos que se describen en la presente memoria se realizaron cuando las plantas tuvieron dos hojas extendidas y apareció el siguiente par de hojas.

60 Tratamientos: Doce macetas (12) (que contienen 48 plantas) se regaron con 40 ml de: agua, solución de TMAO dihidrato 0,1 g/l, solución de TMAO dihidrato 1,0 g/l, o solución de TMAO dihidrato 5,5 g/l. Otro conjunto de 12 macetas que contienen 48 plantas se pulverizó con 40 ml de agua (3,3 ml en promedio por maceta), una solución que contiene solución de TMAO dihidrato 0,1 g/l, TMAO dihidrato 1,0 g/l, o TMAO dihidrato 5,5 g/l. Todas las macetas también se regaron con 40 ml de agua. Las plantas pulverizadas se regaron con el mismo volumen de agua que las "plantas irrigadas). Las macetas se colocaron en vasos de plástico para mantener la humedad constante y 65

para evitar el derrame de líquido durante el riego. Las placas que contienen las macetas se ubicaron en las mesas del invernadero. La distribución de las placas sobre la mesa y la posición de las macetas en la placa se cambió cada semana para evitar los efectos de posición.

5 Después de los tratamientos descritos anteriormente, las plantas no se regaron hasta que las macetas perdieron completamente su humedad, lo que tarda aproximadamente 4 a 8 días dependiendo de la estación, en este momento las plantas estaban extremadamente marchitas en los experimentos de sequía extrema. Luego las plantas se regaron una vez con soluciones que contienen diferentes cantidades de TMAO dihidrato descritas anteriormente (0,1 g/l, 1,0 g/l o 5,5 g/l) o simplemente agua, después de lo cual, se dejó que las plantas pierdan su humedad  
10 completamente de nuevo durante tres ciclos consecutivos de riego después del marchitamiento. En los experimentos de "agua limitada" se regaron con 20 ml de agua o solución en lugar de 40 ml cuando las primeras plantas comenzaron a marchitarse. La tasa de supervivencia de la planta fue registrada y analizada para los experimentos "sequía extrema" en los que se permitió que las plantas se marchiten gravemente antes del riego, mientras que se registró la longitud del tallo como analizada para los experimentos de agua limitada en que las  
15 plantas se riegan con un 30% de lo que la planta necesita.

Fresas, puerro, lechuga, brócoli, apio o colinabo

A fin de determinar la productividad del rendimiento de las plantas en condiciones normales, se cultivaron la variedad 'Sabrina', 'Candongá' y 'Fortuna' de fresa, puerro, lechuga, la variedad "Iceberg", variedad "Parthenon" de brócoli, plantas de apio o colinabo en condiciones de producción estándares y se analizaron 120 plantas de cada variedad por tratamiento (donde el tratamiento fue un control que comprende riego estándar o 1 g/l de la pulverización de TMAO cada cuatro semanas). Las plantas se ubicaron en cuatro (4) posiciones diferentes para cada grupo de 30 plantas del mismo tratamiento. Se recolectaron frutas, hojas o raíces de plantas individuales y se  
20 determinó el peso total para cada planta.  
25

Tomates

A fin de determinar la tolerancia a la sequía o estrés hídrico después del tratamiento de las semillas con TMAO dihidrato y germinación en presencia de TMAO dihidrato, las semillas de tomate 'Moneymaker' se esterilizaron en superficie durante 3 minutos en etanol al 70%, luego se lavaron dos veces y finalmente se incluyeron en una solución de pretratamiento de solución de TMAO dihidrato 0,1 g/l (o solo agua) con agitación durante 3 horas. Luego, se lavaron e incluyeron en las placas de germinación en condiciones estériles. Se añadió polietilenglicol (PEG-6000) al medio de germinación (medio de sales de Murashige y Skoog) a 152 y 182 g/l. La cantidad creciente de PEG reduce los valores de  $\psi$  (potencial hídrico), que simula las condiciones de sequía para la germinación. Cada placa de germinación tenía al menos 30 semillas, y cada placa de tratamiento/pretratamiento se replicó cinco veces (150 semillas por tratamiento/pretratamiento). Las semillas se dejaron germinar durante 10 días en condiciones de oscuridad en una cámara de cultivo (21°C luz y 20°C noche, 65% de humedad). Luego, las semillas germinadas se registraron por inspección visual y se realizó el análisis de datos usando software Statgraphics.  
30  
35  
40

Ensayos de campo de maíz, cebada y girasol

Con el fin de determinar la tolerancia a la sequía o estrés hídrico después del tratamiento de semillas con TMAO dihidrato y germinación en presencia de TMAO dihidrato, semillas de cebada "Hispanic" o semillas de maíz "FAO700", o semillas de girasol "Sambro" se esterilizaron en superficie durante 3 minutos en etanol al 70%, luego se lavaron dos veces y finalmente se incluyeron en una solución de pre-tratamiento de solución de TMAO dihidrato 1 g/l (o solo agua) con agitación durante 3 horas a una dosis de 1 litro por kg de semillas. Luego, se sembraron las semillas en parcelas aleatorizadas de 10 sqm en una superficie de 2.000 sqm. El contenido de clorofila se midió 1 mes antes de la cosecha. En el maíz, se aplicó el riego a la mitad de las parcelas, mientras que la otra mitad solo recibió un riego de establecimiento inicial. Las parcelas de cebada recibieron 200 l de lluvia por m<sup>2</sup> durante la estación de crecimiento. Algunas de las parcelas recibieron un segundo tratamiento de pulverización con 1 g/litro de TMAO.  
45  
50

*Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)*

55 Se determinó el contenido de TMAO en las plantas mediante la recolección de tres hojas por tratamiento y su congelación en nitrógeno líquido antes de la determinación de RMN. Se trataron al menos tres plantas independientes por experimento.

60 Ejemplo 1: TMAO se acumula en pimiento y cebada después del tratamiento por sequía de 1 semana. Se sembraron semillas de pimiento 'Murano' y cebada 'Bomi' y se cultivaron como se describe anteriormente. Las plantas control (de seis semanas) se regaron con 40 ml de agua dos veces en la semana, mientras las plantas tratadas por "sequía" no se regaron. Se cosecharon las hojas y se determinó TMAO por RMN como se describe. Como se muestra en la Tabla 1, los niveles de TMAO aumentaron casi tres veces en comparación con el control tanto en pimiento como en  
65 cebada después del tratamiento por sequía.

Tabla 1. Acumulación de TMAO después de 1 semana de sequía

Cultivo	TMAO ( $\mu\text{M}$ )	DE	% Control
Pimiento Control.	446,68	215,86	100
Pimiento Sequía 7días	1224,23	243,10	274
Cebada Control	422,10	43,36	100
Cebada Sequía 7días	1252,73	251,99	297

Como se muestra en la Tabla 1, en la fila 1, el pimiento control muestra 446,68  $\mu\text{M}$  of TMAO, mientras en la fila 2 se muestra que 7 días de tratamiento por sequía aumenta niveles de TMAO en el pimiento 2,74 veces hasta 1224,23  $\mu\text{M}$ . De forma análoga en la fila 3 la cebada control muestra 422,10  $\mu\text{M}$  de TMAO mientras en la fila 4 se muestra que 7 días de tratamiento por sequía aumenta los niveles de TMAO en la cebada 2,97 veces hasta 1252,73  $\mu\text{M}$ .

Ejemplo 2: TMAO se acumula en pimiento y cebada cuando se aplica de forma exógena. Se sembraron semillas de pimiento 'Murano' y cebada 'Bomi' y se cultivaron como se describe anteriormente. Las plantas control (de seis semanas) se pulverizaron con agua y las plantas de pimiento tratadas se pulverizaron con 1g/l de TMAO mientras las plantas de cebada se pulverizaron con 1g/l de TMAO formulado con el 0,1% de alquilpolisacárido C8-C10. Se cosecharon las hojas y se determinó TMAO por RMN. El porcentaje de aumento de TMAO en comparación con los controles no tratados se determinó para cada punto de tiempo. Los niveles de TMAO aumentaron en pimiento y cebada con el tratamiento exógeno de TMAO a 1g/l a niveles mayores que el tratamiento por sequía y además, los niveles de TMAO son elevados hasta 40 días posteriores a la pulverización en pimiento.

Tabla 2. Acumulación de TMAO después de los tratamientos de pulverización con TMAO dihidrato

Cultivo	% Control
Pimiento 1 día posterior a la pulverización	529
Pimiento 10 días posteriores a la pulverización	373
Pimiento 20 días posteriores a la pulverización	286
Pimiento 30 días posteriores a la pulverización	135
Pimiento 40 días posteriores a la pulverización	213
Cebada 1 día posterior a la pulverización	822

Como se muestra en la Tabla 2, en la fila 1, el pimiento pulverizado con TMAO aumenta su nivel de TMAO 5,29 veces 1 día posterior a la pulverización en comparación con el control pulverizado con agua. El nivel disminuye después de 10 días a 3,73 veces del control (fila 2), después de 20 días a 2,86 veces del control (fila 3), después de 30 días a 1,35 veces del control no pulverizado (fila 4), permaneciendo por encima del control pulverizado con agua incluso 40 días después de la pulverización (fila 5). De forma análoga en la fila 6, la cebada pulverizada con TMAO y un alquilpolisacárido, aumenta su nivel de TMAO 8,22 veces 1 día posterior a la pulverización en comparación con el control pulverizado con solo el alquilpolisacárido debido a la mejor penetración del TMAO formulado con el alquilpolisacárido.

Ejemplo 3: La aplicación exógena de TMAO dihidrato no tiene compensaciones en fresa. El rendimiento de la fruta se determinó en plantas de fresa 'Sabrina', 'Candongga' y 'Fortuna' tratadas con 1g/l de TMAO dihidrato o agua como se describe anteriormente para evaluar los costos de compensación del tratamiento sin estrés hídrico. Sin embargo, no se observó ninguna diferencia significativa en la producción de fruta que fue siempre levemente más elevada en las plantas tratadas con TMAO dihidrato.

Tabla 3. Producción de fruta de fresa después de los tratamientos de pulverización con TMAO dihidrato cada 4 semanas durante 3 meses

Variedad de fresa	% Control 2013
Sabrina	106
Candongga	102
Fortuna	101
Total	105

La Tabla 3 muestra que TMAO puede aplicarse en forma exógena durante tres meses sin costo de adaptabilidad. En la fila 1 el peso de producción total de las plantas de variedad Sabrina tratadas con TMAO dihidrato produjeron el 106% en comparación con controles tratados con agua, en la fila 2 el peso de producción total de las plantas de variedad Candonga tratadas con TMAO dihidrato produjeron el 102% en comparación con los controles, en la fila 3 el peso de producción total de las plantas de variedad Fortuna tratadas con TMAO dihidrato produjeron el 101% en comparación con los controles, mientras en la fila 4 el peso de producción total de las plantas de tres variedades

tratadas con TMAO dihidrato produjeron el 105% en comparación con los controles tratados con agua de las tres variedades.

5 Ejemplo 4: TMAO dihidrato aplicado de forma exógena aumenta la germinación tanto en pretratamiento de las semillas y como un aditivo al medio. Se sembraron semillas de tomate 'Moneymaker', se cultivaron y se trataron como se describe anteriormente.

10 Tabla 4. Tasas de germinación de semillas de tomate  $\pm$  E.E. y valores *P* de ANOVA para los dos experimentos independientes donde se evaluó el efecto de TMAO dihidrato en la germinación de semillas en condiciones de sequía generado añadiendo Polietilenglicol (PEG-6000) al medio de germinación.

CONCENTRACIÓN DE PEG	valor $\psi$	NÚMERO DE SEMILLAS	TRATAMIENTO	TASA DE GERMINACIÓN	Valor P ANOVA
152g/l	-0,2564	150 (5X30)	Sin tratamiento	25,80 $\pm$ 4,62%	-
		150 (5X30)	Pre-tratamiento con solución de TMAO dihidrato 0,1g/l (3 horas)	70,62 $\pm$ 4,62%	0,0000*
		150 (5X30)	TMAO dihidrato 0,1g/l en el medio de germinación	71,09 $\pm$ 4,26%	0,0000*
182g/l	-0,3676	150 (5X30)	Sin tratamiento	15,37 $\pm$ 3,20 %	-
		150 (5X30)	Pre-tratamiento con solución de TMAO dihidrato 0,1g/l (3 horas)	18,53 $\pm$ 3,20%	0,2310
		150 (5X30)	TMAO dihidrato 0,1g/l en el medio de germinación	45,00 $\pm$ 3,20%	0,0086*

Los asteriscos (\*) indican las diferencias significativas estadísticas entre el control y las semillas tratadas ( $\alpha=0,05$ )

15 Este ejemplo muestra que TMAO puede aplicarse de forma exógena en el tratamiento de semillas para mejorar la germinación en condiciones de sequía antes de que se produzca el estrés hídrico. Se germinan las semillas en presencia de PEG para inducir estrés hídrico. Se utilizan dos concentraciones en las primeras 3 filas 152 g/l (que corresponde a un valor  $\psi$  de -0,2564) y una dosis superior 182 g/l (que corresponde a un valor  $\psi$  de -0,3676) para mostrar que a valores crecientes de estrés hídrico la germinación disminuye. En la primera y en la cuarta filas no se aplica ningún tratamiento a las semillas que se germinan directamente en presencia de PEG. Se muestra que en efecto el estrés hídrico afecta la germinación que es solamente del 25,80% para 152 g/l de PEG (fila 1) y el 15,37% para 182 g/l de PEG (fila 4). El pretratamiento de las semillas durante 3 horas con solución de TMAO dihidrato 0,1g/l aumenta significativamente las tasas de germinación hasta el 70,62% para 152 g/l de PEG (fila 2), y el 18,53% para 182 g/l de PEG (fila 5) en comparación con los controles no tratados. Además, si se añade TMAO dihidrato 0,1g/l al medio de germinación, las tasas de germinación aumentan significativamente incluso más altas hasta el 71,09% para 152 g/l de PEG (fila 3), y especialmente hasta el 45,00% para la condición de mayor estrés hídrico de 182 g/l de PEG (fila 6) en comparación con los controles no tratados.

30 Ejemplo 5: El TMAO dihidrato aplicado en forma exógena aumenta la supervivencia de las plantas en pimiento en condiciones de sequía extrema. Las semillas de pimiento 'Murano' se sembraron, cultivaron y trataron como se describe anteriormente. La pulverización de 10 g/l y 1 g/l de TMAO dihidrato fue el mejor tratamiento cuando se realizó el riego con agua, con el 83,3% de supervivencia de plantas mientras que se observó una tasa de supervivencia de plantas del 100% cuando las plantas se pulverizaron con 0,1 g/l o 1 g/l y se regaron con 5 g/l.

35 Tabla 5. La tasa de supervivencia promedio y análisis ANOVA para plantas de pimiento tratadas con TMAO dihidrato en condiciones de crecimiento con sequía.

RIEGO	N	TRATAMIENTO DE PULVERIZACIÓN INICIAL	TASA DE SUPERVIVENCIA (%)	Valor P ANOVA
TODOS LOS REGÍMENES	384	AGUA	42,7 ± 3,6	0,0000
		TMAO 0,1 g/l	51,0 ± 3,6	
		TMAO 1 g/l	62,5 ± 3,6	
		TMAO 10 g/l	71,8 ± 3,6	
AGUA	96	AGUA	45,8 ± 8,1	0,0025
		TMAO 0,1 g/l	37,5 ± 8,1	
		TMAO 1 g/l	62,5 ± 8,1	
		TMAO 10 g/l	79,1 ± 8,1	
TMAO 0,1 g/l	96	AGUA	29,1 ± 8,3	0,0000
		TMAO 0,1 g/l	33,3 ± 8,3	
		TMAO 1 g/l	54,1 ± 8,3	
		TMAO 10 g/l	83,3 ± 8,3	
TMAO 1 g/l	96	AGUA	0,0 ± 7,7	0,0028
		TMAO 0,1 g/l	33,3 ± 7,7	
		TMAO 1 g/l	33,3 ± 7,7	
		TMAO 10 g/l	37,5 ± 7,7	
TMAO 5 g/l	96	AGUA	95,8 ± 3,8	0,0812
		TMAO 0,1 g/l	100 ± 3,8	
		TMAO 1 g/l	100 ± 3,8	
		TMAO 10 g/l	87,5 ± 3,8	

La tabla 5 muestra que TMAO puede aplicarse de forma exógena mediante pulverización y/o riego antes de que se produzca el estrés hídrico e incrementar la tasa de supervivencia de plantas en condiciones de estrés hídrico extremo en una especie de cultivo de hortalizas. En las filas 1-4 los tratamientos de pulverización se comparan combinados de manera independiente de los tratamientos de riego. La tasa de supervivencia después de la sequía aumenta significativamente con la concentración de la pulverización de TMAO, la más baja es en la fila 1 sin TMAO (42,7%) y la más alta en la fila 4 con 10 g/l de TMAO (71,8%). En las filas 5-8 los tratamientos de pulverización se comparan cuando las plantas se irrigan solo con agua. De forma análoga la tasa de supervivencia después de la sequía aumenta significativamente con la concentración de la pulverización de TMAO, la más baja es en la fila 5 sin TMAO (45,8%) y la más alta en la fila 8 con 10 g/l de TMAO (79,1%). En las filas 9-12 los tratamientos de pulverización se comparan cuando las plantas se irrigan con 0,1 g/l de TMAO. La tasa de supervivencia después de la sequía aumenta significativamente con la concentración de la pulverización de TMAO, la más baja es en la fila 9 sin TMAO (29,1%) y la más alta en la fila 12 con 10 g/l de TMAO (83,3%). En las filas 13-16 los tratamientos de pulverización se comparan cuando las plantas se irrigan con 1 g/l de TMAO. La tasa de supervivencia después de la sequía también aumenta significativamente con la concentración de la pulverización de TMAO la más baja es en la fila 13 sin TMAO (0%) y la más alta en la fila 16 con 10 g/l de TMAO (37,5%). Los mejores resultados se obtienen cuando las plantas se irrigan con TMAO a 5 g/l (filas 17-20). Incluso sin tratamiento de pulverización, la tasa de supervivencia es el 95,8% (fila 17), que aumenta hasta el 100% de supervivencia con 0,1 g/l y 1 g/l de los tratamientos de pulverización (filas 18-19). La combinación de las dosis más altas de la pulverización de 10 g/l y riego de 5 g/l reduce la tasa de supervivencia al 87,5% (fila 20) debido a la sobredosis de TMAO.

Ejemplo 6: El TMAO dihidrato aplicado de forma exógena aumenta la supervivencia del tomate en condiciones de sequía extrema. Las semillas de tomate Moneymaker se sembraron, se cultivaron y trataron como se describe. No se observaron diferencias estadísticas entre los modos de aplicación (TMAO dihidrato pulverizado o regado) en este experimento. 5 g/l de TMAO dihidrato pulverizado fue el mejor tratamiento cuando se realizó el riego con agua, con el 74,2% de supervivencia de plantas. A tasas de prueba más altas, ambos tratamientos mostraron un aumento claro de la masa seca de brotes en comparación con las plantas no tratadas. Adicionalmente, las plantas tratadas con TMAO se comportaron de manera extremadamente sana en comparación con el control no tratado, aunque las plantas resistieron la sequía mucho mejor después del tratamiento por sequía (Figura 1). Adicionalmente, como se muestra en la Figura 1, las plantas tratadas con TMAO se comportaron de manera extremadamente sana en comparación con el control no tratado, aunque las plantas resistieron la sequía mucho mejor después del tratamiento por sequía. En la Figura 1, en el lado izquierdo las plantas de control irrigadas con agua y en el lado derecho las plantas tratadas irrigadas con 5,5 g/l de TMAO dihidrato después de la recuperación de la sequía.



Tabla 6. Tasa de supervivencia promedio y análisis de ANOVA para plantas de tomate tratadas con TMAO dihidrato en condiciones de sequía.

RIEGO	N	TRATAMIENTO DE PULVERIZACIÓN INICIAL	TASA DE SUPERVIVENCIA (%)	Valor P ANOVA
TODOS LOS REGÍMENES	384	AGUA	12,5 ± 4,1	0,0000
		TMAO 0,1 g/l	12,5 ± 4,1	
		TMAO 1 g/l	37,5 ± 4,1	
		TMAO 5 g/l	56,6 ± 4,1	
AGUA	96	AGUA	16,6 ± 9,1	0,0000
		TMAO 0,1 g/l	29,1 ± 9,1	
		TMAO 1 g/l	62,5 ± 9,1	
		TMAO 5 g/l	74,2 ± 9,1	
TMAO 0,1 g/l	96	AGUA	16,6 ± 8,5	0,0000
		TMAO 0,1 g/l	12,5 ± 8,5	
		TMAO 1 g/l	41,6 ± 8,5	
		TMAO 5 g/l	68,9 ± 8,5	
TMAO 1 g/l	96	AGUA	4,1 ± 7,5	0,0013
		TMAO 0,1 g/l	0,0 ± 7,5	
		TMAO 1 g/l	29,1 ± 7,5	
		TMAO 5 g/l	33,3 ± 7,5	
TMAO 5 g/l	96	AGUA	8,3 ± 8,0	0,0015
		TMAO 0,1 g/l	12,5 ± 8,0	
		TMAO 1 g/l	16,6 ± 8,0	
		TMAO 5 g/l	50,0 ± 8,0	

5 La Tabla 6 muestra que TMAO se puede aplicar en forma exógena mediante pulverización y/o riego antes de que ocurra el estrés hídrico, y así aumentar la tasa de supervivencia de la planta en la familia *Solanaceae*, en condiciones de estrés hídrico extremo. En las filas 1-4 los tratamientos de pulverización se comparan combinados de forma independiente de los tratamientos de riego. La tasa de supervivencia después de la sequía aumenta significativamente con la concentración de la pulverización de TMAO, la más baja es en la fila 1 sin TMAO (12,5%) y la más alta en la fila 4 con 5 g/l de TMAO (56,6%). En las filas 5-8 los tratamientos de pulverización se comparan cuando las plantas se irrigan solo con agua. En forma análoga, la tasa de supervivencia después de la sequía aumenta significativamente con la concentración de la pulverización de TMAO, la más baja es en la fila 5 sin TMAO (16,6%) y la más alta en la fila 8 con 5 g/l de TMAO (74,2%). En las filas 9-12, los tratamientos de pulverización se comparan cuando las plantas se irrigan con 0,1 g/l de TMAO. La tasa de supervivencia después de la sequía aumenta significativamente con las concentraciones más altas de la pulverización de TMAO, la más baja es en las filas 9 y 10, sin TMAO (16,6%) y 0,1 g/l pulverización de TMAO (12,5%) respectivamente, y la más alta en la fila 12 con 5 g/l de TMAO (68,9%). En las filas 13-16, los tratamientos de pulverización se comparan cuando las plantas se irrigan con 1 g/l de TMAO. La tasa de supervivencia después de la sequía también aumenta significativamente con las concentraciones más altas de la pulverización de TMAO, la más baja es en las filas 13 y 14, sin TMAO (4,1%) y 0,1 g/l pulverización de TMAO (0%) respectivamente, y la más alta en la fila 16 con 5 g/l de TMAO (33,3%). El aumento del tratamiento de riego con TMAO a 5 g/l (filas 17-20) mejora las tasas de supervivencia en comparación con los tratamientos de riego de dosis baja combinados con los tratamientos de pulverización, pero en el tomate no es tan bueno como con los tratamientos de pulverización solo, probablemente debido a una sobredosis de TMAO, aunque el aumento de las concentraciones de pulverización de TMAO también aumentarán la tasa de supervivencia global. La combinación de las dosis más altas de pulverización 5 g/l y riego 5 g/l produce una tasa de supervivencia del 50% (fila 20).

Ejemplo 7: El TMAO dihidrato aplicado de forma exógena aumenta la supervivencia de la planta de pepino en condiciones de sequía extrema. Las semillas de pepino 'Marketer' se sembraron, se cultivaron y trataron como se describe. Las aplicaciones de riego parecen producir mejor rendimiento sobre la tasa de supervivencia (valor *P* 0,05). 5 g/l de TMAO pulverizado fue el mejor tratamiento cuando se realizó el riego con 5 g/l de TMAO, con el 95,8% de supervivencia de plantas.

Tabla 7. Tasa de supervivencia promedio y análisis de ANOVA para plantas de pepino tratadas con TMAO en condiciones de crecimiento con sequía.

RIEGO	N	TRATAMIENTO DE PULVERIZACIÓN INICIAL	TASA DE SUPERVIVENCIA (%)	Valor ANOVA P
TODOS LOS REGÍMENES	384	AGUA	66,6 ± 3,4	0,0000
		TMAO 0,1 g/l	80,1 ± 3,4	
		TMAO 1 g/l	92,7 ± 3,4	
		TMAO 5 g/l	94,7 ± 3,4	
AGUA	96	AGUA	54,1 ± 7,2	0,0004
		TMAO 0,1 g/l	83,3 ± 7,2	
		TMAO 1 g/l	91,6 ± 7,2	
		TMAO 5 g/l	95,8 ± 7,2	
TMAO 0,1 g/l	96	AGUA	45,8 ± 7,4	0,0000
		TMAO 0,1 g/l	82,9 ± 7,4	
		TMAO 1 g/l	91,6 ± 7,4	
		TMAO 5 g/l	95,8 ± 7,4	
TMAO 1 g/l	96	AGUA	87,5 ± 5,9	0,0028
		TMAO 0,1 g/l	91,6 ± 5,9	
		TMAO 1 g/l	91,6 ± 5,9	
		TMAO 5 g/l	91,6 ± 5,9	
TMAO 5 g/l	96	AGUA	66,6 ± 7,2	0,0812
		TMAO 0,1 g/l	75,0 ± 7,2	
		TMAO 1 g/l	95,8 ± 7,2	
		TMAO 5 g/l	95,8 ± 7,2	

La Tabla 7 muestra que TMAO puede aplicarse en forma exógena mediante pulverización y/o riego antes de que ocurra el estrés hídrico, e incrementar la tasa de supervivencia de la planta en la familia *Cucurbitaceae*, en condiciones de estrés hídrico extremo. En las filas 1-4 los tratamientos de pulverización se comparan combinados de forma independiente de los tratamientos de riego. La tasa de supervivencia después de la sequía aumenta significativamente con la concentración de la pulverización de TMAO, la más baja es en la fila 1 sin TMAO (66,6%) y la más alta en la fila 4 con 5 g/l de TMAO (94,7%). En las filas 5-8, los tratamientos de pulverización se comparan cuando las plantas se irrigan solo con agua. En forma análoga, la tasa de supervivencia después de la sequía aumenta significativamente con la concentración de la pulverización de TMAO, la más baja es en la fila 5 sin TMAO (54,1%) y la más alta en la fila 8 con 5 g/l de TMAO (95,8%). En las filas 9-12, los tratamientos de pulverización se comparan cuando las plantas se irrigan con 0,1 g/l de TMAO. La tasa de supervivencia después de la sequía aumenta significativamente con la concentración de la pulverización de TMAO, la más baja es en la fila 9 sin TMAO (45,8%) y la más alta en la fila 12 con 5 g/l de TMAO (95,8%). En las filas 13-16 los tratamientos de pulverización se comparan cuando las plantas se irrigan con 1 g/l de TMAO. La tasa de supervivencia después de la sequía también aumenta significativamente con cualquiera de los tratamientos de pulverización con TMAO, la más baja es en la fila 13 sin TMAO (87,5%) y la más alta en las filas 14-16 con 0,1, 1 o 5 g/l de TMAO, lo que da la misma tasa de supervivencia del 91,6%. Los mejores resultados se obtienen cuando las plantas se irrigan con TMAO a 5 g/l (filas 17-20). Incluso sin el tratamiento de pulverización, la tasa de supervivencia es el 66,6% (fila 17), que aumenta hasta el 95,8% de supervivencia con tratamiento de pulverización de 5 g/l (filas 20).

Ejemplo 8: TMAO dihidrato aplicado de forma exógena aumenta la supervivencia de la planta en el tomate con riego con agua limitado. Se sembraron semillas de tomate 'Moneymaker', se cultivaron y se trataron como se describe. Los tratamientos de pulverización y riego con TMAO aumentaron significativamente el tamaño de la planta.

Tabla 8. Tamaño de tallo promedio y análisis ANOVA para plantas de tomate regadas con agua y TMAO en condiciones de crecimiento con agua limitada.

TRATAMIENTO INICIAL	N	RIEGOS	TAMAÑO DE TALLO PROMEDIO (cm)	Valor P ANOVA
AGUA	94	AGUA	10,57 ± 0,56	0,0000
		TMAO 1g/l	12,97 ± 0,55	
TMAO 0,1 g/l	93	AGUA	11,06 ± 0,55	0,1034
		TMAO 1g/l	12,32 ± 0,56	

TRATAMIENTO INICIAL	N	RIEGOS	TAMAÑO DE TALLO PROMEDIO (cm)	Valor P ANOVA
TMAO 1 g/l	96	AGUA	11,59 ± 0,55	0,0000
		TMAO 1g/l	13,77 ± 0,55	
TMAO 5 g/l	92	AGUA	14,2 ± 0,56	0,7230
		TMAO 1g/l	14,6 ± 0,55	

La Tabla 8 muestra que TMAO puede aplicarse de forma exógena por pulverización y riego antes de que se produzca el estrés hídrico incrementando la biomasa de brotes en la familia *Solanaceae*, en condiciones de estrés hídrico limitado. En las filas 1-2 los tratamientos de riego se comparan combinados independientemente del tratamiento de pulverizaciones. La longitud de brotes aumenta significativamente después del riego limitado con 1 g/l de pulverización con TMAO la más baja es en la fila 1 sin TMAO (10,57 cm) y la más alta en la fila 2 con 1 g/l de pulverización TMAO (12,97 cm). En las filas 1, 3, 5 y 7 los tratamientos de pulverización se comparan cuando las plantas se riegan solamente con agua. La longitud de los brotes después del riego con agua limitada aumenta significativamente con la concentración de la pulverización de TMAO la más baja es en la fila 1 sin TMAO (10,57 cm) y la más alta en la fila 7 con 5 g/l de TMAO (14,2 cm). En las filas 2, 4, 6 y 8 los tratamientos de pulverización se comparan cuando las plantas se riegan con 1 g/l de TMAO. Nuevamente la longitud de brote aumenta significativamente después del riego con agua limitada con las concentraciones crecientes de la pulverización de TMAO la más baja es en la fila 2, sin pulverización de TMAO (12,97 cm) y la más alta en la fila 8 cuando ambos tratamientos se combinan con 5 g/l de tratamiento de pulverización de TMAO y 1 g/l de tratamiento de riego (14,6 cm).

Ejemplo 9: TMAO dihidrato aplicado de forma exógena aumenta la producción de la planta en tomate en riego con agua limitada. Se sembraron semillas de tomate 'Río Grande', se cultivaron y se trataron como se describe. El tratamiento de pulverizaciones con 1 g/l de TMAO aumentó la producción de la planta.

Tabla 9. Producción de fruta promedio y análisis ANOVA para plantas de tomate tratadas con pulverización con TMAO en condiciones de crecimiento con agua limitada.

RIEGO	N	TRATAMIENTO INICIAL	PESO PROMEDIO (gramos/fruta)	Valor P ANOVA
100% AGUA	36	AGUA	73,85 ± 17,84	-
30% AGUA	36	AGUA	52,9 ± 17,28	0,4243
30% AGUA	36	TMAO 1 g/l	76,73 ± 17,67	0,3406

La Tabla 9 muestra que se puede aplicar TMAO de forma exógena por medio de aspersión antes de que se produzca el estrés hídrico para incrementar la producción en la familia *Solanaceae*, en condiciones de estrés hídrico limitado. En la fila 2 se muestra que el 30% de riego con agua disminuye en forma significativa la producción de plantas (52,9 g/fruta) cuando se compara con las plantas en la fila 1 con riego con agua normal (73,85 g/fruta). Sin embargo, como se muestra en la fila 3, el tratamiento de pulverización con 1 g/l de TMAO dihidrato aplicado de forma exógena cada 4 semanas restaura la producción de plantas, con un aumento de la producción de frutas del 45%, incluso en condiciones de riego con agua limitada (76,73 g/fruta) sobre las plantas no tratadas con riego del 30%.

Ejemplo 10: El TMAO dihidrato aplicado de forma exógena aumenta la supervivencia de las plantas y la biomasa en la cebada con riego con agua limitada. Se sembraron semillas de cebada 'Bomi', se cultivaron y se trataron como se ha descrito.

Tabla 10. Peso seco promedio ± E.E. y análisis ANOVA para TMAO dihidrato y plantas de cebada regadas con agua en condiciones de cultivo con sequía.

TRATAMIENTO INICIAL	N	RIEGOS	PESO SECO PROMEDIO (mg)	Valor ANOVA P
CONTROL	10	AGUA	1017,7 ± 66,13	-
SOLUCIÓN DE TMAO dihidrato 1 g/l PULVERIZADA	12	AGUA	1205,4 ± 60,37	0,0212*
SOLUCIÓN DE TMAO dihidrato 1 g/l REGADA	10	AGUA	1371,4 ± 66,13	0,0073*

TRATAMIENTO INICIAL	N	RIEGOS	PESO SECO PROMEDIO (mg)	Valor ANOVA P
-	70	CONTROL	1109,3 ± 33,93	-
-	68	Solución de TMAO dihidrato 1 g/l	1216,1 ± 33,44	0,0265*

La Tabla 10 muestra que el TMAO se puede aplicar de forma exógena por medio de aspersión y riego antes de que se produzca el estrés hídrico para incrementar la tasa de supervivencia de las plantas y la biomasa de los brotes en plantas monocotiledóneas, en condiciones extremas de estrés hídrico. En las tres primeras filas, los tratamientos iniciales se comparan, tanto los tratamientos con aerosol de 1 g/l de TMAO dihidrato (fila 2) como con riego de 1 g/l de TMAO dihidrato (fila 3) aumentaron en forma significativa la biomasa seca promedio por planta, en condiciones extremas de sequía, a 1205,4 mg y 1371,4 respectivamente en comparación con agua tratada de plantas control en la fila 1 (1017,7 mg). Además, se pueden obtener resultados análogos cuando las plantas sólo se riegan con TMAO dihidrato 1 g/l (fila 5: 1216,1 mg por planta) en comparación con la misma cantidad de riego limitado con agua sin TMAO en la fila 4 (1109,3 mg).

Ejemplo 11: TMAO dihidrato aplicado de forma exógena aumenta la producción de plantas en maíz con riego con agua limitada. Se sembraron semillas de maíz "FAO700", se cultivaron y se trataron de acuerdo con lo descrito. Los tratamientos de pulverización con TMAO 1 g/l aumentaron el número de hojas de color verde de las plantas, el contenido de clorofila total y la producción de granos.

Tabla 11. Número promedio de hojas verdes y análisis de ANOVA para las plantas de maíz tratadas con TMAO en aerosol o de semillas en condiciones de cultivo con agua limitada.

RÉGIMEN DE RIEGO	N	TRATAMIENTO	NÚMERO PROMEDIO DE HOJAS VERDES	VALOR DE P
100% DE AGUA	30	-	11,03 ± 0,33	-
30% DE AGUA	23	-	5,78 ± 0,38	-
30% DE AGUA	53	AEROSOL con TMAO 1 g/l	8,50 ± 0,25	0,0000 *
30% DE AGUA	20	SEMILLA con TMAO 1 g/l	8,50 ± 0,41	0,0001 *

La Tabla 11 muestra que se puede aplicar TMAO en forma exógena por medio de aspersión antes de que se produzca el estrés hídrico, o por incubación de semillas, incrementando la producción de biomasa en las plantas monocotiledóneas, en condiciones de estrés hídrico limitado. En la fila 2 se muestra que el 30% de riego con agua reduce de forma significativa el número de hojas verdes en comparación con las plantas en la fila 1 con riego con agua normal. Sin embargo, como se muestra en las filas 3 y 4, el tratamiento de pulverización con 1 g/l de TMAO dihidrato cuando se aplica de forma exógena cada 4 semanas restaura en forma significativa el número de hojas verdes bajo riego con agua limitada con un aumento del 47% en la producción de biomasa, que se muestra en la producción de hojas verdes sobre las plantas no tratadas con un riego del 30%.

Ejemplo 12: El TMAO dihidrato aplicado de forma exógena aumenta la producción de plantas en el maíz con riego con agua limitada. Se sembraron semillas de maíz "FAO700", se cultivaron y se trataron de acuerdo con lo descrito anteriormente. Como se muestra en la Tabla 12, los tratamientos de pulverización con TMAO 1 g/l aumentaron el contenido total de clorofila en las plantas.

Tabla 12. Contenido de clorofila promedio y análisis de ANOVA para las plantas de maíz tratadas con TMAO en aerosol o de semillas en condiciones de cultivo con agua limitada.

RÉGIMEN DE RIEGO		TRATAMIENTO	CONTENIDO TOTAL DE CLOROFILA	VALOR DE P
100% DE AGUA	0	-	0,9163 ± 0,052	-
30% DE AGUA	3	-	0,5194 ± 0,107	-
30% DE AGUA	3	AEROSOL con TMAO 1 g/l	0,7278 ± 0,076	0,1214
30% DE AGUA	0	SEMILLA con TMAO 1 g/l	0,8977 ± 0,195	0,1854

La Tabla 12 muestra que se puede aplicar TMAO de forma exógena por medio de aspersión antes de que se produzca el estrés hídrico, o por medio de incubación de semillas, para incrementar la producción de biomasa en las plantas monocotiledóneas, en condiciones de estrés hídrico limitado. En la fila 2 se muestra que el 30% de riego con agua disminuye de forma significativa el contenido total de clorofila en comparación con las plantas de la fila 1 con riego con agua normal. Sin embargo, de acuerdo con lo mostrado en las filas 3 y 4, el tratamiento de pulverización con 1 g/l de TMAO dihidrato cuando se aplica de forma exógena cada 4 semanas restaura en forma significativa el contenido de clorofila bajo riego con agua limitada, con un incremento en la producción de biomasa entre el 40% y el

72%, que se muestra en el contenido de clorofila por sobre las plantas no tratadas con un riego del 30%.

Ejemplo 13: El TMAO dihidrato aplicado en forma exógena aumenta la producción de las plantas en el maíz con riego con agua limitada. Se sembraron semillas de maíz "FAO700", se cultivaron y se trataron como se describe. Los tratamientos de pulverización con TMAO 1 g/l aumentaron la producción de granos de la planta.

Tabla 13. Número promedio de granos por mazorca y análisis de ANOVA para las plantas de maíz tratadas con TMAO en aerosol o de semillas en condiciones de cultivo con agua limitada.

RÉGIMEN DE RIEGO	N	TRATAMIENTO	NÚMERO PROMEDIO DE GRANOS POR MAZORCA	VALOR DE P
100% DE AGUA	30	-	533,95 ± 22,48	-
30% DE AGUA	23	-	429,13 ± 45,31	-
30% DE AGUA	53	AEROSOL con TMAO 1 g/l	511,34 ± 19,70	0,0495 *
30% DE AGUA	20	SEMILLA con TMAO 1 g/l	542,89 ± 41,22	0,0757

La Tabla 13 muestra que se puede aplicar TMAO de forma exógena por medio de aspersión antes de que se produzca el estrés hídrico, o por medio de incubación de semillas, para incrementar la producción de biomasa en las plantas monocotiledóneas, en condiciones de estrés hídrico limitado. En la fila 2 se muestra que el 30% de riego con agua disminuye de forma significativa el número total de granos por mazorca de maíz en comparación con las plantas de la fila 1 con riego con agua normal. Sin embargo, como se muestra en las filas 3 y 4, el tratamiento de pulverización con 1 g/l de TMAO dihidrato cuando se aplica de forma exógena cada 4 semanas restaura de forma significativa el número total de granos por mazorca de maíz con riego con agua limitada con un aumento en la producción de biomasa entre el 19% y el 27%, que se muestra en el contenido de clorofila en las plantas no tratadas con un riego del 30%. Es de destacar que la fila 4 en realidad muestra un aumento del 2% en el número total de granos por mazorca de maíz para las plantas de maíz con un 30% de riego con agua con un tratamiento de pulverización de 1 g/l de TMAO dihidrato en comparación con las plantas de maíz sin estrés hídrico o el 100% de riego.

Ejemplo 14: La aplicación exógena de TMAO dihidrato no tiene compensaciones en el puerro, la lechuga, el brócoli, el apio o el colinabo. La producción de raíces u hojas se determinó en las plantas tratadas con 1 g/l de TMAO dihidrato o agua de como se ha descrito anteriormente con el fin de evaluar los costos de compensación del tratamiento sin estrés hídrico. Sin embargo, no se observó ninguna diferencia significativa en la producción de rendimiento que en la mayoría de los casos era ligeramente mayor en las plantas tratadas con TMAO dihidrato.

Tabla 14 Rendimiento de producción después de los tratamientos de pulverización con TMAO dihidrato cada 4 semanas durante 3 meses

Cultivo	% del control
Puerro	102
Lechuga	112
Brócoli	120
Apio	100
Colinabo	103

La Tabla 14 muestra que se puede aplicar TMAO en forma exógena durante tres meses sin un costo de adaptabilidad. En la fila 1 el peso de producción total de las plantas de puerro tratadas con TMAO dihidrato produjo el 102% en comparación con los controles tratados con agua, en la fila 2 el peso de producción total de las plantas de lechuga tratadas con TMAO dihidrato produjo el 112% en comparación con los controles, en la fila 3 el peso de producción total de plantas de brócoli tratadas con TMAO dihidrato produjo un 120% en comparación con los controles, mientras que en la fila 4 el peso de producción total de las plantas de apio tratadas con TMAO dihidrato produjo lo mismo que los controles tratados con agua, y finalmente en la fila 5 plantas colinabo produjeron el 103% en comparación con los controles tratados con agua.

Ejemplo 15: El TMAO dihidrato aplicado de forma exógena aumenta la producción de plantas en el brócoli en riego con agua limitada. Se sembraron semillas de brócoli 'Parthenon', se cultivaron y se trataron como se describe. Los tratamientos de pulverización y riego con 1 g/l de TMAO aumentaron la producción de las plantas.

Tabla 15. Producción de inflorescencia promedio y análisis de ANOVA para plantas de brócoli tratadas con TMAO en aerosol en condiciones de cultivo con agua limitada.

RIEGO	N	TRATAMIENTO	PESO PROMEDIO (gramos/fruta)	Valor ANOVA P	% de control
100% DE AGUA	36	AGUA	202,8 ± 17,5	-	250

30% DE AGUA	36	AGUA	80,5 ± 8,9	0,4243	-
30% DE AGUA	36	aerosol con TMAO 1 g/l	87,3 ± 6,7	0,3406	108
30% DE AGUA	36	Riego con TMAO 1 g/l	85,2 ± 4,6	0,3406	106

La Tabla 15 muestra que se puede aplicar TMAO de forma exógena por medio de aspersión antes de que se produzca el estrés hídrico para incrementar la producción en la familia *Brassicaceae*, en condiciones de estrés hídrico limitado. En la fila 2 se muestra que el 30% de riego con agua disminuye de forma significativa la producción de plantas (80,5 g/planta) en comparación con las plantas de la fila 1 con riego con agua normal (202,8 g/planta). Sin embargo, como se muestra en las filas 3 y 4, el tratamiento de pulverización o riego con 1 g/l de TMAO dihidrato aplicado de forma exógena cada 4 semanas restaura parcialmente la producción de las plantas, con un aumento de la producción de inflorescencia del 8% o el 6%, respectivamente, incluso con riego con agua limitada (87,3 g/planta y 85,2 g/planta) sobre las plantas no tratadas con riego del 30%.

Ejemplo 16: El TMAO dihidrato aplicado de forma exógena aumenta la producción de plantas en la cebada cultivada en el campo y sin riego. Se sembraron semillas de cebada "Hispanic", se cultivaron y se trataron como se describe. Ambos tratamientos, el de semilla (1 g/l/kg de TMAO) y una combinación de semilla y de pulverización con 1 g/l de TMAO aumentaron la producción de granos de la planta.

Tabla 16. Producción de semillas promedio en gramos por metro cuadrado análisis de ANOVA para las plantas de cebada tratadas con TMAO en la semilla o en semilla y pulverización cultivadas en el campo y sin riego externo y con 200 l/m<sup>2</sup> de agua de lluvia en total a lo largo de la temporada.

	TRATAMIENTO	NÚMERO PROMEDIO DE GRAMOS POR METRO CUADRADO	VALOR DE P	% del Control
8	-	190,63 ± 26,24	-	-
8	1g de TMAO/1 kg de SEMILLA	225,98 ± 11,89	0,04615 *	18
8	1g de TMAO/1 kg de SEMILLA + TMAO 1 g/l EN aerosol	256,36 ± 12,78	0,0438 *	35

La Tabla 16 muestra que se puede aplicar TMAO de forma exógena por medio de aspersión antes de que se produzca el estrés hídrico, o por medio de incubación de semillas, para incrementar la producción de semillas en las plantas de cereales cultivadas en el campo abierto y sin riego adicional. En la fila 2 se muestra que el tratamiento de semillas con 1 g de TMAO por cada 1 kg de semillas aumenta de forma significativa hasta un 18% el rendimiento en comparación con las plantas de la fila 1 sin tratamiento. Además, como se muestra en la fila 4, un tratamiento de pulverización adicional con 1 g/l de TMAO dihidrato aplicado de forma exógena cada 4 semanas aumenta en forma significativa el rendimiento total por metro cuadrado hasta un 35% en comparación con el control no tratado.

Ejemplo 17: El TMAO dihidrato aplicado de forma exógena aumenta la producción de plantas en girasol cultivado en el campo sin riego externo. Se sembraron semillas de girasol "Sambra", se cultivaron y se trataron como se describe. El tratamiento de semillas (1 g/l/kg de TMAO) aumentó el contenido de clorofila de las plantas y la producción de semillas.

Tabla 16. Efectos del tratamiento de semillas con TMAO sobre la adaptabilidad en girasol en condiciones de estrés naturales. La tabla muestra el contenido de clorofila, el peso de las semillas y los valores de P para la prueba de ANOVA. Tanto las diferencias de peso como de clorofila entre los grupos control y TMAO son estadísticamente significativas. Los valores del contenido relativo de clorofila se obtienen por absorbancia óptica en dos bandas de frecuencia diferentes: 653nm (clorofila) y 931nm (Casi Infra-Rojo)

RASGO	GRUPO	N	VALOR PROMEDIO	% DE BENEFICIO/PÉRDIDA RESPECTO AL CONTROL	VALOR P ANOVA
CONTENIDO DE CLOROFILA	CONTROL	100	16,28 ± 0,42	30,0%	0,0000
	TRATAMIENTO DE SEMILLA	100	21,17 ± 0,54		
PESO DE LAS SEMILLAS DE 1 PLANTA	CONTROL	8	90,8 ± 9,0	77,7%	0,0005
	TRATAMIENTO DE SEMILLA	8	161,3 ± 13,1		

La Tabla 17 muestra que se puede aplicar TMAO de forma exógena por medio de un tratamiento de semillas antes de que se produzca el estrés hídrico, para incrementar la producción de semillas en las plantas oleaginosas de cultivo tales como girasol cultivadas en campo abierto y sin riego adicional. En la columna 5 se muestra que el tratamiento de semillas con 1 g de TMAO por cada 1 kg de semillas aumenta en forma significativa hasta un 30% el



contenido de clorofila y el rendimiento hasta un 77% en comparación con plantas control sin tratamiento.

Ejemplo 18: DDAO aplicado de forma exógena aumenta la supervivencia de las plantas en pimiento en condiciones de sequía extrema. Se sembraron semillas de pimiento "Murano", se cultivaron y se trataron como se describe anteriormente. DDAO 0,5 g/l aplicado como tratamiento de semillas, riego o pulverización mejorará la tasa de supervivencia en comparación con los controles no tratados. DDAO 0,5 g/l pulverizado fue el mejor tratamiento, con un 83,3% de supervivencia de las plantas.

Tabla 18. Tasa promedio de supervivencia y análisis de ANOVA para plantas de pimiento tratadas con DDAO en condiciones de cultivo con sequía.

N	TRATAMIENTO	TASA DE SUPERVIVENCIA (%)	Valor P ANOVA
96	SEMILLA DE AGUA	22,9 ± 4,1	0,0000
96	SEMILLA con DDAO 0,5 g/kg	76,1 ± 4,1	
96	PULVERIZACIÓN DE AGUA	22,9 ± 4,1	
96	PULVERIZACIÓN con DDAO 0,5 g/l	83,3 ± 4,1	
96	RIEGO CON AGUA	8,3 ± 4,1	
96	RIEGO con DDAO 0,5 g/l	35,4 ± 4,1	

La Tabla 18 muestra que el DDAO se puede aplicar de forma exógena por medio de semillas y/o pulverización y/o riego antes de que se produzca el estrés hídrico, para incrementar la tasa de supervivencia de las plantas en condiciones extremas de estrés hídrico en una especie cultivo vegetal. En las filas 1 y 2, se comparan los tratamientos de semillas y el tratamiento con DDAO aumenta la supervivencia del 22,9% al 76,1%. La tasa de supervivencia después de la sequía también aumenta en forma significativa al 35,4% cuando se aplica DDAO en el riego como se muestra en la fila 6, mientras que la supervivencia más baja fue en la fila 5 del control de riego sin DDAO (8,3%). Los mejores resultados se obtienen cuando las plantas se riegan con DDAO a 0,5 g/l (fila 4).

Ejemplo comparativo 19:

Según lo mostrado en la Tabla 19 y la Tabla 20 a continuación, la sobreexpresión de FMO GS-OX5 para incrementar la producción endógena de TMAO dihidrato no tiene compensaciones en *Arabidopsis*. La biomasa de las plantas y el rendimiento de semillas se determinó en semillas transgénicas (genotipos X3 y X8) y de tipo salvaje (Col-0) de *Arabidopsis thaliana* que se sembraron, se cultivaron y se trataron como se describe anteriormente con el fin de evaluar los costos de compensación del aumento de la producción endógena de TMAO sin estrés hídrico. Sin embargo, como se muestra en las Tablas 19 y 20, no se observó ninguna diferencia significativa en la biomasa de las plantas o el peso de las semillas o el rendimiento. El peso vegetativo medio incrementó con el número de copias de la FMO GS-OX5, fue mayor de forma significativa cuando estaban presentes 8 copias del gen en comparación con el genotipo de 3 copias. El peso promedio de las semillas aumentó con el número de copias de FMO GS-OX5, que fue mayor cuando estaban presentes 8 copias del gen en comparación con el genotipo de 3 copias.

Tabla 19. Se evaluó la biomasa de las plantas como el valor de peso promedio (en gramos) ± E.E. para tres grupos diferentes de plantas cultivadas sin condiciones de estrés: plantas de tipo salvaje (Col-0) y transgénicas (X3 y X8) de *Arabidopsis thaliana*.

Genotipo	N	BIOMASA VALOR DE PESO PROMEDIO ± E.E.	Valor P ANOVA
Col-0	10	2.0637 ± 0.2240	
RCI5-OE.FMOX3	10	1,9199 ± 0,1383	0,5917
RCI5-OE.FMOX8	10	2,5815 ± 0,1191	0,023 *

Tabla 20. El peso o el rendimiento de las semillas de las plantas se evaluó como el valor de peso promedio (en mg) ± E.E. para tres grupos diferentes de semillas y silicuas de las plantas *Arabidopsis* cultivadas sin condiciones de estrés: plantas de tipo salvaje (Col-0) y transgénicas (38,3 y 38,8) de *Arabidopsis thaliana*.

Genotipo	N	SEMILLA VALOR DE PESO PROMEDIO ± E.E.	Valor P ANOVA
Col-0	10	522,8 ± 22,64	
RCI5-OE.FMOX3	10	495,1 ± 37,22	0,5330
RCI5-OE.FMOX 8	10	546,3 ± 35,09	0,5806

Ejemplo comparativo 20:

Como se muestra en la Tabla 21 a continuación, la sobreexpresión de FMO GS-OX5 aumenta la supervivencia de plantas en *Arabidopsis* con riego de agua limitada: las plantas control (de seis semanas) se regaron con 40 ml de agua dos veces a la semana, mientras que las plantas tratadas con " riego con agua limitada" se regaron con 30 ml de agua una vez por semana. Se sembraron semillas transgénicas (genotipos X3 y X8) y de tipo salvaje (Col-0) de

*Arabidopsis thaliana*, se cultivaron y se trataron como se describe. El valor de adaptabilidad aumentó con el número de copias de FMO GS-OX5, que era mayor cuando estaban presentes 8 copias del gen en comparación con el genotipo de 3 copias. Los valores de adaptabilidad se asignaron usando los siguientes criterios: 0: Planta muerta; 1: síntomas de planta críticamente dañada; 2: síntomas de planta moderadamente dañada; 3: síntomas de planta ligeramente dañada; 4: planta sana. Como se muestra en la Tabla 20, las plantas transgénicas tuvieron un valor de adaptabilidad mayor de forma significativa que las plantas no transgénicas.

Tabla 21 Valor promedio de desempeño  $\pm$  E.E. para tres genotipos diferentes cultivados con riego con agua limitada: plantas de tipo salvaje (Col-0) y transgénicas (X3 y X8) de *Arabidopsis thaliana*.

GENOTIPO	NUMERO DE PLANTAS	VALOR DE ADAPTABILIDAD	Valor P ANOVA
Col-0	60	1,75 $\pm$ 0,09	-
RCI5-OE.FMOX3	60	2,533 $\pm$ 0,09	0,0000 *
RCI5-OE.FMOX8	60	3,066 $\pm$ 0,09	0,0000 *

#### Ejemplo comparativo 21

La sobreexpresión de FMO GS-OX5 aumenta la supervivencia de las plantas en *Arabidopsis* en condiciones de sequía: las plantas control (de seis semanas) se regaron con 40 ml de agua dos veces a la semana; mientras que las plantas tratadas por "sequía" no se regaron hasta que estaban marchitas todas las plantas. (El TMAO dihidrato aplicado en forma exógena es capaz de recuperar la supervivencia de las plantas en plantas estresadas por sequía de tipo salvaje. Se sembraron semillas transgénicas (genotipos FMOX3 y FMOX8) y de tipo salvaje (Col-0) de *Arabidopsis thaliana*, se cultivaron y se trataron como se ha descrito. Después del primer ciclo de marchitamiento las plantas de tipo salvaje se pulverizaron con 1 g/l de TMAO dihidrato para determinar si las plantas de tipo salvaje marchitas se podían recuperar y desarrollar, así como también las plantas transgénicas en los siguientes ciclos de marchitamiento con la aplicación exógena. Los valores de adaptabilidad se asignaron usando los siguientes criterios: 0: Planta muerta; 1: síntomas de planta críticamente dañada; 2: síntomas de planta moderadamente dañada; 3: síntomas de planta ligeramente dañada; 4: planta sana. Como se muestra en la Tabla 21, las plantas transgénicas tratadas con TMAO tuvieron un valor de adaptabilidad significativamente mayor que las plantas no transgénicas tratadas con TMAO.

Tabla 22 Valor promedio de desempeño  $\pm$  E.E. para tres genotipos diferentes cultivados en condiciones de sequía: plantas de tipo salvaje (Col-0) y transgénicas (X3 y X8) de *Arabidopsis thaliana*.

GENOTIPO	NUMERO DE PLANTAS	VALOR MEDIO DE ADAPTABILIDAD $\pm$ E.E.	Valor P ANOVA
Col-0	36	1,14 $\pm$ 0,17	-
Col-0 + SOLUCIÓN de TMAO dihidrato 1 g/l PULVERIZADO	36	1,83 $\pm$ 0,21	0,0129 *
RCI5-OE.FMOX3	36	2,67 $\pm$ 0,08	0,0000 *
RCI5-OE.FMOX8	36	2,64 $\pm$ 0,08	0,0000 *

Si bien anteriormente se ha discutido un número de aspectos y realizaciones representativas, los expertos en la materia reconocerán ciertas modificaciones, permutaciones, adiciones y subcombinaciones de las mismas. Por lo tanto, se pretende que las siguientes reivindicaciones adjuntas y las reivindicaciones introducidas en adelante se interpreten para incluir todas dichas modificaciones, permutaciones, adiciones, y subcombinaciones.

La discusión anterior de la divulgación se ha presentado con fines de ilustración y descripción. Lo anterior no pretende limitar la divulgación a la forma o formas divulgadas en la presente memoria. En la Descripción Detallada anterior, por ejemplo, diversas características de la divulgación se agrupan en una o más realizaciones para el propósito de racionalizar la divulgación. Este método de divulgación no se debe interpretar como el reflejo de una intención de que la divulgación reivindicada requiere más características que las que se recitan en forma expresa en cada reivindicación. Más bien, como reflejan las siguientes reivindicaciones, los aspectos inventivos se encuentran en menos de todas las características de una sola realización anterior divulgada. De ese modo, las siguientes reivindicaciones se incorporan a esta Descripción Detallada, en donde cada reivindicación por sí misma es una realización preferida separada de la divulgación.

Como se utiliza en la presente memoria, "expresión génica" y "expresión" se han de entender como sinónimos y significan la realización de la información que está almacenada en una molécula de ácido nucleico. Los términos "polipéptido" y "proteína" se utilizan aquí de manera intercambiable.

Diversos componentes se denominan en la presente memoria "unidos en forma operativa", "unidos" o "asociados en forma operativa". Como se utiliza en la presente memoria, "unidos en forma operativa", "unión operativa", "unido" o "asociado en forma operativa" se refiere a las secuencias de ácidos nucleicos en un fragmento de ácido nucleico único de manera tal que la función de uno se ve afectada por la otra. Por ejemplo, un promotor está unido operativamente con una secuencia codificante cuando es capaz de afectar a la expresión esa secuencia codificante.

Como se utiliza en la presente memoria, "al menos uno", "uno o más", y "y/o" son expresiones abiertas que son a la vez conjuntivas y disyuntivas en su funcionamiento. Por ejemplo, cada una de las expresiones "al menos uno de A, B y C", "al menos uno de A, B, o C", "uno o más de A, B, y C", "uno o más de A, B, o C" y "A, B, y/o C" significa A solo, B solo, C solo, A y B juntos, A y C juntos, B y C juntos, o A, B y C juntos.

Como se utiliza en la presente memoria, "en algún momento" significa en algún punto de tiempo indefinido o indeterminado. Así, por ejemplo, como se utiliza en la presente memoria, "después de algún tiempo" significa posteriormente, ya sea inmediatamente después o en algún punto de tiempo indefinido o indeterminado tras el acto previo.

El uso de los términos "un", "una", "el" y "la", y referentes similares en el contexto de la descripción de la divulgación (en especial en el contexto de las siguientes reivindicaciones) se deben interpretar para cubrir tanto el singular como el plural, a menos que se indique lo contrario en la presente memoria o se contradiga claramente por el contexto. Los términos "que comprende", "que tiene", "que incluye", y "que contiene" se han de considerar como términos abiertos (es decir, que significa "que incluye, pero sin limitarse a"), a menos que se indique lo contrario. La recitación de intervalos de valores en la presente memoria pretende simplemente servir como un método abreviado de referirse en forma individual a cada valor separado que está dentro del intervalo, a menos que se indique lo contrario en la presente memoria, y cada valor separado se incorpora en la memoria descriptiva como si fuera recitado en forma individual en la presente memoria. Por ejemplo, si se divulga el intervalo de 10 a 15, entonces se divulgan también, 11, 12, 13, y 14. Todos los métodos que se describen en la presente memoria se pueden llevar a cabo en cualquier orden adecuado a menos que se indique lo contrario en la presente memoria o se contradiga claramente por el contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o lenguaje ejemplar (por ejemplo, "tales como") proporcionado en la presente memoria, está destinado simplemente para iluminar mejor la divulgación y no plantea una limitación en el alcance de la divulgación a menos que se reivindique lo contrario. Ningún lenguaje en la especificación se debe interpretar como una indicación de cualquier elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la divulgación.

### Lista de secuencias

<110> PLANTA RESPONSE BIOTECH, S.L.  
CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

<120> MÉTODO PARA AUMENTAR LA TOLERANCIA A LA SEQUÍA EN PLANTAS

<130> P11165PC00

<150> US61865549

<151> 13-08-2013

<150> US14142285

<151> 27-12-2013

<150> US14203261

<151> 10-03-2014

<160> 44

<170> PatententIn versión 3.5

<210> 1

<211> 1380

<212> ADN

<213> Arabidopsis thaliana

<400> 1

ES 2 768 523 T3

atggcaccag cacgaaccog agtcaactca ctcaacgtgg cagtgatcgg agccggagcc 60  
 gccggactcg tagctgcaag agagctccgc cgcgagaatc acaccgtcgt cgttttcgaa 120  
 cgtgactcaa aagtcggagg tctctgggta tacacaccta acagcgaacc agaccgcctt 180  
 agcctcgatc caaaccgaac catcgtccat tcaagcgtct atgattctct ccgaaccaat 240  
 ctcccacgag agtgcgatggg ttacagagac ttccccttcg tgcctcgacc tgaagatgac 300  
 gaatcaagag actcgagaag gtaccctagt cacagagaag ttcttgctta ccttgaagac 360  
 ttcgctagag aattcaaact tgtggagatg gttcagattta agaccgaagt agttcttgtc 420  
 gagcctgaag ataagaaatg gagggttcaa tccaaaaatt cagatgggat ctccaaagat 480  
 gagatctttg atgctgttgt tgtttgtaat ggacattata cagaacctag agttgctcat 540  
 gttcctggta tagattcatg gccagggag cagattcata gccacaatta ccgtgttcct 600  
 gatcaattca aagaccaggt ggtggtagt ataggaaatt ttgcgagtgg agctgatatc 660  
 agcagggaca taacgggagt ggctaaagaa gtccatatcg cgtctagatc gaatccatct 720  
 aagacatact caaaaacttcc cgggtcaaac aatctatggc ttactctat gatagaaagt 780  
 gtacacgaag atgggacgat tgtttttcag aacggtaagg ttgtacaagc tgataccatt 840  
 gtgcattgca ctggttacia atatcacttc ccattttctca acaccaatgg ctatattact 900  
 gttgaggata actgtggttg accgccttac gaacatgtct ttccgcctgc gcttgctccc 960  
 gggctttcct tcatcggttt accctggatg aactgcaat tctttatggt tgagctccaa 1020  
 agcaagtggg tggctgcagc tttgtctggc cgggtcacac ttccctcaga agagaaaatg 1080  
 atggaagacg ttaccgccta ctatgcaaag cgtgaggctt tcgggcaacc taagagatac 1140  
 acacatcgac ttggtggagg tcaggttgat taccttaatt ggatagcaga gcaaattggt 1200  
 gcaccgcccg gtgaacaatg gagatatcag gaaataaatg gcggatacta cagacttgct 1260  
 acacaatcag acactttccg tgataagtgg gacgatgatc atctcatagt tgaggcttat 1320  
 gaggatttct tgagacagaa gctgattagt agtcttcctt ctcaattatt ggaatcttga 1380

5 <210> 2  
 <211> 459  
 <212> PRT  
 <213> Arabidopsis thaliana

10 <400> 2

ES 2 768 523 T3

Met Ala Pro Ala Arg Thr Arg Val Asn Ser Leu Asn Val Ala Val Ile  
1 5 10 15

Gly Ala Gly Ala Ala Gly Leu Val Ala Ala Arg Glu Leu Arg Arg Glu  
20 25 30

Asn His Thr Val Val Val Phe Glu Arg Asp Ser Lys Val Gly Gly Leu  
35 40 45

Trp Val Tyr Thr Pro Asn Ser Glu Pro Asp Pro Leu Ser Leu Asp Pro  
50 55 60

Asn Arg Thr Ile Val His Ser Ser Val Tyr Asp Ser Leu Arg Thr Asn  
65 70 75 80

Leu Pro Arg Glu Cys Met Gly Tyr Arg Asp Phe Pro Phe Val Pro Arg  
85 90 95

Pro Glu Asp Asp Glu Ser Arg Asp Ser Arg Arg Tyr Pro Ser His Arg  
100 105 110

Glu Val Leu Ala Tyr Leu Glu Asp Phe Ala Arg Glu Phe Lys Leu Val  
115 120 125

Glu Met Val Arg Phe Lys Thr Glu Val Val Leu Val Glu Pro Glu Asp  
130 135 140

Lys Lys Trp Arg Val Gln Ser Lys Asn Ser Asp Gly Ile Ser Lys Asp  
145 150 155 160

Glu Ile Phe Asp Ala Val Val Val Cys Asn Gly His Tyr Thr Glu Pro  
165 170 175

ES 2 768 523 T3

Arg Val Ala His Val Pro Gly Ile Asp Ser Trp Pro Gly Lys Gln Ile  
 180 185 190

His Ser His Asn Tyr Arg Val Pro Asp Gln Phe Lys Asp Gln Val Val  
 195 200 205

Val Val Ile Gly Asn Phe Ala Ser Gly Ala Asp Ile Ser Arg Asp Ile  
 210 215 220

Thr Gly Val Ala Lys Glu Val His Ile Ala Ser Arg Ser Asn Pro Ser  
 225 230 235 240

Lys Thr Tyr Ser Lys Leu Pro Gly Ser Asn Asn Leu Trp Leu His Ser  
 245 250 255

Met Ile Glu Ser Val His Glu Asp Gly Thr Ile Val Phe Gln Asn Gly  
 260 265 270

Lys Val Val Gln Ala Asp Thr Ile Val His Cys Thr Gly Tyr Lys Tyr  
 275 280 285

His Phe Pro Phe Leu Asn Thr Asn Gly Tyr Ile Thr Val Glu Asp Asn  
 290 295 300

Cys Val Gly Pro Leu Tyr Glu His Val Phe Pro Pro Ala Leu Ala Pro  
 305 310 315 320

Gly Leu Ser Phe Ile Gly Leu Pro Trp Met Thr Leu Gln Phe Phe Met  
 325 330 335

Phe Glu Leu Gln Ser Lys Trp Val Ala Ala Ala Leu Ser Gly Arg Val  
 340 345 350

Thr Leu Pro Ser Glu Glu Lys Met Met Glu Asp Val Thr Ala Tyr Tyr  
 355 360 365

Ala Lys Arg Glu Ala Phe Gly Gln Pro Lys Arg Tyr Thr His Arg Leu  
 370 375 380

Gly Gly Gly Gln Val Asp Tyr Leu Asn Trp Ile Ala Glu Gln Ile Gly  
 385 390 395 400

Ala Pro Pro Gly Glu Gln Trp Arg Tyr Gln Glu Ile Asn Gly Gly Tyr  
 405 410 415

Tyr Arg Leu Ala Thr Gln Ser Asp Thr Phe Arg Asp Lys Trp Asp Asp  
 420 425 430



ES 2 768 523 T3

Asp His Leu Ile Val Glu Ala Tyr Glu Asp Phe Leu Arg Gln Lys Leu  
 435 440 445

Ile Ser Ser Leu Pro Ser Gln Leu Leu Glu Ser  
 450 455

<210> 3  
 <211> 1552  
 <212> ADN  
 <213> Brassica rapa

5

<400> 3  
 gcacgaggca aaaaaacaaa cataacatta acatttgaaa aatggcacca gctcaaaacc 60  
 tagtcagttc gaaacacgta gcggtgatcg gagccggagc atccgggtta atagcggcca 120  
 gagagctcca tcgtgaaggt cacaccgtcg tcgtttttga gcgggagaaa caagtgggag 180  
 gtctctggat ttactcacct aaatctgaat ccgaccogct tggctctcgac ccgacaagac 240  
 ctatagttca ctcgagtgtc tacgagtctc tccgaaccaa cctcccgaga gagtgtatgg 300  
 gtttcagggg ttttccgttc gtgccatgtg ttgatgactt ttcaagagac tcgagaaggt 360  
 atccgagcca caggaaggt cttgcgatcc ttcaagactt tgctagagag tttaaaatag 420  
 aggagatggg ccggttcgag accgaggtgg ttcgggttga gccggttgat ggaaaatgga 480  
 ggggtccgatc caaaaactcc gatgatctct ccgaagatga gatctttgac gcagtcggtg 540  
 tttgcagtgg gcattatacc gaaccttatg ttgctcatat tcctgggata aatcatggc 600  
 caggaaagca gatccatagc cataactaca gagttccggg tccattcaaa aatgaggtgg 660  
 tgggtggtcat cggaaatfff gcgagcgggt ccgatattag tagagacgta gctaaggtcg 720  
 ccaaagaagt ccacgttgcg tctagagggg gtgaagctag tacgtatgag aagctttccg 780  
 tgcccaccaa caatctatgg attcattctg agatagagac tgcatgtgat gatggttcaa 840  
 ttgttttcaa aatgggaag gcggttcatg cagatactgt tgtgtattgt accgggtaca 900  
 agtataagtt tccatttctt gaaaccaatg gttatatgag cattgatgat aaccgcggtg 960  
 aacctttgta caaacatgtc tttccaccgg cgcttgcccc agggctttct tttgttgggt 1020  
 taccagggat gggcatacaa ttcgctcatgt ttgaaatcca aagcaaatgg gtagctgcag 1080  
 ttttgtctgg acgagttaca cttcctgcac cagaaaaaat gatggaagat cttattgcat 1140  
 cgtatgccat gcttgaagcg ttaggtattc ccaagagata tacacataaa ttgggtaaaa 1200  
 ttcagtctaa ttatcttgac tgggtcgcag aagaatgtgg ttgtcagcct gttgagcctt 1260  
 ggagaactca acaagttgac cgtgggttatg agagacttgt ttctaaccct gaaaattacc 1320  
 gcgatgaatg ggacgacgat gatctcataa aagaagcgta cgaggatfff gctagtaaga 1380  
 agttgattag ctttcttctt tcttatttcc ccaaatcagg aagatgatat cccataatgg 1440  
 tgcctacttg tttttaaggg tctacttgta ttatttttaa aaatgttggg ttttaataaag 1500  
 ctgaatgtaa ggggtgcttg ttatacaatg gctactactt ttccctcgtg cc 1552

10

ES 2 768 523 T3

<210> 4  
 <211> 461  
 <212> PRT  
 <213> Brassica rapa

5

<400> 4  
 Met Ala Pro Ala Gln Asn Leu Val Ser Ser Lys His Val Ala Val Ile  
 1 5 10 15  
  
 Gly Ala Gly Ala Ser Gly Leu Ile Ala Ala Arg Glu Leu His Arg Glu  
 20 25 30  
  
 Gly His Thr Val Val Val Phe Glu Arg Glu Lys Gln Val Gly Gly Leu  
 35 40 45  
  
 Trp Ile Tyr Ser Pro Lys Ser Glu Ser Asp Pro Leu Gly Leu Asp Pro  
 50 55 60  
  
 Thr Arg Pro Ile Val His Ser Ser Val Tyr Glu Ser Leu Arg Thr Asn  
 65 70 75 80  
  
 Leu Pro Arg Glu Cys Met Gly Phe Arg Asp Phe Pro Phe Val Pro Cys  
 85 90 95  
  
 Val Asp Asp Phe Ser Arg Asp Ser Arg Arg Tyr Pro Ser His Arg Glu  
 100 105 110  
  
 Val Leu Ala Tyr Leu Gln Asp Phe Ala Arg Glu Phe Lys Ile Glu Glu  
 115 120 125  
  
 Met Val Arg Phe Glu Thr Glu Val Val Arg Val Glu Pro Val Asp Gly  
 130 135 140  
  
 Lys Trp Arg Val Arg Ser Lys Asn Ser Asp Asp Leu Ser Glu Asp Glu  
 145 150 155 160  
  
 Ile Phe Asp Ala Val Val Val Cys Ser Gly His Tyr Thr Glu Pro Tyr  
 165 170 175  
  
 Val Ala His Ile Pro Gly Ile Lys Ser Trp Pro Gly Lys Gln Ile His  
 180 185 190  
  
 Ser His Asn Tyr Arg Val Pro Gly Pro Phe Lys Asn Glu Val Val Val  
 195 200 205

ES 2 768 523 T3

Val Ile Gly Asn Phe Ala Ser Gly Ala Asp Ile Ser Arg Asp Val Ala  
 210 215 220

Lys Val Ala Lys Glu Val His Val Ala Ser Arg Gly Ser Glu Ala Ser  
 225 230 235 240

Thr Tyr Glu Lys Leu Ser Val Pro Thr Asn Asn Leu Trp Ile His Ser  
 245 250 255

Glu Ile Glu Thr Ala Cys Asp Asp Gly Ser Ile Val Phe Lys Asn Gly  
 260 265 270

Lys Ala Val His Ala Asp Thr Val Val Tyr Cys Thr Gly Tyr Lys Tyr  
 275 280 285

Lys Phe Pro Phe Leu Glu Thr Asn Gly Tyr Met Ser Ile Asp Asp Asn  
 290 295 300

Arg Val Glu Pro Leu Tyr Lys His Val Phe Pro Pro Ala Leu Ala Pro  
 305 310 315 320

Gly Leu Ser Phe Val Gly Leu Pro Gly Met Gly Ile Gln Phe Val Met  
 325 330 335

Phe Glu Ile Gln Ser Lys Trp Val Ala Ala Val Leu Ser Gly Arg Val  
 340 345 350

Thr Leu Pro Ala Pro Glu Lys Met Met Glu Asp Leu Ile Ala Ser Tyr  
 355 360 365

Ala Met Leu Glu Ala Leu Gly Ile Pro Lys Arg Tyr Thr His Lys Leu  
 370 375 380

Gly Lys Ile Gln Ser Asn Tyr Leu Asp Trp Val Ala Glu Glu Cys Gly  
 385 390 395 400

Cys Gln Pro Val Glu Pro Trp Arg Thr Gln Gln Val Asp Arg Gly Tyr  
 405 410 415

Glu Arg Leu Val Ser Asn Pro Glu Asn Tyr Arg Asp Glu Trp Asp Asp  
 420 425 430

Asp Asp Leu Ile Lys Glu Ala Tyr Glu Asp Phe Ala Ser Lys Lys Leu  
 435 440 445

Ile Ser Phe Leu Pro Ser Tyr Phe Pro Lys Ser Gly Arg  
 450 455 460

<210> 5  
 <211> 1526  
 <212> ADN  
 <213> Cucumis sativus

ES 2 768 523 T3

<400> 5  
gaaaacatga ataaacgaat cttatcataa tttgcaaaaa tcgaaaccaa attagttgac 60  
aaccacatcg aacaagaatc atcaataatc caattccctt ttctaatacgg aaaatcaaac 120  
ggatgttata tcctctcaat ttctcccaa cttcccgcg cgtggcagta atcgggcgcg 180  
gtgccggtgg cctcgtcact gcccgtagc tcggccgcga gggccaccat gtcgtcgttt 240  
tcgaacgtaa tactcgaatc ggagggacct gggatatattc ctcaagagatt gaatccgacc 300  
cacttggact cgacccaaat cggacccgaa ttcacagcag tctctacaaa tctctacgca 360  
ccaatctccc cagagaactc atgggggtcc gcgattaccc tttgttcct cgagaagggg 420  
aggatcgaga tcccaggcga tttccaagtc accgggaggt tctgaagat ttagaagatt 480  
tcgctaataga atttgggatt tgtaaattgg tgagatttgg aactgaggtg gtatttgctg 540  
gtctggagga ggttgggaaa tggaggattg aatttagatg tgaaaatggg gatggtgaag 600  
aagacctttt tgatgctctg gttgtttggg ttggcaatta ttcacagcct cgagtggcag 660  
agattcctgg gattgatgga tggcctgggg agcaagtgca tagtcacaat tatcgtgatc 720  
ccgaaccatt tcgggtaag gttggtgtct tgataggtta ttcttcgagt ggtacagaca 780  
tttctcagga gctcattggg gttgccaaag aaattcatat tgcttggaga tcaactaaaa 840  
cagagctttt gaacacagaa tcaattaaca gtaatgtgtc atttcatcca atgattgaaa 900  
gtgtccataa agatggggca gtggtttttc aagacgggtg cgttgttttg gctgatatta 960  
ttctgcattg cactgggtac aaatatcatt tcccttttct tgaaaccaat ggcatgtta 1020  
cgggtggaaa caaccgtgta ggaccctat acaagcatgt cttccccca gcattggccc 1080  
cagggttttc ctttgttggg ttaccattta aggctgttcc tttgccatc tttgagcttc 1140  
aaagcaattg gattgctggt gttttatcaa acaggattgc acttccatca aaagaggaaa 1200  
tgttggcaga tgtaaagct ttctatgaaa atcttgaagc tttgggaag cccaagcatc 1260  
ggacccatga attgggtgat gatatgcctg tgtattgtaa ctggcttga acaacttgtg 1320  
gttgtccagc ctttgaagaa tggaggaaga aaatgtacat tgctattggt atttataaaa 1380  
aggccaatct cgagacatat cgtgatgatt ggcaggacaa tgagttgatt cgtcaagctt 1440  
acgaggaatt cagcaagtat aaatacaaat gaaaggacac tcaaaaccac atagttttga 1500  
atgcttcata agattggttc tatatg 1526

5 <210> 6  
<211> 449  
<212> PRT  
<213> Cucumis sativus

10 <400> 6

ES 2 768 523 T3

Met Leu Ser Pro Leu Asn Phe Leu Pro Thr Ser Arg Arg Val Ala Val  
 1 5 10 15

Ile Gly Ala Gly Ala Gly Gly Leu Val Thr Ala Arg Glu Leu Gly Arg  
 20 25 30

Glu Gly His His Val Val Val Phe Glu Arg Asn Thr Arg Ile Gly Gly  
 35 40 45

Thr Trp Val Tyr Ser Ser Glu Ile Glu Ser Asp Pro Leu Gly Leu Asp  
 50 55 60

Pro Asn Arg Thr Arg Ile His Ser Ser Leu Tyr Lys Ser Leu Arg Thr  
 65 70 75 80

Asn Leu Pro Arg Glu Leu Met Gly Val Arg Asp Tyr Pro Phe Val Pro  
 85 90 95

Arg Glu Gly Glu Asp Arg Asp Pro Arg Arg Phe Pro Ser His Arg Glu  
 100 105 110

Val Leu Lys Tyr Leu Glu Asp Phe Ala Asn Glu Phe Gly Ile Cys Lys  
 115 120 125

Leu Val Arg Phe Gly Thr Glu Val Val Phe Ala Gly Leu Glu Glu Val  
 130 135 140

Gly Lys Trp Arg Ile Glu Phe Arg Cys Glu Asn Gly Asp Val Glu Glu  
 145 150 155 160

Asp Leu Phe Asp Ala Leu Val Val Cys Val Gly Asn Tyr Ser Gln Pro  
 165 170 175

Arg Val Ala Glu Ile Pro Gly Ile Asp Gly Trp Pro Gly Glu Gln Val  
 180 185 190

His Ser His Asn Tyr Arg Asp Pro Glu Pro Phe Arg Gly Lys Val Val  
 195 200 205

Val Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Gly Thr Asp Ile Ser Gln Glu Leu  
 210 215 220

Ile Gly Val Ala Lys Glu Ile His Ile Ala Trp Arg Ser Thr Lys Thr  
 225 230 235 240

ES 2 768 523 T3

Glu Leu Leu Asn Thr Glu Ser Ile Asn Ser Asn Val Ser Phe His Pro  
 245 250 255

Met Ile Glu Ser Val His Lys Asp Gly Ala Val Val Phe Gln Asp Gly  
 260 265 270

Cys Val Val Leu Ala Asp Ile Ile Leu His Cys Thr Gly Tyr Lys Tyr  
 275 280 285

His Phe Pro Phe Leu Glu Thr Asn Gly Ile Val Thr Val Asp Asn Asn  
 290 295 300

Arg Val Gly Pro Leu Tyr Lys His Val Phe Pro Pro Ala Leu Ala Pro  
 305 310 315 320

Gly Leu Ser Phe Val Gly Leu Pro Phe Lys Ala Val Pro Leu Pro Ile  
 325 330 335

Phe Glu Leu Gln Ser Asn Trp Ile Ala Gly Val Leu Ser Asn Arg Ile  
 340 345 350

Ala Leu Pro Ser Lys Glu Glu Met Leu Ala Asp Val Lys Ala Phe Tyr  
 355 360 365

Glu Asn Leu Glu Ala Phe Gly Lys Pro Lys His Arg Thr His Glu Leu  
 370 375 380

Gly Asp Asp Met Pro Val Tyr Cys Asn Trp Leu Ala Thr Thr Cys Gly  
 385 390 395 400

Cys Pro Ala Phe Glu Glu Trp Arg Lys Lys Met Tyr Ile Ala Ile Gly  
 405 410 415

Ile Tyr Lys Lys Ala Asn Leu Glu Thr Tyr Arg Asp Asp Trp Gln Asp  
 420 425 430

Asn Glu Leu Ile Arg Gln Ala Tyr Glu Glu Phe Ser Lys Tyr Lys Tyr  
 435 440 445

Lys

<210> 7  
 <211> 1541  
 <212> ADN  
 <213> Cucumis sativus

5

<400> 7



ES 2 768 523 T3

```

atggaattca tcgctacttg ccaccctgac tttcctcccc ctccggcctc acctcaacct    60
acgacgatgc aacctccccg ccgctgtggca gtgatcggcg ccggtggcgc aggcctcatc    120
tcogccccgc aactttcccc ggagggccac caagtcgtgg tcttcgaacg gaataatcag    180
atcggagggg tctgggtata ttcgccccgaa attgaatccg acccacttgg agttcacctc    240
aagcggactc gaatacatag cagcctctac aaatctctac gaaccaatat ccccagagaa    300
gtcatggggg tccgtgattt cccctttggt cctcgagaag gggaggatcg agatcccagg    360
cgatttccaa gtcaccggga ggttctgaag tatttagaag atttcgctaa tgaatttggg    420
atgtgtaaat tggtgagatt tagaactgag gtggtgtttg ctggtttgga gaagcttggc    480
aatggaggg ttgaattcag atgtgagaat ggggatgttc attatgacat ttttgatgct    540
gtagtgttt gtgttgcaa tttttcgag cctcgagtag cagagattcc agggattgat    600
ggatggcctg gggagcaagt gcatagtcac aattatcgtg atcccgaacc atttcgcggt    660
aaggttgttg tgtgatagg ttattcttcg agtggtagcg acatttctca ggagctcatt    720
ggggttgcca aagaaattca tattgcttgc aggccagcta aacagagtc ttcggacgaa    780
aatcaatta ttagtaacgt ctcatctcat ccaatgatcg aaagtgtcca taaagatgga    840
acggtggtct ttcaagacgg gtccgtcgtt tcggctgatg ttattctgca ttgtactggg    900
tacaaatatc atttcccgtt tcttgaaacc aatggcactg ttacggtgga cgacaaccgt    960
gtaggacctc ttttcaagca tgtcttcccc ccagcattgg cccagggct ttccttcgtt   1020
gggttaccat ttaaggttgt tccttttgtc atatttgagc ttcaaagcaa ttggattgct   1080
ggtgttttat caaacaggat tgcacttcca tcaaaagagg aaatgttggc agatgttaaa   1140
gctttttatg aagaactcga agctcgtggc aagcccaagc atcggaccca taaattgggt   1200
ggttatacgc ctgcctactg taactggctt gcagcaactt gtggttgtcc tccctatgaa   1260
gaatggagaa aggaaatggt tgttgctact gatattaata aagtggcaa tcttgagtca   1320
taccgtgatg attggcatga cgatgagttg attcatcaag cttatgaaga atttggcaag   1380
tatactacta caaatgaagg aagtcaaac cactcgaatt tgaatgttta ataagtttgg   1440
ttctatatat ttgtacattg cacaatcatg tgtcttgatt ataaatgttg gatcttgatt   1500
tataaataaa aatgaaaata atattagacc agattatgac a                               1541

```

<210> 8  
 <211> 476  
 <212> PRT  
 <213> Cucumis sativus

5

<400> 8  
 Met Glu Phe Ile Ala Thr Cys His Pro Asp Phe Pro Pro Pro Pro Ala  
 1                    5                    10                    15

ES 2 768 523 T3

Ser Pro Gln Pro Thr Thr Met Gln His Ser Arg Arg Val Ala Val Ile  
20 25 30

Gly Ala Gly Gly Ala Gly Leu Ile Ser Ala Arg Gln Leu Ser Arg Glu  
35 40 45

Gly His Gln Val Val Val Phe Glu Arg Asn Asn Gln Ile Gly Gly Val  
50 55 60

Trp Val Tyr Ser Pro Glu Ile Glu Ser Asp Pro Leu Gly Val His Pro  
65 70 75 80

Lys Arg Thr Arg Ile His Ser Ser Leu Tyr Lys Ser Leu Arg Thr Asn  
85 90 95

Ile Pro Arg Glu Val Met Gly Val Arg Asp Phe Pro Phe Val Pro Arg  
100 105 110

Glu Gly Glu Asp Arg Asp Pro Arg Arg Phe Pro Ser His Arg Glu Val  
115 120 125

Leu Lys Tyr Leu Glu Asp Phe Ala Asn Glu Phe Gly Ile Cys Lys Leu  
130 135 140

Val Arg Phe Arg Thr Glu Val Val Phe Ala Gly Leu Glu Lys Leu Gly  
145 150 155 160

Lys Trp Arg Val Glu Phe Arg Cys Glu Asn Gly Asp Val His Tyr Asp  
165 170 175

Ile Phe Asp Ala Val Val Val Cys Val Gly Asn Phe Ser Gln Pro Arg  
180 185 190

Val Ala Glu Ile Pro Gly Ile Asp Gly Trp Pro Gly Glu Gln Val His  
195 200 205

Ser His Asn Tyr Arg Asp Pro Glu Pro Phe Arg Gly Lys Val Val Val  
210 215 220

Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Gly Thr Asp Ile Ser Gln Glu Leu Ile  
225 230 235 240

Gly Val Ala Lys Glu Ile His Ile Ala Cys Arg Pro Ala Lys Thr Glu  
245 250 255

Ser Ser Asp Glu Lys Ser Ile Ile Ser Asn Val Ser Phe His Pro Met



ES 2 768 523 T3

catttcttac ccataaatcc atgttctact caattagcta cactcaattt cctcccctcc 120  
cctcaacat caacgatgcc tcaactccagc cgcgtggcag tgatcggcgc cggcgcgga 180  
ggcctcgtct cagcccggga actttcccgg gaggaaccacc atgtggttgt attcgaacgg 240  
aatactcaaa ttggaggggc ctgggtatat tcaccggaaa ttgaatccga cccacttgga 300  
gtcgaccgg atcggaccgg aatccatagc agcctcttca aatctcttcg aaccaatata 360  
cctagagaac tcatgggggt ccgggatttc ccgtttgttc ctcgagaagg ggaggatoga 420  
gatccgaggc gatttccaag tcatcaggag gttcgcaagt atttgaaga tttcgtaat 480  
gaatttgggg tttacaaatt tgtgagattt ggaactgagg ttgtgtttgc tggtttgagg 540  
gagcttggga aatggaggat tgaatttaga tgtgaaaatg gggacgttga ttatgagatt 600  
tttgatgctg tggttgttt tgttgggaat tattcgcagc ctcgagtagc agagattcct 660  
gggattgatg gatggcctgg agagcaagtg catagtcaca attatcgtga tcccgaacca 720  
tttcggggta aggttgttgt gttgataggt tattcttcga gtggaacaga catttctcag 780  
gagctcattg gggttgccaa agaaattcat attgtttgga gatcacctaa aacagagctt 840  
ttggacagag aatcaattat tagtaatggt tcatttcatc caatgattga aagtgtgtgt 900  
aaagatggga cagtggctct tcaagacggg tgtgttgttt cggctgatgt aattttgcat 960  
tgcactgggt acaactatca tttccctttc cttgaaacca atggcaatgt tacagtggac 1020  
gacaaccgtg taggacctct atacaagcat gtcttcccc cagcattggc cccggggctt 1080  
tcctttgttg gattaccatt caaggttatt ccttttcct tgtttgagct tcaaagcaat 1140  
tgggttctg gtgttttatc aaaaaggatt gcacttccat caaaagagga aatgttggca 1200  
gatgttaaag ctttctatga agatcttgaa gctcttggca agcccaagca tcggacccat 1260  
ttattgggtg attatatgat gcctgcctat tgtaattggg ttgcaacaac ttgtggttgt 1320  
cctccctatg aagaatggag aaaggaaatg aacatttctg ttcatttta tagattgcc 1380  
aatctcaaga cgtaccgtga tgattggcac gatgatgagt tgattcgtca agcttacgag 1440  
gagtttagca agtataatac aaatgtaaga agtcaaaaca actcaaattt gaatgcttca 1500  
taagatttgt tgtatatgtg tacatttaca tatttatggt gtcattgatc cttcctctc 1560  
gttacaata 1570

<210> 10  
<211> 500  
5 <212> PRT  
<213> Cucumis sativus

<400> 10  
Met Trp Ser Arg Val Gly Ser Thr Ser Ala Ile Ile His Thr Phe Ile  
1 5 10 15

ES 2 768 523 T3

Lys Lys Asp Ser His Phe Leu Pro Ile Asn Pro Cys Ser Thr Gln Leu  
 20 25 30  
 Ala Thr Leu Asn Phe Leu Pro Ser Pro Gln Pro Ser Thr Met Pro His  
 35 40 45  
 Ser Ser Arg Val Ala Val Ile Gly Ala Gly Ala Gly Gly Leu Val Ser  
 50 55 60  
 Ala Arg Glu Leu Ser Arg Glu Asp His His Val Val Val Phe Glu Arg  
 65 70 75 80  
 Asn Thr Gln Ile Gly Gly Ala Trp Val Tyr Ser Pro Glu Ile Glu Ser  
 85 90 95  
 Asp Pro Leu Gly Val Asp Pro Asp Arg Thr Arg Ile His Ser Ser Leu  
 100 105 110  
 Phe Lys Ser Leu Arg Thr Asn Ile Pro Arg Glu Leu Met Gly Val Arg  
 115 120 125  
 Asp Phe Pro Phe Val Pro Arg Glu Gly Glu Asp Arg Asp Pro Arg Arg  
 130 135 140  
 Phe Pro Ser His Gln Glu Val Arg Lys Tyr Leu Glu Asp Phe Ala Asn  
 145 150 155 160  
 Glu Phe Gly Val Tyr Lys Phe Val Arg Phe Gly Thr Glu Val Val Phe  
 165 170 175  
 Ala Gly Leu Glu Glu Leu Gly Lys Trp Arg Ile Glu Phe Arg Cys Glu  
 180 185 190  
 Asn Gly Asp Val Asp Tyr Glu Ile Phe Asp Ala Val Val Val Cys Val  
 195 200 205  
 Gly Asn Tyr Ser Gln Pro Arg Val Ala Glu Ile Pro Gly Ile Asp Gly  
 210 215 220  
 Trp Pro Gly Glu Gln Val His Ser His Asn Tyr Arg Asp Pro Glu Pro  
 225 230 235 240  
 Phe Arg Gly Lys Val Val Val Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Gly Thr  
 245 250 255  
 Asp Ile Ser Gln Glu Leu Ile Gly Val Ala Lys Glu Ile His Ile Val  
 260 265 270

ES 2 768 523 T3

Trp Arg Ser Pro Lys Thr Glu Leu Leu Asp Arg Glu Ser Ile Ile Ser  
275 280 285

Asn Val Ser Phe His Pro Met Ile Glu Ser Val Cys Lys Asp Gly Thr  
290 295 300

Val Val Phe Gln Asp Gly Cys Val Val Ser Ala Asp Val Ile Leu His  
305 310 315 320

Cys Thr Gly Tyr Asn Tyr His Phe Pro Phe Leu Glu Thr Asn Gly Asn  
325 330 335

Val Thr Val Asp Asp Asn Arg Val Gly Pro Leu Tyr Lys His Val Phe  
340 345 350

Pro Pro Ala Leu Ala Pro Gly Leu Ser Phe Val Gly Leu Pro Phe Lys  
355 360 365

Val Ile Pro Phe Pro Leu Phe Glu Leu Gln Ser Asn Trp Val Ala Gly  
370 375 380

Val Leu Ser Lys Arg Ile Ala Leu Pro Ser Lys Glu Glu Met Leu Ala  
385 390 395 400

Asp Val Lys Ala Phe Tyr Glu Asp Leu Glu Ala Leu Gly Lys Pro Lys  
405 410 415

His Arg Thr His Leu Leu Gly Asp Tyr Met Met Pro Ala Tyr Cys Asn  
420 425 430

Trp Val Ala Thr Thr Cys Gly Cys Pro Pro Tyr Glu Glu Trp Arg Lys  
435 440 445

Glu Met Asn Ile Ser Val His Leu Tyr Arg Leu Pro Asn Leu Lys Thr  
450 455 460

Tyr Arg Asp Asp Trp His Asp Asp Glu Leu Ile Arg Gln Ala Tyr Glu  
465 470 475 480

Glu Phe Ser Lys Tyr Asn Thr Asn Val Arg Ser Gln Asn Asn Ser Asn  
485 490 495

Leu Asn Ala Ser  
500

<210> 11  
<211> 1590  
<212> ADN  
<213> Cucumis sativus

5

<400> 11

ES 2 768 523 T3

aacatgaata aacgaatctt atcataatth gcaaaaatcg aaaccaaatt agttgacaac 60  
 cacatcgaac aagaatcatc aataatccaa ttcccttttc taatcgaaa atcaaacgga 120  
 tgttatctcc tctcaatthc ctcccaactt cccgccgcgt ggcagtaatc ggcgccggtg 180  
 ccggtggcct cgtcactgcc cgtgagctcg gccgcgaggg ccacatgtc gtcgthttcg 240  
 aacgtaatac tcgaatcggg gggacctggg tatattctc agagattgaa tccgaccac 300  
 ttggactcga cccaaatcgg acccgaattc acagcagtct ctacaaatct ctacgcacca 360  
 atctccccag agaactcatg ggggtccgcg attaccctth tgttcctcga gaaggggag 420  
 atagagatcc gaggcgattt ccaagtcacc gggaggttct gaagtattta gaagatttcg 480  
 ctaatgaatt tgggatttgt aaattggtga gatttggaa tgaggtggtg tttgctggtc 540  
 tggaggaggt tgggaaatgg aggattgaat ttagatgta aaatgggat gttgaagaag 600  
 acctthttga tgctctggtt gthttgtgtg gcaattattc acagcctcga gtggcagaga 660  
 thctgggat tgatggatgg cctggggagc aattacatag tcacaattat cgtgatcccg 720  
 aaccatttcg gggtaaggth gthgtcttga taggttattc thcgagtgt acagacattt 780  
 ctcaggagct cattggggtt gccaaagaaa thcatattgc ttggagatca actaaaacag 840  
 agctthtgaa cacagaatca attaacagta atgtgtcatt tcatccaatg attgaaagtg 900  
 tcataaaga tggggcagtg gththtcaag acgggtgcgt tgtthtggt gatattattc 960  
 tgcattgcac tgggtacaaa tatcattthc ththtcttga aaccaatggc attgthacgg 1020  
 tggacaacaa ccgtgtaggg ccctataca agcatgtctt ccccccagca ttggccccag 1080  
 ggctthctct tgttgggtta ccatttaagg thgttcctth thccttgtht gagcttcaaa 1140  
 gcaattggat tgctggtgtt thtcaaaaca ggattgact thcatcaaaa gaggaaatgt 1200  
 tggcagatgt taaagctthc tatgaaaatc thgaagctth tgggaagccc aagcatcggg 1260  
 cccatgaatt gggatgatgat atgcctgcct acttggactg gcttgcagca gtatgtggtt 1320  
 gtcctgccta tgaagaatgg agaaaggaaa tgtacattgc tactcatatg aataaagtgg 1380  
 ccaatctcag gtcataccgt gacgattggc acgacaatga gthgattcgt caagcttatg 1440  
 aagaatttag caagtatgca acaaatgaag gaagtgggaa ccaactcaaaa thgagtgtth 1500  
 gataagattg gthgtataca tgttacataa thtatgtgtt gthgattaat gaaaataata 1560  
 gtagtatggg atcgccatt thctthtcaa 1590

<210> 12  
 <211> 460  
 <212> PRT  
 <213> Cucumis sativus  
 <400> 12

5



ES 2 768 523 T3

Met Leu Ser Pro Leu Asn Phe Leu Pro Thr Ser Arg Arg Val Ala Val  
1 5 10 15

Ile Gly Ala Gly Ala Gly Gly Leu Val Thr Ala Arg Glu Leu Gly Arg  
20 25 30

Glu Gly His His Val Val Val Phe Glu Arg Asn Thr Arg Ile Gly Gly  
35 40 45

Thr Trp Val Tyr Ser Ser Glu Ile Glu Ser Asp Pro Leu Gly Leu Asp  
50 55 60

Pro Asn Arg Thr Arg Ile His Ser Ser Leu Tyr Lys Ser Leu Arg Thr  
65 70 75 80

Asn Leu Pro Arg Glu Leu Met Gly Val Arg Asp Tyr Pro Phe Val Pro  
85 90 95

Arg Glu Gly Glu Asp Arg Asp Pro Arg Arg Phe Pro Ser His Arg Glu  
100 105 110

Val Leu Lys Tyr Leu Glu Asp Phe Ala Asn Glu Phe Gly Ile Cys Lys  
115 120 125

Leu Val Arg Phe Gly Thr Glu Val Val Phe Ala Gly Leu Glu Glu Val  
130 135 140

Gly Lys Trp Arg Ile Glu Phe Arg Cys Glu Asn Gly Asp Val Glu Glu  
145 150 155 160

Asp Leu Phe Asp Ala Leu Val Val Cys Val Gly Asn Tyr Ser Gln Pro  
165 170 175

Arg Val Ala Glu Ile Pro Gly Ile Asp Gly Trp Pro Gly Glu Gln Leu  
180 185 190

His Ser His Asn Tyr Arg Asp Pro Glu Pro Phe Arg Gly Lys Val Val  
195 200 205

Val Leu Ile Gly Tyr Ser Ser Ser Gly Thr Asp Ile Ser Gln Glu Leu  
210 215 220

Ile Gly Val Ala Lys Glu Ile His Ile Ala Trp Arg Ser Thr Lys Thr  
225 230 235 240

ES 2 768 523 T3

Glu Leu Leu Asn Thr Glu Ser Ile Asn Ser Asn Val Ser Phe His Pro  
 245 250 255

Met Ile Glu Ser Val His Lys Asp Gly Ala Val Val Phe Gln Asp Gly  
 260 265 270

Cys Val Val Leu Ala Asp Ile Ile Leu His Cys Thr Gly Tyr Lys Tyr  
 275 280 285

His Phe Pro Phe Leu Glu Thr Asn Gly Ile Val Thr Val Asp Asn Asn  
 290 295 300

Arg Val Gly Pro Leu Tyr Lys His Val Phe Pro Pro Ala Leu Ala Pro  
 305 310 315 320

Gly Leu Ser Phe Val Gly Leu Pro Phe Lys Val Val Pro Phe Pro Leu  
 325 330 335

Phe Glu Leu Gln Ser Asn Trp Ile Ala Gly Val Leu Ser Asn Arg Ile  
 340 345 350

Ala Leu Pro Ser Lys Glu Glu Met Leu Ala Asp Val Lys Ala Phe Tyr  
 355 360 365

Glu Asn Leu Glu Ala Phe Gly Lys Pro Lys His Arg Thr His Glu Leu  
 370 375 380

Gly Asp Asp Met Pro Ala Tyr Leu Asp Trp Leu Ala Ala Val Cys Gly  
 385 390 395 400

Cys Pro Ala Tyr Glu Glu Trp Arg Lys Glu Met Tyr Ile Ala Thr His  
 405 410 415

Met Asn Lys Val Ala Asn Leu Arg Ser Tyr Arg Asp Asp Trp His Asp  
 420 425 430

Asn Glu Leu Ile Arg Gln Ala Tyr Glu Glu Phe Ser Lys Tyr Ala Thr  
 435 440 445

Asn Glu Gly Ser Gly Asn His Ser Lys Leu Ser Val  
 450 455 460

- <210> 13
- <211> 1600
- <212> ADN
- <213> Medicago truncatula
- <400> 13

5

ES 2 768 523 T3

atgaatgaac atgttcatac tgtaagcatt caattcgatt ccaagccaat gaaattcatc 60  
atgtccaccg caacaccact tctcacaccc cgccacgtgg cagtcacogg agccggcgcc 120  
ggaggccttag tagcagcacg cgagctccga cgagaaggac atcaagtagt agtcttcgag 180  
cgaggagaag aattgggagg ttcatgggtc tacacttcag aggtagaatc cgaccactc 240  
ggtttggacc cgaaccggaa gcttatccac tcgagcctat acaattcact ccgaaccaat 300  
ttgcctcggg agagtatggg tttccgagat taccctttta ggaggaaaga agagaagggg 360  
agagattcta gaaggttccc gagtcatgga gaggtattga tgtatttgaa ggattttgct 420  
gcgatttttg agattagtga tttgggtgagg ttgaagacag aggtggtggt tgctggggtg 480  
ggtgaagggtg gaaaatggac ggtgagatct agatcagtgag agagagaatg tgtggatgag 540  
atztatgatg ctggtgttgt ttgcaatgga cattattttc aaccaagact tcccaatatt 600  
cctggcatta atgcatggcc agggaagcaa atgcatagcc ataattacag aacaccggag 660  
ccctttcaag atcaagttgt agttctaatt ggtggtgctg ccagtgcggg tgatatttct 720  
cgagacgtgg caaccgttgc taaagaagtt catattgcag ctaggtctgt tgaagaagat 780  
aagcttggaag agttacctgg ccatgataac atgtggcttc attctatgat tgacagtgtt 840  
catgaagatg gtgcagtggt ttttaaagat ggaaatgcag ttatcgtga cttcattgta 900  
cattgcacag ggtacaagta tgatttttct ttccttgaaa ccaacagcgt ggtgactgta 960  
gatgacaatc gtgttggacc actctacaag catgtttttc caccggcggt agctccatgg 1020  
ctttcctttg ttgggttacc ttggaagggt gctcccttcc ctttgtttga attgcagagt 1080  
aagtggatag ctggagtttt gtctaatacgc attgcccttc cttcagaaga ggagatgact 1140  
aaagatattg aagctttttta cttgtcactt gaagaatctg gcattcctaa gaggcacact 1200  
cataatatgg gcacgggcac ggccgatggt cagtgggact acaataactg gcttgcagat 1260  
cagtgtggtg ttcctgctat ggaagaatgg agaaggcaaa tgtatatggc tacatcgaag 1320  
aacaggctct tgcgacctga gacttatcgt gatgagtggt acgatgatga cattgttcaa 1380  
ctagctgagc atgaatttgc taagtatcag atataatggt gtattgtttt gagatttacc 1440  
aagtacaagt cattcatgcg ttatacgcct agttcagtggt tattcttaac gatcaaaaat 1500  
cagctttaaa gtgcaaataa gaatgtaaat tataatatggt tggaaatactt tcaataatc 1560  
attaatgaac atgtgataat gatgtgatct ctttttattt 1600

<210> 14

<211> 471

5 <212> PRT

<213> Medicago truncatula

<400> 14

Met Asn Glu His Val His Thr Val Ser Ile Gln Phe Asp Ser Lys Pro



ES 2 768 523 T3

Val Glu Glu Asp Lys Leu Gly Lys Leu Pro Gly His Asp Asn Met Trp  
 260 265 270

Leu His Ser Met Ile Asp Ser Val His Glu Asp Gly Ala Val Val Phe  
 275 280 285

Lys Asp Gly Asn Ala Val Ile Ala Asp Phe Ile Val His Cys Thr Gly  
 290 295 300

Tyr Lys Tyr Asp Phe Pro Phe Leu Glu Thr Asn Ser Val Val Thr Val  
 305 310 315 320

Asp Asp Asn Arg Val Gly Pro Leu Tyr Lys His Val Phe Pro Pro Ala  
 325 330 335

Leu Ala Pro Trp Leu Ser Phe Val Gly Leu Pro Trp Lys Val Ala Pro  
 340 345 350

Phe Pro Leu Phe Glu Leu Gln Ser Lys Trp Ile Ala Gly Val Leu Ser  
 355 360 365

Asn Arg Ile Ala Leu Pro Ser Glu Glu Glu Met Thr Lys Asp Ile Glu  
 370 375 380

Ala Phe Tyr Leu Ser Leu Glu Glu Ser Gly Ile Pro Lys Arg His Thr  
 385 390 395 400

His Asn Met Gly Thr Gly Thr Ala Asp Val Gln Trp Asp Tyr Asn Asn  
 405 410 415

Trp Leu Ala Asp Gln Cys Gly Val Pro Ala Met Glu Glu Trp Arg Arg  
 420 425 430

Gln Met Tyr Met Ala Thr Ser Lys Asn Arg Leu Leu Arg Pro Glu Thr  
 435 440 445

Tyr Arg Asp Glu Trp Asp Asp Asp Asp Ile Val Gln Leu Ala Glu His  
 450 455 460

Glu Phe Ala Lys Tyr Gln Ile  
 465 470

<210> 15  
 <211> 2747  
 <212> ADN  
 <213> Oryza sativa

5

<400> 15  
 catgcctacg cagcctcatg tccagtcgag tgtaaccaca agcccacggg aatttgctgt

60

ES 2 768 523 T3

ccaatgaaga cccacaaaa cgacaaaactc caataaccaca cacctccgct tccctccaaa 120  
 tcgcaacaga aatccgaagc gaaatcgcgc acgcaccgtc tcgcgatgcc gtccccgctg 180  
 ctccgcctcg ccgctcgtcgg cgcggggcgcc gccggcctgg tggcggcgcg ggagctccgc 240  
 cgggagggcc actcccccggt ggtgttcgag cgcgcgcgct ccgtggggcg cacgtggctc 300  
 tacgacgccg cccccgccac ctccgacccg ctcgccgccc gcgcgcgcca ctccagcctc 360  
 tacgcctcgc tccgcaccaa cctgccgcgg gaggtgatgg gcttcctcga ctttcccttc 420  
 gcctcctccg ccgcgagggc cggcggcgcc gccgacacgc gcaggttccc cggccaacgac 480  
 gaggtgctcc ggtatctgga ggagttcgcg cggcgggttcg acctgtacgg cctcgtccgc 540  
 ttcgggacgg aggtggtag ggttcggagg gatggcggcg gcggcggcg gaggtggcg 600  
 gtgacgtcga ggaagatcgg ggagaagggg aggcgtgagg aggaggagga ggtgatgat 660  
 gccatcgtgg tttgcaatgg ccattacacg gagcctcgcg tcgcccacat acctggtaat 720  
 ctctcgtca ctagcaaagt tgcaatctaa tcaattttgc ttgaactact cctaatcatg 780  
 gacagattca aggaattaa taatgtgta cttcgtactg ttgccaatgt atggttgcaa 840  
 tgttgatc gtcgaatcca ggaaggtaa ttaactcca aattgaactc aaccgtttga 900  
 agttttgaaa atagattggg attgatttca aatctgtatt tttttaacac tgttatgatg 960  
 atcatcaaat ccaggaaggt taagtaaact caaaattaa ctcaactggt aggttgggat 1020  
 tgacttcaaa tatgtattct ttaaactctg acaggggtgg aggcttggcc tggaaagcag 1080  
 atgcatagcc acaattaccg cgttccagag cctttccacg atcaagtaac tgtctttctt 1140  
 tacctgtgca atctttccta tcatgcattt gtgcttaaata gttatcttgg ttgatgcggt 1200  
 gcactttag gtagtgatca taatcggggc atcagcaagt gcagtagaca tctcaagggg 1260  
 ccttgcaggt gttgcagaag aggttcatgt tgctgataga tcagcacctg cctgcacttg 1320  
 caaaaggcag cctggatatg ataatatgtg gctccattcc atggtaaacg cccttttctc 1380  
 gtggtgagtg atagcatatg gtagctttat ccgctgaaag ggctgccaca tttagcacia 1440  
 ctagaaaact aattttcaag ctgcagattg atcatgcaca agaagatggc tgcgtggtgt 1500  
 ttcaggatgg cagctcaatc aaagccgatg tcatcatgca ctgtactggg tatgtaaacc 1560  
 tgcactacc tgcaaccat ttctcggctt cttgtgcgaa attgcatttt tgttactacc 1620  
 tccgtttcag gttatgccta gattcattaa tatcaatatg aatatgagca atgctagaaa 1680  
 gtcttataac ctaaaacgga ggaagtactt cagttgaaac taacaatgtg ttcctttcat 1740  
 ctgcctgtcg actagctact tgtatgattt tccattcctt gaggatgata gcgccatcac 1800  
 cgttgatgac aactgtgtcg atccactata caagcacgtt tcccaccag aagtagcacc 1860  
 tcacctgtcc ttcacggat tgccatggaa ggtcattatg tgtgcaaaaa gtgatgccat 1920

ES 2 768 523 T3

tcactttaga tgcacttgta attaagttgt cttgatcttg tgatgatcat aggatgtaa 1980  
gcattcccct gccttgcttc ttgcaggcca ttccttttcc attgtttgaa ctccaaagca 2040  
aatgggttgc cggcgtgcta tcaggacgag tcaagcttcc ttcgagcgaa gaaatgatgg 2100  
aagatgtgaa agccttccac tcgaaaatgg aagcgcgtgg atggcctaag agatacggcc 2160  
acaacttttc agactgtcag gttagcctgga gatgctttga gtgtcagtta ccaaagttct 2220  
aatgttttga aacgaaatta ataaatatga ttgtcatcta cctgcaatth ttcagtagtt 2280  
tcgtttatgc tcccttgata agcttgtttt catttccagt ttgaatatga tgattggctt 2340  
goggagcaat gtggccatcc accaattgaa caatggagga agctgatgta tgctgcta 2400  
tcagagaaca aggctgctcg tccggagagt taccgcatg agtgggacga tgatcatctt 2460  
gtggcagaag cagcagaaga tttcaagaaa tacttgtaaa atctcaagaa gatttcattc 2520  
aatgtacatg attgcaaatt tgcaatgcag aaaacatcag agaataattc tgtacacca 2580  
aaatctcaat tcatgtctgg aatgggcaca aatgctogtc atcagatagt tggtttactt 2640  
gtgtattatt tgatcatttg atgcctgtag attgtaataa taacctgaag caaaaacaag 2700  
agaataattc tgtgcatgag aaaggagaaa ccttgagtct ggaacgg 2747

<210> 16  
<211> 482  
<212> PRT  
<213> Oryza sativa

5

<400> 16  
Met Lys Thr Pro Gln Asn Asp Lys Leu Gln Tyr His Thr Pro Pro Leu  
1 5 10 15  
Pro Ser Lys Ser Gln Gln Lys Ser Glu Ala Lys Ser Arg Thr His Arg  
20 25 30  
Leu Ala Met Pro Ser Pro Ser Leu Arg Leu Ala Val Val Gly Ala Gly  
35 40 45  
Ala Ala Gly Leu Val Ala Ala Arg Glu Leu Arg Arg Glu Gly His Ser  
50 55 60  
Pro Val Val Phe Glu Arg Ala Ala Ser Val Gly Gly Thr Trp Leu Tyr  
65 70 75 80  
Asp Ala Ala Pro Ala Thr Ser Asp Pro Leu Ala Ala Gly Ala Ala His  
85 90 95  
Ser Ser Leu Tyr Ala Ser Leu Arg Thr Asn Leu Pro Arg Glu Val Met  
100 105 110



ES 2 768 523 T3

Gly Phe Leu Asp Phe Pro Phe Ala Ser Ser Ala Ala Glu Ala Gly Gly  
 115 120 125

Gly Gly Asp Thr Arg Arg Phe Pro Gly His Asp Glu Val Leu Arg Tyr  
 130 135 140

Leu Glu Glu Phe Ala Arg Arg Phe Asp Leu Tyr Gly Leu Val Arg Phe  
 145 150 155 160

Gly Thr Glu Val Val Arg Val Arg Arg Asp Gly Gly Gly Gly Gly Gly  
 165 170 175

Arg Trp Ala Val Thr Ser Arg Lys Ile Gly Glu Lys Gly Arg Arg Glu  
 180 185 190

Glu Glu Glu Glu Val Tyr Asp Ala Ile Val Val Cys Asn Gly His Tyr  
 195 200 205

Thr Glu Pro Arg Val Ala His Ile Pro Gly Val Glu Ala Trp Pro Gly  
 210 215 220

Lys Gln Met His Ser His Asn Tyr Arg Val Pro Glu Pro Phe His Asp  
 225 230 235 240

Gln Val Val Ile Ile Ile Gly Ala Ser Ala Ser Ala Val Asp Ile Ser  
 245 250 255

Arg Asp Leu Ala Gly Val Ala Glu Glu Val His Val Ala Asp Arg Ser  
 260 265 270

Ala Pro Ala Cys Thr Cys Lys Arg Gln Pro Gly Tyr Asp Asn Met Trp  
 275 280 285

Leu His Ser Met Ile Asp His Ala Gln Glu Asp Gly Cys Val Val Phe  
 290 295 300

Gln Asp Gly Ser Ser Ile Lys Ala Asp Val Ile Met His Cys Thr Gly  
 305 310 315 320

Tyr Leu Tyr Asp Phe Pro Phe Leu Glu Asp Asp Ser Ala Ile Thr Val  
 325 330 335

Asp Asp Asn Cys Val Asp Pro Leu Tyr Lys His Val Phe Pro Pro Glu  
 340 345 350

Val Ala Pro His Leu Ser Phe Ile Gly Leu Pro Trp Lys Val Ile Pro  
 355 360 365

ES 2 768 523 T3

Phe Pro Leu Phe Glu Leu Gln Ser Lys Trp Val Ala Gly Val Leu Ser  
 370 375 380

Gly Arg Val Lys Leu Pro Ser Ser Glu Glu Met Met Glu Asp Val Lys  
 385 390 395 400

Ala Phe His Ser Lys Met Glu Ala Arg Gly Trp Pro Lys Arg Tyr Ala  
 405 410 415

His Asn Phe Ser Asp Cys Gln Phe Glu Tyr Asp Asp Trp Leu Ala Glu  
 420 425 430

Gln Cys Gly His Pro Pro Ile Glu Gln Trp Arg Lys Leu Met Tyr Ala  
 435 440 445

Ala Asn Ser Glu Asn Lys Ala Ala Arg Pro Glu Ser Tyr Arg Asp Glu  
 450 455 460

Trp Asp Asp Asp His Leu Val Ala Glu Ala Ala Glu Asp Phe Lys Lys  
 465 470 475 480

Tyr Leu

- <210> 17
- <211> 1552
- <212> ADN
- <213> Vitis vinifera

5

<400> 17  
 ctctactatc ttcccatggc gccctccatc tccctgttca aatcacgtga cgttgccgtc 60  
 atcggggctg gcgctgccgg tttagtcgcc gcccgtagc tccgccgtga aggccacaag 120  
 gtcgttgtct tcgagcggga acgccaagtg ggtgggacct gggctacac gcccacagtg 180  
 gagacggatc cacttggtc cgaccgtct cgacacatag tccactccag cctctacgcc 240  
 tccctccgca ccaacctccc tagagaggtc atgggttttc tggactaccc cttcgtatcc 300  
 actggtgaac cacatagggc cccagaagg tttccgggtc accgagaggt ctgcgtttat 360  
 ctcaaggatt ttgcggttg gtttgactc aatgaattaa tccgcttcga gacggaggta 420  
 gtttatgctg gtttggtcga ggatgagaag tggagggtga agtctagaag cggaaaacgat 480  
 gcggcaattg atgtggagga gatttttgat gctgtggttg tttgcaatgg ccattacaca 540  
 gagccccgtc ttgcagaaat tcctggcatt gatgcatggc caggaaagca tatgcatagt 600  
 cacaattatc gtattcctga gccctttoga gatcaggttg tagttttgat agggggtgct 660  
 gcaagtgctg tcgacatctc tatggacatt gctcaagttg ctaaagcagt tcatattgca 720

ES 2 768 523 T3

tctagatcag ttgaggctgg aatcttgaaa aagttatctg gcaatgccat tgataacatg 780  
 tggcttcac ctatgataga aagtgtccag aaagatggta ctgtgatatt ttatgatggg 840  
 agtgtggttc ttgctgatgt aattctgcac tgcacgggat acaagtatca tttccctttt 900  
 cttgacacca gtggaattgt gactgtggat gacaatcgtg tgggacctct atacaagcat 960  
 atttttccac cacatttggc tccagggtt tcctttgttg gtttgccatg gaaggtcctc 1020  
 cctttcccca tgtttgaatt ccaaagcaaa tggatagcag gtgctctctc aggtcggatt 1080  
 ggactcccat cgcaggagga gatgatggca gatgtttcag ccttttattt gtcactagaa 1140  
 gcttctgaca caccaaagca ctacactcac aacttggctg attctcaggt aaatttgaac 1200  
 tcttatataa gtgggttagg atactgtcat gttcattttt cttactgggt atctctcaaa 1260  
 gtaatgttga aactgttctt ggatggcatt ttgcagtttg agtatgatga ttggcttgcc 1320  
 ttggaatgcg ggattccagg cgttgaagaa tggagaaaga aaatgtatga agcaactgcc 1380  
 aagaacaaga aggtccgacc agacaaatac cgcgacaaat gggaagatga agacttaatg 1440  
 ttggaagctc agaaggactt cgctggatgc cgcctgaatg gggctggtga caattgaaac 1500  
 caacctccc tacaaaataa gcaatgaaaa aaaaaaaaaa gcccgataaa ga 1552

<210> 18  
 <211> 493  
 <212> ADN  
 <213> Vitis vinifera

5

<400> 18  
 Met Ala Pro Ser Ile Ser Leu Phe Lys Ser Arg Asp Val Ala Val Ile  
 1 5 10 15  
 Gly Ala Gly Ala Ala Gly Leu Val Ala Ala Arg Glu Leu Arg Arg Glu  
 20 25 30  
 Gly His Lys Val Val Val Phe Glu Arg Glu Arg Gln Val Gly Gly Thr  
 35 40 45  
 Trp Val Tyr Thr Pro Thr Val Glu Thr Asp Pro Leu Gly Ser Asp Pro  
 50 55 60  
 Ser Arg His Ile Val His Ser Ser Leu Tyr Ala Ser Leu Arg Thr Asn  
 65 70 75 80  
 Leu Pro Arg Glu Val Met Gly Phe Leu Asp Tyr Pro Phe Val Ser Thr  
 85 90 95  
 Gly Glu Pro His Arg Asp Pro Arg Arg Phe Pro Gly His Arg Glu Val  
 100 105 110

ES 2 768 523 T3

Ser Leu Tyr Leu Lys Asp Phe Ala Val Gly Phe Gly Leu Asn Glu Leu  
115 120 125

Ile Arg Phe Glu Thr Glu Val Val Tyr Ala Gly Leu Val Glu Asp Glu  
130 135 140

Lys Trp Arg Val Lys Ser Arg Ser Gly Asn Asp Ala Ala Ile Asp Val  
145 150 155 160

Glu Glu Ile Phe Asp Ala Val Val Val Cys Asn Gly His Tyr Thr Glu  
165 170 175

Pro Arg Leu Ala Glu Ile Pro Gly Ile Asp Ala Trp Pro Gly Lys His  
180 185 190

Met His Ser His Asn Tyr Arg Ile Pro Glu Pro Phe Arg Asp Gln Val  
195 200 205

Val Val Leu Ile Gly Gly Ala Ala Ser Ala Val Asp Ile Ser Met Asp  
210 215 220

Ile Ala Gln Val Ala Lys Ala Val His Ile Ala Ser Arg Ser Val Glu  
225 230 235 240

Ala Gly Ile Leu Lys Lys Leu Ser Gly Asn Ala Ile Asp Asn Met Trp  
245 250 255

Leu His Pro Met Ile Glu Ser Val Gln Lys Asp Gly Thr Val Ile Phe  
260 265 270

Tyr Asp Gly Ser Val Val Leu Ala Asp Val Ile Leu His Cys Thr Gly  
275 280 285

Tyr Lys Tyr His Phe Pro Phe Leu Asp Thr Ser Gly Ile Val Thr Val  
290 295 300

Asp Asp Asn Arg Val Gly Pro Leu Tyr Lys His Ile Phe Pro Pro His  
305 310 315 320

Leu Ala Pro Gly Leu Ser Phe Val Gly Leu Pro Trp Lys Val Leu Pro  
325 330 335

Phe Pro Met Phe Glu Phe Gln Ser Lys Trp Ile Ala Gly Ala Leu Ser  
340 345 350

Gly Arg Ile Gly Leu Pro Ser Gln Glu Glu Met Met Ala Asp Val Ser



ES 2 768 523 T3

gcaagtgctg tcgacatctc tatggacatt gctcaagttg ctaaagcagt tcatattgca 720  
 tctagatcag ttgaggctgg aatcttgaaa aagttatctg gcaatgccat tgataacatg 780  
 tggcttcac ctatgataga aagtgtccag aaagatggta ctgtgatatt ttatgatggg 840  
 agtgtggttc ttgctgatgt aattctgcac tgcacgggat acaagtatca tttccctttt 900  
 cttgacacca gtggaattgt gactgtggat gacaatcgtg tgggacctct atacaagcat 960  
 atttttccac cacatttggc tccagggctt tcctttgttg gtttgccatg gaaggtcctc 1020  
 cctttcccca tgtttgaatt ccaaagcaaa tggatagcag gtgctctctc aggtcggatt 1080  
 ggactcccat cgcaggagga gatgatggca gatgtttcag ccttttattt gtcactagaa 1140  
 gcttctgaca caccaaagca ctacactcac aacttggtg attctcagtt tgagtatgat 1200  
 gattggcttg ccttggaatg cgggattcca ggcgttgaag aatggagaaa gaaaatgtat 1260  
 gaagcaactg ccaagaacaa gaaggtccga ccagacaaat accgcgacaa atgggaagat 1320  
 gaagacttaa tgttggagc tcagaaggac ttcgctggat gccgcctgaa tggggctggt 1380  
 gacaattgaa accaacctcc cctacaaaat aagcaatgaa aaaaaaaaaa aagcccgata 1440  
 aaga 1444

<210> 20  
 <211> 457  
 <212> ADN  
 <213> Vitis vinifera

5

<400> 20  
 Met Ala Pro Ser Ile Ser Leu Phe Lys Ser Arg Asp Val Ala Val Ile  
 1 5 10 15  
 Gly Ala Gly Ala Ala Gly Leu Val Ala Ala Arg Glu Leu Arg Arg Glu  
 20 25 30  
 Gly His Lys Val Val Val Phe Glu Arg Glu Arg Gln Val Gly Gly Thr  
 35 40 45  
 Trp Val Tyr Thr Pro Thr Val Glu Thr Asp Pro Leu Gly Ser Asp Pro  
 50 55 60  
 Ser Arg His Ile Val His Ser Ser Leu Tyr Ala Ser Leu Arg Thr Asn  
 65 70 75 80  
 Leu Pro Arg Glu Val Met Gly Phe Leu Asp Tyr Pro Phe Val Ser Thr  
 85 90 95  
 Gly Glu Pro His Arg Asp Pro Arg Arg Phe Pro Gly His Arg Glu Val  
 100 105 110

ES 2 768 523 T3

Ser Leu Tyr Leu Lys Asp Phe Ala Val Gly Phe Gly Leu Asn Glu Leu  
 115 120 125

Ile Arg Phe Glu Thr Glu Val Val Tyr Ala Gly Leu Val Glu Asp Glu  
 130 135 140

Lys Trp Arg Val Lys Ser Arg Ser Gly Asn Asp Ala Ala Ile Asp Val  
 145 150 155 160

Glu Glu Ile Phe Asp Ala Val Val Val Cys Asn Gly His Tyr Thr Glu  
 165 170 175

Pro Arg Leu Ala Glu Ile Pro Gly Ile Asp Ala Trp Pro Gly Lys His  
 180 185 190

Met His Ser His Asn Tyr Arg Ile Pro Glu Pro Phe Arg Asp Gln Val  
 195 200 205

Val Val Leu Ile Gly Gly Ala Ala Ser Ala Val Asp Ile Ser Met Asp  
 210 215 220

Ile Ala Gln Val Ala Lys Ala Val His Ile Ala Ser Arg Ser Val Glu  
 225 230 235 240

Ala Gly Ile Leu Lys Lys Leu Ser Gly Asn Ala Ile Asp Asn Met Trp  
 245 250 255

Leu His Pro Met Ile Glu Ser Val Gln Lys Asp Gly Thr Val Ile Phe  
 260 265 270

Tyr Asp Gly Ser Val Val Leu Ala Asp Val Ile Leu His Cys Thr Gly  
 275 280 285

Tyr Lys Tyr His Phe Pro Phe Leu Asp Thr Ser Gly Ile Val Thr Val  
 290 295 300

Asp Asp Asn Arg Val Gly Pro Leu Tyr Lys His Ile Phe Pro Pro His  
 305 310 315 320

Leu Ala Pro Gly Leu Ser Phe Val Gly Leu Pro Trp Lys Val Leu Pro  
 325 330 335

Phe Pro Met Phe Glu Phe Gln Ser Lys Trp Ile Ala Gly Ala Leu Ser  
 340 345 350

Gly Arg Ile Gly Leu Pro Ser Gln Glu Glu Met Met Ala Asp Val Ser  
 355 360 365



ES 2 768 523 T3

Ala Phe Tyr Leu Ser Leu Glu Ala Ser Asp Thr Pro Lys His Tyr Thr  
370 375 380

His Asn Leu Ala Asp Ser Gln Phe Glu Tyr Asp Asp Trp Leu Ala Leu  
385 390 395 400

Glu Cys Gly Ile Pro Gly Val Glu Glu Trp Arg Lys Lys Met Tyr Glu  
405 410 415

Ala Thr Ala Lys Asn Lys Lys Val Arg Pro Asp Lys Tyr Arg Asp Lys  
420 425 430

Trp Glu Asp Glu Asp Leu Met Leu Glu Ala Gln Lys Asp Phe Ala Gly  
435 440 445

Cys Arg Leu Asn Gly Ala Gly Asp Asn  
450 455

- 5 <210> 21
- <211> 1674
- <212> ADN
- <213> Vitis vinifera

<400> 21  
ctccactttc ttcccatggc gccctccatc tccctgttca aatcacgtga cgttgcccgtc 60  
atcggggctg gcgctgccgg tttagttgcc gcccgtagc tccgccgtga aggccacaag 120  
gtcgttgtct tcgagcggga acgccaagtg ggtgggacct gggctctacac gccacagtg 180  
gagacggatc cacttggcgc cgaccctctc cgacacatag tccactccag cctctacgcc 240  
tccctccgca ccaacctccc cagagaggtc atggggtttc tggactacc cttcgtatcc 300  
actggtgaac ctcatagga ccccagaag tttccgggtc accgagaggt ctgcctttat 360  
ctcaaggatt ttgtggttg gtttgactc aatgaattaa tccgcttcga gacggagggtg 420  
gtttatgctg gtttggttg ggtgagaag tggggagtga agtctagaag cggaaacgat 480  
gcggaattg atgtggagga gatttttgat gctgtggttg tttgcaatgg ccattacaca 540  
gagccccgtc ttgcagaaat tcctggcatt gatgcatggc caggaaagca tatgcatagt 600  
cacaattatc gtactcctga gccctttcga gatcagggtg tagttttgat agggagtgct 660  
gcaagtgctg ttgacatctc tatggacatt gctcaagttg ctaaagcagt tcatattgca 720  
tctagatcag ttgaggctgg aatcttgaa aagttatctg gcaatgctgt tgataacatg 780  
tggcttcac ctatgataga aagtgtccag aaagatggtg ctgtgatatt ttatgatggg 840  
agtgtggttc ttgctgatgt aattctgcac tgcacgggat acaagtatca tttccctttt 900  
10 ottgacacca gtggaattgt gactgtggat gacaatcgtg tgggacctct atacaagcat 960

ES 2 768 523 T3

atttttccac cacatttggc tccagggcctt tcctttgttg gtctgctatg gaaggtcctc 1020  
 cctttcccca tgtttgaatt ccaaagcaaa tggatagcag gtgctctctc aggtcggatt 1080  
 ggactcccat cgcaggagga gatgatggca gatgtttcag ccttttattt gtcacgagaa 1140  
 gcttctgaca caccaaagca ctacactcac aacttggttg attctcaggt aaatttgagc 1200  
 tcttatataa gtgggttagg atactgtcat tttcattttt cttactggtt atctctcaa 1260  
 gtaatgttga aactgttctt ggatgctatt ttgcagtttg agtatgatga ttggcttgcc 1320  
 ttggaatgcg ggattccagg cgttgaagaa tggagaaaga aaatgtatca agcaactgct 1380  
 aagaataaga aggtccgacc agacaaatac cgcgacgaat gggaagatga agacttaacg 1440  
 ttggaagctc agaaggactt cgccagatgc cgcccgaatg ggggtggcga caattgaaac 1500  
 caacctcccc tacaaaataa gcaatgaaaa aaaaaaaaaa gcccgataaa gatggatctg 1560  
 gatattgtct tgggtgagtc attcattggt cttctcttga gacttgaggt atattaattg 1620  
 aataatcagc catagcgtag ataatttttt tttttatagc gattgttttg atcg 1674

<210> 22  
 <211> 457  
 <212> ADN  
 <213> Vitis vinifera

5

<400> 22  
 Met Ala Pro Ser Ile Ser Leu Phe Lys Ser Arg Asp Val Ala Val Ile  
 1 5 10 15  
 Gly Ala Gly Ala Ala Gly Leu Val Ala Ala Arg Glu Leu Arg Arg Glu  
 20 25 30  
 Gly His Lys Val Val Val Phe Glu Arg Glu Arg Gln Val Gly Gly Thr  
 35 40 45  
 Trp Val Tyr Thr Pro Thr Val Glu Thr Asp Pro Leu Gly Ala Asp Pro  
 50 55 60  
 Ser Arg His Ile Val His Ser Ser Leu Tyr Ala Ser Leu Arg Thr Asn  
 65 70 75 80  
 Leu Pro Arg Glu Val Met Gly Phe Leu Asp Tyr Pro Phe Val Ser Thr  
 85 90 95  
 Gly Glu Pro His Arg Asp Pro Arg Arg Phe Pro Gly His Arg Glu Val  
 100 105 110  
 Ser Leu Tyr Leu Lys Asp Phe Val Val Gly Phe Gly Leu Asn Glu Leu  
 115 120 125

ES 2 768 523 T3

Ile Arg Phe Glu Thr Glu Val Val Tyr Ala Gly Leu Val Glu Asp Glu  
130 135 140

Lys Trp Gly Val Lys Ser Arg Ser Gly Asn Asp Ala Ala Ile Asp Val  
145 150 155 160

Glu Glu Ile Phe Asp Ala Val Val Val Cys Asn Gly His Tyr Thr Glu  
165 170 175

Pro Arg Leu Ala Glu Ile Pro Gly Ile Asp Ala Trp Pro Gly Lys His  
180 185 190

Met His Ser His Asn Tyr Arg Thr Pro Glu Pro Phe Arg Asp Gln Val  
195 200 205

Val Val Leu Ile Gly Ser Ala Ala Ser Ala Val Asp Ile Ser Met Asp  
210 215 220

Ile Ala Gln Val Ala Lys Ala Val His Ile Ala Ser Arg Ser Val Glu  
225 230 235 240

Ala Gly Ile Leu Glu Lys Leu Ser Gly Asn Ala Val Asp Asn Met Trp  
245 250 255

Leu His Pro Met Ile Glu Ser Val Gln Lys Asp Gly Thr Val Ile Phe  
260 265 270

Tyr Asp Gly Ser Val Val Leu Ala Asp Val Ile Leu His Cys Thr Gly  
275 280 285

Tyr Lys Tyr His Phe Pro Phe Leu Asp Thr Ser Gly Ile Val Thr Val  
290 295 300

Asp Asp Asn Arg Val Gly Pro Leu Tyr Lys His Ile Phe Pro Pro His  
305 310 315 320

Leu Ala Pro Gly Leu Ser Phe Val Gly Leu Leu Trp Lys Val Leu Pro  
325 330 335

Phe Pro Met Phe Glu Phe Gln Ser Lys Trp Ile Ala Gly Ala Leu Ser  
340 345 350

Gly Arg Ile Gly Leu Pro Ser Gln Glu Glu Met Met Ala Asp Val Ser  
355 360 365

Ala Phe Tyr Leu Ser Arg Glu Ala Ser Asp Thr Pro Lys His Tyr Thr

ES 2 768 523 T3

370

375

380

His Asn Leu Ala Asp Ser Gln Phe Glu Tyr Asp Asp Trp Leu Ala Leu  
385 390 395 400

Glu Cys Gly Ile Pro Gly Val Glu Glu Trp Arg Lys Lys Met Tyr Gln  
405 410 415

Ala Thr Ala Lys Asn Lys Lys Val Arg Pro Asp Lys Tyr Arg Asp Glu  
420 425 430

Trp Glu Asp Glu Asp Leu Thr Leu Glu Ala Gln Lys Asp Phe Ala Arg  
435 440 445

Cys Arg Pro Asn Gly Gly Gly Asp Asn  
450 455

<210> 23

<211> 887

<212> ADN

<213> Gossypium hirsutum

5

<400> 23

ctagatcagt ggcggatgaa acgtatatga aacagcctgg ttacgataat ttgtggttcc 60

attccatgat agatcatgca catgaggatg gcatgggtgg tttccgaaat gggaaaacag 120

tgcttgctga tctcattatg cactgcactg ggtacaagta tcacttcctt ttccttgaca 180

caaaaggcat tgtgactgtg gacgataatc gtcttggacc actatacaag cacgtctttc 240

ccccagcctt agccccatac ctttcattta ttgggatacc atggaagatt gttcctttcc 300

ccttatttga gtttcaaagc aatggatag cgggtathtt gtccggtcgt attacacttc 360

catcacaaaa ggaaatgatg gaagatattc aagcatttta ctgggcactt gaagattcta 420

gtataccaaa acggtatact cattgcattg gtcaatctca ggttgaatac aataattggc 480

ttgctacaca atgtggttgc caaggtgttg aaaaatggag agaagcaatg tattctatgg 540

cttcggagaa tcggcgtctt ctaccagaga tgtaccgtga tgaatgggat gatcaccacc 600

tggtttcaga agcttatgag gatttcatta agtacccttc agcatcaaac ctttagagac 660

aaaaaataaa aataaaaatc aatttacaat ggtgaaggat gtcattcacc ctggtgtata 720

caaccgggt ctgtaccgtg gcagggtact attctaccac tagaccactg gtgcttgtgc 780

gatgaaagtc tcgatataca taaatctagc acaagagtta ctaaacgaag agaattgaag 840

gagaatcaac tatatgaatt ttattgaata aaaaaaaaaa aaaaaaa 887

10

<210> 24

<211> 217

<212> PRT

<213> Gossypium hirsutum

15

<400> 24

ES 2 768 523 T3

Arg Ser Val Ala Asp Glu Thr Tyr Met Lys Gln Pro Gly Tyr Asp Asn  
 1 5 10 15

Leu Trp Phe His Ser Met Ile Asp His Ala His Glu Asp Gly Met Val  
 20 25 30

Val Phe Arg Asn Gly Lys Thr Val Leu Ala Asp Leu Ile Met His Cys  
 35 40 45

Thr Gly Tyr Lys Tyr His Phe Pro Phe Leu Asp Thr Lys Gly Ile Val  
 50 55 60

Thr Val Asp Asp Asn Arg Leu Gly Pro Leu Tyr Lys His Val Phe Pro  
 65 70 75 80

Pro Ala Leu Ala Pro Tyr Leu Ser Phe Ile Gly Ile Pro Trp Lys Ile  
 85 90 95

Val Pro Phe Pro Leu Phe Glu Phe Gln Ser Lys Trp Ile Ala Gly Ile  
 100 105 110

Leu Ser Gly Arg Ile Thr Leu Pro Ser Gln Lys Glu Met Met Glu Asp  
 115 120 125

Ile Gln Ala Phe Tyr Ser Ala Leu Glu Asp Ser Ser Ile Pro Lys Arg  
 130 135 140

Tyr Thr His Cys Ile Gly Gln Ser Gln Val Glu Tyr Asn Asn Trp Leu  
 145 150 155 160

Ala Thr Gln Cys Gly Cys Gln Gly Val Glu Lys Trp Arg Glu Ala Met  
 165 170 175

Tyr Ser Met Ala Ser Glu Asn Arg Arg Leu Leu Pro Glu Met Tyr Arg  
 180 185 190

Asp Glu Trp Asp Asp His His Leu Val Ser Glu Ala Tyr Glu Asp Phe  
 195 200 205

Ile Lys Tyr Pro Ser Ala Ser Asn Leu  
 210 215

<210> 25  
 <211> 1262  
 <212> ADN  
 <213> Zea mays

5

<400> 25  
 atggaatggtt gttgctgggc tggctacagt acagtacagg tgcaggcttc attcctccag

60

ES 2 768 523 T3

tggcggcgga caacgccgaa cagacagaag aatactgtag agaagatcgt cgcaccacc 120  
 ggaggacgag acgggcccta ggcacaccac gcaatcagcc gccccgcgcc cccgcccgcg 180  
 gttggcgatg ttgccgtgac gtcttccagg gaggagaagc caacatcaca aactccacga 240  
 cgaataactg gcagtagaag ccgagaaggt aggcccgctc gttccaacat cacaaactcc 300  
 acacggctct cctgtctccg ctgcccgctc caoctccctc catgccgtcg gcttccctcc 360  
 gcctcgccgt cgtcggcgcg ggcgcggcgg gcctggttgc cgcccgcgag ctacgccgcg 420  
 agggccatgc gcccgctcgtc ttcgagcgcg ccgcccgcgt tgggggact tggctctaca 480  
 cgcctcccgc cacgtcctcc gaccgcgtcg ggcgcgggc gacgcattcc agcctctacg 540  
 catcgctccg caccaacctg ccacgcgaga ccatgggctt cctcgacttc cccttcgccg 600  
 ctggcgccgc gggctcccga gacccccgcc ggtttcccgg gcacgaggag gtgctccgct 660  
 acctggaggc gttcgcgcgc cggttcgacc tgctccggct cgtccgcttc gagacggagg 720  
 tgctcagtgt gaggagggaa gacggaggga ggtgggctgt gacgtcgagg aagctcgggg 780  
 ataaggggag cggcgaggag gagttctatg atgccgtcgt ggtctgcaat ggtcactaca 840  
 cggagccacg cctcgccgtc attcccgttt gagtatgatg attggctcgc tgagcaatgt 900  
 ggccatccac cagtcgaaga atggaggaag cagatgtatg ctgtaacttc aatgaacaag 960  
 gcagctcgtc ctgagagtta ccgtgatgaa tgggatgacg agcatctggt ggccgaagca 1020  
 aatgaatact tcaagaaatt cttgtaaatt ctttcttact attctcatcc catattcttt 1080  
 cggcataccc gaggctgatc tcaactgcaa tatgcaaata tgaataacca ttttaagtgat 1140  
 gtggattgga tacacttctg ggttagcatt tcatcgatca ttcgatcgat gtatatatat 1200  
 gagactgttc tggtagtaaa caatcttgta gtaaactgtg gattgggtcat caattaacaa 1260  
 ca 1262

<210> 26  
 <211> 176  
 <212> PRT  
 <213> Zea mays

5

<400> 26  
 Met Pro Ser Ala Ser Leu Arg Leu Ala Val Val Gly Ala Gly Ala Ala  
 1                    5                                    10                                    15  
  
 Gly Leu Val Ala Ala Arg Glu Leu Arg Arg Glu Gly His Ala Pro Val  
                   20                                    25                                    30  
  
 Val Phe Glu Arg Ala Ala Ala Val Gly Gly Thr Trp Leu Tyr Thr Pro  
           35                                    40                                    45

ES 2 768 523 T3

Pro Ala Thr Ser Ser Asp Pro Leu Gly Ala Ala Ala Thr His Ser Ser  
50 55 60

Leu Tyr Ala Ser Leu Arg Thr Asn Leu Pro Arg Glu Thr Met Gly Phe  
65 70 75 80

Leu Asp Phe Pro Phe Ala Ala Gly Ala Ala Gly Ser Arg Asp Pro Arg  
85 90 95

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

Arg Arg Phe Asp Leu Leu Arg Leu Val Arg Phe Glu Thr Glu Val Leu  
115 120 125

Ser Val Arg Arg Glu Asp Gly Gly Arg Trp Ala Val Thr Ser Arg Lys  
130 135 140

Leu Gly Asp Lys Gly Ser Gly Glu Glu Glu Phe Tyr Asp Ala Val Val  
145 150 155 160

Val Cys Asn Gly His Tyr Thr Glu Pro Arg Leu Ala Val Ile Pro Val  
165 170 175

<210> 27

<211> 1359

<212> ADN

<213> Populus trichocarpa

5

<400> 27

atgcaaacat caaatgctac ttogctcacc tctogccacg tagctgtcat cggtgccggc 60  
gcccgcgggt tagtggcggc acgtgagctc cggcgtgaag gtcaccaagt ggttgtcttt 120  
gagaaagata gccaaattgg tgggacatgg gtgtacactc cacaggtcga aaccgaccct 180  
cttgggctag acccgacccg acacatcgtc cacaccagtt tatacaagtc cctccggacc 240  
aacttgccga gagagtcgat gggctttatg gattatccat tcgtgaccgg agcgggtgaa 300  
gggagcgacc ctagaagggt cccgggtcat gcagaagtgt tgaagtatct gcaagatfff 360  
gcaagggagt ttgggattga agaaatggtg aggtttgagt gtgaagtggg tagtgtggag 420  
atggttgata atgagaaatt gaaagtgaag tgtaaaagga tgagacctga tgggtggtgat 480  
gatgatctgc tagatgaggt ttttgatgct gttggtggtt gtaatggaca tttcacatac 540  
cctcgtattg ctgaaatccc tggcatcaac ttgtggcccc gaatgcaaat acatagccat 600  
aactatcgta ctctgaact cttcaaggat aaagttgtaa ttttaattgg cagttctgca 660  
agtgcatttg atttatccct tgagattggt ggaattgcca aagaggtgca cattgcatct 720  
agatcagttg ccaatgatac atatgaaaag cgggctgaat gtgataatat atggctacat 780



ES 2 768 523 T3

tctatgataa aaagcgcaca taaagatggt tctgtggcct tccgagatgg taacactatc 840  
 gtcgctgata ttattctgca ttgcacaggg tacaagtatt acttcccatt cctcaaaacc 900  
 aatggcattg tgactgtgga tgacaatcgt gttggaccac tctacaagca tgttttccca 960  
 cccatttttg cccgcagct ttcctttgtc ggactaccct acaggagttt acctttccca 1020  
 atctttgaaa ttcaaagcaa gtggatttct ggtgttctat ctgatcgaat tgtgctccct 1080  
 tcacaagagg acatgatgga agatgttaac accttctact cgacacttga agattctggt 1140  
 gtgcctaagc atcacactca tagcatgggg gacacaatga ttgactacaa tgcttggggt 1200  
 gcttctctgt gtcaatgtcc ttgctttgaa gaatggagag tacaaatggt ctatgaaacg 1260  
 gccaaagat tgaacgcaa cccaaagaca tttcgcgatg aatgggaaga tgacaacctg 1320  
 gtcttgcaag cctgtgaaga tttcagcaaa tacatctga 1359

<210> 28  
 <211> 452  
 <212> PRT  
 <213> Populus trichocarpa

5

<400> 28  
 Met Gln Thr Ser Asn Ala Thr Ser Leu Thr Ser Arg His Val Ala Val  
 1 5 10 15  
 Ile Gly Ala Gly Ala Ala Gly Leu Val Ala Ala Arg Glu Leu Arg Arg  
 20 25 30  
 Glu Gly His Gln Val Val Val Phe Glu Lys Asp Ser Gln Ile Gly Gly  
 35 40 45  
 Thr Trp Val Tyr Thr Pro Gln Val Glu Thr Asp Pro Leu Gly Leu Asp  
 50 55 60  
 Pro Thr Arg His Ile Val His Thr Ser Leu Tyr Lys Ser Leu Arg Thr  
 65 70 75 80  
 Asn Leu Pro Arg Glu Ser Met Gly Phe Met Asp Tyr Pro Phe Val Thr  
 85 90 95  
 Arg Ala Gly Glu Gly Ser Asp Pro Arg Arg Phe Pro Gly His Ala Glu  
 100 105 110  
 Val Leu Lys Tyr Leu Gln Asp Phe Ala Arg Glu Phe Gly Ile Glu Glu  
 115 120 125  
 Met Val Arg Phe Glu Cys Glu Val Val Ser Val Glu Met Val Asp Asn  
 130 135 140

ES 2 768 523 T3

Glu Lys Leu Lys Val Lys Cys Lys Arg Met Arg Pro Asp Gly Gly Asp  
 145 150 155 160

Asp Asp Leu Leu Asp Glu Val Phe Asp Ala Val Val Val Cys Asn Gly  
 165 170 175

His Phe Thr Tyr Pro Arg Ile Ala Glu Ile Pro Gly Ile Asn Leu Trp  
 180 185 190

Pro Gly Met Gln Ile His Ser His Asn Tyr Arg Thr Pro Glu Leu Phe  
 195 200 205

Lys Asp Lys Val Val Ile Leu Ile Gly Ser Ser Ala Ser Ala Ile Asp  
 210 215 220

Leu Ser Leu Glu Ile Gly Gly Ile Ala Lys Glu Val His Ile Ala Ser  
 225 230 235 240

Arg Ser Val Ala Asn Asp Thr Tyr Glu Lys Arg Ala Glu Cys Asp Asn  
 245 250 255

Ile Trp Leu His Ser Met Ile Lys Ser Ala His Lys Asp Gly Ser Val  
 260 265 270

Ala Phe Arg Asp Gly Asn Thr Ile Val Ala Asp Ile Ile Leu His Cys  
 275 280 285

Thr Gly Tyr Lys Tyr Tyr Phe Pro Phe Leu Lys Thr Asn Gly Ile Val  
 290 295 300

Thr Val Asp Asp Asn Arg Val Gly Pro Leu Tyr Lys His Val Phe Pro  
 305 310 315 320

Pro Ile Phe Ala Pro Gln Leu Ser Phe Val Gly Leu Pro Tyr Arg Ser  
 325 330 335

Leu Pro Phe Pro Ile Phe Glu Ile Gln Ser Lys Trp Ile Ser Gly Val  
 340 345 350

Leu Ser Asp Arg Ile Val Leu Pro Ser Gln Glu Asp Met Met Glu Asp  
 355 360 365

Val Asn Thr Phe Tyr Ser Thr Leu Glu Asp Ser Gly Val Pro Lys His  
 370 375 380

His Thr His Ser Met Gly Asp Thr Met Ile Asp Tyr Asn Ala Trp Val



ES 2 768 523 T3

gcttctggtg tacctaagca tcacactcat aacttagctc attctacaaa tgactacaac 1200  
 atgtggcttg cctcccagtg tcagtgttca tgctttgaag aatggagaat tgaaatgtcc 1260  
 catgaaattc ttaagaactg gcgtgccagg ccaaatatgt atcgtgacga atgggacgac 1320  
 gaccacctga tcttgcaagc ccatgaagac ttcaacagac gcatctcaaa caaagccagt 1380  
 aatggtcata tctga 1395

<210> 30

<211> 464

5 <212> PRT

<213> Populus trichocarpa

<400> 30

Met Gln Ala Ser Pro Asn Leu Leu Ser Ser His His Val Ala Val Ile  
 1 5 10 15

Gly Ala Gly Ala Ala Gly Leu Val Ala Ala Arg Glu Leu His Arg Glu  
 20 25 30

Gly His Lys Val Val Val Phe Glu Lys Asp Asp Gln Val Gly Gly Leu  
 35 40 45

Trp Met Tyr Asp Pro Arg Val Glu Pro Asp Pro Leu Gly Leu Asp Leu  
 50 55 60

Thr Arg Pro Val Val His Ser Ser Leu Tyr Glu Ser Leu Arg Thr Asn  
 65 70 75 80

Leu Pro Arg Glu Thr Met Gly Phe Met Asp Tyr Pro Phe Val Thr Arg  
 85 90 95

Glu Gly Glu Gly Arg Asp Pro Arg Arg Phe Pro Gly His Arg Glu Val  
 100 105 110

Leu Met Tyr Leu Gln Asp Tyr Ala Arg Glu Phe Gly Ile Glu Glu Met  
 115 120 125

Val Arg Phe Gly Cys Glu Val Val Asn Val Glu Met Ile Asp Ser Gly  
 130 135 140

Lys Trp Lys Val Lys Ser Lys Arg Lys Arg Leu Asp Asp Asn Asp Arg  
 145 150 155 160

Gly Asp Asp Phe Ala Asp His Glu Asp Phe Asp Ala Val Val Val Cys  
 165 170 175

Val Gly His Tyr Thr Gln Pro Arg Ile Ala Glu Ile Pro Gly Ile Asn



ES 2 768 523 T3

<210> 31  
 <211> 1680  
 <212> ADN  
 <213> Populus trichocarpa

5

<400> 31  
 tggggaccct gctgacgcta gcatttctca agtgtccaaa aaaccgaact ctcttcgaca 60  
 ggtcaccaca acaacaccaa tcaaacattt atcaatgcca ccacctcaac ttcctccacc 120  
 aatctcccgc cacgtggcgg tgatcgggtgc cggagccgcc ggcctcgta gtgcccgtga 180  
 gctccggaga gagggtcatg atgttgtagt ctttgaaaga gacaaccaag taggtggcac 240  
 atgggtgtac aatccccgag tcgagcccga cccgttaagc ctcgaccoga atcgacgcat 300  
 aattcactcg agcctctata gctccctccg gaccaacctc ccaagagaag taatgggttt 360  
 caaagattat ccctttatag caaaaaatga taaaaagaga gaccagagaa ggtttccggg 420  
 ccatcgagag gtgttgtgtg atttgcagga ttttgcaagt gagtttggga ttgaagaaat 480  
 ggtgaggttt gatactgaag tggttcatgt ggggcctgtt gaggataata ttggaaagtg 540  
 gattgtgagg tctaaaagga aaataagtga tgatgatagg gaggtagtt ttggatttga 600  
 tgttgacgag gagatttatg atgctgttgt tatctgtaat ggacattaca ctgaacctcg 660  
 tattgctcaa ataccagggg tcagttcatg gccaggaaaa cagatgcata gccacaatta 720  
 tcgtactcct gagggctttc aagatcaagt ggcaattttg attggaagtt cagctagttc 780  
 tgatgatata tccagagaaa ttgctggagt tgctaaagag gtccatgttg cctcaagatc 840  
 agttgcggac gaaacatatc aagagcagcc tggatatgat aatatgtggc ttcattctat 900  
 gatagaaagt gtgcatgatg atggttctgt gatcttcaga aatgggagag ttgtcgttgc 960  
 tgacattatt ctacattgca ctgggtacaa gtatcacttc ccttttctag acaccaatgg 1020  
 cattgtgacc atggatgaaa atcgtgtggc ccccctgtac aagcaagttt ttcaccagt 1080  
 tctggcccca tggctttcat ttgttgggtt accgtggaag gttgtccctt ttccttgggt 1140  
 tgaacttcaa accaagtgga ttgctggtgt tttatcaggt catattgcac ttcctgcacc 1200  
 tgaggagatg atggaagatg ttaaagcctt ctatgagaca ctagaatctt ccaacaaacc 1260  
 caaacactac actcataatt tgggtggttg tcagttcgag tacgacaact ggcttgcttc 1320  
 tcagtgcggt tgcccaggga tcgaagaatg gagaaggcaa atgtatgatg cagctagcaa 1380  
 gagtaagcgg ctccggccag agatataccg tgatgaatgg gatgatgatg acctggtctt 1440  
 ggaagcctac ggggacttca caaagtacac ttgaaaaagt tgaagcaaca gctgcatctc 1500  
 tcaatggagg tgttcgaagg ataggaaagg aagacgataa attattaggc tggcctaatt 1560  
 gtcaacatct gaatttgtgg gatcaatcat catcgttgtt aatttgact tgtatttcca 1620  
 tgattcgag ttctttacgt gaataaagaa tcaatgaaga tatccatata catatatgaa 1680

10

<210> 32  
 <211> 459  
 <212> PRT  
 <213> Populus trichocarpa

15

ES 2 768 523 T3

<400> 32

Met Pro Pro Pro Gln Leu Pro Pro Pro Ile Ser Arg His Val Ala Val  
1 5 10 15

Ile Gly Ala Gly Ala Ala Gly Leu Val Ser Ala Arg Glu Leu Arg Arg  
20 25 30

Glu Gly His Asp Val Val Val Phe Glu Arg Asp Asn Gln Val Gly Gly  
35 40 45

Thr Trp Val Tyr Asn Pro Arg Val Glu Pro Asp Pro Leu Ser Leu Asp  
50 55 60

Pro Asn Arg Arg Ile Ile His Ser Ser Leu Tyr Ser Ser Leu Arg Thr  
65 70 75 80

Asn Leu Pro Arg Glu Val Met Gly Phe Lys Asp Tyr Pro Phe Ile Ala  
85 90 95

Lys Asn Asp Lys Lys Arg Asp Gln Arg Arg Phe Pro Gly His Arg Glu  
100 105 110

Val Leu Leu Tyr Leu Gln Asp Phe Ala Ser Glu Phe Gly Ile Glu Glu  
115 120 125

Met Val Arg Phe Asp Thr Glu Val Val His Val Gly Pro Val Glu Asp  
130 135 140

Asn Ile Gly Lys Trp Ile Val Arg Ser Lys Arg Lys Ile Ser Asp Asp  
145 150 155 160

Asp Arg Glu Val Ser Phe Gly Phe Asp Val Asp Glu Glu Ile Tyr Asp  
165 170 175

Ala Val Val Ile Cys Asn Gly His Tyr Thr Glu Pro Arg Ile Ala Gln  
180 185 190



ES 2 768 523 T3

Ile Pro Gly Ile Ser Ser Trp Pro Gly Lys Gln Met His Ser His Asn  
 195 200 205

Tyr Arg Thr Pro Glu Gly Phe Gln Asp Gln Val Ala Ile Leu Ile Gly  
 210 215 220

Ser Ser Ala Ser Ser Asp Asp Ile Ser Arg Glu Ile Ala Gly Val Ala  
 225 230 235 240

Lys Glu Val His Val Ala Ser Arg Ser Val Ala Asp Glu Thr Tyr Gln  
 245 250 255

Glu Gln Pro Gly Tyr Asp Asn Met Trp Leu His Ser Met Ile Glu Ser  
 260 265 270

Val His Asp Asp Gly Ser Val Ile Phe Arg Asn Gly Arg Val Val Val  
 275 280 285

Ala Asp Ile Ile Leu His Cys Thr Gly Tyr Lys Tyr His Phe Pro Phe  
 290 295 300

Leu Asp Thr Asn Gly Ile Val Thr Met Asp Glu Asn Arg Val Ala Pro  
 305 310 315 320

Leu Tyr Lys Gln Val Phe Pro Pro Val Leu Ala Pro Trp Leu Ser Phe  
 325 330 335

Val Gly Leu Pro Trp Lys Val Val Pro Phe Pro Leu Val Glu Leu Gln  
 340 345 350

Thr Lys Trp Ile Ala Gly Val Leu Ser Gly His Ile Ala Leu Pro Ser  
 355 360 365

Pro Glu Glu Met Met Glu Asp Val Lys Ala Phe Tyr Glu Thr Leu Glu  
 370 375 380

Ser Ser Asn Lys Pro Lys His Tyr Thr His Asn Leu Gly Gly Cys Gln  
 385 390 395 400

Phe Glu Tyr Asp Asn Trp Leu Ala Ser Gln Cys Gly Cys Pro Gly Ile  
 405 410 415

Glu Glu Trp Arg Arg Gln Met Tyr Asp Ala Ala Ser Lys Ser Lys Arg  
 420 425 430

Leu Arg Pro Glu Ile Tyr Arg Asp Glu Trp Asp Asp Asp Asp Leu Val  
 435 440 445

Leu Glu Ala Tyr Gly Asp Phe Thr Lys Tyr Thr  
 450 455

5 <210> 33  
 <211> 1347

ES 2 768 523 T3

<212> ADN  
 <213> Glycine max

<400> 33

atgatgtcca ggcgagtcac actcctgacg ccgcgccacg tggcagtgat cggcgcgggc	60
gccgccggcc tagtggcggc tcgggagctc cggcgagaag ggcatcgcgt ggtggttttc	120
gagaaagggg aggaagtggg tggcatgtgg gtgtacagtc cggaggtgga ttccgatccg	180
ctgggtttgg aggcgaagcg gagattagtc cactcgagcc tctacgattc gctccgaacg	240
aatctgtctc gggagagcat gagtttccga gattaccctt tcaggaggag ggaggggaaa	300
gggagggatt ctgcaaggtt cccgggtcac agagaggtgt tactgtactt gcaggatttc	360
gctgctgaat ttgaaatcgg agaattggtg aggtttggaa cggaggtttt gtttgctgga	420
ttggatcagt gtggaagtg gaggctgact tcaacatcac ccataactca tcctgtggat	480
gagatttacg acgcccttat catttgcaac ggccattacg ttcagcctcg tcttcctcat	540
atccccggga ttaatgcatg gccagggaaag cagatgcata gccataatta tagaacacct	600
gagccctttc aagatcaagt tgtagttcta attggtagtt ctgctagtgc ggttgatatac	660
tctcgagata tcgcaacagt tgctaagaa gtccacattg cagctaggtc agttgaagaa	720
gataagctag gaaaggtgcc tggccatgag aatatgtggc ttcattctat gattgacagc	780
gttcatgaag atggtacagt ggtttttcaa gatggaaatg cagttggtgc tgacttcatc	840
atacattgca cagggtacaa gtatgatttt cccttccttg aaaccaatgg ggaggtgact	900
gtagatgaca accgtgtagg accactctac aaacatgttt tcccaccagc cttggctcca	960
tggctttctt ttgttgggtt gccttggaaag gttgctccct tctccttgtt cgaactgcag	1020
agcaagtgga tagctggaat cttgtctaata cgcattgcac ttccttcgaa agaggagatg	1080
gctaaagacg ttgatgcttt ttactcatca cttgaagcct ctggcactcc taagcgttac	1140
actcataata tgggcattct tcagtgggac tacaataact ggattgcgga tcagtgtggg	1200
gttccttcta ttgaagaatg gagaaggcaa atgtatatag ccacatctaa gaacagggtg	1260
ctgcgacccg agtcttaccg tgacgagtgg gacgatgatg acttggttct gcaagctcaa	1320
caggattttg ccaattatct cacttga	1347

5

<210> 34  
 <211> 448  
 <212> PRT  
 <213> Glycine max

10

<400> 34

ES 2 768 523 T3

Met Met Ser Ser Ala Val Thr Leu Leu Thr Pro Arg His Val Ala Val  
 1 5 10 15

Ile Gly Ala Gly Ala Ala Gly Leu Val Ala Ala Arg Glu Leu Arg Arg  
 20 25 30

Glu Gly His Arg Val Val Val Phe Glu Lys Gly Glu Glu Val Gly Gly  
 35 40 45

Met Trp Val Tyr Ser Pro Glu Val Asp Ser Asp Pro Leu Gly Leu Glu  
 50 55 60

Ala Lys Arg Arg Leu Val His Ser Ser Leu Tyr Asp Ser Leu Arg Thr  
 65 70 75 80

Asn Leu Ser Arg Glu Ser Met Ser Phe Arg Asp Tyr Pro Phe Arg Arg  
 85 90 95

Arg Glu Gly Lys Gly Arg Asp Ser Arg Arg Phe Pro Gly His Arg Glu  
 100 105 110

Val Leu Leu Tyr Leu Gln Asp Phe Ala Ala Glu Phe Glu Ile Gly Glu  
 115 120 125

Leu Val Arg Phe Gly Thr Glu Val Leu Phe Ala Gly Leu Asp Gln Cys  
 130 135 140

Gly Lys Trp Arg Leu Thr Ser Thr Ser Pro His Thr His Pro Val Asp  
 145 150 155 160

Glu Ile Tyr Asp Ala Leu Ile Ile Cys Asn Gly His Tyr Val Gln Pro  
 165 170 175

Arg Leu Pro His Ile Pro Gly Ile Asn Ala Trp Pro Gly Lys Gln Met  
 180 185 190

His Ser His Asn Tyr Arg Thr Pro Glu Pro Phe Gln Asp Gln Val Val  
 195 200 205

Val Leu Ile Gly Ser Ser Ala Ser Ala Val Asp Ile Ser Arg Asp Ile  
 210 215 220

Ala Thr Val Ala Lys Glu Val His Ile Ala Ala Arg Ser Val Glu Glu  
 225 230 235 240

Asp Lys Leu Gly Lys Val Pro Gly His Glu Asn Met Trp Leu His Ser

ES 2 768 523 T3

245 250 255

Met Ile Asp Ser Val His Glu Asp Gly Thr Val Val Phe Gln Asp Gly  
260 265 270

Asn Ala Val Gly Ala Asp Phe Ile Ile His Cys Thr Gly Tyr Lys Tyr  
275 280 285

Asp Phe Pro Phe Leu Glu Thr Asn Gly Glu Val Thr Val Asp Asp Asn  
290 295 300

Arg Val Gly Pro Leu Tyr Lys His Val Phe Pro Pro Ala Leu Ala Pro  
305 310 315 320

Trp Leu Ser Phe Val Gly Leu Pro Trp Lys Val Ala Pro Phe Ser Leu  
325 330 335

Phe Glu Leu Gln Ser Lys Trp Ile Ala Gly Ile Leu Ser Asn Arg Ile  
340 345 350

Ala Leu Pro Ser Lys Glu Glu Met Ala Lys Asp Val Asp Ala Phe Tyr  
355 360 365

Ser Ser Leu Glu Ala Ser Gly Thr Pro Lys Arg Tyr Thr His Asn Met  
370 375 380

Gly Ile Leu Gln Trp Asp Tyr Asn Asn Trp Ile Ala Asp Gln Cys Gly  
385 390 395 400

Val Pro Ser Ile Glu Glu Trp Arg Arg Gln Met Tyr Ile Ala Thr Ser  
405 410 415

Lys Asn Arg Val Leu Arg Pro Glu Ser Tyr Arg Asp Glu Trp Asp Asp  
420 425 430

Asp Asp Leu Val Leu Gln Ala Gln Gln Asp Phe Ala Asn Tyr Leu Thr  
435 440 445

<210> 35

<211> 1703

5 <212> ADN

<213> Solanum lycopersicum

<400> 35

ggtggcgtga cactcccgtc gcctttagta gatccgcccc cgctgaatgt ggtgaggaat 60

caaccaacaa atccacatgc aaagatactc aaatacaaaa ctcaacacaaa caaatccaca 120

tgcaaaactca aacacaacat aaaatattac tttagtcatg attcttaaaa atgtcatctt 180

ES 2 768 523 T3

ttcaaacc aa ccttatactc gtacacttgt atgccatttg cccatgtctc aaaattcctc 240  
 caaaaacgtc gccgttattg gtgcgggctc cgcgggctc gttgcggccc gagaactcca 300  
 acgagaaggt catagagtag ttgtattcga acgagaaaat caattaggag gcacatgggt 360  
 ttacacgccc gatacagaat ccgacccggt tgggatcgac ccgaatcggg agattgttca 420  
 ttcaagtctt tattcatctc tccgtgttaa tcttccccgg gaagtaatgg gttttgggga 480  
 ttacccgttt gtggccaaga aaaagcccgg tagagaccgg agaaggatc cgagtcattg 540  
 ggaggtgttg gaggatttga atgattttgc tgttgatttt gggattattg gggttgtgag 600  
 gtttgggatg gaagtggggt ttgtgggaaa gatggagaat ggaaaatgga aggttagttg 660  
 tagaaagagg gaaaatgatg atttgtttgc taatgaggag tatgatgctg ttgtaatatg 720  
 taatggacac tatactgaac caagaattgc tgatattcct ggaatcgaag tatggcctgg 780  
 aaagcaaatt cacagccaca actaccgtgt tcctgacct tttcgagacc aagttgttgt 840  
 gctgataggt ggtgctgcaa gtgctactga tatctccagg gaaattgctg aagttgctaa 900  
 agaggtccac atttcttcta ggtcagctac tagtggagtt ccgatgaagc tgcctggtta 960  
 tgataatatt tggctccata atatgattga agctgttggc agtgatgggt gcgtgaattt 1020  
 tcaagatggg tcgaaaatcc ttgctgacat catctacac tgcacagggg acaaatatca 1080  
 ttttcctttc ctcgaaacta acgggatagt gactgtggat gacaaccgtg ttggtccact 1140  
 ttacaagcac gttttccac cagcctttgc accaagcctt tcatttggtg ggctgccttg 1200  
 gaaggttata ccattcttct tgtgtgaatt gcaaagcaag tggatcgctg gtgttttacc 1260  
 tggtcgaatt tctctcccat caaaggaaga tatgaatgct gatattgaag ctttctactc 1320  
 atccatggca gcctcttgca ttccaaaacg gtacactcac aatatggacg actctcagtt 1380  
 tgactacgat gattggttgg ctgctcagtg tggatctaca ccctttgaag aatggagaaa 1440  
 acaaatgtac ttaatctcaa gaaagaaca aaggactctg cccgagacat atcgtgacga 1500  
 gtgggacgat gatgacttga tcattcaagc tcatgaagac ttcgtaaaat atattcctga 1560  
 actagctcaa gaacagaagc tctcaagatg attaattttg ttgttacatg aaaatatagc 1620  
 tgaataaatc gagaagtact gtaaataaac aggaaattac tcaattaatt tcaattgcaa 1680  
 ctcttgccac atgaaaaaaaa aaa 1703

<210> 36  
 <211> 477  
 <212> PRT  
 <213> Solanum lycopersicum

5

<400> 36  
 Met Ile Leu Lys Asn Val Ile Phe Ser Asn Gln Pro Tyr Thr Arg Thr  
 1 5 10 15

ES 2 768 523 T3

Leu Val Cys His Leu Pro Met Ser Gln Asn Ser Ser Lys Asn Val Ala  
 20 25 30  
 Val Ile Gly Ala Gly Ser Ala Gly Leu Val Ala Ala Arg Glu Leu Gln  
 35 40 45  
 Arg Glu Gly His Arg Val Val Val Phe Glu Arg Glu Asn Gln Leu Gly  
 50 55 60  
 Gly Thr Trp Val Tyr Thr Pro Asp Thr Glu Ser Asp Pro Val Gly Ile  
 65 70 75 80  
 Asp Pro Asn Arg Glu Ile Val His Ser Ser Leu Tyr Ser Ser Leu Arg  
 85 90 95  
 Val Asn Leu Pro Arg Glu Val Met Gly Phe Gly Asp Tyr Pro Phe Val  
 100 105 110  
 Ala Lys Lys Lys Pro Gly Arg Asp Pro Arg Arg Tyr Pro Ser His Gly  
 115 120 125  
 Glu Val Leu Glu Tyr Leu Asn Asp Phe Ala Val Asp Phe Gly Ile Ile  
 130 135 140  
 Gly Val Val Arg Phe Gly Met Glu Val Gly Phe Val Gly Lys Met Glu  
 145 150 155 160  
 Asn Gly Lys Trp Lys Val Ser Cys Arg Lys Arg Glu Asn Asp Asp Leu  
 165 170 175  
 Phe Ala Asn Glu Glu Tyr Asp Ala Val Val Ile Cys Asn Gly His Tyr  
 180 185 190  
 Thr Glu Pro Arg Ile Ala Asp Ile Pro Gly Ile Glu Val Trp Pro Gly  
 195 200 205  
 Lys Gln Ile His Ser His Asn Tyr Arg Val Pro Asp Pro Phe Arg Asp  
 210 215 220  
 Gln Val Val Val Leu Ile Gly Gly Ala Ala Ser Ala Thr Asp Ile Ser  
 225 230 235 240  
 Arg Glu Ile Ala Glu Val Ala Lys Glu Val His Ile Ser Ser Arg Ser  
 245 250 255  
 Ala Thr Ser Gly Val Pro Met Lys Leu Pro Gly Tyr Asp Asn Ile Trp  
 260 265 270

ES 2 768 523 T3

Leu His Asn Met Ile Glu Ala Val Gly Ser Asp Gly Gly Val Asn Phe  
 275 280 285

Gln Asp Gly Ser Lys Ile Leu Ala Asp Ile Ile Leu His Cys Thr Gly  
 290 295 300

Tyr Lys Tyr His Phe Pro Phe Leu Glu Thr Asn Gly Ile Val Thr Val  
 305 310 315 320

Asp Asp Asn Arg Val Gly Pro Leu Tyr Lys His Val Phe Pro Pro Ala  
 325 330 335

Phe Ala Pro Ser Leu Ser Phe Val Gly Leu Pro Trp Lys Val Ile Pro  
 340 345 350

Phe Phe Leu Cys Glu Leu Gln Ser Lys Trp Ile Ala Gly Val Leu Ser  
 355 360 365

Gly Arg Ile Ser Leu Pro Ser Lys Glu Asp Met Asn Ala Asp Ile Glu  
 370 375 380

Ala Phe Tyr Ser Ser Met Ala Ala Ser Cys Ile Pro Lys Arg Tyr Thr  
 385 390 395 400

His Asn Met Asp Asp Ser Gln Phe Asp Tyr Asp Asp Trp Leu Ala Ala  
 405 410 415

Gln Cys Gly Ser Thr Pro Phe Glu Glu Trp Arg Lys Gln Met Tyr Leu  
 420 425 430

Ile Ser Arg Lys Asn Lys Arg Thr Leu Pro Glu Thr Tyr Arg Asp Glu  
 435 440 445

Trp Asp Asp Asp Asp Leu Ile Ile Gln Ala His Glu Asp Phe Val Lys  
 450 455 460

Tyr Ile Pro Glu Leu Ala Gln Glu Gln Lys Leu Ser Arg  
 465 470 475

<210> 37  
 <211> 4956  
 <212> ADN  
 <213> Solanum lycopersicum

5

<400> 37  
 atgattccta aaaatgtcat cttttcaaac caacctata ctcgtacact tgtatgccat 60  
 ttgccatgt ctcaaaattc ctcaaaaaac gtcgcccgtta ttggtgcggg ctccgcgggc 120



ES 2 768 523 T3

ctcgttgccg cccgagaact ccaacgagaa ggtcatagag tagttgtatt cgaacgagaa 180  
aatcaattag gaggcacatg ggtttacacg cccgatacag aatccgaccc ggttgggac 240  
gacccgaatc gggagattgt tcattcaagt ctttattcat ctctccgtgt taatcttccc 300  
cgggaagtaa tgggttttgg ggattaccog tttgtggcca agaaaaagcc cggtagagac 360  
ccgagaaggt atccgagtca tggggaggtg ttggagtatt tgaatgattt tgctgttgat 420  
tttgggatta ttggggttgt gaggtttggg atggaagtgg ggtttgtggg aaagatggag 480  
aatgaaaaat ggaaggttag ttgtagaaag agggaaaatg atgatttgtt tgctaatgag 540  
gagtatgatg ctggtgtaat atgtaatgga cactatactg aaccaagaat tgctgatatt 600  
cctggttaatt tattgaaaaa atttgatctt tatgttgaat aaagtacat atctccttta 660  
gtcactatca gatttttoga aattatagat tctttggtga aataagttta atgctgatga 720  
acttttttac acttctgtgc ttttagtaat ccagttgtag tacctttttt ttagcttttg 780  
tgcaccaggt attgataac tttgtcctag gacaaatgga aaaaatgatt ttaacttgac 840  
atthattga cctctagatc atgcccttg gtgcaccaa ttgtactttg atctttagtt 900  
gttcatactt gaatagaata ttatctccag gagttatggt tctctttgta gtaattgtag 960  
attcgttag ttgagggat aagtctaag tgttgatgaa atthttgttt tagtgataac 1020  
gthtgatag aagatttcaa acatctgtac attgtgctaa tagttacatc ctactaactg 1080  
aaatataagt tgtaccctgt gggcgagcaa agttgatctt thtatgacaa agatcaacct 1140  
tcttcttttc tcttctgtt gthaaggcag tgtccacgag aaagaatgaa tattgtacag 1200  
thaagattag tctthtttca gtggaagat tccagccttc thtttggtt agacataatt 1260  
thgtttctct tatgtggcac acatagtta agthaacttt thctgttat ggtthttatac 1320  
gthtgtagca gthcaaaatt thgattthta thtgaaatcg cacatcttht ccatthttctg 1380  
tcttgthcag aacaaccata thaacaagtg aagtattctg aaattcaata gtgtctthtt 1440  
thaactgaaa gtgtggctga aathttctth thtccattht aacatcattt tgtggcaata 1500  
ctatatgatt agctctgaga atatctgtga gthgccaac thttgacata cthaagtcaat 1560  
atgcagthtt tgaagthttct aactggaggc ctctagcctt tcaggaatcg aagtatggcc 1620  
tggaagcaa attcacagcc acaactaccg tgttcctgac cthtttctgag accaagtatg 1680  
tgtcaggthc attgthttct taagatgthg atgthttctga actaatactg thgtgactga 1740  
aatgcttgca gthacttcaa thtatgaatt gctctactta thggaagcga tctthttaatt 1800  
actactaaa agtthttctg gatattctat tgcgtgaagt thcaggccag atataataga 1860  
thattgaatg gaacgthctt gaacaattct attattgaat thtactthtt gcatgaagca 1920  
ctggatgtat gagtgatgac gccaaaaaca aagaaaactt thaathttta atctacctth 1980

ES 2 768 523 T3

tcttcataaaa tgaatattaa tagttagtac aagtatagta gtcctccttc ctaggaagct	2040
gtttagaaac gatggactat acagaaaatg aacattatgt atatatgctt atatgagcct	2100
aggtatgact tgggaaaaat gtccttgggt tatatcagct tctaataatt gacaaatata	2160
gctcaagaaa tagtatcatc tttttgcctg atcccatggc ataactacca ccctttgtac	2220
caagttcaga gtaaagaca aatggttttt tgccaggttg ttgtgctgat aggtggtgct	2280
gcaagtgcta ctgatatctc cagggaaatt gctgaagttg ctaaagaggt ccacatttct	2340
tctaggtcag ctactagtgg agttccgatg aagctgcctg gttatgataa tatttggtc	2400
cataatatgg taaagtgggt aataacttgt atattcatgt ggaggtttgt caacgcttga	2460
tgctgaatct gtacttcaca tcccctggat actatttaat gaaatcctct tacgtcataa	2520
aaagaaaaga aaaaaacaca tgatactgaa tcgctcagttg cgtaggaaa aatttatact	2580
agctaagat gcagattgaa gctggtggca gtgatggtgg cgtgaatttt caagatgggt	2640
cgaaaatcct tgctgacatc atcctacact gcacaggtg agtgattagt cctattgaaa	2700
cttccctttt cgcctacggt taaagaaaat gaaagaaagc tgacattgat agcctattct	2760
ttttcttttt gaggaaatgt gaagggtaat gcatgcctgt ttttctgagg gtcataatga	2820
tatgaaattg cgagggtgaa tgacctata aatagcaaa agaatgatga ggtcaacaga	2880
tagttaaagt aggaactggc atgataaggg tagataatgg atccaaaggc aagaaacagt	2940
aaataaagta gttgatctgc tcttgagtag gcagctcaa aatgaacctc ccatattata	3000
tgtttaattt cataattgta agcgtaaaa gatattctaa tctataggtt agaaacagta	3060
aattaagtag ttaatctcct tgagtacgcc aatctaaaa taaaccttgt agcctttaat	3120
accttaggg gctgtttgggt tgatgggatg gcatagacaa ggatatccca ttggattatt	3180
ttgtcttacc ttctacaagg gataaaatat cccatcattt atactaaagt ggtgggtcaa	3240
aataaacct atcaccaatc acaagataaa ataaccacat gggatatatc gggattatta	3300
tcgttatccc atctaccaa tgaccctaa gtataagctt aaaggaatgt ctattaatat	3360
tgtcttatcc cagacccta aaagattgaa gaatgtctat taatattttc atagcctata	3420
agaacatcag aatccagta gttatctatt taagtattac agtttagtga ggcagatttg	3480
gtagatatt gtgaaggtag ccaaagacta aggagtgtaa attttctgt tccgggttac	3540
agaaacgaag ggaagttatc ttcagctaaa atgaacta atttatgtga gtttggtagt	3600
acaggcctcc taattcatag taagatgtct ctaaccttta cgattgtaat aaaaaataat	3660
tgctagtaat cttacaaaat aatcaaattg atgggagaat aagtatcatg aatgtttctt	3720
atctttgttt cccaggtaca aatatcattt tcctttctc gaaactaacg ggatagtac	3780
tgtggatgac aaccgtgttg gtccacttta caagcacgtt tcccaccag cctttgcacc	3840
aagccttca tttgttgggc tgccttgaa ggtaaaattt agagggttg tgctggggtt	3900

ES 2 768 523 T3

tatagattta cattttaaat ggtggacttg aacgtaatat ttgtcctggt tggcaccagg 3960  
 ttataccatt cttcttgtgt gaattgcaaa gcaagtggat cgctggtgtt ttatctggtc 4020  
 gaatttctct occatcaaag gaagatatga atgctgatat tgaagctttc tactcatcca 4080  
 tggcagcctc ttgcattcca aaacggtaaca ctcacaatat ggacgactct caggtataac 4140  
 atctgccaaa aaaccttgtc gaatggtttt aggttttttg ttttgttcta tgggtaaagt 4200  
 gtggtagaaa cagctgaaca cttcatgcct acccgtaaca tacagaagt cttggttaca 4260  
 ccatcttagt taagttagaa aagaaaagaa agaaacagag aaaagaatcg aaactgaaga 4320  
 attagagtgt agtaagcttc tgtcattaat tcagtgcacg atcctgattt agttggggtt 4380  
 ccaatgtggg cttcaaacac cgggtgggaa acccaaaaag aaaagaaaag aaagaaagcg 4440  
 agtgtagagc ttctgtcatt gattaacata gactgctaata atgaacacat ccaagttggg 4500  
 ggttcttttag cacggtgaca ttatagtcgt cctttatgag atatgaatct ctgagcgtgt 4560  
 tgagcatggt tactttctgt atatgctggc taaacaagat tgttgccacag caacacccaaa 4620  
 ccaaattggct ttgccctttt tatacaagag tgtagctctg gtgttcatta tgttatgtat 4680  
 tatagattac caaaacagta ttacatatag ttcgtgcctc gtaaataatc cctctcttta 4740  
 cagtttgact acgatgattg gttggctgct cagtgtggat ctacaccctt tgaagaatgg 4800  
 agaaaacaaa tgtacttaat ctcaagaaaag acaaaaagga ctctgcccgga gacatatcgt 4860  
 gacgagtggg acgatgatga cttgatcatt caagctcatg aagacttcgt aaaatatatt 4920  
 cctgaactag ctcaagaaca gaagctctca agatga 4956

<210> 38

<211> 213

<212> PRT

<213> Solanum lycopersicum

5

<400> 38

Met Ile Leu Lys Asn Val Ile Phe Ser Asn Gln Pro Tyr Thr Arg Thr  
 1 5 10 15

Leu Val Cys His Leu Pro Met Ser Gln Asn Ser Ser Lys Asn Val Ala  
 20 25 30

Val Ile Gly Ala Gly Ser Ala Gly Leu Val Ala Ala Arg Glu Leu Gln  
 35 40 45

Arg Glu Gly His Arg Val Val Val Phe Glu Arg Glu Asn Gln Leu Gly  
 50 55 60

Gly Thr Trp Val Tyr Thr Pro Asp Thr Glu Ser Asp Pro Val Gly Ile  
 65 70 75 80

ES 2 768 523 T3

Asp Pro Asn Arg Glu Ile Val His Ser Ser Leu Tyr Ser Ser Leu Arg  
85 90 95

Val Asn Leu Pro Arg Glu Val Met Gly Phe Gly Asp Tyr Pro Phe Val  
100 105 110

Ala Lys Lys Lys Pro Gly Arg Asp Pro Arg Arg Tyr Pro Ser His Gly  
115 120 125

Glu Val Leu Glu Tyr Leu Asn Asp Phe Ala Val Asp Phe Gly Ile Ile  
130 135 140

Gly Val Val Arg Phe Gly Met Glu Val Gly Phe Val Gly Lys Met Glu  
145 150 155 160

Asn Gly Lys Trp Lys Val Ser Cys Arg Lys Arg Glu Asn Asp Asp Leu  
165 170 175

Phe Ala Asn Glu Glu Tyr Asp Ala Val Val Ile Cys Asn Gly His Tyr  
180 185 190

Thr Glu Pro Arg Ile Ala Asp Ile Pro Gly Asn Leu Leu Lys Lys Phe  
195 200 205

Asp Leu Tyr Val Glu  
210

<210> 39  
<211> 2044  
<212> ADN  
<213> Homo sapiens

5

<400> 39  
caggacgtag acacacagaa gaaaagaaga caaagaacgg gttaccatgg ggaagaaagt 60  
ggccatcatt ggagctgggtg tgagtggctt ggccctccatc aggagctgtc tggaagaggg 120  
gctggagccc acctgctttg agaagagcaa tgacattggg ggccctgtgga aattttcaga 180  
ccatgcagag gagggcaggg ctagcattta caaatcagtc ttttccaact cttccaaga 240  
gatgatgtgt ttcccagact tcccatttcc cgatgacttc cccaacttta tgcacaacag 300  
caagatccag gaatatatca ttgcatttgc caaagaaaag aacctcctga agtacatata 360  
attaagaca tttgatcca gtgtaaataa acatcctgat tttgcaacta ctggccagtg 420  
ggatgttacc actgaaaggg atggtaaaaa agaatcggct gtctttgatg ctgtaatggt 480  
ttgttccgga catcatgtgt atcccaacct accaaaagag tcctttccag gactaaacca 540  
ctttaaaggc aatgcttcc acagcagga ctataaagaa ccaggtgtat tcaatggaaa 600

ES 2 768 523 T3

```

gcgtgtcctg gtggttggcc tggggaattc gggctgtgat attgccacag aactcagccg      660
cacagcagaa caggtcatga tcagttccag aagtggctcc tgggtgatga gccgggtctg      720
ggacaatggt tacccttggg acatgctgct cgtcactoga tttggaacct tcctcaagaa      780
caatttaccg acagccatct ctgactgggt gtacatgaag cagatgaatg caagattcaa      840
gcatgaaaac tatggcttga tgcttttaa tggagtctg aggaaagagc ctgtatntaa      900
cgatgagctc ccagcaagca ttctgtgtgg cattgtgtcc gtaaagccta acgtgaagga      960
attcacagag acctcggcca tttttgagga tgggaccata tttgagggca ttgactgtgt    1020
aatctttgca acagggata gttttgcta ccccttctct gatgagtcta tcatcaaaag    1080
cagaaacaat gagatcattt tatttaaagg agtatttctt cctctacttg agaagtcaac    1140
catagcagtg attggctttg tccagtcctt tggggctgcc attcccacag ttgacctcca    1200
gtcccgtggt gcagcacaag taataaaggg aacttgtact ttgccttcta tggaagacat    1260
gatgaatgat attaatgaga aaatggagaa aaagcgcaaa tggtttggca aaagcgagac    1320
catacagaca gattacattg tttatatgga tgaactctcc tccttcattg gggcaaagcc    1380
caacatccca tggctgtttc tcacagatcc caaattggcc atggaagttt attttggccc    1440
ttgtagtccc taccagttta ggctggtggg cccagggcag tggccaggag ccagaaatgc    1500
catactgacc cagtgggacc ggtcgttgaa acccatgcag acacgagtgg tcgggagact    1560
tcagaagcct tgcttctttt tccattggct gaagctcttt gcaattccta ttctgttaat    1620
cgctgttttc cttgtgttga cctaatacct attttctcta ggatttctga aagttactga    1680
caataccag acaggggctt tgctatntaa aaattaaat tttcacacca cctgcttttc    1740
tattcagcat cttttgcagt actctgtaga cattagtcag taatacagtg ttatttctag    1800
gctctgaaat agccacttta agaatacatg catgatctta agagagcact aatcatttct    1860
gtttgagttc cactaacact tcaaaatcag aactatgttc tttatatcta acttaaatca    1920
tttctgaaa ctttttgaca tgattccttt ttcttttaa acaatgtatg aaagatgtat    1980
tttaaatcta aataaagagc aaattaagca gaataaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa    2040
aaaa                                             2044

```

<210> 40  
 <211> 532  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

5

<400> 40  
 Met Gly Lys Lys Val Ala Ile Ile Gly Ala Gly Val Ser Gly Leu Ala  
 1 5 10 15

ES 2 768 523 T3

Ser Ile Arg Ser Cys Leu Glu Glu Gly Leu Glu Pro Thr Cys Phe Glu  
 20 25 30

Lys Ser Asn Asp Ile Gly Gly Leu Trp Lys Phe Ser Asp His Ala Glu  
 35 40 45

Glu Gly Arg Ala Ser Ile Tyr Lys Ser Val Phe Ser Asn Ser Ser Lys  
 50 55 60

Glu Met Met Cys Phe Pro Asp Phe Pro Phe Pro Asp Asp Phe Pro Asn  
 65 70 75 80

Phe Met His Asn Ser Lys Ile Gln Glu Tyr Ile Ile Ala Phe Ala Lys  
 85 90 95

Glu Lys Asn Leu Leu Lys Tyr Ile Gln Phe Lys Thr Phe Val Ser Ser  
 100 105 110

Val Asn Lys His Pro Asp Phe Ala Thr Thr Gly Gln Trp Asp Val Thr  
 115 120 125

Thr Glu Arg Asp Gly Lys Lys Glu Ser Ala Val Phe Asp Ala Val Met  
 130 135 140

Val Cys Ser Gly His His Val Tyr Pro Asn Leu Pro Lys Glu Ser Phe  
 145 150 155 160

Pro Gly Leu Asn His Phe Lys Gly Lys Cys Phe His Ser Arg Asp Tyr  
 165 170 175

Lys Glu Pro Gly Val Phe Asn Gly Lys Arg Val Leu Val Val Gly Leu  
 180 185 190

Gly Asn Ser Gly Cys Asp Ile Ala Thr Glu Leu Ser Arg Thr Ala Glu  
 195 200 205

Gln Val Met Ile Ser Ser Arg Ser Gly Ser Trp Val Met Ser Arg Val  
 210 215 220

Trp Asp Asn Gly Tyr Pro Trp Asp Met Leu Leu Val Thr Arg Phe Gly  
 225 230 235 240

Thr Phe Leu Lys Asn Asn Leu Pro Thr Ala Ile Ser Asp Trp Leu Tyr  
 245 250 255

Met Lys Gln Met Asn Ala Arg Phe Lys His Glu Asn Tyr Gly Leu Met  
 260 265 270



ES 2 768 523 T3

Pro Leu Asn Gly Val Leu Arg Lys Glu Pro Val Phe Asn Asp Glu Leu  
 275 280 285

Pro Ala Ser Ile Leu Cys Gly Ile Val Ser Val Lys Pro Asn Val Lys  
 290 295 300

Glu Phe Thr Glu Thr Ser Ala Ile Phe Glu Asp Gly Thr Ile Phe Glu  
 305 310 315 320

Gly Ile Asp Cys Val Ile Phe Ala Thr Gly Tyr Ser Phe Ala Tyr Pro  
 325 330 335

Phe Leu Asp Glu Ser Ile Ile Lys Ser Arg Asn Asn Glu Ile Ile Leu  
 340 345 350

Phe Lys Gly Val Phe Pro Pro Leu Leu Glu Lys Ser Thr Ile Ala Val  
 355 360 365

Ile Gly Phe Val Gln Ser Leu Gly Ala Ala Ile Pro Thr Val Asp Leu  
 370 375 380

Gln Ser Arg Trp Ala Ala Gln Val Ile Lys Gly Thr Cys Thr Leu Pro  
 385 390 395 400

Ser Met Glu Asp Met Met Asn Asp Ile Asn Glu Lys Met Glu Lys Lys  
 405 410 415

Arg Lys Trp Phe Gly Lys Ser Glu Thr Ile Gln Thr Asp Tyr Ile Val  
 420 425 430

Tyr Met Asp Glu Leu Ser Ser Phe Ile Gly Ala Lys Pro Asn Ile Pro  
 435 440 445

Trp Leu Phe Leu Thr Asp Pro Lys Leu Ala Met Glu Val Tyr Phe Gly  
 450 455 460

Pro Cys Ser Pro Tyr Gln Phe Arg Leu Val Gly Pro Gly Gln Trp Pro  
 465 470 475 480

Gly Ala Arg Asn Ala Ile Leu Thr Gln Trp Asp Arg Ser Leu Lys Pro  
 485 490 495

Met Gln Thr Arg Val Val Gly Arg Leu Gln Lys Pro Cys Phe Phe Phe  
 500 505 510

His Trp Leu Lys Leu Phe Ala Ile Pro Ile Leu Leu Ile Ala Val Phe  
 515 520 525

Leu Val Leu Thr  
 530



ES 2 768 523 T3

<211> 2190  
 <212> ADN  
 <213> *Oryctolagus cuniculus*

5 <400> 41  
 tcacagcatc cggcggctcg cagcggcggg acatcgcgga cgttcgcgca ggcggactag 60  
 tgacttccac gcaagacagg cgacgctgcc gggagaccat ggccgggaaa agagtggcgg 120  
 tgattggggc gggagcagc gggctggctt gcatcaagtg ctgcctggaa gagggcttgg 180  
 agcccgtctg cttcgaaagg accgacgaca tcggaggtct gtggaggttc caggaaagtc 240  
 ccgacgaagg aagggccagt atctacaaat ccgtgatcat caacacctcc aaggagatga 300  
 tgtgcttcag tgactacccc atcccggatc attttcctaa cttcatgcac aactcccagg 360  
 tcctggagta cttcaggatg tacgccaaag aatttggctc tctgaagtat attcagttta 420  
 agaccactgt gtgcagtgtg aagaagcggc ctgatttctc cacgtcgggc caatgggagg 480  
 tgctgactga gtgcgaaggg aaaaaggaga gtgctgtctt cgatggggtc ctggtttgca 540  
 ccggccatca caccagtgtc cacctgccac tggaaagctt ccctgggatt gagaagttca 600  
 aagggcagta cttgcacagt cgagactata agaaccaga gaaattcact ggaaagagag 660  
 tcattgtcat tggcattggg aattctggag gggacctggc tgtggagatc agccacacag 720  
 ccaagcaggt cttcctcagc accaggagag gggcttggat catgaatcgt gtcggcgacc 780  
 atggatatcc tattgatata ctgctgtctt ctcgatttag tcaatttttg aagaagatta 840  
 ctggtgaaac aatagcaaat tcatttttg aaagaaagat gaaccaaagg tttgaccatg 900  
 caatgtttg tctgaagcct aaacacagag ctttgagtca acaccaaca gtaaatgatg 960  
 acctgcaaaa tcgtatcatt tctggctctg tcaagatcaa aggaaatgtg aaggaattca 1020  
 cagaaacagc tgccatattt gaagatggct ccagggagga tgacattgat gctgttattt 1080  
 ttgccacagg ctatagcttt tcctttcctt ttcttgaaga ctctgtcaaa gtggtgaaaa 1140  
 acaaggtatc tctgtataaa aaggtcttcc ccctaacct ggaaaagcca actcttgcaa 1200  
 tcataggctt gatccagccc ctgggagcca ttatgccat ttcagagctc caagcacgat 1260  
 gggccaccct agtgtttaaa gggctaaaaga ctttaccctc acaaagtga atgatgacag 1320  
 aaatatctca ggttcaagag aaaatggcaa aaaggtatgt ggagagccaa cgccatacca 1380  
 ttcagggaga ctacatagag accatggaag aaattgctga tttggtgggg gtcaggccaa 1440  
 atttgctgtc tctggctttc accgaccca ggctggcatt acaattactt ttgggaccct 1500  
 gtactccagt ccattatcgt ctccagggcc gtggaaagtg ggatggggct cggaaaacca 1560

ES 2 768 523 T3

tccttaccgt agaagatcgg atcaggaagc ctctgatgac aagagtcacg gaaagcagta 1620  
actctgtgac ctogatgatg acaatgggca agtttatgct agctattgct ttcttagcca 1680  
tagctgtggt ttatTTTTtag ctgtcccttt gtcattgcct ctgctttcat tgggaagctt 1740  
aacttagaga gagatacctt cagaatttta caagatcaaa tgaccctcct ctttcaaatt 1800  
gccccatttc tctttcaaaa gcattaattc tctcttcatt ttctacagt gagatccaag 1860  
cttttcattt gcactaagca tctcctcacc tctcatgagc cttcactttc tctctccaga 1920  
gcagctcggg tactcttagt catctttgta tgtccctagc agagtagttg acatttggct 1980  
ggtgtttaac caatgtttg tggtgtggct caaagtctgt ttttztatgg gaaatgactg 2040  
actgtataac tctgcttggg atggaatttg gttttccatt atttttgtct ttaacattat 2100  
aacaatgta tgtttctga gaaataagat taataatgac cttogtaatt gtagacaaat 2160  
aaataacttaa gttactttgt tctacatgcc 2190

<210> 42  
<211> 533  
<212> PRT  
<213> *Oryctolagus cuniculus*

5

<400> 42  
Met Ala Gly Lys Arg Val Ala Val Ile Gly Ala Gly Ala Ser Gly Leu  
1 5 10 15  
Ala Cys Ile Lys Cys Cys Leu Glu Glu Gly Leu Glu Pro Val Cys Phe  
20 25 30  
Glu Arg Thr Asp Asp Ile Gly Gly Leu Trp Arg Phe Gln Glu Ser Pro  
35 40 45  
Asp Glu Gly Arg Ala Ser Ile Tyr Lys Ser Val Ile Ile Asn Thr Ser  
50 55 60  
Lys Glu Met Met Cys Phe Ser Asp Tyr Pro Ile Pro Asp His Phe Pro  
65 70 75 80  
Asn Phe Met His Asn Ser Gln Val Leu Glu Tyr Phe Arg Met Tyr Ala  
85 90 95  
Lys Glu Phe Gly Leu Leu Lys Tyr Ile Gln Phe Lys Thr Thr Val Cys  
100 105 110  
Ser Val Lys Lys Arg Pro Asp Phe Ser Thr Ser Gly Gln Trp Glu Val  
115 120 125

ES 2 768 523 T3

Leu Thr Glu Cys Glu Gly Lys Lys Glu Ser Ala Val Phe Asp Gly Val  
 130 135 140

Leu Val Cys Thr Gly His His Thr Ser Ala His Leu Pro Leu Glu Ser  
 145 150 155 160

Phe Pro Gly Ile Glu Lys Phe Lys Gly Gln Tyr Leu His Ser Arg Asp  
 165 170 175

Tyr Lys Asn Pro Glu Lys Phe Thr Gly Lys Arg Val Ile Val Ile Gly  
 180 185 190

Ile Gly Asn Ser Gly Gly Asp Leu Ala Val Glu Ile Ser His Thr Ala  
 195 200 205

Lys Gln Val Phe Leu Ser Thr Arg Arg Gly Ala Trp Ile Met Asn Arg  
 210 215 220

Val Gly Asp His Gly Tyr Pro Ile Asp Ile Leu Leu Ser Ser Arg Phe  
 225 230 235 240

Ser Gln Phe Leu Lys Lys Ile Thr Gly Glu Thr Ile Ala Asn Ser Phe  
 245 250 255

Leu Glu Arg Lys Met Asn Gln Arg Phe Asp His Ala Met Phe Gly Leu  
 260 265 270

Lys Pro Lys His Arg Ala Leu Ser Gln His Pro Thr Val Asn Asp Asp  
 275 280 285

Leu Pro Asn Arg Ile Ile Ser Gly Ser Val Lys Ile Lys Gly Asn Val  
 290 295 300

Lys Glu Phe Thr Glu Thr Ala Ala Ile Phe Glu Asp Gly Ser Arg Glu  
 305 310 315 320

Asp Asp Ile Asp Ala Val Ile Phe Ala Thr Gly Tyr Ser Phe Ser Phe  
 325 330 335

Pro Phe Leu Glu Asp Ser Val Lys Val Val Lys Asn Lys Val Ser Leu  
 340 345 350

Tyr Lys Lys Val Phe Pro Pro Asn Leu Glu Lys Pro Thr Leu Ala Ile  
 355 360 365

Ile Gly Leu Ile Gln Pro Leu Gly Ala Ile Met Pro Ile Ser Glu Leu  
 370 375 380

ES 2 768 523 T3

Gln Ala Arg Trp Ala Thr Leu Val Phe Lys Gly Leu Lys Thr Leu Pro  
 385 390 395 400

Ser Gln Ser Glu Met Met Thr Glu Ile Ser Gln Val Gln Glu Lys Met  
 405 410 415

Ala Lys Arg Tyr Val Glu Ser Gln Arg His Thr Ile Gln Gly Asp Tyr  
 420 425 430

Ile Glu Thr Met Glu Glu Ile Ala Asp Leu Val Gly Val Arg Pro Asn  
 435 440 445

Leu Leu Ser Leu Ala Phe Thr Asp Pro Arg Leu Ala Leu Gln Leu Leu  
 450 455 460

Leu Gly Pro Cys Thr Pro Val His Tyr Arg Leu Gln Gly Arg Gly Lys  
 465 470 475 480

Trp Asp Gly Ala Arg Lys Thr Ile Leu Thr Val Glu Asp Arg Ile Arg  
 485 490 495

Lys Pro Leu Met Thr Arg Val Thr Glu Ser Ser Asn Ser Val Thr Ser  
 500 505 510

Met Met Thr Met Gly Lys Phe Met Leu Ala Ile Ala Phe Leu Ala Ile  
 515 520 525

Ala Val Val Tyr Phe  
 530

- <210> 43
- <211> 445
- 5 <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- 10 <223> Secuencia consenso
- <220>
- <221> característica\_misc
- <222> (4) .. (4)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural
- 15 <220>
- <221> característica\_misc
- <222> (6) .. (6)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural
- 20 <220>
- <221> característica\_misc
- <222> (8) .. (8)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural
- 25 <220>
- <221> característica\_misc
- <222> (12) .. (12)
- <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural
- 30

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (75) .. (75)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 5

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (108) .. (108)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 10

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (114) .. (114)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 15

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (138) .. (138)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 20

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (141) .. (141)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 25

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (156) .. (156)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 30

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (158) .. (158)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 35

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (211) .. (211)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 40

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (221) .. (221)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 45

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (245) .. (245)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 50

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (247) .. (247)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 55

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (330) .. (330)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 60

<220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (355) .. (355)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural  
 65

<220>

<221> característica\_misc  
 <222> (387) .. (387)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

5 <220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (394) .. (394)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

10 <220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (417) .. (417)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

15 <220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (444) .. (444)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

20 <220>  
 <221> característica\_misc  
 <222> (445) .. (445)  
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido natural

25 <400> 43  
 Met Ala Pro Xaa Ile Xaa Leu Xaa Thr Ser Arg Xaa Val Ala Val Ile  
 1 5 10 15  
 Gly Ala Gly Ala Ala Gly Leu Val Ala Ala Arg Glu Leu Arg Arg Glu  
 20 25 30  
 Gly His Lys Val Val Val Phe Glu Arg Glu Asn Gln Val Gly Gly Thr  
 35 40 45  
 Trp Val Tyr Thr Pro Glu Val Glu Ser Asp Pro Leu Gly Leu Asp Pro  
 50 55 60  
 Asn Arg Thr Ile Val His Ser Ser Leu Tyr Xaa Ser Leu Arg Thr Asn  
 65 70 75 80  
 Leu Pro Arg Glu Val Met Gly Phe Arg Asp Tyr Pro Phe Val Pro Arg  
 85 90 95  
 Glu Gly Glu Gly Arg Asp Pro Arg Arg Phe Pro Xaa His Arg Glu Val  
 100 105 110

ES 2 768 523 T3

Leu Xaa Tyr Leu Glu Asp Phe Ala Arg Glu Phe Gly Ile Glu Glu Leu  
 115 120 125  
 Val Arg Phe Gly Thr Glu Val Val Phe Xaa Gly Leu Xaa Asp Gly Lys  
 130 135 140  
 Trp Arg Val Lys Ser Arg Ser Glu Asp Gly Asp Xaa Val Xaa Glu Ile  
 145 150 155 160  
 Phe Asp Ala Val Val Val Cys Asn Gly His Tyr Thr Glu Pro Arg Val  
 165 170 175  
 Ala Glu Ile Pro Gly Ile Asp Ala Trp Pro Gly Lys Gln Met His Ser  
 180 185 190  
 His Asn Tyr Arg Thr Pro Glu Pro Phe Arg Asp Gln Val Val Val Leu  
 195 200 205  
 Ile Gly Xaa Ser Ala Ser Ala Val Asp Ile Ser Arg Xaa Ile Ala Gly  
 210 215 220  
 Val Ala Lys Glu Val His Ile Ala Ser Arg Ser Val Glu Ala Glu Thr  
 225 230 235 240  
 Leu Glu Lys Leu Xaa Gly Xaa Asp Asn Met Trp Leu His Ser Met Ile  
 245 250 255  
 Glu Ser Val His Lys Asp Gly Thr Val Val Phe Gln Asp Gly Ser Val  
 260 265 270  
 Val Leu Ala Asp Val Ile Leu His Cys Thr Gly Tyr Lys Tyr His Phe  
 275 280 285  
 Pro Phe Leu Glu Thr Asn Gly Ile Val Thr Val Asp Asp Asn Arg Val  
 290 295 300  
 Gly Pro Leu Tyr Lys His Val Phe Pro Pro Ala Leu Ala Pro Gly Leu  
 305 310 315 320  
 Ser Phe Val Gly Leu Pro Trp Lys Val Xaa Pro Phe Pro Leu Phe Glu  
 325 330 335  
 Leu Gln Ser Lys Trp Ile Ala Gly Val Leu Ser Gly Arg Ile Ala Leu  
 340 345 350  
 Pro Ser Xaa Glu Glu Met Met Ala Asp Val Lys Ala Phe Tyr Ser Ser  
 355 360 365



ES 2 768 523 T3

Leu Glu Ala Ser Gly Lys Pro Lys His Tyr Thr His Asn Leu Gly Asp  
 370 375 380

Ser Gln Xaa Tyr Asp Asn Trp Leu Ala Xaa Gln Cys Gly Cys Pro Pro  
 385 390 395 400

Val Glu Glu Trp Arg Lys Gln Met Tyr Ile Ala Thr Ser Lys Asn Lys  
 405 410 415

Xaa Ala Arg Pro Glu Thr Tyr Arg Asp Glu Trp Asp Asp Asp Asp Leu  
 420 425 430

Ile Leu Glx Ala Tyr Glu Asp Phe Ala Lys Tyr Xaa Xaa  
 435 440 445

<210> 44  
 <211> 1397  
 5 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> 5' UTR en combinación con la secuencia de ADN de AtFMO GS

10 <400> 44  
 atcatcacac aaaaaagatg gcaccagcac gaacccgagt caactcactc aacgtggcag 60  
 tgatcggagc cggagccgcc ggactcgtag ctgcaagaga gctccgccgc gagaatcaca 120  
 ccgtcgtcgt tttcgaacgt gactcaaaag tcggaggtct ctgggtatac acacctaaca 180  
 gcgaaccaga cccgcttagc ctcgatccaa accgaacct cgtccattca agcgtctatg 240  
 attctctccg aaccaatctc ccacgagagt gcatgggtta cagagacttc cccttcgtgc 300  
 ctcgacctga agatgacgaa tcaagagact cgagaaggta ccctagtac agagaagttc 360  
 ttgcttacct tgaagacttc gctagagaat tcaaacttgt ggagatggtt cgatttaaga 420  
 ccgaagtagt tcttgtcgag cctgaagata agaaatggag ggttcaatcc aaaattcag 480  
 atgggatctc caaagatgag atctttgatg ctgttgttgt ttgtaatgga cattatacag 540  
 aacctagagt tgctcatggt cctggtatag attcatggcc agggaagcag attcatagcc 600  
 acaattaccg tgttcctgat caattcaaag accaggtggt gtagtgata ggaaatcttg 660  
 cgagtggagc tgatatcagc agggacataa cgggagtggc taaagaagtc catatcgctg 720  
 ctagatcgaa tccatctaag acatactcaa aacttccogg gtcaaacaat ctatggcttc 780  
 actctatgat agaaagtgta cacgaagatg ggacgattgt ttttcagaac ggtaaggttg 840  
 tacaagctga taccattgtg cattgcactg gttacaaata tcaactocca tttctcaaca 900  
 ccaatggcta tattactggt gaggataact gtgttgacc gctttacgaa catgtctttc 960

# ES 2 768 523 T3

cgctgcgct tgctcccggg ctttccttca tcggtttacc ctggatgaca ctgcaattct	1020
ttatgtttga gctccaaagc aagtgggtgg ctgcagcttt gtctggccgg gtcacacttc	1080
cttcagaaga gaaaatgatg gaagacgtta ccgcctacta tgcaaagcgt gaggctttcg	1140
ggcaacctaa gagatacaca catcgacttg gtggaggtca ggttgattac cttaattgga	1200
tagcagagca aattggtgca ccgcccgtg aacaatggag atatcaggaa ataaatggcg	1260
gatactacag acttgctaca caatcagaca ctttccgtga taagtgggac gatgatcatc	1320
tcatagttga ggcttatgag gatttcttga gacagaagct gattagtagt cttccttctc	1380
agttattgga atcttga	1397

**REIVINDICACIONES**

1. Un método para producir una planta u organismo fotosintético tolerante a la sequía que comprende:
  - 5 aplicar al menos un tratamiento de una cantidad efectiva de N-óxido de trimetilamina (TMAO), N-óxido de trimetilamina dihidrato, o N-óxido de N,N-dimetildecilamina (DDAO) a una planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla, en donde la cantidad eficaz del TMAO, TMAO dihidrato o DDAO es desde 0,1 a 10 g por litro de rociado o riego, o en donde el al menos un tratamiento es un tratamiento de semilla y la cantidad eficaz del TMAO, TMAO dihidrato o DDAO es desde 0,1 g a 1000 g por 100 kg de semilla; y
  - 10 cultivar dicha planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla, en donde se produce una planta u organismo fotosintético tolerante a la sequía
2. El método de la reivindicación 1, y que además comprende:
  - 15 aplicar al menos un segundo tratamiento de una cantidad eficaz de TMAO, TMAO dihidrato o DDAO a dicha planta u organismo fotosintético tolerante a la sequía, previamente tratada con TMAO, TMAO dihidrato o DDAO.
3. El método de las reivindicaciones 1 o 2, en donde dicho al menos un tratamiento de dicha cantidad eficaz de TMAO, TMAO dihidrato o DDAO es un tratamiento de riego o un tratamiento de rociado.
4. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicho al menos un tratamiento de dicha cantidad eficaz de TMAO, TMAO dihidrato o DDAO comprende dos o más compuestos diferentes seleccionados del grupo que consiste en TMAO, TMAO dihidrato, y DDAO.
5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dicha planta u organismo fotosintético tolerante a la sequía tiene una producción de biomasa, fruta o semilla que es entre el 6% y el 30% o entre el 31% y el 50% más que la producción de biomasa, fruta o semilla de plantas u organismos fotosintéticos estresados por sequía donde una cantidad efectiva de TMAO, TMAO dihidrato o DDAO no se ha aplicado a la planta u organismo fotosintético con estrés hídrico no tolerante.
6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que además comprende aplicar sales o cualquier otro aditivo a dicha planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla y cultivar dicha planta, parte de planta, organismo fotosintético o semilla en donde se produce una planta u organismo fotosintético tolerante a la sequía.



FIG. 1

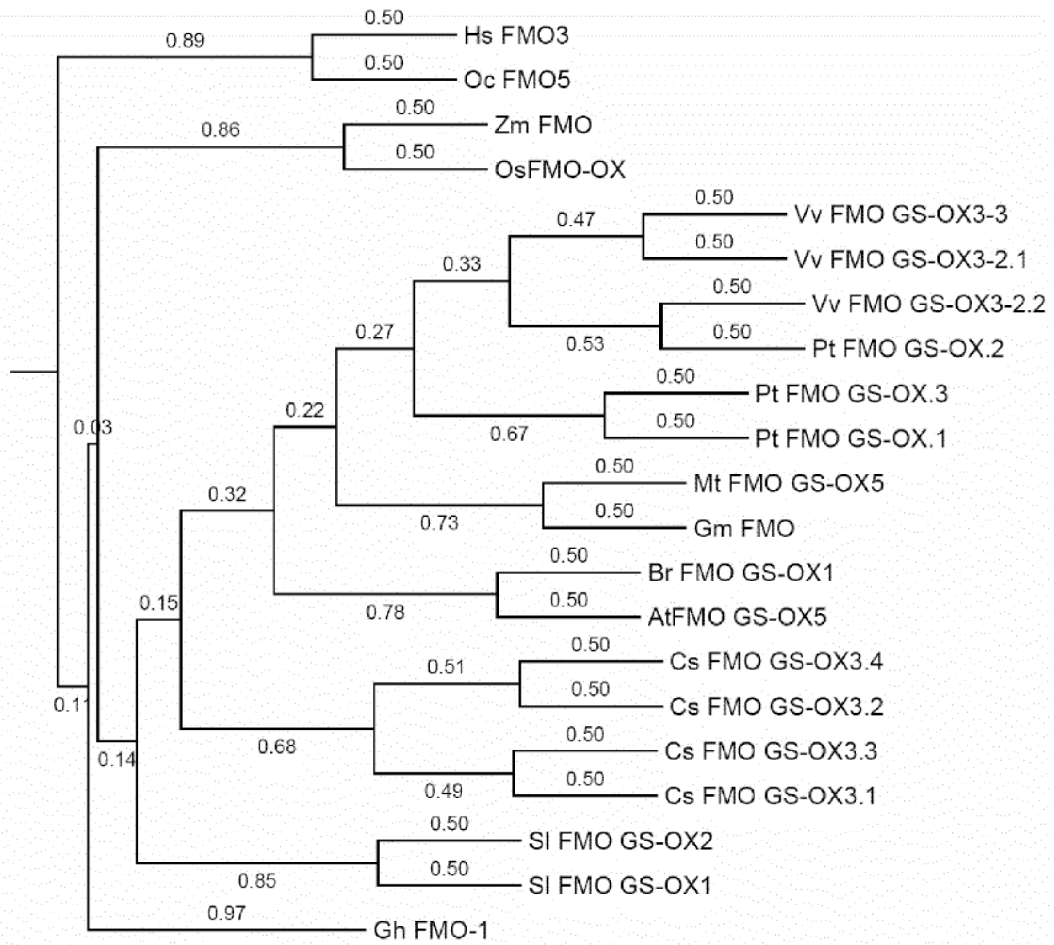


FIG. 2

Fom X8



Fom X3



Col-0

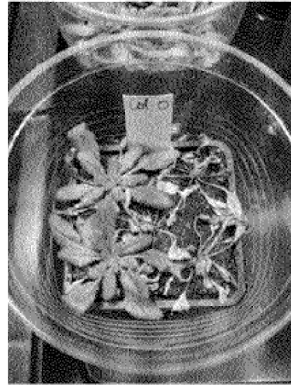


FIG. 3



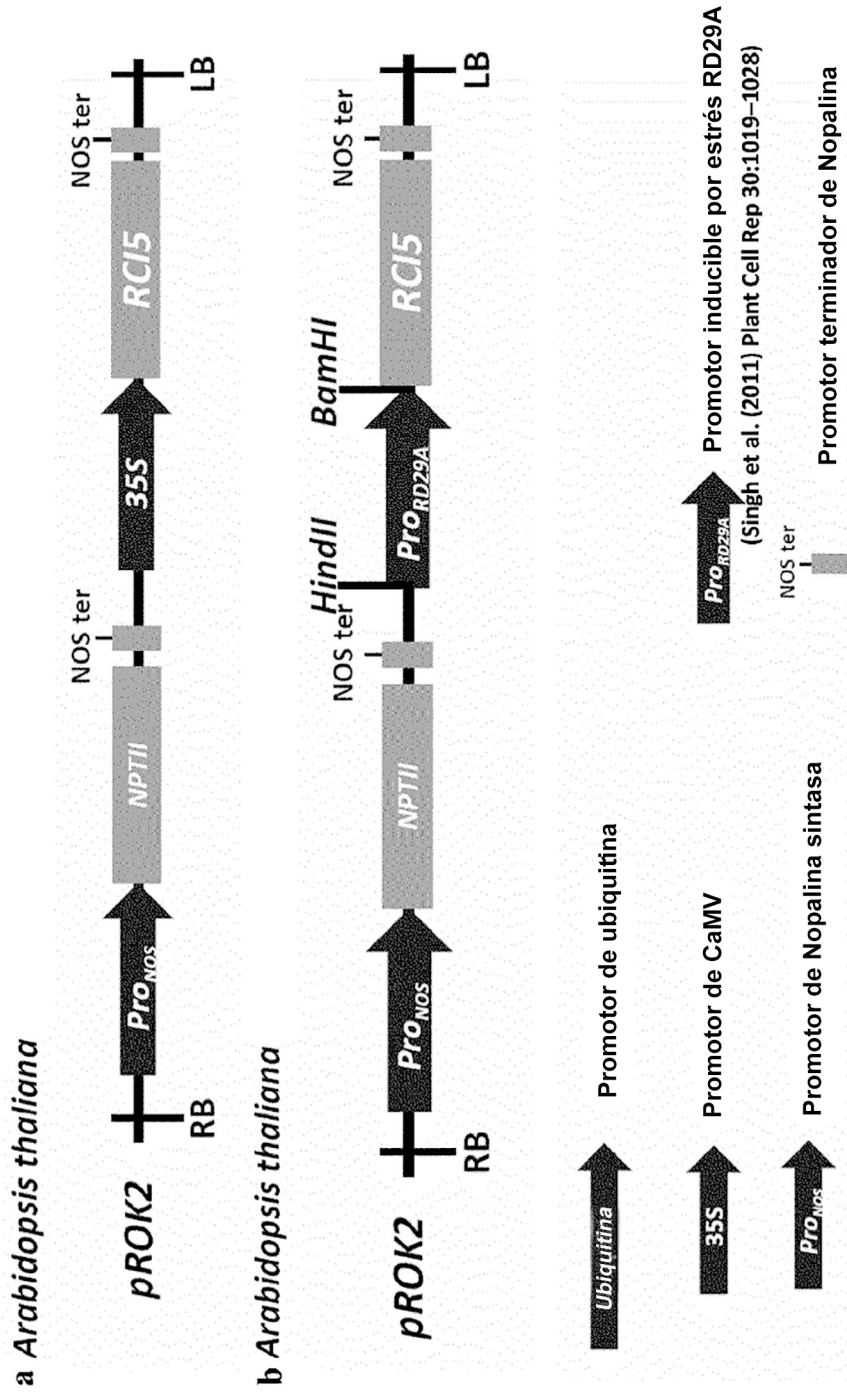


FIG. 4



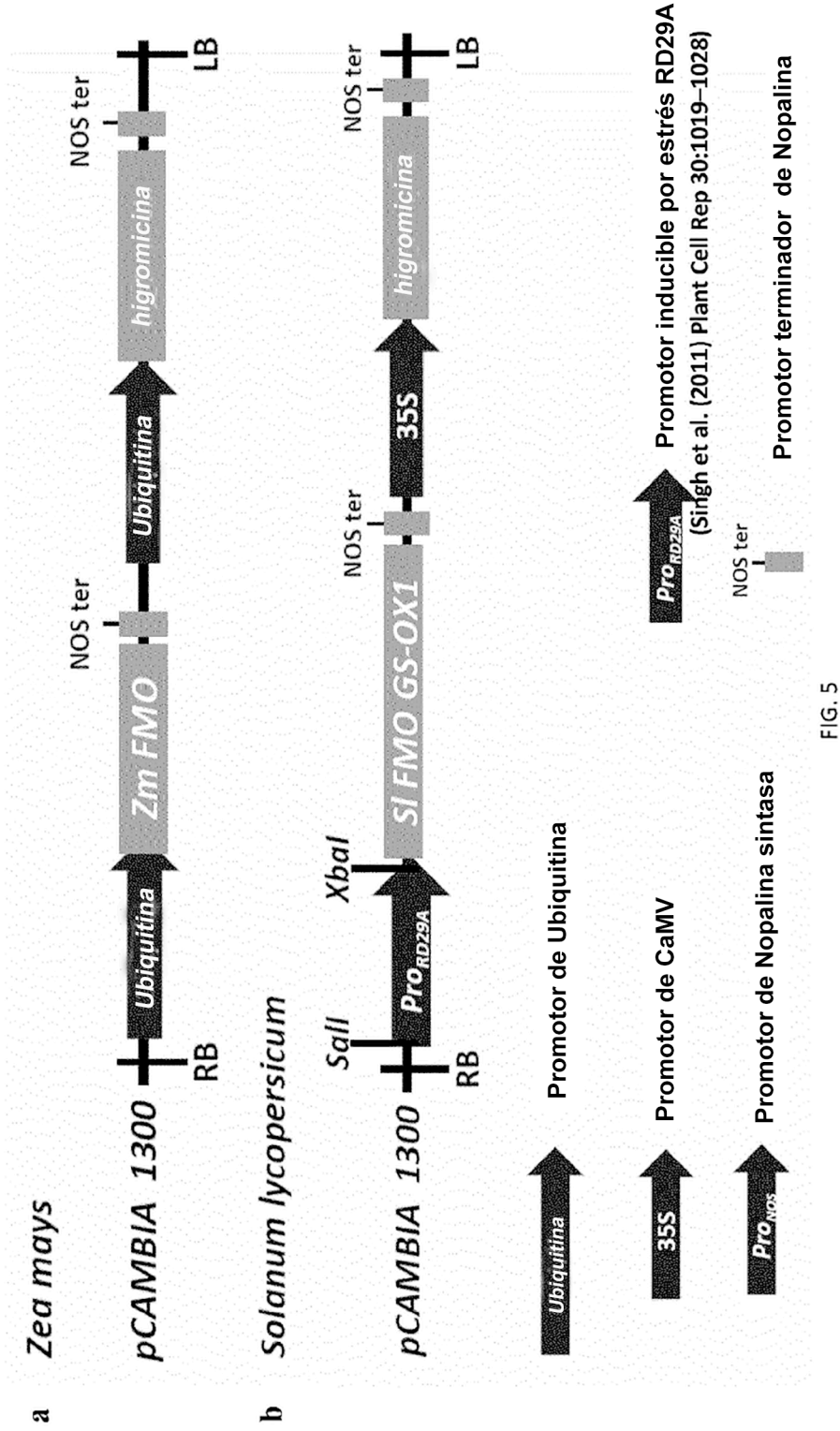


FIG. 5