SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 12-152898- -00000-0000
Fecha: 2012-09-06 14:32:08 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra: 11 PATENTE(YII Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTA... Folios: 212

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA DE
PROPIEDAD INDUSTRIAL
República de Colombia
Ministerio de Comercio, Industria y Turismo

BT
3-WMSG

Delegatura de Propiedad Industrial
División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD DE

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
INVENTARIO

PATENTE DE INVENCION
PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

21. EXPEDIENTE No. 12-152898

54. TITULO: **MOLÉCULAS POLINUCLEOTÍDICAS PARA REGULACIÓN GENÉTICA EN PLANTAS**

52. CLASIFICACION INTERNACIONAL: **C12P 19/34, C07H 21/04, C12N 15/113**

71. SOLICITANTE: **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**

DOMICILIO: **800 North Lindbergh, Boulevard, St. Louis, Missouri 63167, ESTADOS UNIDOS**

74. APODERADO: **Dra. MARGARITA CASTELLANOS A.**

22. BOGOTA, D.C., 06 SET. 2012

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
...sivo de radicación
No. 12-152898- -00000-0000
Fecha: 2012-09-06 14:32:08 Dep: 2020 DIR.NUEVASCR
Tra: 11 PATENTE Y/I Eve: 378 FASENACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 212

DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES
SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT

1	(12) TIPO DE SOLICITUD	X Patente de Invención X Capítulo I	____ Patente de Modelo de Utilidad ____ Capítulo II
2	DATOS SOLICITUD INTERNACIONAL PCT (86)		
	Solicitud Internacional No.	PCT/US2011/027528	Fecha 08/03/2011
	Publicación Internacional No.	WO 2011/112570 A1	Fecha 15/09/2011
3	(54) TITULO DE LA INVENCION (200 caracteres o espacios máximos)		
	MOLÉCULAS POLINUCLEOTÍDICAS PARA REGULACIÓN GENÉTICA EN PLANTAS		
4	CLASIFICACION INTERNACIONAL (51) CIP		
	C12P 19/34, C07H 21/04, C12N 15/113		
5	(71) SOLICITANTE(S) ____ Esta persona también es inventor	Para datos adicionales utilizar hoja de información adicional	

APELLIDOS O RAZON SOCIAL	NOMBRE	IDENTIFICACION	TIPO
MONSANTO TECHNOLOGY LLC			

6	DATOS DEL SOLICITANTE		
	DIRECCION	800 North Lindbergh	No. TELEFONO
	CIUDAD	St. Louis	E-MAIL
	DEPARTAMENTO/ESTADO	Missouri 63167	NACIONALIDAD O
	PAIS DE RESIDENCIA	ESTADOS UNIDOS	LUGAR DE CONSTITUCION ESTADOUNIDENSE

7	(72) INVENTOR(ES)	Para datos adicionales utilizar hoja de información adicional

	APELLIDOS	NOMBRES	NACIONALIDAD
1.	SAMMONS	Robert, D.	ESTADOUNIDENSE
2.	IVASHUTA	Sergey, I.	RUSA
3.	LIU	Hong	ESTADOUNIDENSE
4.	WANG	Dafu	CHINA
5.	FENG	Paul	ESTADOUNIDENSE
6	KOURANOV	Andrei, Y.	ESTADOUNIDENSE
7.	ANDERSEN	Scott, E.	ESTADOUNIDENSE

DIRECCION DE CORREO ELECTRONICO:

8	DATOS INVENTOR(ES)

	PAIS RESIDENCIA	DEPARTAMENTO/ESTADO	CIUDAD	DIRECCION
1.	ESTADOS UNIDOS	MO 63167	St. Louis	800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na
2.	ESTADOS UNIDOS	MO 63167	St. Louis	800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na
3.	ESTADOS UNIDOS	MO 63167	St. Louis	800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na
4.	ESTADOS UNIDOS	MO 63167	St. Louis	800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na
5.	ESTADOS UNIDOS	MO 63167	St. Louis	800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na
6	ESTADOS UNIDOS	MO 63167	St. Louis	800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na
7	ESTADOS UNIDOS	MO 63167	St. Louis	800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na

OTRO(S) SOLICITANTE(S) Y/U OTRO(S) INVENTOR(ES)

____ Los demás solicitantes y/o demás inventores se indican en una hoja a continuación

9	(74) ____ REPRESENTANTE	X APODERADO

APELLIDOS	NOMBRES	IDENTIFICACION
CASTELLANOS ABONDANO	MARGARITA	C.C. 39.779.654 T.P. 70.819

DIRECCION	Calle 94A No. 7A-09	No. TELEFONO	7560770
CIUDAD	BOGOTA	E-MAIL	info@castellanosyco.co
PAIS	COLOMBIA	No. DE PROTOCOLO EN LA OFICINA	

10	(30) DECLARACIONES DE PRIORIDAD	X SI	NO

	(33) PAIS DE ORIGEN	CODIGO PAIS	(31) NUMERO	(32) FECHA (AAA/MM/DD)
1.	ESTADOS UNIDOS	US	61/311.762	2010/03/08
2.	ESTADOS UNIDOS	US	61/349.807	2010/05/28
3.	ESTADOS UNIDOS	US	61/381.556	2010/09/10

11 DECLARACION SOBRE USO DE RECURSOS GENETICOS O BIOLOGICOS

Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de recursos genéticos o biológicos de los que cualquiera de los paises miembros de la Comunidad Andina es país de origen.

_____ SI _X_ NO

NOTA: En caso afirmativo deberá anexar copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, o certificado o número de registro expedido por la Autoridad competente.

12 DECLARACION SOBRE USO DE CONOCIMIENTOS TRADICIONALES

Declaro que el objeto de la presente solicitud de patente fue obtenido a partir de conocimientos tradicionales de comunidades indígenas, afroamericanas o locales de países miembros de la Comunidad Andina.

_____ SI _X_ NO

NOTA: En caso afirmativo deberá anexar la licencia o autorización de uso de conocimiento tradicional, o certificado, o número de registro expedido por la Autoridad competente.

13 REDUCCION DE TASAS

Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente

_____ SI _X_ NO

NOTA: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.

Micro, pequeñas y medianas empresas	Universidades públicas o privadas	Entidades sin animo de lucro
_____ Copia simple de la declaración de renta del año inmediatamente anterior, o en su defecto prueba documental idónea. _____ Documento de constancia de cumplimiento con lo establecido en la ley 905 de 2004.	_____ Copia acto de reconocimiento institucional emitido por el Ministerio de Educación. Acreditación Colciencias.	_____ Copia de registro vigente en Cámara de Comercio. _____ Hoja de información complementaria. _____ Otros, especificar.

14 AUTORIZACION DE NOTIFICACION EN LINEA _____ SI _X_ NO

Manifiesto que he leído y entendido perfectamente los términos y condiciones de uso de medios electrónicos para las notificaciones en linea a través de Internet de los actos administrativos proferidos por la Superintendencia de Industria y Comercio que deber ser notificados personalmente y, en consecuencia, autorizo el servicio de notificación a través de internet.

14	COMPROBANTE DE PAGO O PAGO ELECTRONICO	N° 12-0072667, 12-0090581	Fecha: Julio 7 y Septiembre 4, 2012

15 FIRMA DEL SOLICITANTE, DEL APODERADO O DEL REPRESENTANTE LEGAL

Junto a cada firma, indicar el nombre del firmante y su calidad (si tal calidad no es obvia al leer el petitorio)

Margarita Castellanos

MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO - APODERADO

06 SET. 2012

16 ORDEN Y RELACION DE DOCUMENTOS QUE ACOMPAÑAN LA SOLICITUD

Documentación Técnica
Solicitud Internacional en Castellano

1. _X_ Descripción N° de folios: 196
2. _X_ Reivindicaciones N° de reivindicaciones: 16
3. _X_ Dibujos y/o figuras N° de folios: 42
4. _____ Resumen
5. _____ Certificado de depósito de material biológico si fuera el caso.
6. _____ Listado de secuencias de nucleótidos y/o aminoácios en forma digital si fuera el caso.
7. _____ Arte final 12 x 12
8. _X_ Anexo formato digital.

CD-R, que contiene los siguientes archivos:
* Texto en español de la descripción, reivindicaciones, resumen y figuras.
** Texto de la publicación internacional
*** Listado de secuencias.

Documentación Jurídica

9. _X_ Poderes, si fuera el caso.
10. _____ Documento que legalmente pruebe la cesión del inventor al solicitante o a su causante.
11. _____ Copia del contrato de acceso de recursos genéticos o productos derivados, certificado o número de registro, si fuera el caso.
12. _____ Copia de la licencia o autorización de Conocimientos Tradicionales, certificado o número de registro, si fuera el caso.
13. _____ Documento que acredita la existencia y representación legal, cuando el solicitante es persona jurídica.
14. _X_ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
15. _____ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad
16. _____ Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.
17. _X_ Comprobante de pago por reivindicación adicional a 10.

P2531 3

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / - .

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 12 - 0072667

Bogotá D.C., Julio 17 de 2012 - 15:13:34

RECIBIDO DE : CASTELLANOS Y Y CO NI 800.174.641

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	49977651	17/07/2012	13.500.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCION	590.000.00	590.000.00
				$590.000.00

SON: **QUINIENTOS NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-********-

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 12-152898- -00000-0000
Fecha: 2012-09-06 14:32:08 Dep: 2020 DIR NUEVASCR
Tra: 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONAL
Act: 411 PRESENTACION Folios: 212

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 12 - 0090581

Bogotá D.C., Septiembre 04 de 2012 - 14:12:20

RECIBIDO DE : CASTELLANOS Y Y CO NI 800.174.641

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR.PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	444781772	04/09/2012	3.220.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
6	50005-01-01 SOLICITUDES	1607 REIVINDICACION UNITARIA ADICIONAL A LAS 10 INICICIALES	30.000.00	180.000.00
				$180.000.00

SON: **CIENTO OCHENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____
-***-
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 12-152898- -00000-0000
Fecha. 2012-09-06 14:32:08 Dep. 2020 DIR.NULVASCR
Tra. 11 PATENTES Tve. 378 PASLNACIONAL
Act. 411 PRESENTACION Folios. 212

5

COLOMBIA

60C7-FNPC4

PODER

El (los) **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**

Domiciliados en **800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, Missouri 63167, EEUU**

Nombran por el presente a **XIMENA CASTELLANOS A. y/o MARGARITA CASTELLANOS A.** abogadas con oficinas en la Calle 94 A No. 7 A-09, Bogotá-Colombia para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad Industrial y con este fin autorizamos a dichos apoderados para que nos representen ante cualesquiera autoridades o personas de los órdenes administrativo, contencioso –administrativo y judicial en todo lo relacionado con los siguientes actos y gestiones:

a) Obtención de patentes de invención, modelos y dibujos industriales; registro de marcas de fabrica, de servicio, colectivas o defensivas y de denominaciones de origen, depósito de nombres y enseñas comerciales; su renovación, prórroga, inscripción de traspaso y cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria y el registro de licencias de uso de esos derechos;
b) Para la obtención de registros sanitarios;
c) Acciones de oposición, observación, cancelación, nulidad, medidas cautelares y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso - administrativos que promovamos o se nos promuevan.

Pudiendo en todos los actos y gestiones arriba mencionados sustituir éste mandato, transigir, desistir, recibir, cancelar, renunciar, aceptar notificaciones y nombrar apoderados judiciales y extrajudiciales.

Finalmente, este poder ratifica la validez de todos los actos y solicitudes que, a nombre de la poderdante hubieren realizado los apoderados en relación con las facultades anteriormente enumeradas, antes de la suscripción del presente poder

Dado y firmado hoy 19 de Diciembre de 2005

en St. Louis, Missouri, USA

por MONSANTO TECHNOLOGY LLC

(El notario debe suscribir el documento en la pagina siguiente)

(Se requiere legalización consular o mediante apostilla)

POWER OF ATTORNEY

I (we) the undersigned **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**

Of **800 North Lindbergh Boulevard, St. Louis, Missouri 63167, EEUU**

hereby grant(s) Power of Attorney to **XIMENA CASTELLANOS A. and /or MARGARITA CASTELLANOS** a. attorneys residing at Calle 94 A No. 7 A-09, Bogotá-Colombia, to obtain the protection of my (our Industrial Property, for which purpose we authorize the said attorneys to represent us before any authorities, or persons, specially those, administrative, contentious and judicial, in all matters concerning the following:

a) Obtainment of patents, models and designs, registration of trademarks, service, collective and defensive marks, and of designations of origin; the deposit of trade names and ensigns; its renewal, extension, recordal of assignments, change of name or domicile, voluntary cancellation, and the registration of licenses of use of the above rights;
b) For the obtainment of Sanitary registrations;
c) Actions of opposition, cancellation, nullity, infringement, granting of licenses; and in general the civil, criminal and administrative suits related to those rights; actions and suits instituted by us or against us;

In all the above matters they may substitute this power of attorney, compromise, desist, cancel, receive, renounce, accept notifications and appoint attorneys in fact, in or out of court.

Finally, this power of attorney ratifies the validity of all acts and applications made by the representatives in the name of the signatory of this power of attorney, with regard to the faculties above given, before the execution of the present power of attorney.

Given and signed this 19th December, 2005

in St. Louis, Missouri

by Dennis R. Hoerner

Dennis R. Hoerner
(Notary shall execute on the next page)

(Consular legalization or apostille is required)

CERTIFICADO NOTARIAL (Sociedad)

NOTARIAL CERTIFICATION (Corporation)

COLOMBIA

Hoy 19 de Dic. del año 2005
compareció (eron) personalmente
DENNIS R. HOERNER

a quienes conozco como la(s) personas que firma(n) en representación de la Sociedad (Compañía) denominada
MONSANTO TECHNOLOGY LLC

Certifico :

a) Que MONSANTO TECHNOLOGY LLC

es una sociedad/Compañía legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de

b) Que el domicilio de dicha Sociedad/Compañía es
St. Louis, Missouri

c) Que el objeto u objetos para los cuales se otorga el presente poder están comprendidos dentro del objeto social de la mencionada Sociedad /Compañía.

d) Que el Sr. DENNIS R. HOERNER
esta autorizado para otorgar el presente poder. Lo anterior esta probado por medio de los siguientes documentos, que certifico he visto*

(Ciudad) St. Louis

(Estado) Missouri

Hoy 19 del Diciembre de 2005

(Notario Público)

*Los documentos debe identificarse con fecha y origen.

On this 19 day of Dec. of 2005
personally appeared

Dennis R. Hoerner

whom I know to be the person(s) who signed this document as representative(s) of the Corporation /Company named
Monsanto Technology LLC
I certify:

a) That
Monsanto Technology LLC

is a corporation (Company legally constituted and in existence in accordance with the laws of

b) That the domicile of said Corporation/Company is
St. Louis, Missouri

c) That the purpose or purposes for which the present Power of Attorney is granted are comprised within the object set forth in the charter of the mentioned Corporation/Company.

d) That Mr. Dennis R. Hoerner
is (are) authorized to grant the present Power of Attorney. The aforementioned was duly proven through the following documents and I duly certify having seen them*:

(City) St. Louis

(State) Missouri

this 19 day of Dec of the year 2005

(Notary Public) Michelle Ludwig

*Documents must be identified with date and origin

NOTARY PUBLIC NOTARY SEAL STATE OF MISSOURI

MICHELLE LUDWIG
My Commission Expires
July 13, 2009
St. Louis County
Commission #05550747

Apostille

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document
2. has been signed by MICHELLE LUDWIG
3. acting in the capacity of NOTARY PUBLIC
4. bears the seal/stamp of MICHELLE LUDWIG-NOTARY PUBLIC-STATE OF MISSOURI

Certified

5. at Jefferson City, Missouri
6. the 21ST day of DECEMBER, 2005.
7. by Robin Carnahan, Secretary of State, State of Missouri
8. No. 142500
9. Seal/Stamp

10. Signature:

Robin Carnahan

Comm. 48 (01-2005)

----------TRADUCCION OFICIAL No. 06-02-04----------

de un documento escrito en INGLES, el cual para su identificación lleva el sello de la Traductora e Intérprete Oficial, Res. 2755/68 y 01144/97 de Minjusticia, al igual que la presente.----------

(Adjunto a un documento de Poder otorgado por MONSANTO TECHNOLOGY LLC)

Sello Notarial:

MICHELLE LUDWIG

Mi comisión vence Julio 13, 2009

Condado de St. Louis – Comisión #05550747

APOSTILLA

(Convención de La Haya de octubre 5, 1961)

1. País: Estados Unidos de América

Este documento público

2. ha sido firmado por Michelle Ludwig
3. actuando en su carácter de Notario Público
4. Lleva el sello de Michelle Ludwig – Notario Público – Estado de Missouri

CERTIFICADO

5. En Jefferson City, Missouri
6. El día 21 de Diciembre de 2005

DORA DUQUE DE BERNAL
TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL
RES. 02755/68 Y 01144/97 - MINJUSTICIA
REP. DE COLOMBIA

7. por Robin Carnahan, Secretario de Estado, Estado de Missouri

8. No. 142500

9. Sello (en dorado)

10. Firma:

(fdo) Robin Carnahan

ES TRADUCCION FIEL Y COMPLETA, a la cual me remito,

Bogotá, D. C., Febrero 9, 2006.

DORA DUQUE DE BERNAL
TRADUCTORA E INTERPRETE OFICIAL
RES. 02755/68 Y 01144/97 - MINJUSTICIA
REP. DE COLOMBIA

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2006 FEB 13 A 11:5[illegible]

JEFE DE LEGALIZACIONES SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

613666

COTEJA FIRMA APARECE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑA LAS FUNCIONES INDICADAS

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
15 September 2011 (15.09.2011)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2011/112570 A1

(51) International Patent Classification:
C12P 19/34 (2006.01) *C12N 15/113* (2010.01)
C07H 21/04 (2006.01)

(21) International Application Number:
PCT/US2011/027528

(22) International Filing Date:
8 March 2011 (08.03.2011)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:

61/311,762	8 March 2010 (08.03.2010)	US
61/349,807	28 May 2010 (28.05.2010)	US
61/381,556	10 September 2010 (10.09.2010)	US

(71) Applicant *(for all designated States except US)*: **MONSANTO TECHNOLOGY LLC** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants *(for US only)*: **SAMMONS, Robert, D.** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US). **IVASHUTA, Sergey, I.** [RU/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US). **LIU, Hong** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US). **WANG, Dafu** [CN/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US). **FENG, Paul, C.c.** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US). **KOURANOV, Andrei, Y.** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US). **ANDERSEN, Scott, E.** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US).

(74) Agent: **MCBRIDE, Thomas, P.**; Monsanto Technology LLC, 800 North Lindbergh Boulevard, Attention: Gail Wuellner, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US).

(81) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— *with international search report (Art. 21(3))*

— *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*

WO 2011/112570 A1

(54) Title: POLYNUCLEOTIDE MOLECULES FOR GENE REGULATION IN PLANTS

(57) Abstract: This invention provides polynucleotide molecules and methods for regulating genes in plants, *e. g.*, by providing RNA for systemic regulation of genes. Various aspects of the invention provide polynucleotide molecules and methods for regulating endogenous genes and transgenes in a plant cell and polynucleotide molecules.

POLYNUCLEOTIDE MOLECULES FOR GENE REGULATION IN PLANTS

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS AND INCORPORATION OF SEQUENCE LISTING

[0001] This application claims the benefit of priority of U. S. Provisional Patent Applications 61/311,762 filed 8 March 2010, 61/349,807 filed 28 May 2010, and 61/381,556 filed 10 September 2010, which are incorporated by reference in their entirety herein. The sequence listing that is contained in the file named "38-21_56855_D.txt", which is 133 kilobytes (measured in operating system MS-Windows) and was created on 7 March 2011, is filed herewith and incorporated herein by reference.

FIELD OF THE INVENTION

[0002] Disclosed herein are polynucleotide molecules for regulating genes in plants and methods of making and using such molecules.

BACKGROUND

[0003] The failure of herbicides to control resistant weeds is a problem especially when such weeds are growing in field of herbicide resistant crops that may have lower herbicide resistance than the weed. Herbicide-resistant weeds are identified with a variety of modes of action. Resistance resulting from selection for multiple copies of genes producing herbicide targetted proteins in pigweed is reported by Gaines *et al.* (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107(3):1029-1034. Resistance resulting from mutations in genes producing herbicide targetted proteins in goosegrass, prickly lettuce, and ryegrass are reported by Baerson *et al.* (2002) *Plant Physiol.*, 129(3):1265-1275; Preston *et al.* (2006) *Pesticide Biochem. Physiol.*, 84(3):227-235; and Wakelin *et al.* (2006) *Weed Res. (Oxford)*, 46(5):432-440. Vacuolar sequestration of glyphosate is an observed mechanism in glyphosate resistant horseweed; see Ge *et al.* (2010) *Pest Management Sci.*, 66:576-576. Resistance resulting from expression of enzymes that metabolize herbicides to an inactive chemical form in hairy crabgrass is reported by Hidayat *et al.* (1997) *Pesticide Biochem. Physiol.*, 57(2):137-146. Reddy *et al.* (2008) *J. Agric. Food Chem.*, 56(6):2125-2130 reported the accumulation of aminomethylphosphonic acid in plant species treated with glyphosate.

What is claimed is:

1. A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs comprising topically coating onto said growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either said target endogenous gene or messenger RNA transcribed from said target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit said at least one polynucleotide to permeate the interior of said growing plants or plant organs, whereby said at least one polynucleotide regulates the expression of said target endogenous gene.

2. A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants comprising:
   (a) topically coating onto the surface of said growing plants a polynucleotide composition comprised of:
      (i) at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of said growing plants, wherein said endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and
      (ii) an effective amount of a transferring agent to permit said polynucleotides to permeate the interior of said growing plants, and
   (b) applying said herbicide to said growing plants;
   whereby said at least one polynucleotide permeates the interior of said growing plants and induces suppression of said endogenous gene, thereby potentiating activity of said herbicide in said growing plants.

3. In a liquid, herbicidal composition adapted for topical coating onto the exterior surface of growing plants comprising surfactant and at least one plant lethal agent, the improvement wherein said plant lethal agent comprises polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to sequence of a plant gene or sequence of said plant gene's transcribed RNA, said polynucleotides effecting systemic production of small RNAs that hybridize to a probe for said plant gene.

4. In a liquid, herbicidal composition comprising a non-polynucleotide herbicide, the improvement wherein said composition further comprises polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to sequence of a plant gene or sequence of said plant gene's transcribed RNA.

5. A composition consisting essentially of

(a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from said endogenous gene; wherein said double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of said plant to said endogenous gene or to said RNA transcribed from said endogenous gene to effect silencing of said endogenous gene; and

(b) transferring agent effective for facilitating transfer of said double-stranded DNA polynucleotides from the surface of said plant into cells of said plant.

6. A composition consisting essentially of

(a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from said endogenous gene; wherein said single-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of said plant to said endogenous gene or to said RNA transcribed from said endogenous gene to effect silencing of said endogenous gene; and

(b) transferring agent effective for facilitating transfer of said single-stranded DNA polynucleotides from the surface of said plant into cells of said plant.

7. A composition consisting essentially of

(a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from said endogenous gene; wherein said double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of said plant to said endogenous gene or to said RNA transcribed from said endogenous gene to effect silencing of said endogenous gene; and

(b) transferring agent effective for facilitating transfer of said double-stranded RNA polynucleotides from the surface of said plant into cells of said plant.

8. A composition consisting essentially of

(a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from said

endogenous gene; wherein said single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of said plant to said endogenous gene or to said RNA transcribed from said endogenous gene to effect silencing of said endogenous gene; and

(b) transferring agent effective for facilitating transfer of said single-stranded RNA polynucleotides from the surface of said plant into cells of said plant.

9. A composition consisting essentially of

(a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from said endogenous gene; wherein said double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of said plant to said endogenous gene or to said RNA transcribed from said endogenous gene to effect silencing of said endogenous gene; and

(b) transferring agent effective for facilitating transfer of said double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of said plant into cells of said plant.

10. A method for selectively controlling targetted herbicide-resistant volunteer plants growing in a field of herbicide-resistant crop plants comprising applying onto the leaves of said volunteer plants a composition comprising polynucleotide oligomers that provides in cells of said volunteer plants systemic, single-stranded RNA that is capable of hybridizing under physiological conditions in cells of said volunteer plants to messenger RNA that is transcribed from an endogenous gene that (i) is an essential gene for maintaining the growth or life of said volunteer plant, (ii) encodes a protein that provides herbicide resistance to said volunteer plant, or (iii) transcribes to an RNA regulatory agent.

11. A method for investigating reverse genetics by modulating an endogenous gene in a plant, said method comprising topically applying onto tissue of a living plant a composition according to claim 1.

12. An herbicidal composition comprising an aqueous solution of (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotide oligomers, and (b) polynucleotide oligomers comprising at least one polynucleotide strand comprising at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides of an endogenous gene of said plant in either anti-sense or sense orientation, wherein said endogenous gene encodes a

protein that provides to said plant resistance to a chemical herbicide or is an essential gene..

13. A plant comprising exogenous DNA or RNA for suppressing an endogenous gene, wherein said exogenous DNA is not integrated into a chromosome of said plant and said exogenous RNA is not transcribed from DNA integrated into a chromosome of said plant, and wherein said endogenous gene is suppressed by topical application of a polynucleotide to said plant after said plant has emerged from a seed.

14. A method to deliver a polynucleotide to the interior of a plant cell by topical application of said polynucleotide to the exterior of said plant cell, said method comprising combining said polynucleotide with an organosilicone surfactant.

15. A method of any of claims 1, 2, 10, 11 or 14

wherein said expression of said target endogenous gene is regulated in plant cells other than those topically coated;

wherein said target endogenous gene is regulated systemically in at least one plant organ;

wherein said endogenous target gene encodes a protein selected from the group consisting of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a *para*-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, a RUBISCO, a translation initiation factor, a phytoene desaturase and a double-stranded DNA adenosine tripolyphosphatase (ddATP);

wherein polynucleotides target different segments of an endogenous gene or different endogenous genes;

wherein permeation of said polynucleotides from the surface of a plant into cells uses a transferring agent comprising an organosilicone;

wherein permeation of said polynucleotides from the surface of a plant into cells uses a transferring agent comprising an ammonium salt;

wherein said plants are growing in a open field;

wherein said plants are growing in a greenhouse;

wherein said plants are also sprayed with a non-polynucleotide herbicide;

or a combination of one or more thereof.

16. A composition of any of claims 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 12

wherein said transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and a salt;

wherein said surfactant is an organosilicone surfactant;

wherein said organosilicone surfactant is a silicone polyether copolymer;

wherein said silicone polyether copolymer is a copolymer of polyalkylene oxide modified heptamethyl trisiloxane and allyloxypolypropylene glycol methylether (available as Silwet® L-77 surfactant);

further comprising a non-polynucleotide herbicidal molecule;

wherein said plant gene encodes a protein that provides herbicide tolerance and is a 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a *para*-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, a RUBISCO, a translation initiation factor, a phytoene desaturase and a double-stranded DNA adenosine tripolyphosphatase (ddATP);

or a combination thereof.

Figure 1

ATGGCTCAAGCTACTACCATCAACAATGGTGTCCATACTGGTCAATTGCACCATACTTTACCCAAAA
CCCAGTTACCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATTTTGGATCAAACTTGAGAATTTCTCCAAAGTTCAT
GTCTTTAACCAATAAAAGAGTTGGTGGGCAATCATCAATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTTGCT
GCTGCAGCTGAGAAACCTTCATCTGTCCCAGAAATTGTGTTACAACCCATCAAAGAGATCTCTGGTA
CTGTTCAATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTTCTTTTAGCTGCTTTGTCTGAGGG
CACAACAGTGGTCGACAACTTGCTGTATAGTGATGATATTCTTTATATGTTGGACGCTCTCAGAACT
CTTGGTTTAAAAGTGGAGGATGATAGTACAGCCAAAAGGGCAGTCGTAGAGGGTTGTGGTGGTCTGT
TTCCTGTTGGTAAAGATGGAAAGGAAGAGATTCAACTTTTCCTTGGTAATGCAGGAACAGCGATGCG
CCCATTGACAGCTGCGGTTGCCGTTGCTGGAGGAAATTCAAGTTATGTGCTTGATGGAGTACCAAGA
ATGAGGGAGCGCCCCATTGGGGATCTGGTAGCAGGTCTAAAGCAACTTGGTTCAGATGTAGATTGTT
TTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGTTCGGGTCAATGCTAAAGGAGGCCTTCCAGGGGGCAAGGTCAA
GCTCTCTGGATCGGTTAGTAGCCAATATTTAACTGCACTTCTCATGGCTACTCCTTTGGGTCTTGGA
GACGTGGAGATTGAGATAGTTGATAAATTGATTTCTGTACCGTATGTTGAAATGACAATAAAGTTGA
TGGAACGCTTTGGAGTATCCGTAGAACATAGTGATAGTTGGGACAGGTTCTACATTCGAGGTGGTCA
GAAATACAAATCTCCTGGAAAGGCATATGTTGAGGGTGATGCTTCAAGTGCTAGCTACTTCCTAGCC
GGAGCCGCCGTCACTGGTGGGACTGTCACTGTCAAGGGTTGTGGAACAAGCAGTTTACAGGGTGATG
TAAAATTTGCCGAAGTTCTTGAGAAGATGGGTTGCAAGGTCACCTGGACAGAGAATAGTGTAACTGT
TACTGGACCACCCAGGGATTCATCTGGAAAGAAACATCTGCGTGCTATCGACGTCAACATGAACAAA
ATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGCCTTGTATGCAGATGGGCCCACCGCCATCAGAG
ATGTGGCTAGCTGGAGAGTGAAGGAAACCGAACGGATGATTGCCATTTGCACAGAACTGAGAAAGCT
TGGGGCAACAGTTGAGGAAGGATCTGATTACTGTGTGATCACTCCGCCTGAAAAGCTAAACCCCACC
GCCATTGAAACTTATGACGATCACCGAATGGCCATGGCATTCTCTCTTGCTGCCTGTGCAGATGTTC
CCGTCACTATCCTTGATCCGGGATGCACCCGTAAAACCTTCCCGGACTACTTTGATGTTTTAGAAAA
GTTCGCCAAGCATTGA

SEQ ID NO:1

Figure 2

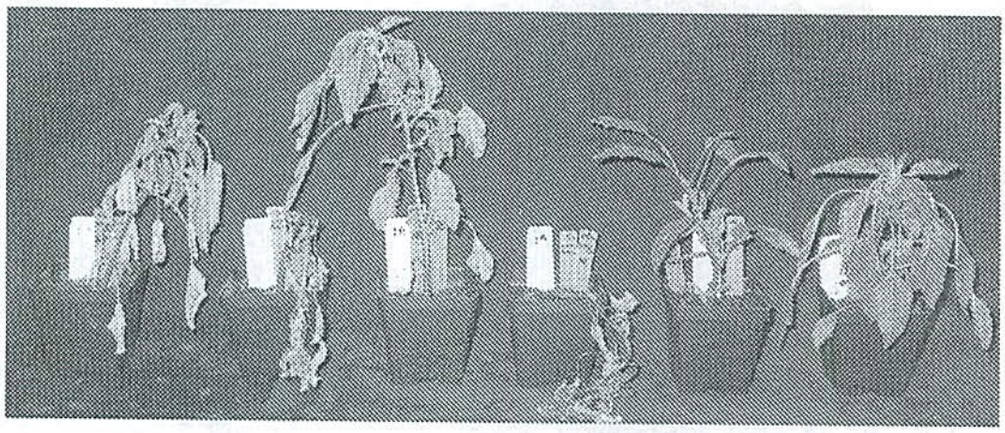
GGCCCATAGGCCTTTTTCTAAAATAGGCCCATTTAAGCTATTAACAATCTTCAAAAGTACCACATCG
CTTAGGTAAAGAAAGCAGCTGAGTTTATATATGGTTAGAGACGAAGTAGTGATTG*CGACGAGCGACG*
TCTCGCCCTCATCGCAATCCACGCCATTGAGCTTGAGGCCATTGGCGACGGCCGAGAGGCGGTCGCT
*T*AAGATTAGCATG*TCCTTGACGCGGAGTTCTTCCAGACCGTTCATCACGGTCGCCCCTTCCGCGAAG*
*GCGGCGGCGACAGCGAGAATCGGATATTCGTCGATCATCGAAGGCGCGCGGTCTTCCGGCACCGTG*A
CGCATAAAcacggtgccggaagaccgcgcgccttcgatgatcgacgaatatccgattctcgctgtcg
ccgccgccttcgcggaaggggcgaccgtgatgaacggtctggaagaactccgcgtcaaggaaagcga
ccgcctctcggccgtcgccaatggcctcaagctcaatggcgtggattgcgatgagggcgagacgtcg
ctcgtcgTTTTTTTTGGCAAAAA

SEQ ID NO:3

Figure 3



3A



3B



3C

Figure 4

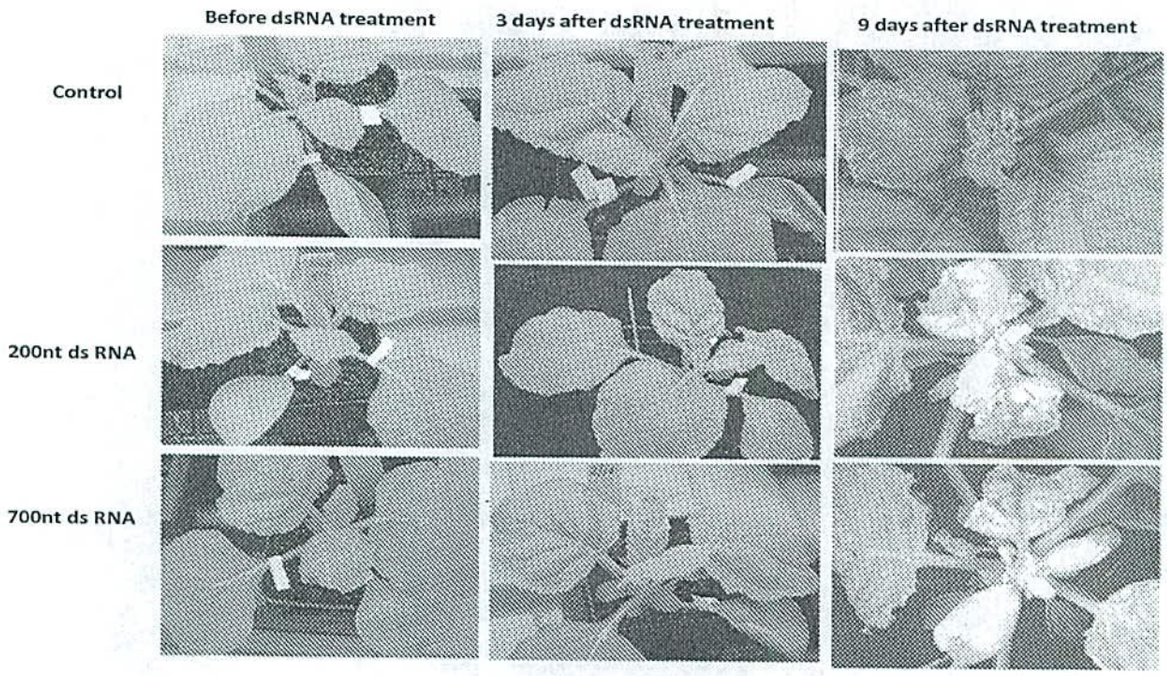

Before dsRNA treatment
3 days after dsRNA treatment
9 days after dsRNA treatment
Control
200nt ds RNA
700nt ds RNA

Figure 5

ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAATTCAGCTTATCTTTGGA
GCTCGAGGTCTTCGTTGGGAACTGAAAGTCAAGATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTGG
TAGTAGCGACTCCATGGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGACA
AAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCAGAGCTAGACAATACAGTTA
ACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATCGTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGA
GATTGTTATTGCTGGTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGTCAC
AAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGCTGCATGGAAAGATGATGATG
GAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAACCTGTTTGG
AGAACTAGGGATTGATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATGCCTAACAAG
CCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGCCATTAAATGGAATTTTGGCCA
TACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGGCCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGC
AATGCTTGGAGGGCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGAGAAAG
CAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATGTCAAAGGCACTTAACTTCATAA
ACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCATTTTGATTGCTTTGA**ACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGG**
TTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTGGAACATATT
GAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAAGATCGAGCTGAATGAGGATGGAA
GTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATGGCAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCC
AGTGGATATCTTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAAGTTGGAG
AAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTGACAGAAAACTGAAGAACACATCTG
ATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCGTTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGA
ATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGATAAATCGT
AGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCGAAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGG
CAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAAC
TGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTATTTAGCTGGT
GACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGCTGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCAC
AAGCTATTGTACAGGATTACGAGTTACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGT
AGTTAGCATAGTGAACTAA

SEQ ID NO:2

Figure 6

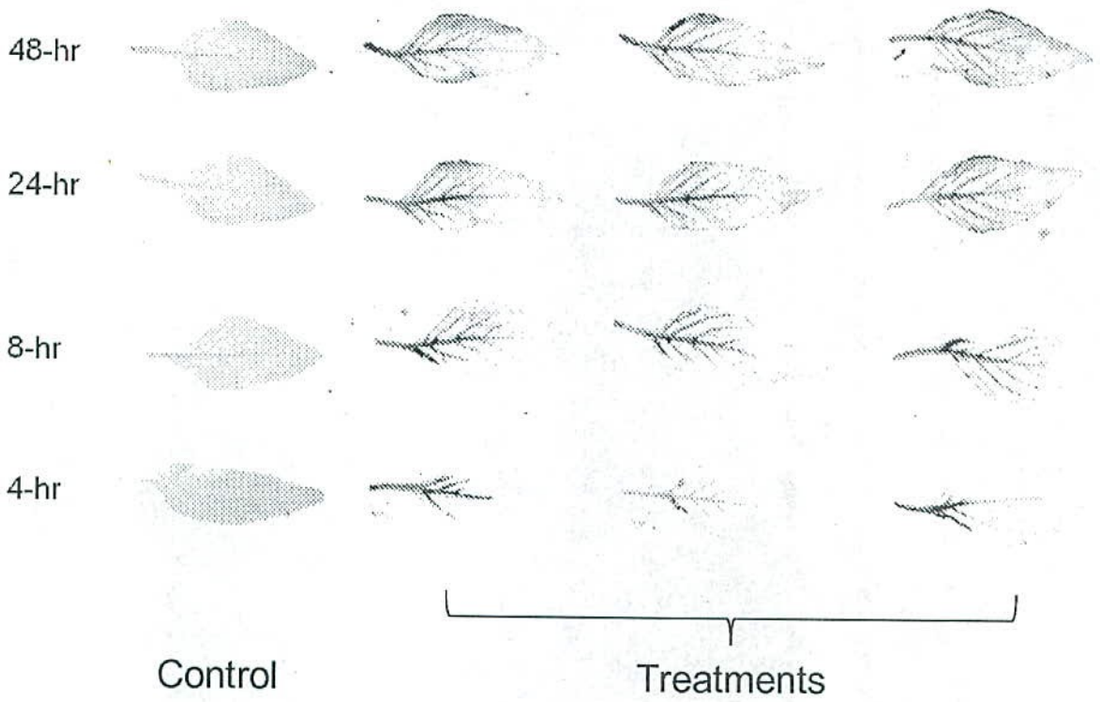


Figure 7

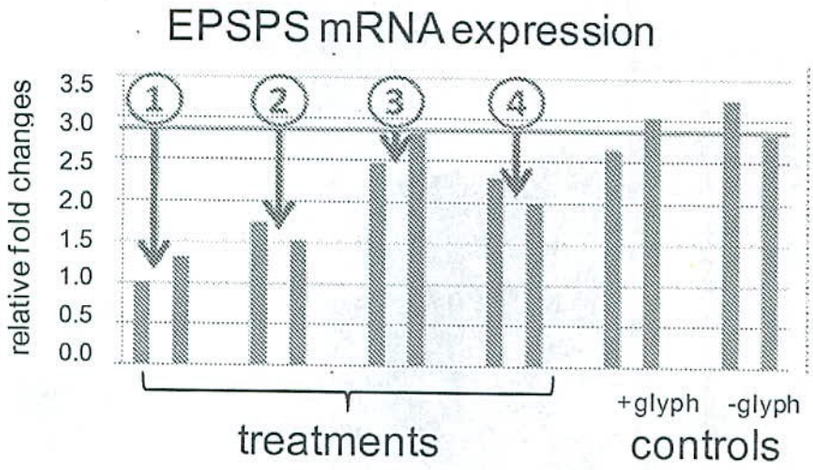

EPSPS mRNA expression
relative fold changes
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
1
2
3
4
+glyph
-glyph
treatments
controls

Figure 8

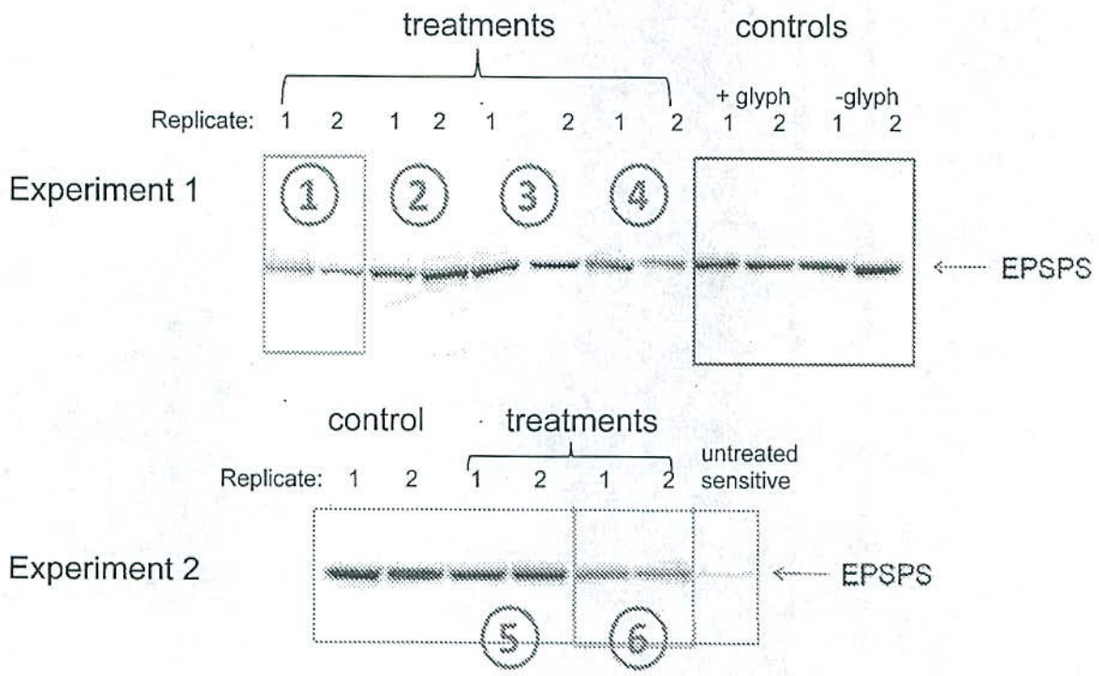

treatments
controls
+ glyph
-glyph
Replicate: 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2
Experiment 1
1
2
3
4
EPSPS
control
treatments
Replicate: 1 2 1 2 1 2
untreated sensitive
Experiment 2
EPSPS
5
6

Figure 9

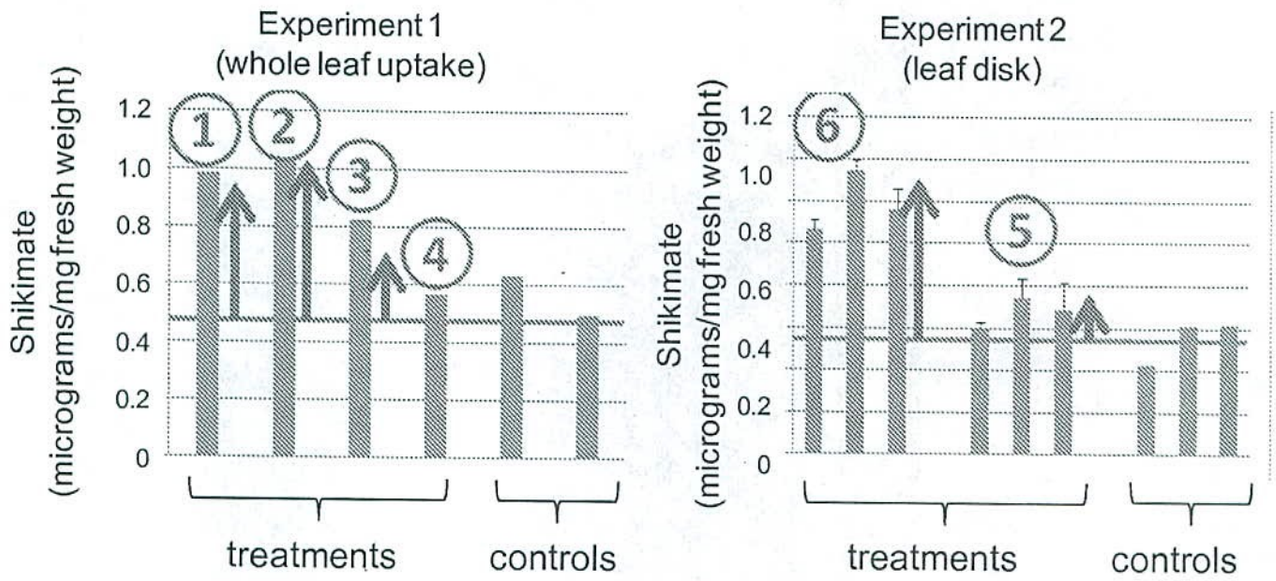

Experiment 1
(whole leaf uptake)
Shikimate
(micrograms/mg fresh weight)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
1
2
3
4
treatments
controls
Experiment 2
(leaf disk)
Shikimate
(micrograms/mg fresh weight)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
6
5
treatments
controls

Figure 10

>gi|93117609|gb|DQ469932.1| Nicotiana benthamiana phytoene desaturase mRNA, complete cds

ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAATTCAGCTTATCTTTGGA
GCTCGAGGTCTTCGTTGGGAACTGAAAGTCAAGATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTGG
TAGTAGCGACTCCATGGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGACA
AAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCAGAGCTAGACAATACAGTTA
ACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATCGTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGA
GATTGTTATTGCTGGTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGTCAC
AAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGCTGCATGGAAAGATGATGATG
GAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAACCTGTTTGG
AGAACTAGGGATTGATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATGCCTAACAAG
CCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGCCATTAAATGGAATTTTGGCCA
TACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGGCCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGC
AATGCTTGGAGGGCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGAGAAAG
CAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATGTCAAAGGCACTTAACTTCATAA
ACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCATTTTGATTGCTTTGA**ACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGG**
TTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTGGAACATATT
GAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAAGATCGAGCTGAATGAGGATGGAA
GTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATGGCAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCC
AGTGGATATCTTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAAGTTGGAG
AAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTGACAGAAAACTGAAGAACACATCTG
ATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCGTTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGA
ATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGATAAATCGT
AGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCGAAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGG
CAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAAC
TGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTATTTAGCTGGT
GACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGCTGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCAC
AAGCTATTGTACAGGATTACGAGTTACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGT
AGTTAGCATAGTGAACTAA

SEQ ID NO:2

Figure 11

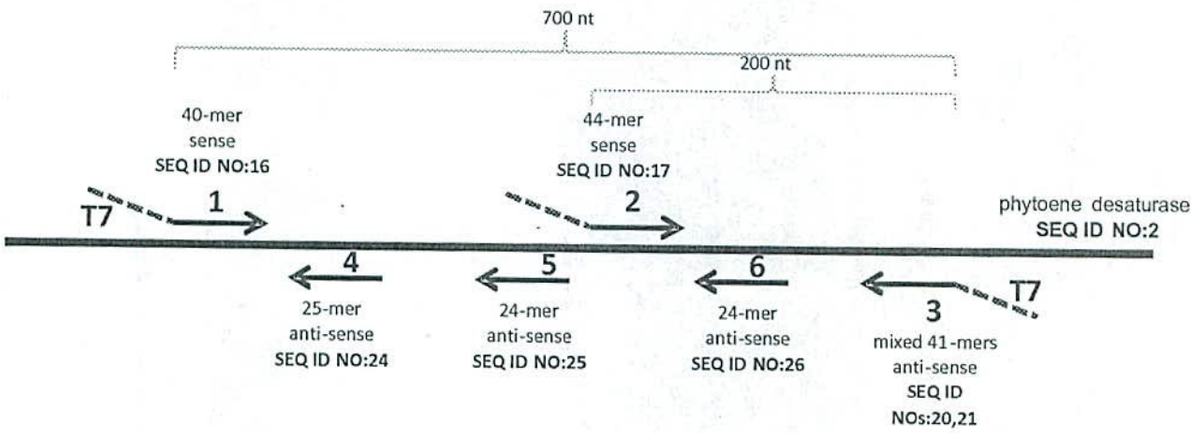
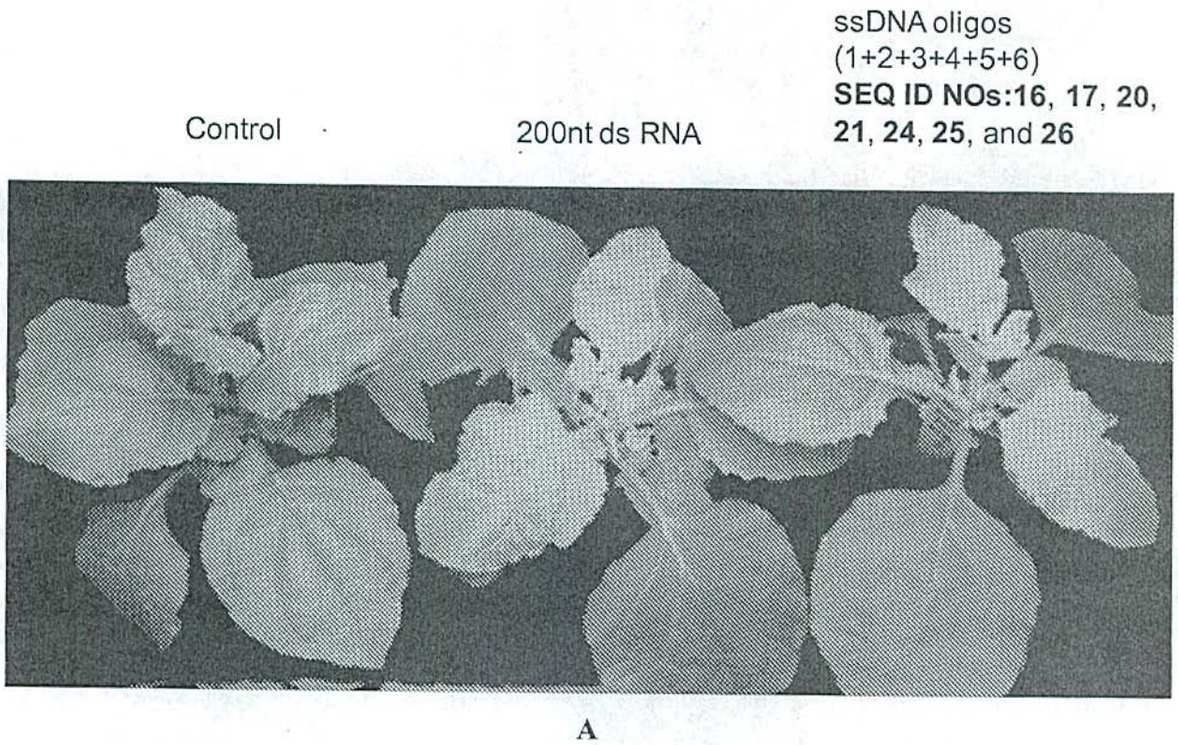
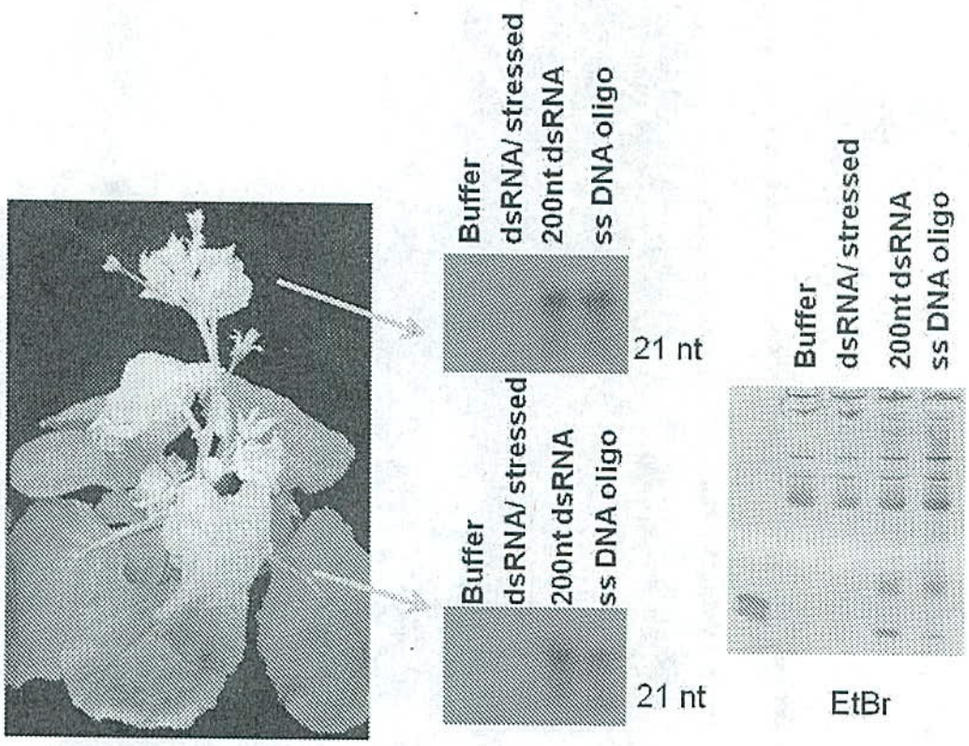

700 nt
200 nt
40-mer
sense
SEQ ID NO:16
44-mer
sense
SEQ ID NO:17
T7
1
2
phytoene desaturase
SEQ ID NO:2
4
5
6
T7
3
25-mer
anti-sense
SEQ ID NO:24
24-mer
anti-sense
SEQ ID NO:25
24-mer
anti-sense
SEQ ID NO:26
mixed 41-mers
anti-sense
SEQ ID
NOs:20,21

Figure 12


Control
200nt ds RNA
ssDNA oligos
(1+2+3+4+5+6)
SEQ ID NOs:16, 17, 20,
21, 24, 25, and 26

A


Buffer
dsRNA/ stressed
200nt dsRNA
ss DNA oligo
21 nt
Buffer
dsRNA/ stressed
200nt dsRNA
ss DNA oligo
21 nt
Buffer
dsRNA/ stressed
200nt dsRNA
ss DNA oligo
EtBr

B

Figure 13

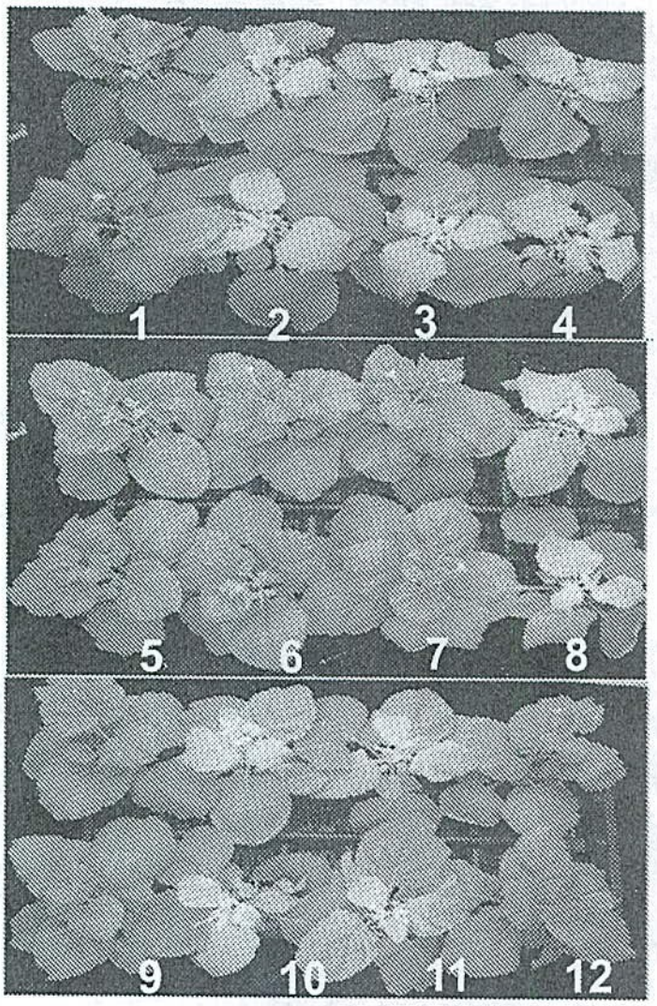


Figure 14

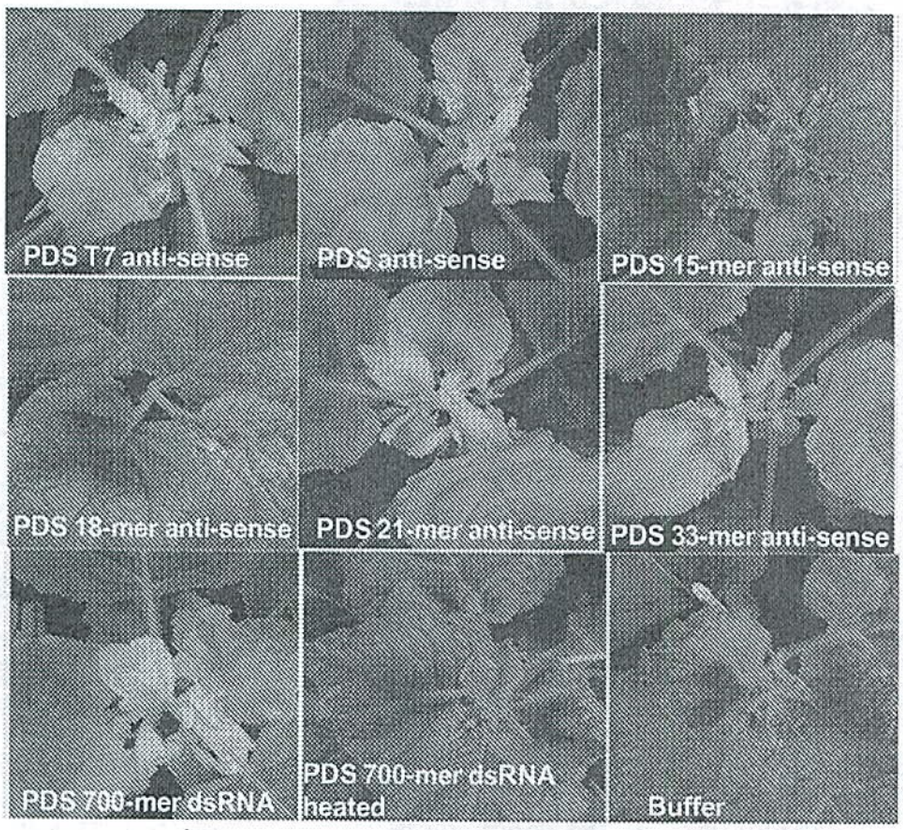

PDS T7 anti-sense
PDS anti-sense
PDS 15-mer anti-sense
PDS 18-mer anti-sense
PDS 21-mer anti-sense
PDS 33-mer anti-sense
PDS 700-mer dsRNA
PDS 700-mer dsRNA heated
Buffer

Figure 15

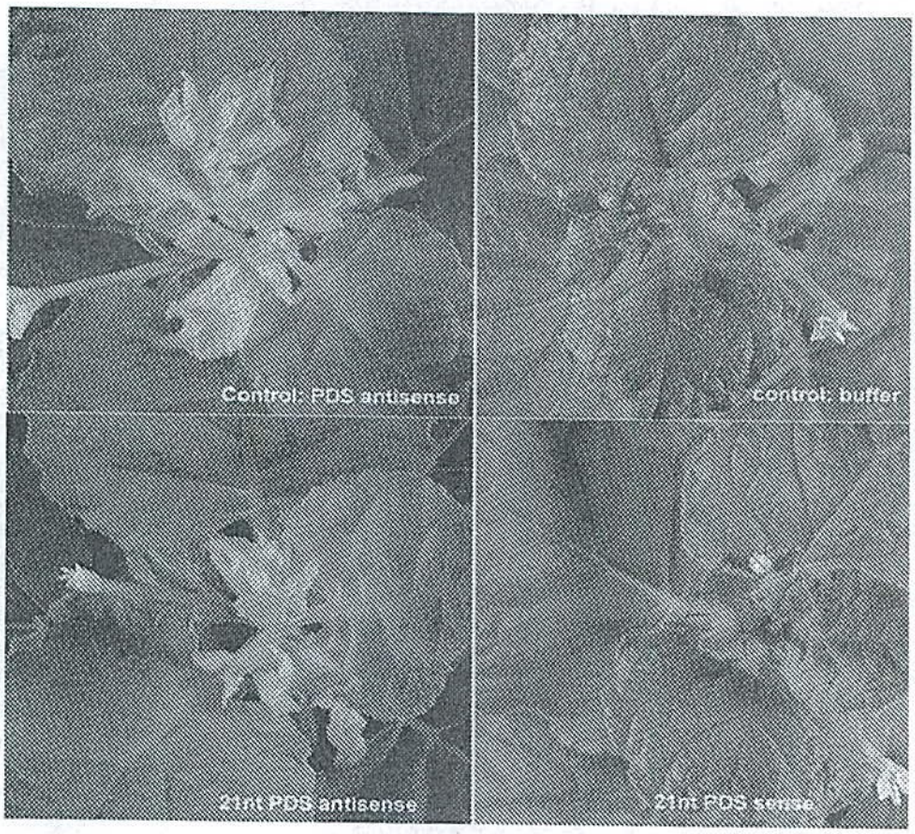

Control: PDS antisense
control: buffer
21nt PDS antisense
21nt PDS sense

Figure 16

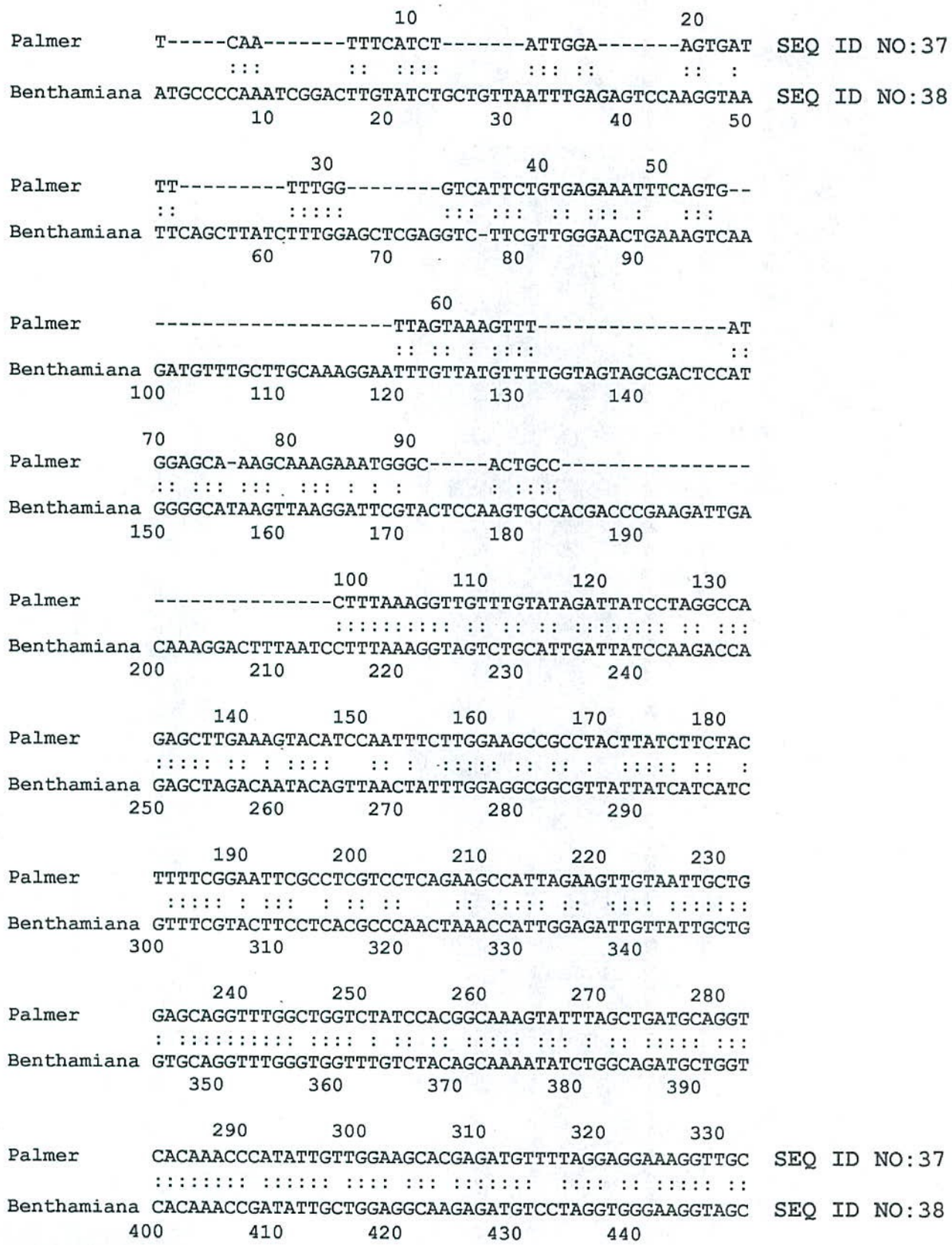

Palmer T-----CAA-------TTTCATCT-------ATTGGA-------AGTGAT SEQ ID NO:37
Benthamiana ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAA SEQ ID NO:38
Palmer TT---------TTTGG--------GTCATTCTGTGAGAAATTTCAGTG--
Benthamiana TTCAGCTTATCTTTGGAGCTCGAGGTC-TTCGTTGGGAACTGAAAGTCAA
Palmer ----------TTAGTAAAGTTT----------AT
Benthamiana GATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTGGTAGTAGCGACTCCAT
Palmer GGAGCA-AAGCAAAGAAATGGGC-----ACTGCC----------
Benthamiana GGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGA
Palmer ----------CTTTAAAGGTTGTTTGTATAGATTATCCTAGGCCA
Benthamiana CAAAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCA
Palmer GAGCTTGAAAGTACATCCAATTTCTTGGAAGCCGCCTACTTATCTTCTAC
Benthamiana GAGCTAGACAATACAGTTAACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATC
Palmer TTTTCGGAATTCGCCTCGTCCTCAGAAGCCATTAGAAGTTGTAATTGCTG
Benthamiana GTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGAGATTGTTATTGCTG
Palmer GAGCAGGTTTGGCTGGTCTATCCACGGCAAAGTATTTAGCTGATGCAGGT
Benthamiana GTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGT
Palmer CACAAACCCATATTGTTGGAAGCACGAGATGTTTTAGGAGGAAAGGTTGC SEQ ID NO:37
Benthamiana CACAAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGC SEQ ID NO:38

Figure 16 (continued)

```
                340       350       360       370       380
Palmer      AGCGTGGAAGGATGAGGATGGTGACTGGTATGAGACTGGGCTACATATAT  SEQ ID NO:37
             :: ::::: ::::: ::::: :: ::::: ::::::::: : :: ::::
Benthamiana TGCATGGAAAGATGATGATGGAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATAT  SEQ ID NO:38
          450       460       470       480       490

                390       400       410       420       430
Palmer      TCTTTGGGGCATATCCAAATGTCCAAAATCTATTTGGAGAACTTGGTATA
            :::::::::: :: :::::: : :: :: :: :::::::::::: :: ::
Benthamiana TCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAACCTGTTTGGAGAACTAGGGATT
          500       510       520       530       540

                440       450       460       470       480
Palmer      AATGACCGACTGCAATGGAAGGAGCACTCTATGATTTTTGCAATGCCCAG
             :::: ::  :::: :::::::: :: :: ::::: ::::: ::::: :
Benthamiana GATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATGCCTAA
          550       560       570       580       590

                490       500       510       520       530
Palmer      CAAGCCCGGTGAATTCAGTCGCTTTGATTTTCCCGAAATCCTGCCTGCAC
            :::::: :: :: ::::: :::::::::::::: :::   :: ::::: :
Benthamiana CAAGCCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGC
          600       610       620       630       640

                540       550       560       570       580
Palmer      CATTAAATGGCATATGGGCAATCCTAAGAAATAATGAAATGCTAACCTGG
            :::::::::: :: : ::: :: :::: :: :: :::::::: :: :::
Benthamiana CATTAAATGGAATTTTGGCCATACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGG
          650       660       670       680       690

                590       600       610       620       630
Palmer      CCAGAAAAAAATCAAGTTTGCCATTGGCTTGTTGCCTGCTATGGCAGGCGG
            :: :: ::: :::: ::::: :::::  : ::::: :: :::   :: ::
Benthamiana CCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGCAATGCTTGGAGG
          700       710       720       730       740

                640       650       660       670       680
Palmer      ACAGTCATATGTTGAAGCACAAGATGGTTTGAGTGTCCAAGAGTGGATGA
             :: :: :::::::::::: ::::: ::::: :::::  : :: ::::::::
Benthamiana GCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGA
          750       760       770       780       790

                690       700       710       720       730
Palmer      GAAAACAAGGAGTACCCGATCGTGTAACTGATGATGTGTTTATTGCCATG
            :::: ::::: :: :: ::: : :: :: ::::: ::::: :::::::::
Benthamiana GAAAGCAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATG
          800       810       820       830       840

                740       750       760       770       780
Palmer      TCAAAGGCACTGAACTTCATAAATCCCGATGAACTTTCAATGCAGTGCAT  SEQ ID NO:37
            :::::::::: :::::::::: :: :: :: ::::: ::::::::::::
Benthamiana TCAAAGGCACTTAACTTCATAAACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCAT  SEQ ID NO:38
          850       860       870       880       890
```

Figure 16 (continued)

```
                790        800        810        820        830
Palmer      CTTGATTGCTCTGAACCGATTCCTGCAGGAGAAACATGGTTCTAAGATGG  SEQ ID NO:37
             ::::::::: ::::: :::: :: :::::::::::::::: :: ::::
Benthamiana TTTGATTGCTTTGAACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGGTTCAAAAATGG  SEQ ID NO:38
          900        910        920        930        940

                840        850        860        870        880
Palmer      CCTTCCTAGACGGAAACCCTCCAGAGAGGCTGTGCATGCCTATTGTTAAA
            ::::  :::: :: :::::::: ::::: :: :::::::: :::::  ::
Benthamiana CCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTGGAA
          950        960        970        980        990

                890        900        910        920        930
Palmer      CACATCGAGTCACTAGGTGGTGAAGTTAAACTTAACTCTCGTATACAAAA
            :: :: :::::: :::::: :::: : ::: ::::: :: ::: ::::
Benthamiana CATATTGAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAA
         1000       1010       1020       1030       1040

                940        950        960        970        980
Palmer      GATTCAGTTGGACCAGAGTGGAAGCGTGAAGAGTTTTTTGCTAAATAACG
            :::  :: :: :  ::  :::::: :: ::  ::::: : :: ::::: :
Benthamiana GATCGAGCTGAATGAGGATGGAAGTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATG
         1050       1060       1070       1080       1090

                990       1000       1010       1020       1030
Palmer      GGAGGGAAATACGAGGAGATGCCTATGTTTTTGCCACCCCAGTTGACATC
            : ::   :::   ::::::::: : ::: :::::::: ::::: :: :::
Benthamiana GCAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCCAGTGGATATC
         1100       1110       1120       1130       1140

               1040       1050       1060       1070       1080
Palmer      TTGAAGCTGTTACTACCTGATACTTGGAAGGAAATCTCATACTTCAAAAA
            ::::::::  :  : :::::    ::::: :: ::: :::: ::: ::::
Benthamiana TTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAA
         1150       1160       1170       1180       1190

               1090       1100       1110       1120       1130
Palmer      ACTTGAGAAATTAGTGGGCGTTCCTGTGATTAATGTTCACATATGGTTTG
             : :::::  ::::::: :::::::::::: ::::: :: ::::::::::
Benthamiana GTTGGAGAAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTG
         1200       1210       1220       1230       1240

               1140       1150       1160       1170       1180
Palmer      ACAGAAAATTAAAGAATACATATGACCATCTACTCTTCAGCAGGAGTCCT
            :::::::: : ::::: :::: :::  :::: :::::::::: :: ::
Benthamiana ACAGAAAACTGAAGAACACATCTGATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCG
         1250       1260       1270       1280       1290

               1190       1200       1210       1220       1230
Palmer      CTTTTGAGTGTCTATGCTGATATGTCGGAGACATGCAAGGAATATAAGGA  SEQ ID NO:37
             :  : ::::: :: ::::: ::::: :  ::::: ::::::::: :  :
Benthamiana TTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGAATATTACAA  SEQ ID NO:38
         1300       1310       1320       1330       1340
```

Figure 16 (continued)

```
                1240       1250       1260       1270       1280
Palmer          TCCAAATAGATCCATGCTGGAATTGGTTTTTGCACCCGCGGAGGAATGGA  SEQ ID NO:37
                 :: :::    :: ::: :::::::::: :::::::::: :: :: ::::
Benthamiana CCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGA  SEQ ID NO:38
           1350       1360       1370       1380       1390

                1290       1300       1310       1320       1330
Palmer          TTTCACGAAGCGACACTGATATTATAGAGGCAACAATGAAAGAGCTTGCC
                :    :: :: ::: : :: ::::: :: :: :::::::: :: :: ::
Benthamiana TAAATCGTAGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCG
           1400       1410       1420       1430       1440

                1340       1350       1360       1370       1380
Palmer          AAGCTTTTCCCGGATGAAATCGCTGCCGATGGAAGCAAGGCCAAGATCCT
                :::::::::: ::::::::  : :: :::   ::::: :: :: ::  :
Benthamiana AAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGGCAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATT
           1450       1460       1470       1480       1490

                1390       1400       1410       1420       1430
Palmer          CAAATATCATGTCGTCAAAACTCCAAGGTCGGTTTATAAGACTGTACCGG
                 :: :::::::: :::::::: :::::::: :::::::: ::::: :: :
Benthamiana GAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAACTGTGCCAG
           1500       1510       1520       1530       1540

                1440       1450       1460       1470       1480
Palmer          ATTGTGAACCTTGTCGGCCGCTGCAAAGATCACCAATAGAGGGTTTCTAT
                 ::::::::: ::::::::  ::::::::::  :: :::::::::: :::
Benthamiana GTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTAT
           1550       1560       1570       1580       1590

             1490       1500       1510       1520       1530
Palmer          TTAGCTGGTGATTACACAAAACAAAAATATTTGGCTTCTATGGAAGGTGC
          :::::::::: ::::: ::::: :: :: :::::::: ::::::::::
Benthamiana TTAGCTGGTGACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGC
       1600       1610       1620       1630       1640

             1540       1550       1560       1570       1580
Palmer          TGTCTTATCTGGGAAGCTTTGTGCACAGGCTATCGTACAGGATTATGA--
          ::::::::: :: :::::::::::::: ::::: :::::::::: ::
Benthamiana TGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCACAAGCTATTGTACAGGATTACGAGT
       1650       1660       1670       1680       1690

                              1590       1600       1610
Palmer          ----TCT--GCTG--------AGTTCTCG--AGCACAAAGAGAA-TTGGC
                :::  :: :         :: : : :  :: :  ::: : : :: ::
Benthamiana TACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGTAGTTAGC
       1700       1710       1720       1730       1740


Palmer          G----------  SEQ ID NO:37

Benthamiana ATAGTGAACTAA  SEQ ID NO:38
       1750       1760
```

Figure 17

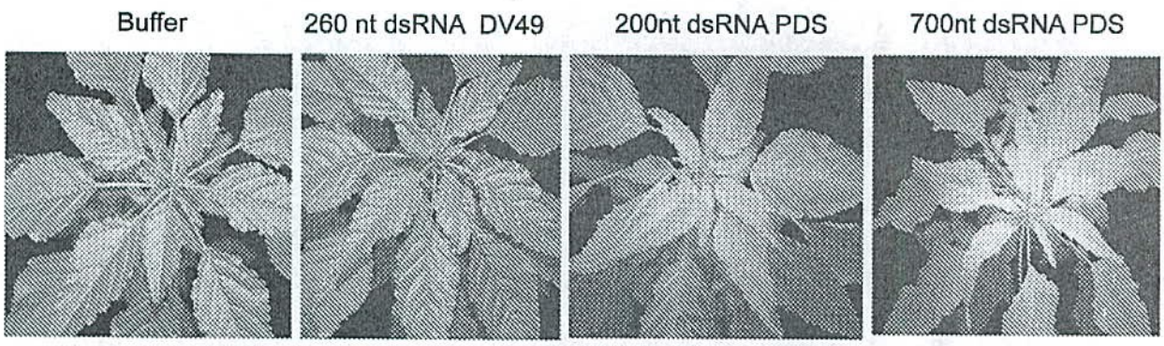
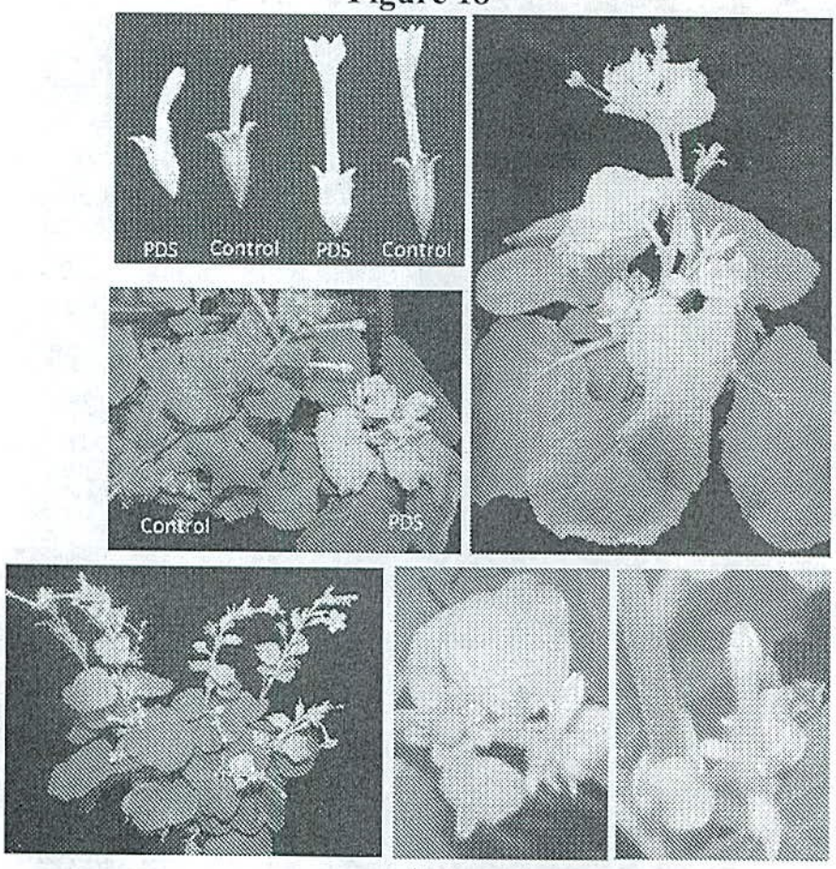
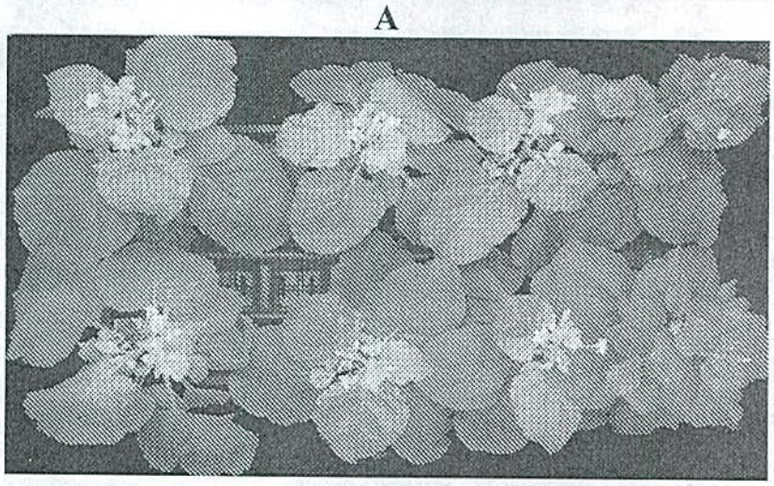


Figure 18



A



0.1% Silwet conditioning followed by 1 nanomole PDS ssDNA + 0.01% Silwet

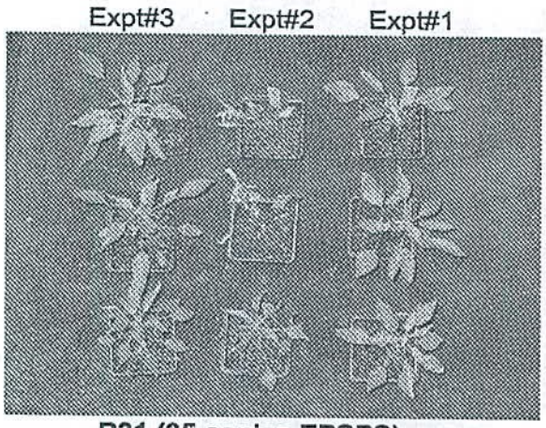
No Silwet conditioning; Infiltrate 1 nanomole PDS ssDNA + 0.01% Silwet

No Silwet conditioning; Infiltrate 1 nanomole PDS ssDNA (no Silwet)

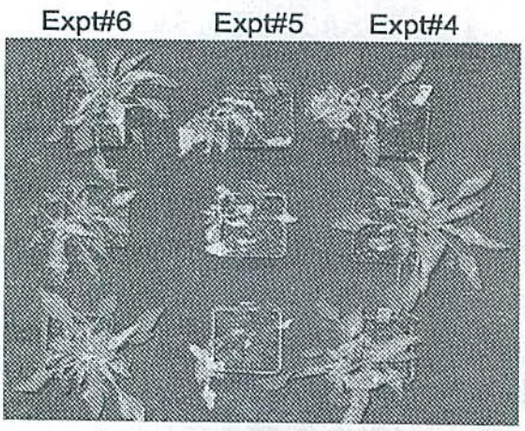
buffer

B

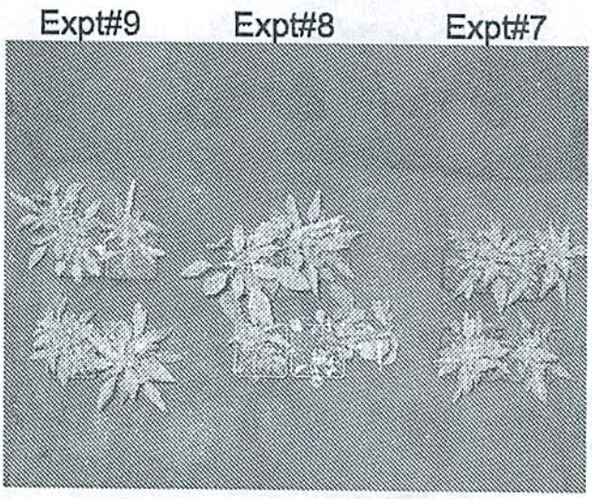
Figure 19



R31 (35 copies EPSPS)



R34 (57 copies EPSPS)



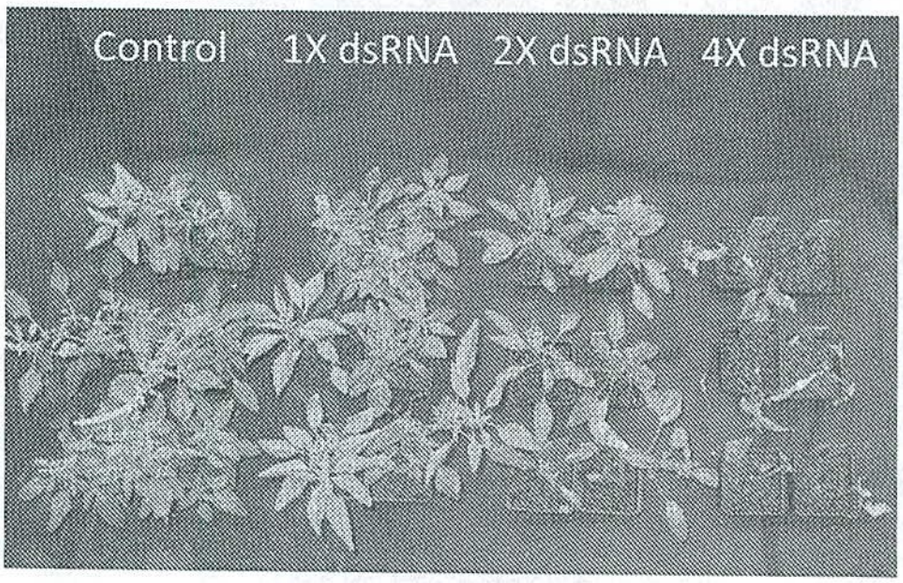
R28 (87 copies EPSPS)

Figure 20

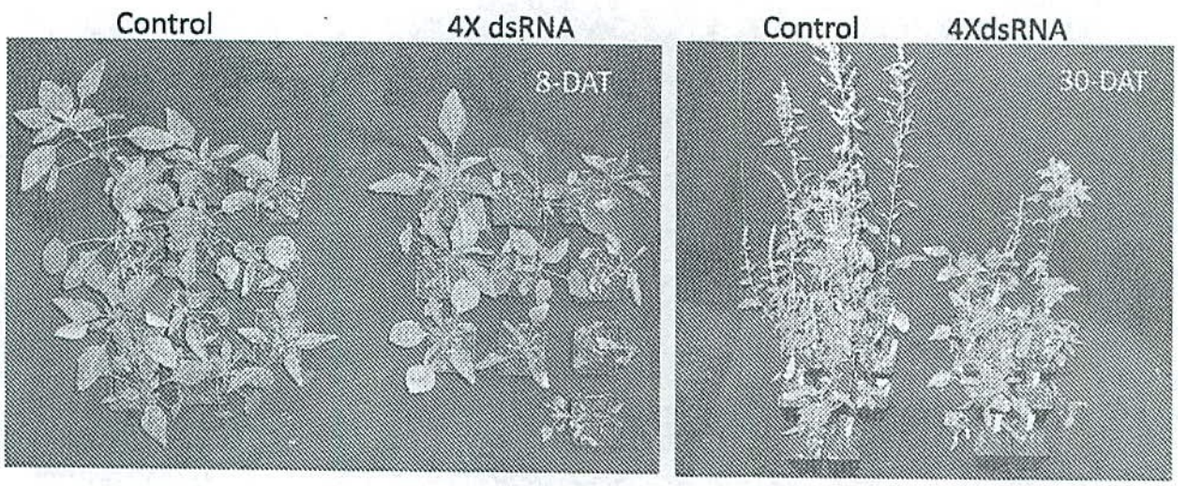
ATGGCTCAAGCTACTACCATCAACAATGGTGTCCATACTGGTCAATTGCACCATACTTTACCCAAAA
CCCAGTTACCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATTTTGGATCAAACTTGAGAATTTCTCCAAAGTTCAT
GTCTTTAACCAATAAAAGAGTTGGTGGGCAATCATCAATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTTGCT
GCTGCAGCTGAGAAACCTTCATCTGTCCCAGAAATTGTGTTACAACCCATCAAAGAGATCTCTGGTA
CTGTTCAATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTTCTTTTAGCTGCTTTGTCTGAGGG
CACAACAGTGGTCGACAACTTGCTGTATAGTGATGATATTCTTTATATGTTGGACGCTCTCAGAACT
CTTGGTTTAAAAGTGGAGGATGATAGTACAGCCAAAAGGGCAGTCGTAGAGGGTTGTGGTGGTCTGT
TTCCTGTTGGTAAAGATGGAAAGGAAGAGATTCAACTTTTCCTTGGTAATGCAGGAACAGCGATGCG
CCCATTGACAGCTGCGGTTGCCGTTGCTGGAGGAAATTCAAGTTATGTGCTTGATGGAGTACCAAGA
ATGAGGGAGCGCCCCATTGGGGATCTGGTAGCAGGTCTAAAGCAACTTGGTTCAGATGTAGATTGTT
TTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGTTCGGGTCAATGCTAAAGGAGGCCTTCCAGGGGGCAAGGTCAA
GCTCTCTGGATCGGTTAGTAGCCAATATTTAACTGCACTTCTCATGGCTACTCCTTTGGGTCTTGGA
GACGTGGAGATTGAGATAGTTGATAAATTGATTTCTGTACCGTATGTTGAAATGACAATAAAGTTGA
TGGAACGCTTTGGAGTATCCGTAGAACATAGTGATAGTTGGGACAGGTTCTACATTCGAGGTGGTCA
GAAATACAAATCTCCTGGAAAGGCATATGTTGAGGGTGATGCTTCAAGTGCTAGCTACTTCCTAGCC
GGAGCCGCCGTCACTGGTGGGACTGTCACTGTCAAGGGTTGTGGAACAAGCAGTTTACAGGGTGATG
TAAAATTTGCCGAAGTTCTTGAGAAGATGGGTTGCAAGGTCACCTGGACAGAGAATAGTGTAACTGT
TACTGGACCACCCAGGGATTCATCTGGAAAGAAACATCTGCGTGCTATCGACGTCAACATGAACAAA
ATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGCCTTGTATGCAGATGGGCCCACCGCCATCAGAG
ATGTGGCTAGCTGGAGAGTGAAGGAAACCGAACGGATGATTGCCATTTGCACAGAACTGAGAAAGCT
TGGGGCAACAGTTGAGGAAGGATCTGATTACTGTGTGATCACTCCGCCTGAAAAGCTAAACCCCACC
GCCATTGAAACTTATGACGATCACCGAATGGCCATGGCATTCTCTCTTGCTGCCTGTGCAGATGTTC
CCGTCACTATCCTTGATCCGGGATGCACCCGTAAAACCTTCCCGGACTACTTTGATGTTTTAGAAAA
GTTCGCCAAGCATTGA

SEQ ID NO:40

Figure 21


Control
1X dsRNA
2X dsRNA
4X dsRNA

A


Control
4X dsRNA
8-DAT
Control
4XdsRNA
30-DAT

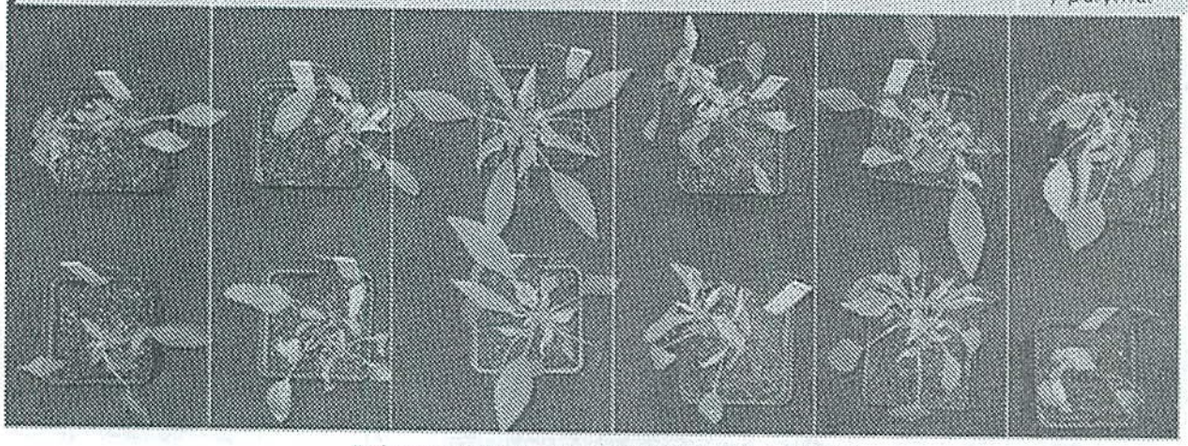
B

Figure 22

Test five transfect reagents

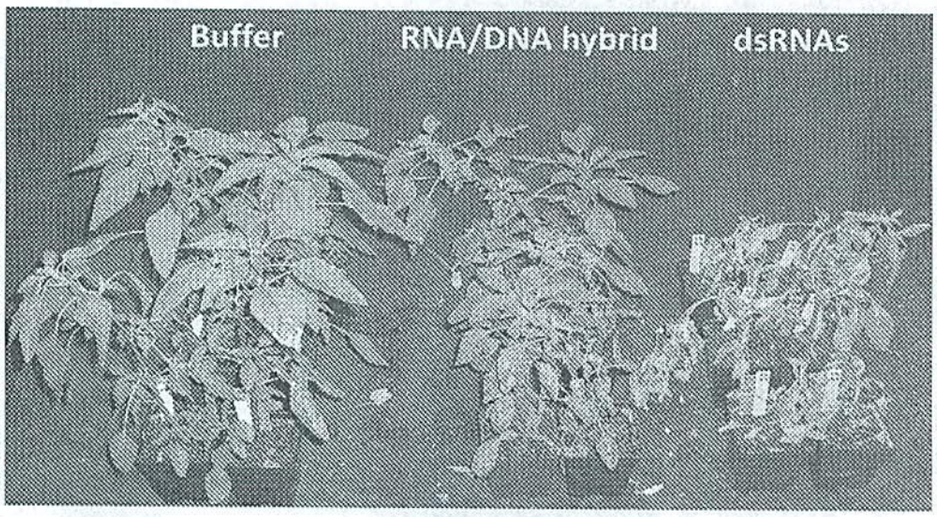
(dsRNA on Jun18; 4X WM on Jun21; rated at 7-DAT)

Step 1: Hand-drop dsRNA			Step 2: Spray		Step 3:
10X dsRNA formulated in transfect reagent			1% Silwet		4X WM (72-hr)
	JetPRIME (Polyplus)	SilenceMag (OZ Biosciences)	Nano-particle (Sigma-Aldrich)	siPORT NeoFX (Ambion)	TransIT (Mirus Bio)
MON0818/AMS	Polyamine	Magnet Nano-particle	N-TER peptide	Lipid	Cationic lipid / polymer



Palmer with 35-copies EPSPS; 10X dsRNA

Figure 23


Buffer
RNA/DNA hybrid
dsRNAs

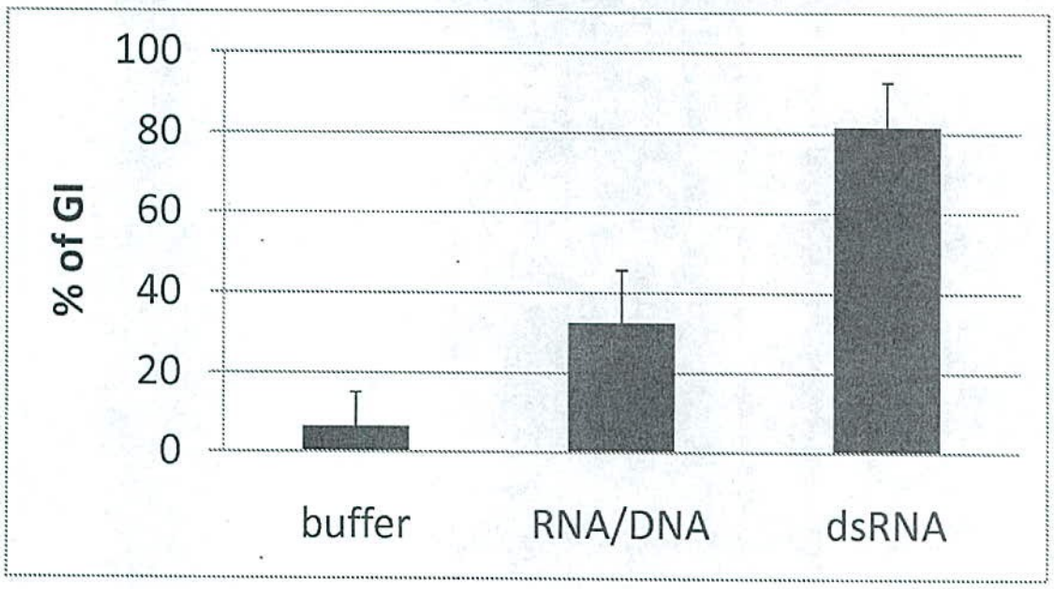
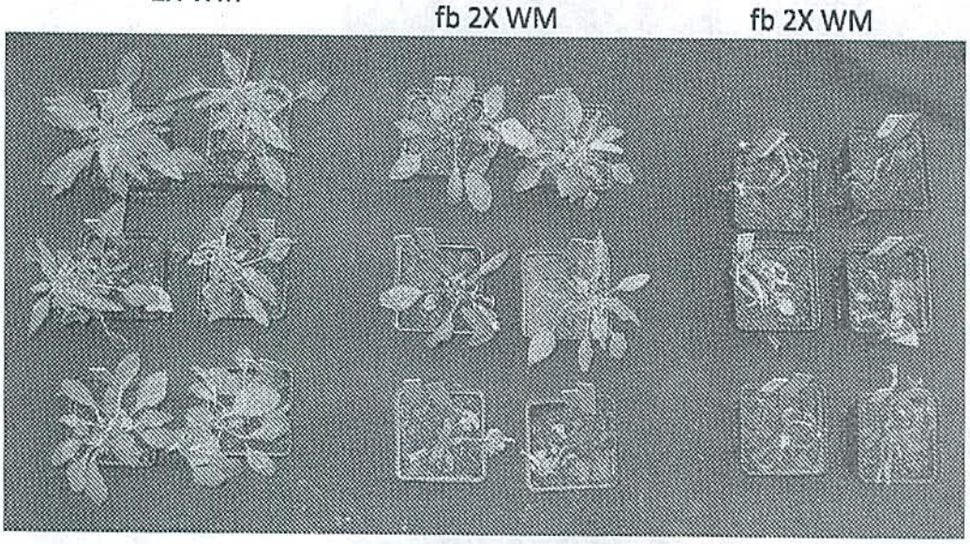

100
80
60
40
20
0
% of GI
buffer
RNA/DNA
dsRNA

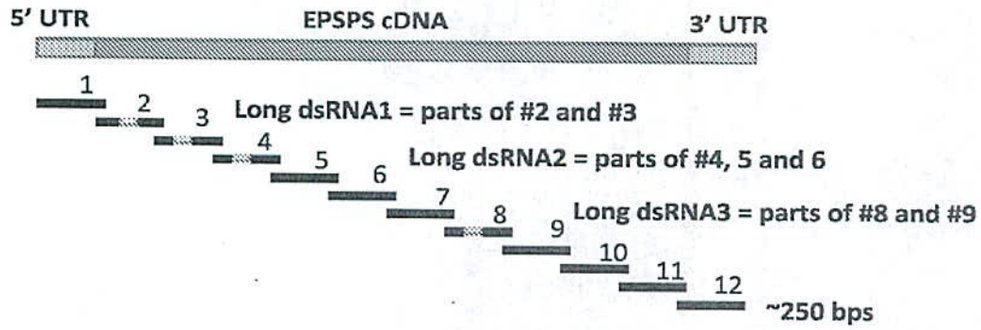
Figure 24

Step 1:	Step 2: dsRNAs formulated in	Step 3:
1% Silwet	1X dsRNA or 10X ssDNA with 2% AMS (via hand-drop)	2X WM (48-hr)

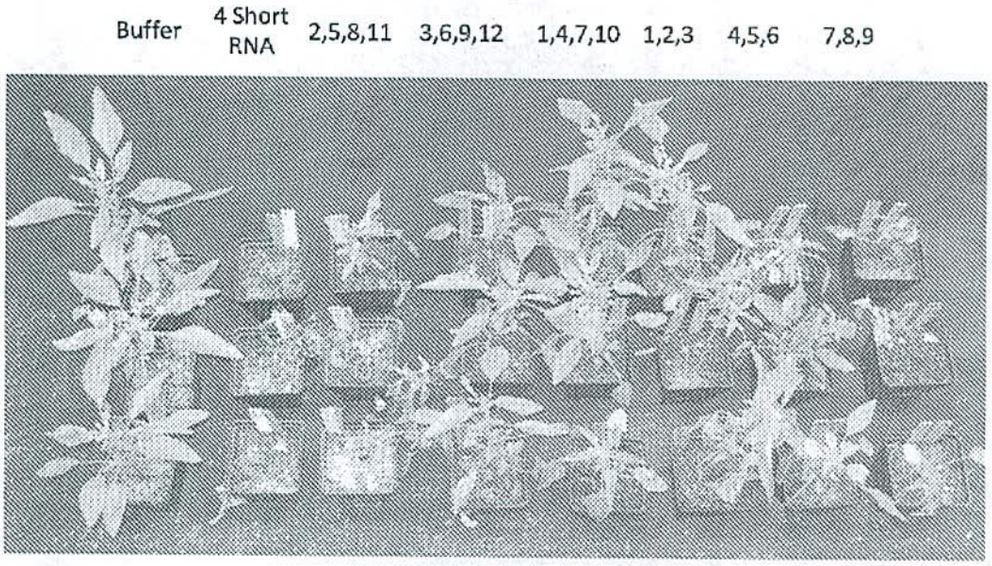


Palmer with 16-copies EPSPS)

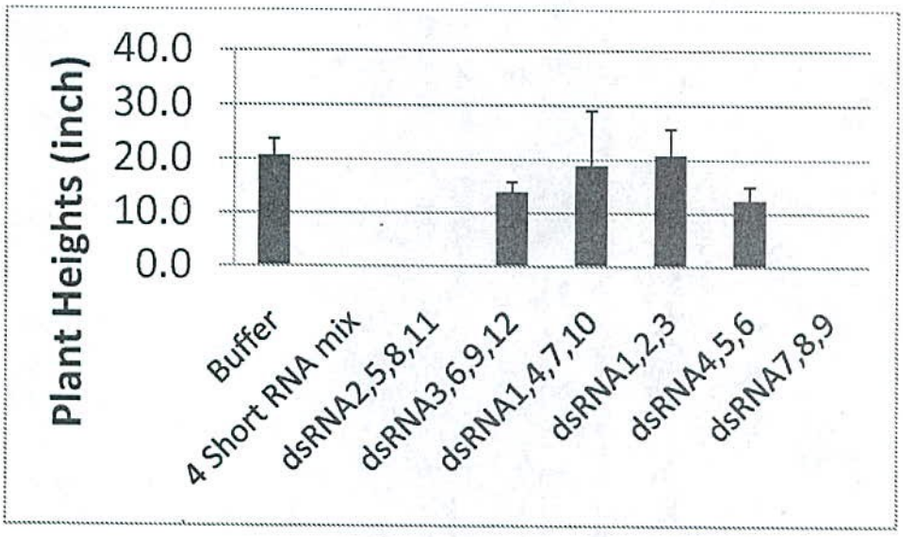
Figure 25



A



B



C

Figure 26

Step 1	Step 2 and Step 3 (2-hr or 24-hr later)
2X WeatherMax	1% Silwet spray fb 1X dsRNA

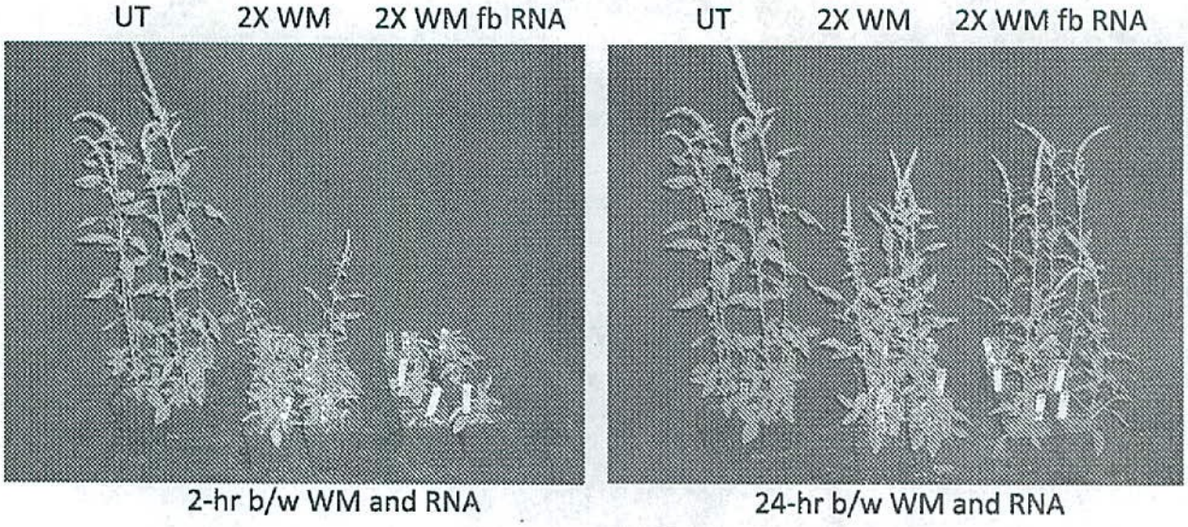


Figure 27

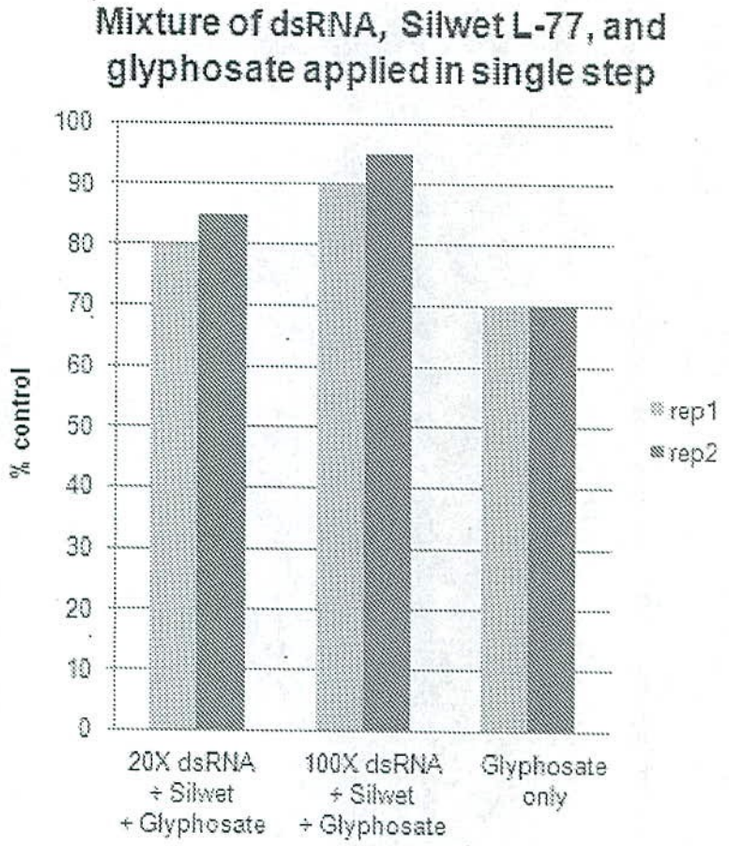

Mixture of dsRNA, Silwet L-77, and glyphosate applied in single step
% control
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
20X dsRNA + Silwet + Glyphosate
100X dsRNA + Silwet + Glyphosate
Glyphosate only
rep1
rep2

Figure 28

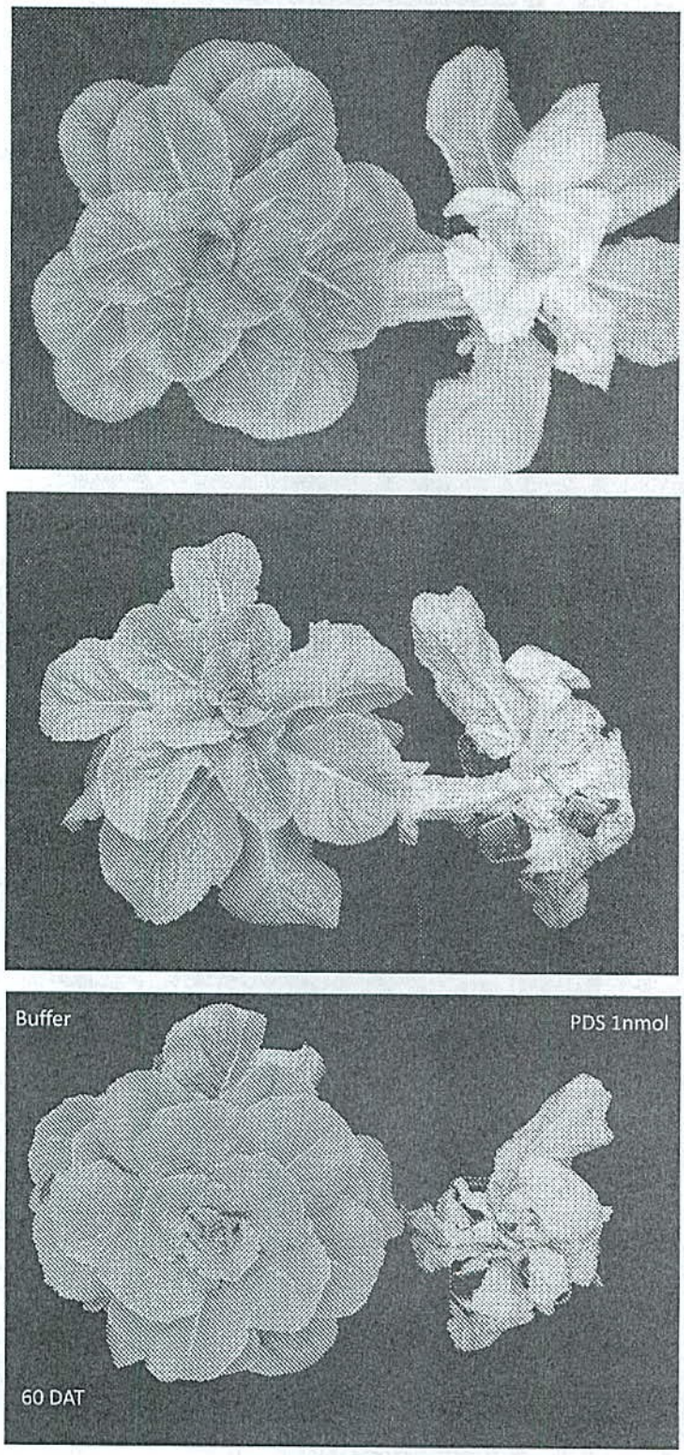
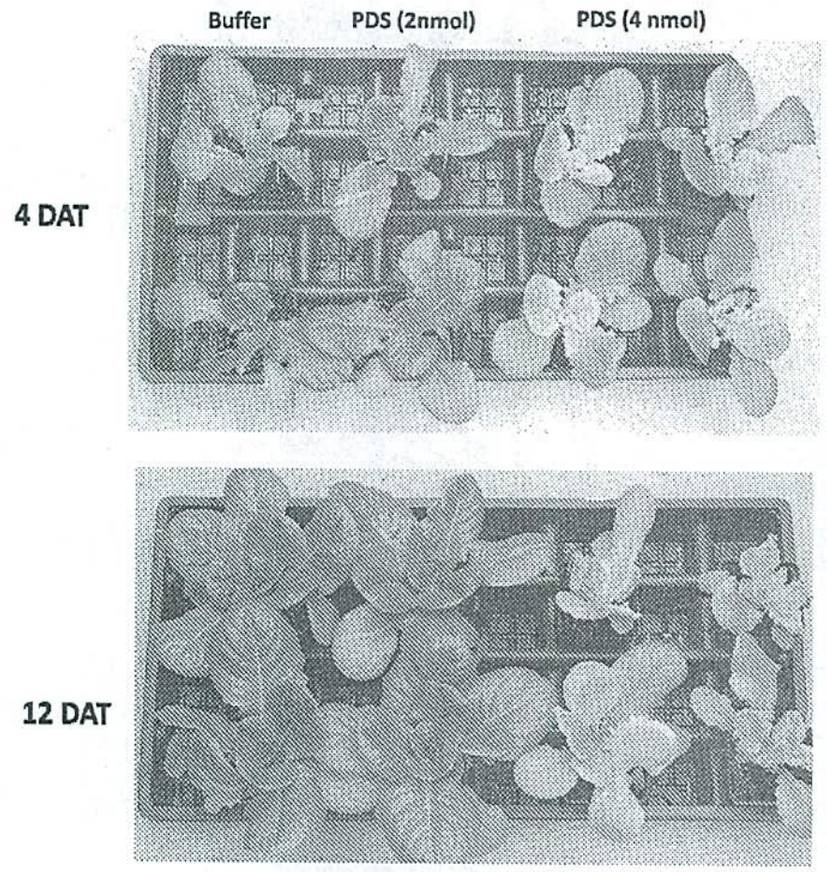
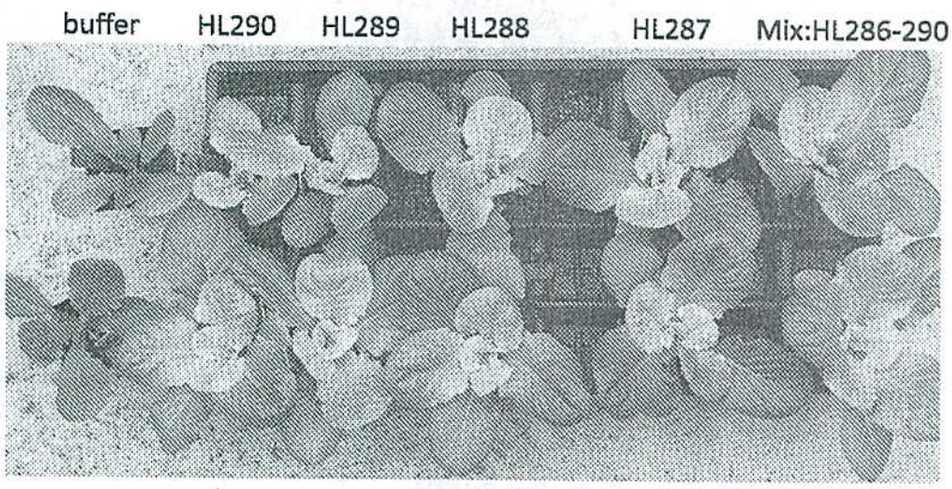


Figure 29


Buffer
PDS (2nmol)
PDS (4 nmol)
4 DAT
12 DAT

A


buffer
HL290
HL289
HL288
HL287
Mix:HL286-290

B

Figure 30

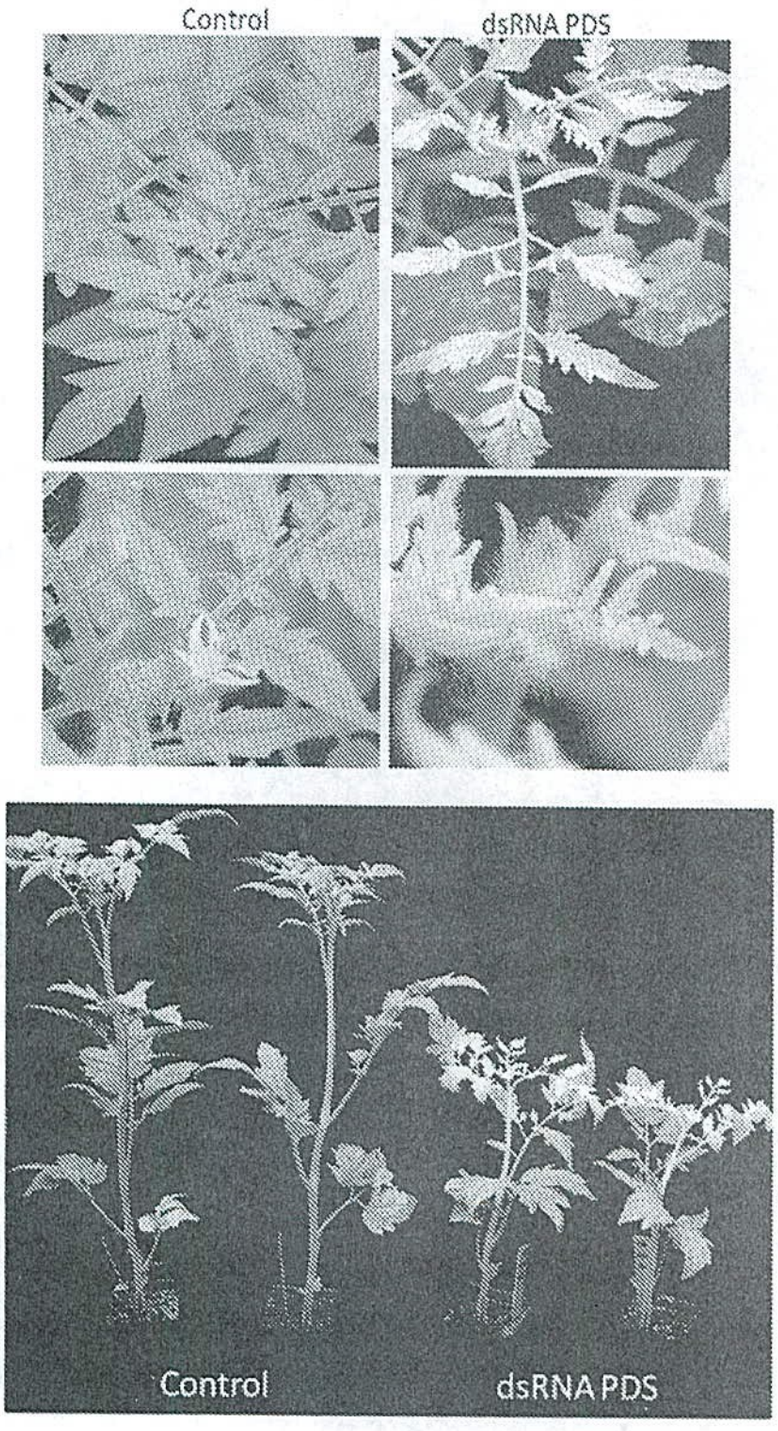


Figure 31

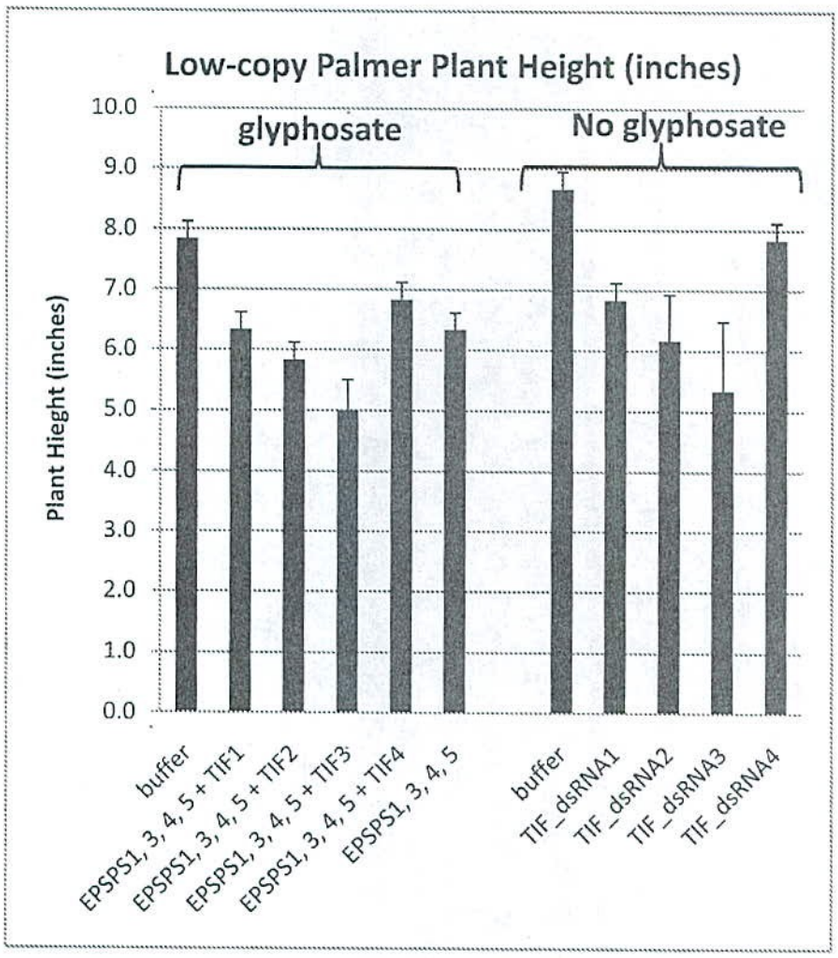

Low-copy Palmer Plant Height (inches)
glyphosate
No glyphosate
Plant Hieght (inches)
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
buffer
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF1
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF2
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF3
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF4
EPSPS1, 3, 4, 5
buffer
TIF_dsRNA1
TIF_dsRNA2
TIF_dsRNA3
TIF_dsRNA4

Figure 32

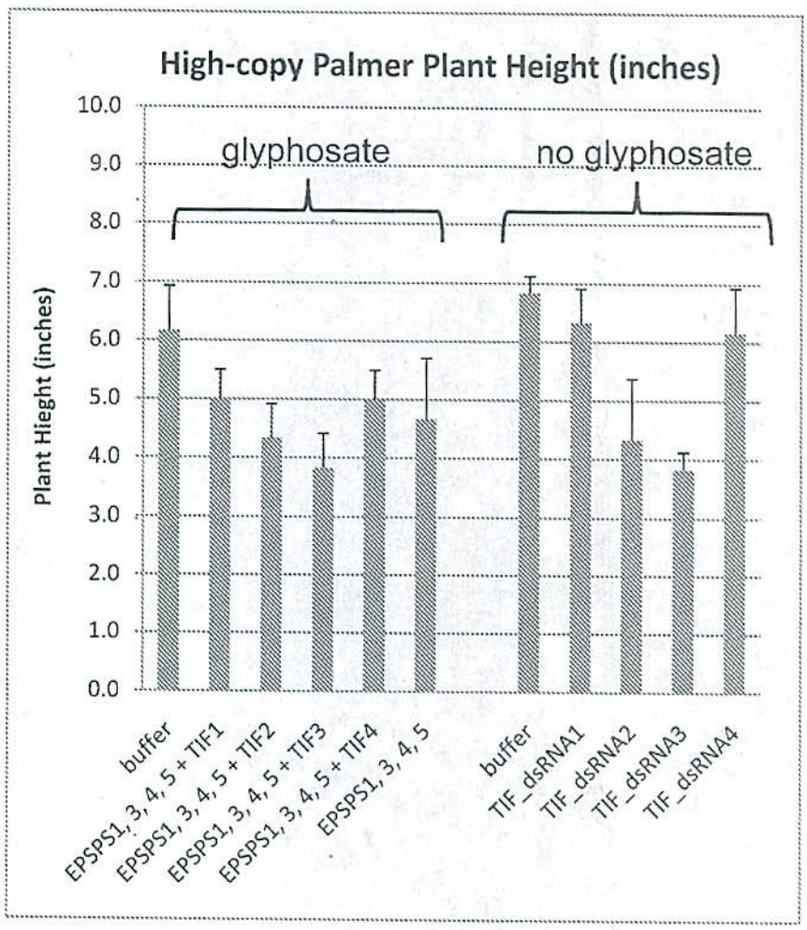

High-copy Palmer Plant Height (inches)
Plant Hieght (inches)
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
glyphosate
no glyphosate
buffer
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF1
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF2
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF3
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF4
EPSPS1, 3, 4, 5
buffer
TIF_dsRNA1
TIF_dsRNA2
TIF_dsRNA3
TIF_dsRNA4

Figure 33

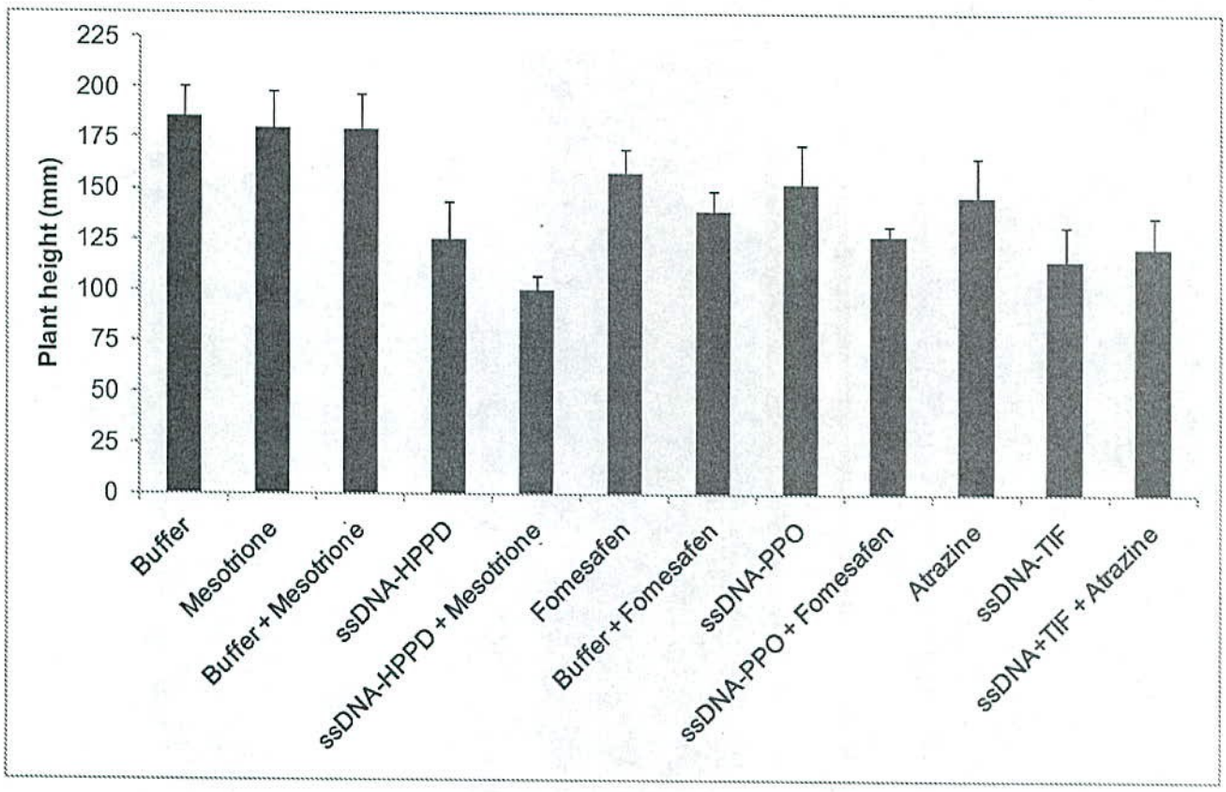
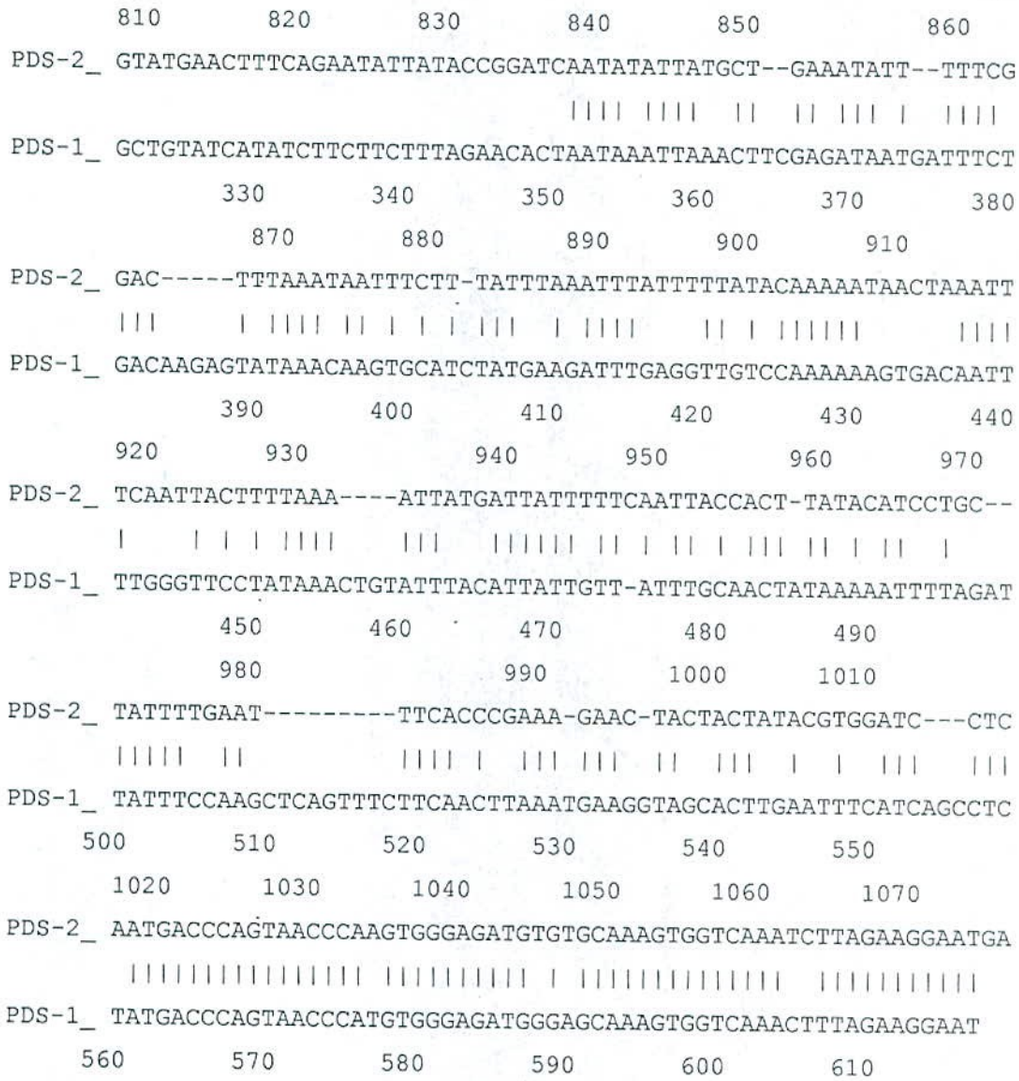

Plant height (mm)
225
200
175
150
125
100
75
50
25
0
Buffer
Mesotrione
Buffer + Mesotrione
ssDNA-HPPD
ssDNA-HPPD + Mesotrione
Fomesafen
Buffer + Fomesafen
ssDNA-PPO
ssDNA-PPO + Fomesafen
Atrazine
ssDNA-TIF
ssDNA+TIF + Atrazine

Figure 34



PDS-1 promoter sequence (SEQ ID NO:319)

and

PDS-2 promoter sequence (SEQ ID NO:320)

Figure 35

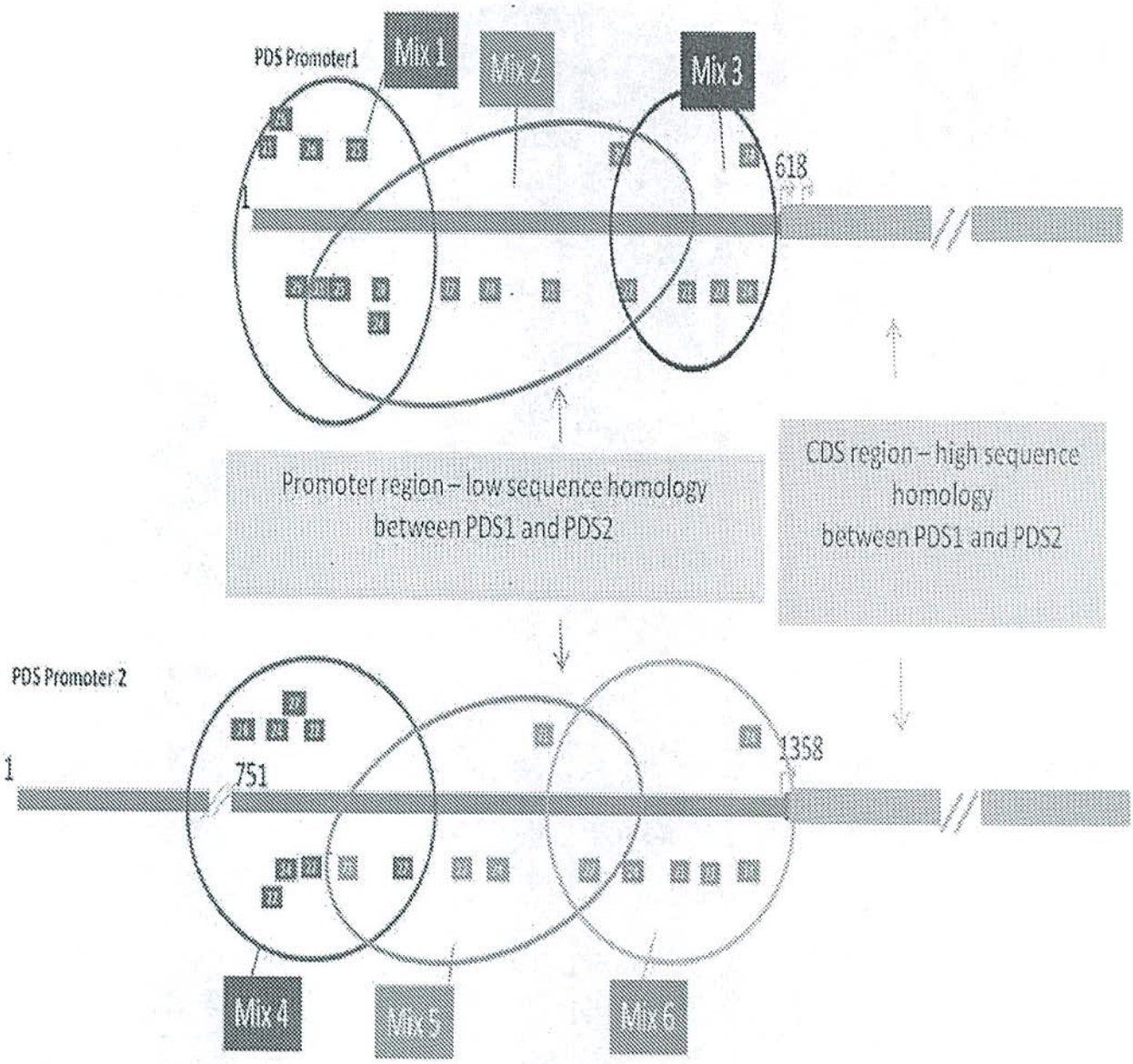
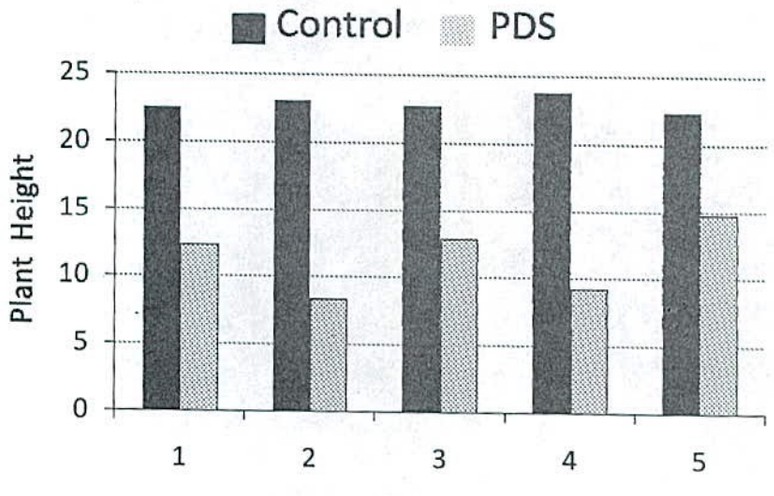
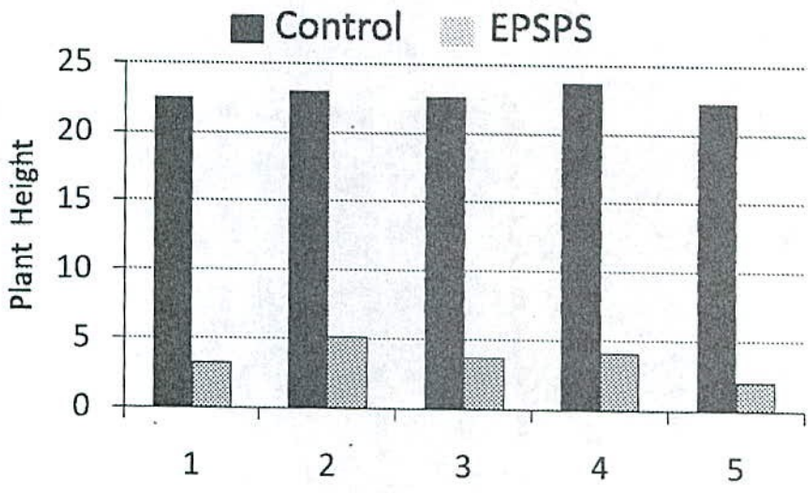

PDS Promoter1
Mix 1
Mix 2
Mix 3
618
1
Promoter region – low sequence homology between PDS1 and PDS2
CDS region – high sequence homology between PDS1 and PDS2
PDS Promoter 2
1
751
1358
Mix 4
Mix 5
Mix 6

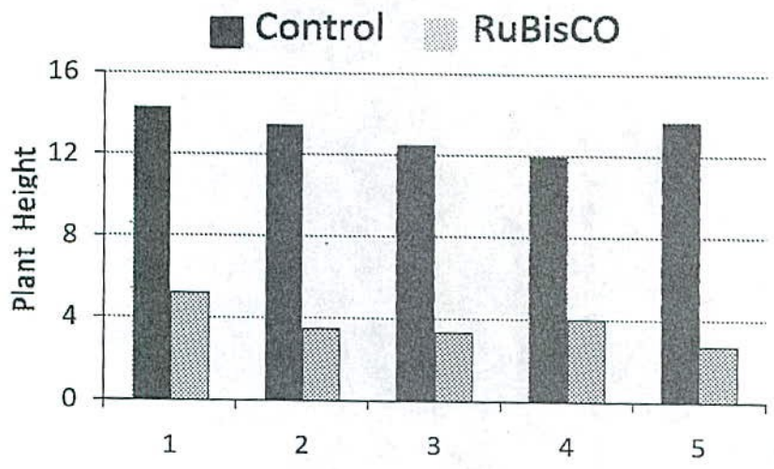
Figure 36



A



B



C

Figure 37

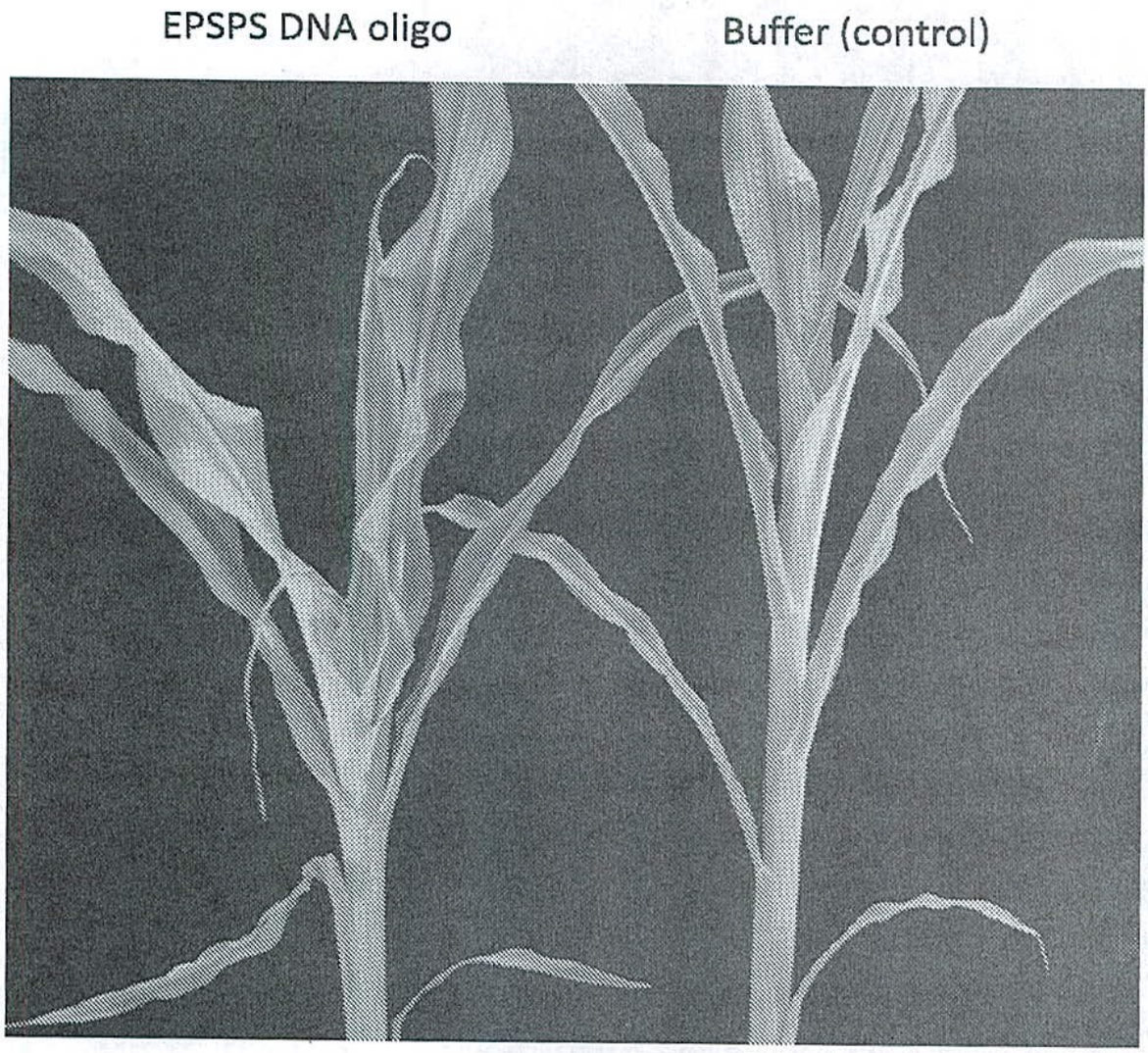


Figure 38

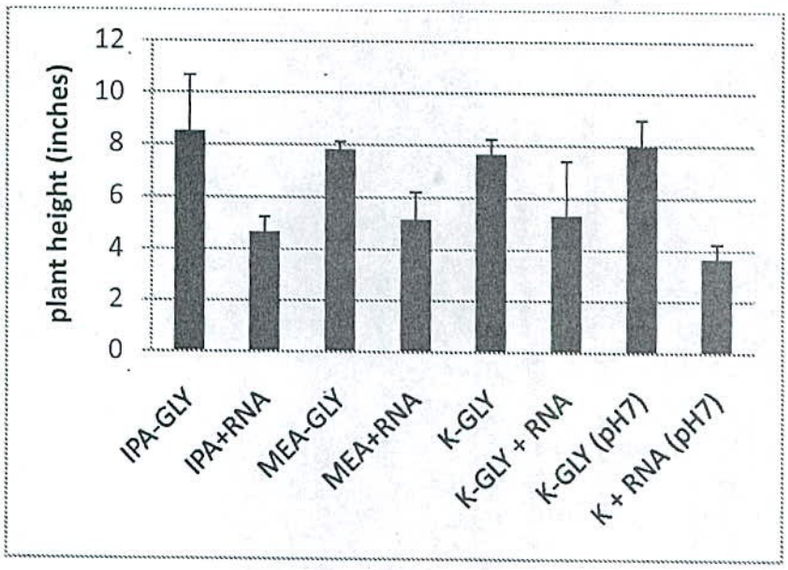
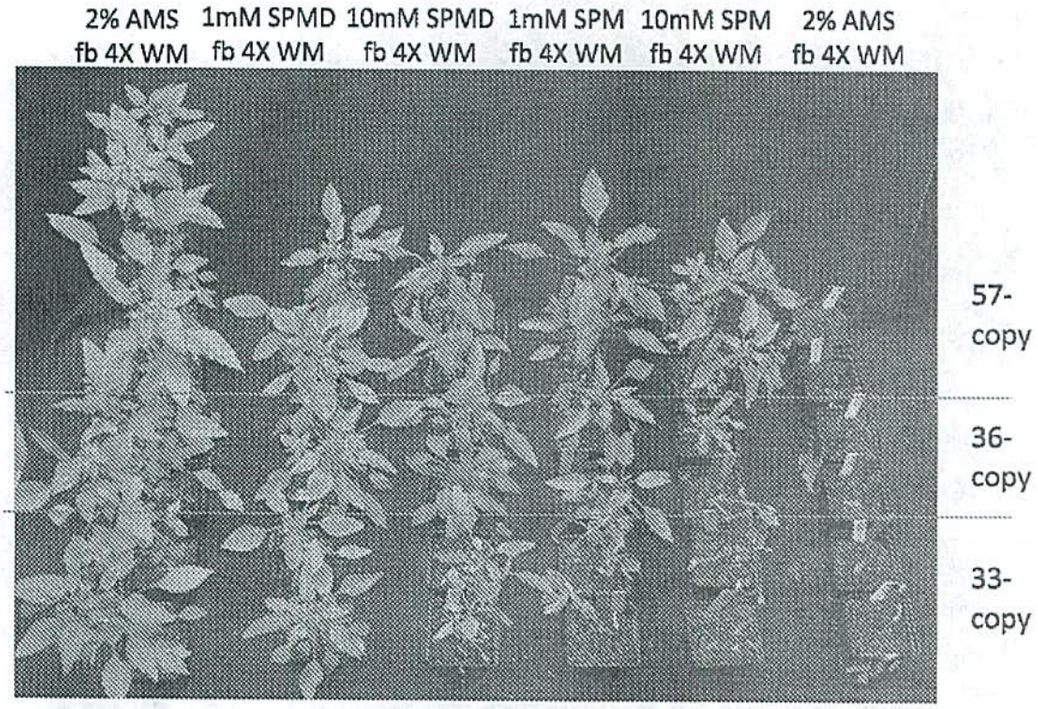

plant height (inches)
12
10
8
6
4
2
0
IPA-GLY
IPA+RNA
MEA-GLY
MEA+RNA
K-GLY
K-GLY + RNA
K-GLY (pH7)
K + RNA (pH7)

Figure 39



Comparison of spermine (SPM), spermidine (SPMD), ammonium sulfate (AMS)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 11/27528

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - C12P 19/34; C07H 21/04; C12N 15/113 (2011.01)
USPC - 435/91.3, 536/24.1, 800/278
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
USPC: 435/91.3, 536/24.1, 800/278

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC: 435/91.3, 536/24.1, 23.1, 800/278 (text search)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
Electronic data bases : PGPB, USPT, EPAB, JPAB; Google Scholar
Search terms: RNAi (e.g. siRNA, miRNA, dsRNA) dsDNA antisense oligo, ssDNA antisense oligo, gene regulation, crop spray, permeating moiety, transferring agent, organosilicone surfactant, allyloxypolypropylene glycol methylester, Silwet L-77,herbicide

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X ---- Y	WO 2007/039454 A1 (REN et al.). 12 April 2007 (12.04.2007). Especially pg 8 ln 3-6, pg 61 ln 21-26, pg 63 ln 1-6, pg 67 ln 29-30, pg 79 ln 1-5, pg 87 ln 14-18, pg 90 ln 12-14, pg 95 ln 27-29, pg 96 ln 9-10. This document can be viewed by entering the doc number at the following url: http://ep.espacenet.com/numberSearch?locale=en_EP	4,13 ---------- 1-3,5-12,15,16
X ---- Y	ZHANG et al. Agrobacterium-mediated transformation of Arabidopsis thaliana using the floral dip method. Nat Protoc ePub 29 June 2006 Vol 1 No 2 Pages 641-646. Especially abstract, pg 1 right col para 1.	14 ---------- 1-3,5-12,15,16
A	LI et al. The FAST technique: a simplified Agrobacterium-based transformation method for transient gene expression analysis in seedlings of Arabidopsis and other plant species. Plant Methods 20 May 2009 Vol 5 No 6 Pages 1-15. Especially abstract.	1-16
A	EP 1416049 A1 (TENLLADO et al.) 6 May 2004 (06.05.2004). Especially abstract, para [13], [14].	1-16
A	ARTMYMOVICH. Using RNA interference to increase crop yield and decrease pest damage. MMG 445 Basic Biotech 10 December 2009 Vol 5 No 1 Pages 7-12. Entire review.	1-16

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
5 April 2011 (05.04.2011)	10 MAY 2011
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

MOLÉCULAS POLINUCLEOTÍDICAS PARA REGULACIÓN GENÉTICA EN PLANTAS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS E INCORPORACIÓN DE LISTADO DE SECUENCIAS

La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad de las solicitudes de patentes provisionales de los Estados Unidos 61/311,762, presentada el 8 de marzo de 2010, 61/349,807, presentada el 28 de mayo de 2010 y 61/381,556, presentada el 10 de septiembre de 2010, las cuales se incorporan a modo de referencia en su totalidad a la presente. El listado de secuencias que figura en el archivo denominado "38-21_56855_D.txt", el cual tiene 133 kilobytes (medidos en el sistema operativo MS-Windows) y se creó el 7 de marzo de 2011, se presenta con la presente y se incorpora a la misma a modo de referencia.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

En la presente se divulgan moléculas polinucleotídicas para regular genes en plantas y métodos para preparar y utilizar dichas moléculas.

ANTECEDENTES

La ineficacia de los herbicidas para controlar las malezas resistentes es un problema especialmente cuando dichas malezas crecen en campos de cultivos resistentes a herbicidas que pueden tener una resistencia a herbicidas más baja que la maleza. Las malezas resistentes a los herbicidas se identifican por una variedad de modos de acción. La resistencia que resulta de la selección de múltiples copias de genes que producen proteínas dirigidas al herbicida en amaranto se describe en Gaines et al. (2010) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107(3):1029-1034. La resistencia que resulta de mutaciones en genes que producen proteínas dirigidas a herbicidas en amor de hortelano, lechuga espinaca y ryegrás se describe en Baerson et al. (2002) Plant Physiol., 129(3):1265-1275; Preston et al. (2006) Pesticide Biochem. Physiol., 84(3):227-235; y Wakelin et al. (2006) Weed Res. (Oxford), 46(5):432-440. El secuestro vacuolar del glifosato es un mecanismo que se observa en la hierba de caballo resistente al glifosato; ver Ge et al. (2010) Pest Management Sci., 66:576-576. La resistencia resultante de la expresión de enzimas que metabolizan herbicidas en una forma química inactiva en garranchuelos se describe en Hidayat et al. (1997) Pesticide Biochem. Physiol., 57(2):137-146. Reddy et al. (2008) J. Agric. Food Chem., 56(6):2125-2130 describieron la acumulación de ácido aminometilfosfónico en especies vegetales tratadas con glifosato.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona moléculas polinucleotídicas y métodos para regular genes en plantas, por ejemplo, proporcionando ARN para la regulación sistémica de genes. Varios aspectos de la invención proporcionan moléculas polinucleotídicas y métodos para regular genes y transgenes endógenos en una célula vegetal y moléculas polinucleotídicas. Los polinucleótidos, composiciones y métodos divulgados en la presente son útiles para regular genes endógenos de una plaga o patógeno vegetal. En un aspecto de la invención, las moléculas polinucleotídicas se proporcionan en composiciones que pueden permear o ser absorbidas en el tejido vegetal vivo para iniciar el silenciamiento génico sistémico de genes o transgenes endógenos o de su ARN transcrito. En algunos aspectos de la invención, las moléculas polinucleotídicas en última instancia proporcionan a una planta o permiten la producción en células de una planta, de ARN que es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en una célula vegetal con ARN transcrito a partir de un gen endógeno objetivo o transgén objetivo en la célula vegetal, produciendo así la regulación del gen objetivo, por ejemplo, el silenciamiento o supresión del gen objetivo. En otros aspectos de la invención, las moléculas polinucleotídicas divulgadas en la presente también son útiles para proporcionar en última instancia a una planta o permitir la producción en células de una planta, de ARN que es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas con ARN transcrito a partir de un gen objetivo en una célula de una plaga invertebrada o de un patógeno viral de la planta, produciendo así la regulación del gen objetivo, por ejemplo, el silenciamiento o supresión del gen objetivo. En algunos aspectos, el silenciamiento o supresión del gen objetivo conduce a la sobrerregulación de otro gen que es afectado o regulado por la expresión del gen objetivo.

Se cree que las composiciones y métodos de esta invención operan a través de una o más de las diversas vías celulares naturales implicadas en la supresión génica mediada por ARN, tal como se describe generalmente en reseñas de Brodersen y Voinnet (2006), Trends Genetics, 22:268-280; Tomari y Zamore (2005) Genes & Dev., 19:517-529; Vaucheret (2006) Genes Dev., 20:759-771; Meins et al. (2005) Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 21:297-318; y Jones-Rhoades et al. (2006) Annu. Rev. Plant Biol., 57:19-53. La supresión mediada por ARN generalmente implica un intermediario de ARN bicatenario (ARNbc) que se forma intramolecularmente dentro de una única molécula de ARN o intermolecularmente entre dos moléculas de ARN. Este intermediario de ARNbc más largo se procesa mediante una ribonucleasa de la familia RNasa III (ribonucleasa Dicer o similar a Dicer) en uno o más ARN bicatenarios más cortos, incorporándose una cadena de estos al complejo de silenciamiento inducido por ARN ("RISC"). Por ejemplo, la vía

REIVINDICACIONES

1. Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en dicho gen endógeno objetivo o en el ARN mensajero transcrito a partir de dicho gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de dichas plantas u órganos vegetales en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión de dicho gen endógeno objetivo.

2. Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que comprende:
(a) revestir tópicamente la superficie de dichas plantas en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende:
(i) al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de dichas plantas crecientes, en donde dicho gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y
(ii) una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que dichos polinucleótidos permeen el interior de dichas plantas en crecimiento y
(b) aplicar dicho herbicida a dichas plantas en crecimiento;
con lo cual dicho al menos un polinucleótido permea el interior de dichas plantas en crecimiento e induce la supresión de dicho gen endógeno, potenciando así la actividad dicho herbicida en dichas plantas en crecimiento.

3. En un composición herbicida líquida adaptada para revestimiento tópico sobre la superficie exterior de plantas en crecimiento que comprende tensioactivo y al menos un agente letal para plantas, donde la mejora de dicho agente letal para plantas comprende polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen vegetal o a la secuencia del ARN transcrito de dicho gen vegetal, produciendo dochos polinucleótidos la producción sistémica de ARN pequeños que hibridan con una sonda para dicho gen vegetal.

4. En una composición herbicida líquida que comprende un herbicida no polinucleotídico, la mejora en donde dicha composición comprende además polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de una planta vegetal o a una secuencia del ARN transcrito de dicho gen vegetal.

5. Una composición que consiste esencialmente en

(a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de dicho gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dicha planta con dicho gen endógeno o dicho ARN transcrito a partir de dicho gen endógeno para producir el silenciamiento de dicho gen endógeno; y

(b) transferir un agente eficaz para facilitar la transferencia de dichos polinucleótidos de ADN bicatenario desde la superficie de dicha planta hacia las células de dicha planta.

6. Una composición que consiste esencialmente en

(a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de dicho gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dicha planta con dicho gen endógeno o dicho ARN transcrito a partir de dicho gen endógeno para producir el silenciamiento de dicho gen endógeno; y

(b) transferir un agente eficaz para facilitar la transferencia de dichos polinucleótidos de ADN monocatenario desde la superficie de dicha planta hacia las células de dicha planta.

7. Una composición que consiste esencialmente en

(a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de dicho gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dicha planta con dicho gen endógeno o dicho ARN transcrito a partir de dicho gen endógeno para producir el silenciamiento de dicho gen endógeno; y

(b) transferir un agente eficaz para facilitar la transferencia de dichos polinucleótidos de ARN bicatenario desde la superficie de dicha planta hacia las células de dicha planta.

8. Una composición que consiste esencialmente en

(a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de dicho gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dicha planta con dicho gen endógeno o dicho ARN transcrito a partir de dicho gen endógeno para producir el silenciamiento de dicho gen endógeno; y

(b) transferir un agente eficaz para facilitar la transferencia de dichos polinucleótidos de ARN monocatenario desde la superficie de dicha planta hacia las células de dicha planta.

9. Una composición que consiste esencialmente en

(a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de dicho gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dicha planta con dicho gen endógeno o dicho ARN transcrito a partir de dicho gen endógeno para producir el silenciamiento de dicho gen endógeno; y

(b) transferir un agente eficaz para facilitar la transferencia de dichos polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario desde la superficie de dicha planta hacia las células de dicha planta.

10. Un método para controlar selectivamente plantas espontáneas resistentes a herbicidas objetivo en un campo de cultivos resistentes a herbicidas que comprende aplicar sobre las hojas de las plantas espontáneas una composición que comprende oligómeros polinucleotídicos que proporcionan en células de las plantas espontáneas ARN monocatenario sistémico que es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dichas plantas espontáneas con ARN mensajero que se transcribe a partir de un gen endógeno que (i) es un gen esencial para mantener el crecimiento o la vida de la planta espontánea, (ii) codifica una proteína que proporciona

resistencia a herbicidas a dicha planta espontánea o (iii) se transcribe en un agente regulador de ARN.

11. Un método para investigar la genética inversa modulando un gen endógeno en una planta, comprendiendo dicho método aplicar tópicamente sobre tejido de una planta viva una composición de acuerdo con la reivindicación 1.

12. Una composición herbicida que comprende una solución acuosa de (a) un agente para acondicionar una planta para la permeación de oligómeros polinucleotídicos y (b) oligómeros polinucleotídicos que comprenden al menos una cadena polinucleotídica que comprende al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos de un gen endógeno de dicha planta en dirección antisentido o sentido, en donde el gen endógeno codifica una proteína que proporciona a dicha planta resistencia a un herbicida químico o es un gen esencial.

13. Una planta que comprende ADN o ARN exógeno para suprimir un gen endógeno, donde el ADN exógeno no está integrado en un cromosoma de dicha planta y dicho ARN exógeno no se transcribe a partir de ADN integrado en un cromosoma de dicha planta y en donde el gen endógeno se suprime mediante aplicación tópica de un polinucleótido en dicha planta después que la planta ha emergido de una semilla.

14. Un método para administrar un polinucleótido en el interior de una célula vegetal mediante aplicación tópica del polinucleótido en el exterior de la célula vegetal, compredíendo dicho método combinar dicho polinucleótido con un tensioactivo de organosilicona.

15. Un método de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 10, 11 o 14 en donde dicha expresión de dicho gen endógeno objetivo se regula en células vegetales distintas a las revestidas tópicamente;
en donde dicho gen endófeno objetivo se regula sistémicamente en al menos un órgano vegetal;
en donde dicho gen endógeno objetivo codifica una proteína seleccionada del grupo que consiste en 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX

oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-transferasa (GST), una proteína D1 de fotosistema II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina, una RUBISCO, un factor de iniciación de traducción, una fitoeno desaturasa y una adenosina tripolifosfatasa (ddATP) de ADN bicatenario;

en donde los polinucleótidos se dirigen a diferentes segmentos de un gen endógeno o a diferentes genes endógenos;

en donde la permeación de dichos polinucleótidos desde la superficie de una planta hacia las células utiliza un agente de transferencia que comprende una organosilicona;

en donde la permeación de dichos polinucleótidos desde la superficie de una planta hacia las células utiliza un agente de transferencia que comprende una sal de amonio;

en donde dichas plantas se cultivan en un campo abierto;

en donde dichas plantas se cultivan en un invernadero;

en donde dichas plantas también se pulverizan con un herbicida no polinucleotídico;

o una combinación de uno o más de estos.

16. Una composición de cualquiera de las reivindicaciones 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 12

en donde dicho agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal;

en donde dicho tensioactivo es un tensioactivo de organosilicona;

en donde dicho tensioactivo de organosilicona es un copolímero de poliester y silicona;

en dicho copolímero de poliester y silicona es un copolímero de heptametil trisiloxano modificado con óxido de polialquileno y aliloxipolipropilenglicol metiléter (disponible como tensioactivo Silwet® L-77);

comprendiendo además una molécula herbicida no polinucleotídica;

en donde dicho gen vegetal codifica una proteína que proporciona tolerancia a herbicidas y es una 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-

transferasa (GST), una proteína D1 de fotosistema II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina, una RUBISCO, un factor de iniciación de traducción, una fitoeno desaturasa y una adenosina tripolifosfatasa (ddATP) de ADN bicatenario;

o una combinación de estas.

RESUMEN

La presente invención proporciona moléculas polinucleótídicas y métodos para regular genes en plantas, por ejemplo, proporcionando ARN para la regulación sistémica de genes. Varios aspectos de la invención proporcionan moléculas polinucleotídicas y métodos para regular genes y transgenes endógenos en una célula vegetal y moléculas polinucleotídicas.

1/42

Figura 1

ATGGCTCAAGCTACTACCATCAACAATGGTGTCCATACTGGTCAATTGCACCATACTTTACCCAAAA
CCCAGTTACCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATTTTGGATCAAACTTGAGAATTTCTCCAAAGTTCAT
GTCTTTAACCAATAAAAGAGTTGGTGGGCAATCATCAATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTTGCT
GCTGCAGCTGAGAAACCTTCATCTGTCCCAGAAATTGTGTTACAACCCATCAAAGAGATCTCTGGTA
CTGTTCAATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTTCTTTTAGCTGCTTTGTCTGAGGG
CACAACAGTGGTCGACAACTTGCTGTATAGTGATGATATTCTTTATATGTTGGACGCTCTCAGAACT
CTTGGTTTAAAAGTGGAGGATGATAGTACAGCCAAAAGGGCAGTCGTAGAGGGTTGTGGTGGTCTGT
TTCCTGTTGGTAAAGATGGAAAGGAAGAGATTCAACTTTTCCTTGGTAATGCAGGAACAGCGATGCG
CCCATTGACAGCTGCGGTTGCCGTTGCTGGAGGAAATTCAAGTTATGTGCTTGATGGAGTACCAAGA
ATGAGGGAGCGCCCCATTGGGGATCTGGTAGCAGGTCTAAAGCAACTTGGTTCAGATGTAGATTGTT
TTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGTTCGGGTCAATGCTAAAGGAGGCCTTCCAGGGGGCAAGGTCAA
GCTCTCTGGATCGGTTAGTAGCCAATATTTAACTGCACTTCTCATGGCTACTCCTTTGGGTCTTGGA
GACGTGGAGATTGAGATAGTTGATAAATTGATTTCTGTACCGTATGTTGAAATGACAATAAAGTTGA
TGGAACGCTTTGGAGTATCCGTAGAACATAGTGATAGTTGGGACAGGTTCTACATTCGAGGTGGTCA
GAAATACAAATCTCCTGGAAAGGCATATGTTGAGGGTGATGCTTCAAGTGCTAGCTACTTCCTAGCC
GGAGCCGCCGTCACTGGTGGGACTGTCACTGTCAAGGGTTGTGGAACAAGCAGTTTACAGGGTGATG
TAAAATTTGCCGAAGTTCTTGAGAAGATGGGTTGCAAGGTCACCTGGACAGAGAATAGTGTAACTGT
TACTGGACCACCCAGGGATTCATCTGGAAAGAAACATCTGCGTGCTATCGACGTCAACATGAACAAA
ATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGCCTTGTATGCAGATGGGCCCACCGCCATCAGAG
ATGTGGCTAGCTGGAGAGTGAAGGAAACCGAACGGATGATTGCCATTTGCACAGAACTGAGAAAGCT
TGGGGCAACAGTTGAGGAAGGATCTGATTACTGTGTGATCACTCCGCCTGAAAAGCTAAACCCCACC
GCCATTGAAACTTATGACGATCACCGAATGGCCATGGCATTCTCTCTTGCTGCCTGTGCAGATGTTC
CCGTCACTATCCTTGATCCGGGATGCACCCGTAAAACCTTCCCGGACTACTTTGATGTTTTAGAAAA
GTTCGCCAAGCATTGA

SEQ ID NO:1

2/42

Figura 2

GGCCCATAGGCCTTTTTCTAAAATAGGCCCATTTAAGCTATTAACAATCTTCAAAAGTACCACATCG
CTTAGGTAAAGAAAGCAGCTGAGTTTATATATGGTTAGAGACGAAGTAGTGATTGCGACGAGCGACG
TCTCGCCCTCATCGCAATCCACGCCATTGAGCTTGAGGCCATTGGCGACGGCCGAGAGGCGGTCGCT
TAAGATTAGCATGTCCTTGACGCGGAGTTCTTCCAGACCGTTCATCACGGTCGCCCCTTCCGCGAAG
GCGGCGGCGACAGCGAGAATCGGATATTCGTCGATCATCGAAGGCGCGCGGTCTTCCGGCACCGTGA
CGCATAAAcacggtgccggaagaccgcgcgccttcgatgatcgacgaatatccgattctcgctgtcg
ccgccgccttcgcggaaggggcgaccgtgatgaacggtctggaagaactccgcgtcaaggaaagcga
ccgcctctcggccgtcgccaatggcctcaagctcaatggcgtggattgcgatgagggcgagacgtcg
ctcgtcgTTTTTTTTGGCAAAAA

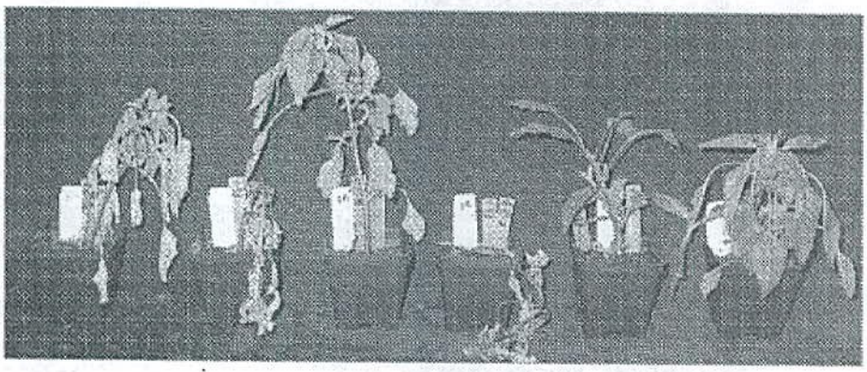
SEQ ID NO:3

3/42

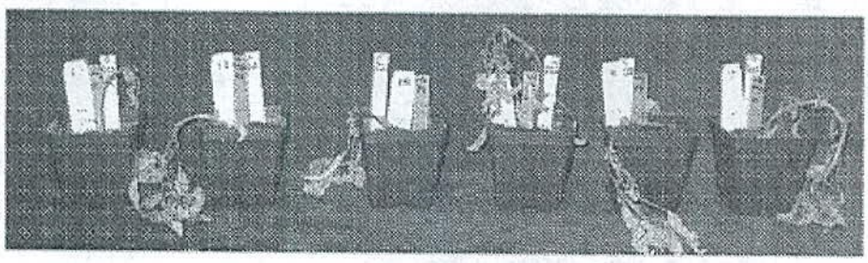
Figura 3



3A



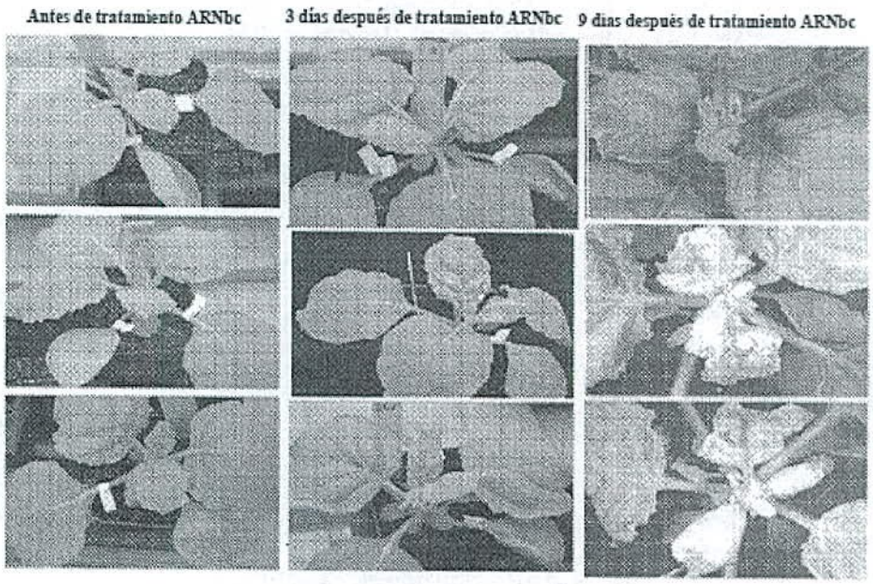
3B



3C

4/42

Figura 4


Antes de tratamiento ARNbc
3 días después de tratamiento ARNbc
9 días después de tratamiento ARNbc
Testigo
200nt ARNbc
700nt ARNbc

5/42

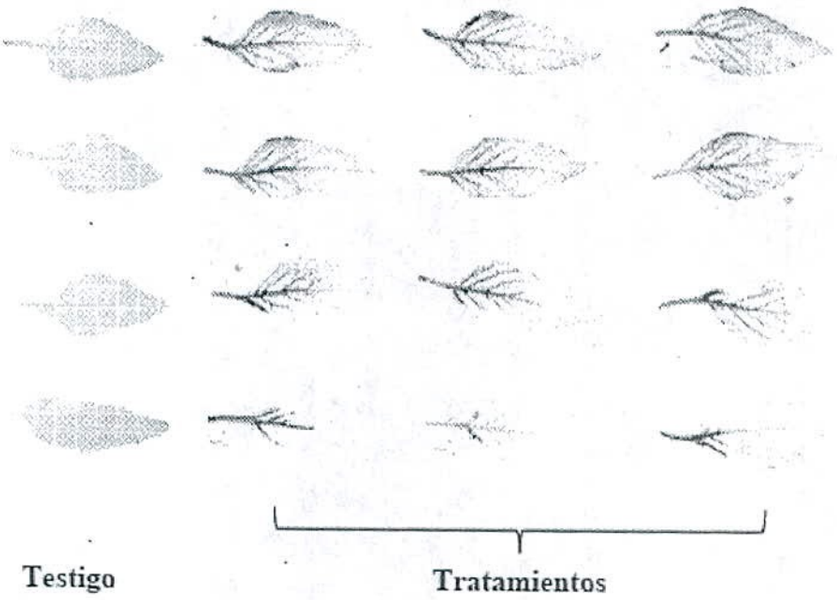
Figura 5

ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAATTCAGCTTATCTTTGGA
GCTCGAGGTCTTCGTTGGGAACTGAAAGTCAAGATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTGG
TAGTAGCGACTCCATGGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGACA
AAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCAGAGCTAGACAATACAGTTA
ACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATCGTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGA
GATTGTTATTGCTGGTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGTCAC
AAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGCTGCATGGAAAGATGATGATG
GAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAACCTGTTTGG
AGAACTAGGGATTGATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATGCCTAACAAG
CCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGCCATTAAATGGAATTTTGGCCA
TACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGGCCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGC
AATGCTTGGAGGGCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGAGAAAG
CAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATGTCAAAGGCACTTAACTTCATAA
ACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCATTTTGATTGCTTTGA**ACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGG**
TTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTGGAACATATT
GAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAAGATCGAGCTGAATGAGGATGGAA
GTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATGGCAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCC
AGTGGATATCTTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAAGTTGGAG
AAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTGACAGAAAACTGAAGAACACATCTG
ATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCGTTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGA
ATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGATAAATCGT
AGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCGAAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGG
CAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAAC
TGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTATTTAGCTGGT
GACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGCTGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCAC
AAGCTATTGTACAGGATTACGAGTTACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGT
AGTTAGCATAGTGAACTAA

SEQ ID NO:2

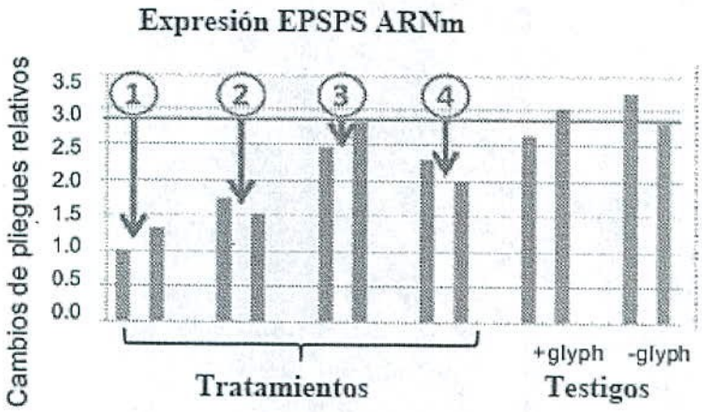
6/42

Figura 6



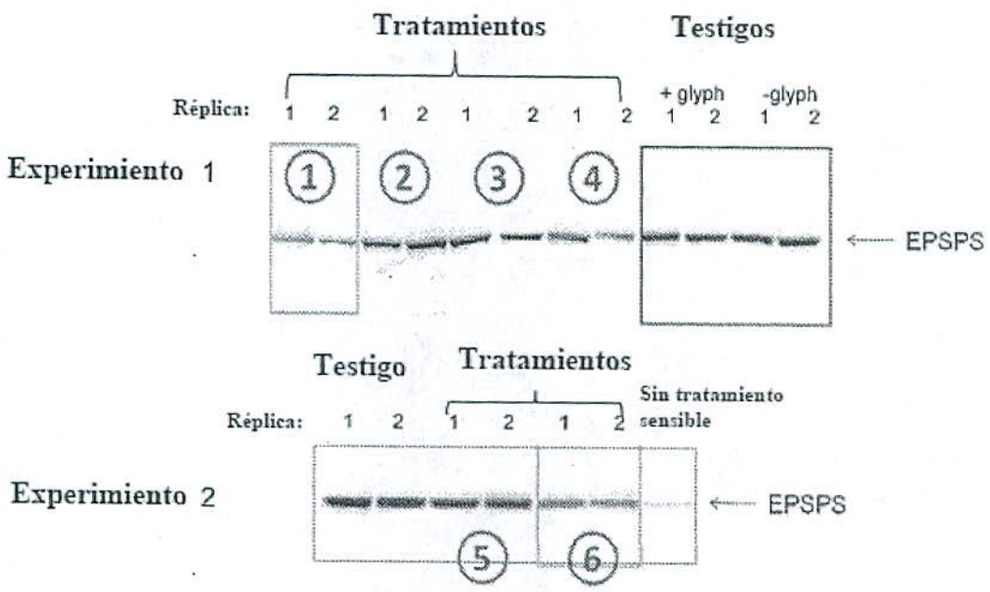
7/42

Figura 7


Expresión EPSPS ARNm
Cambios de pliegues relativos
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
1
2
3
4
+glyph
-glyph
Tratamientos
Testigos

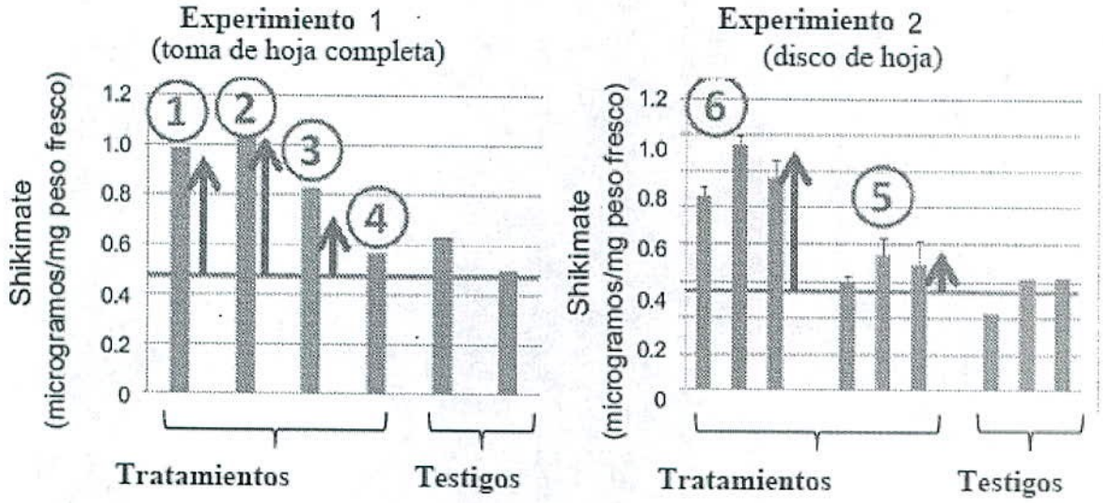
8/42

Figura 8


Tratamientos
Testigos
Réplica: 1 2 1 2 1 2 1 2
+ glyph 1 2
-glyph 1 2
Experimiento 1
1
2
3
4
EPSPS
Testigo
Tratamientos
Sin tratamiento sensible
Réplica: 1 2 1 2 1 2
Experimiento 2
EPSPS
5
6

9/42

Figura 9


Experimiento 1
(toma de hoja completa)
Shikimate
(microgramos/mg peso fresco)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
1
2
3
4
Tratamientos
Testigos
Experimiento 2
(disco de hoja)
Shikimate
(microgramos/mg peso fresco)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
6
5
Tratamientos
Testigos

10/42

Figura 10

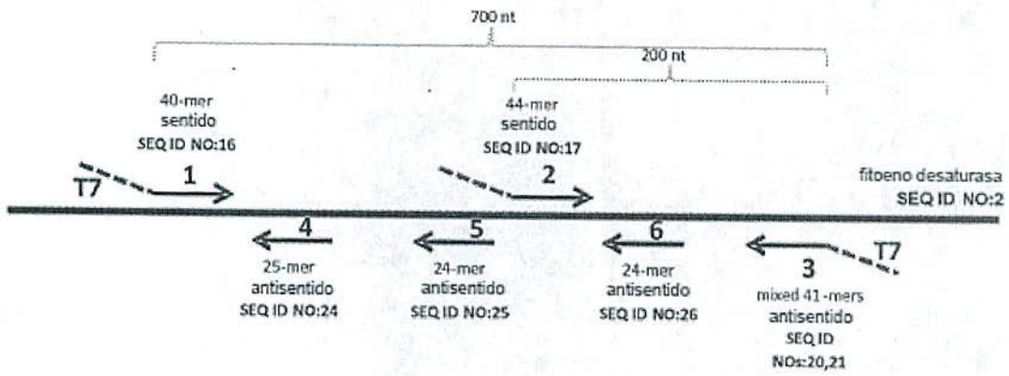
>gi|93117609|gb|DQ469932.1| Nicotiana benthamiana ARNm fitoeno desaturasa, cds completo

ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAATTCAGCTTATCTTTGGA
GCTCGAGGTCTTCGTTGGGAACTGAAAGTCAAGATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTGG
TAGTAGCGACTCCATGGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGACA
AAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCAGAGCTAGACAATACAGTTA
ACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATCGTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGA
GATTGTTATTGCTGGTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGTCAC
AAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGCTGCATGGAAAGATGATGATG
GAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAACCTGTTTGG
AGAACTAGGGATTGATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATGCCTAACAAG
CCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGCCATTAAATGGAATTTTGGCCA
TACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGGCCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGC
AATGCTTGGAGGGCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGAGAAAG
CAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATGTCAAAGGCACTTAACTTCATAA
ACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCATTTTGATTGCTTTGA**ACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGG**
TTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTGGAACATATT
GAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAAGATCGAGCTGAATGAGGATGGAA
GTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATGGCAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCC
AGTGGATATCTTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAAGTTGGAG
AAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTGACAGAAAACTGAAGAACACATCTG
ATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCGTTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGA
ATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGATAAATCGT
AGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCGAAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGG
CAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAAC
TGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTATTTAGCTGGT
GACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGCTGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCAC
AAGCTATTGTACAGGATTACGAGTTACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGT
AGTTAGCATAGTGAACTAA

SEQ ID NO:2

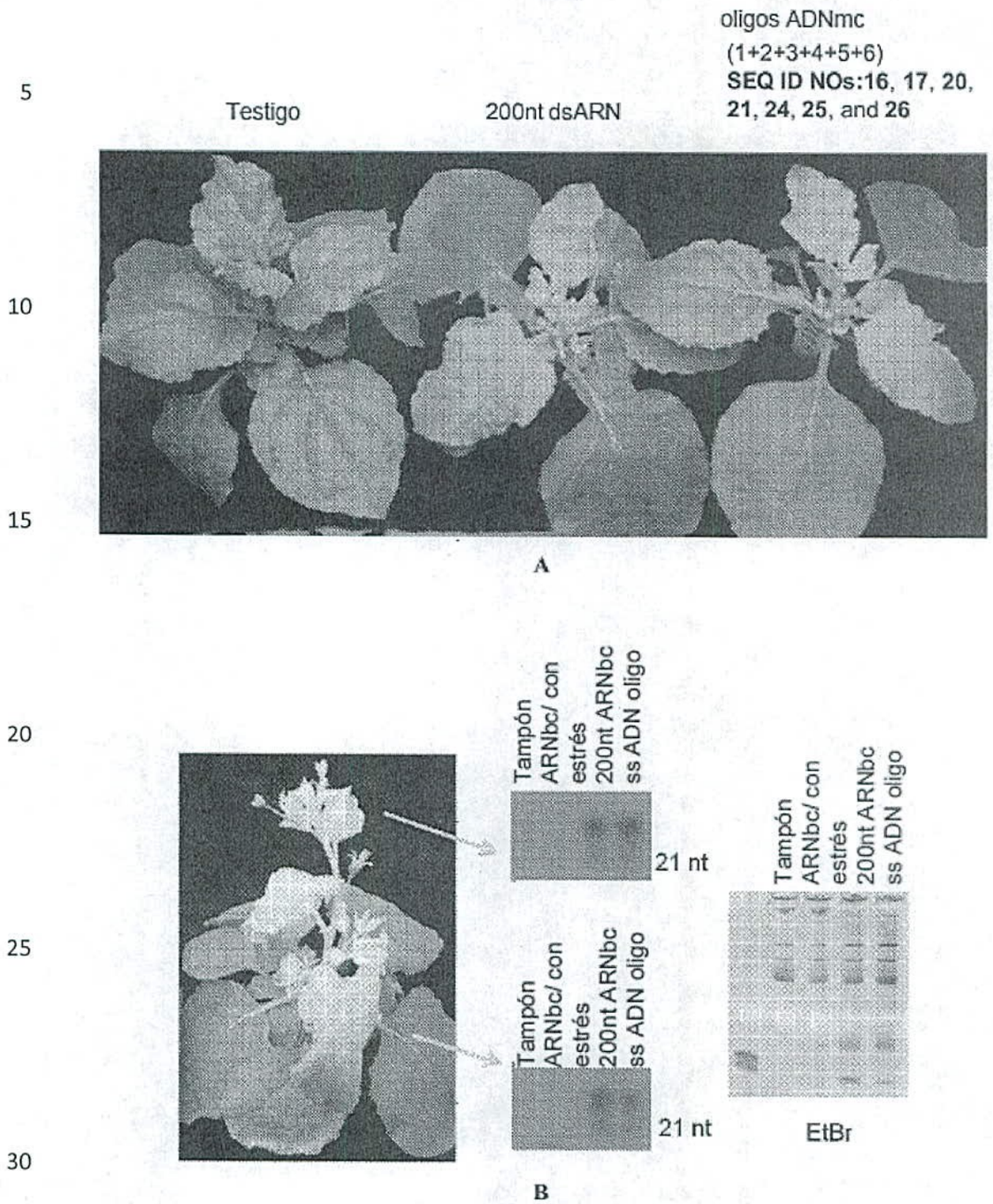
11/42

Figura 11



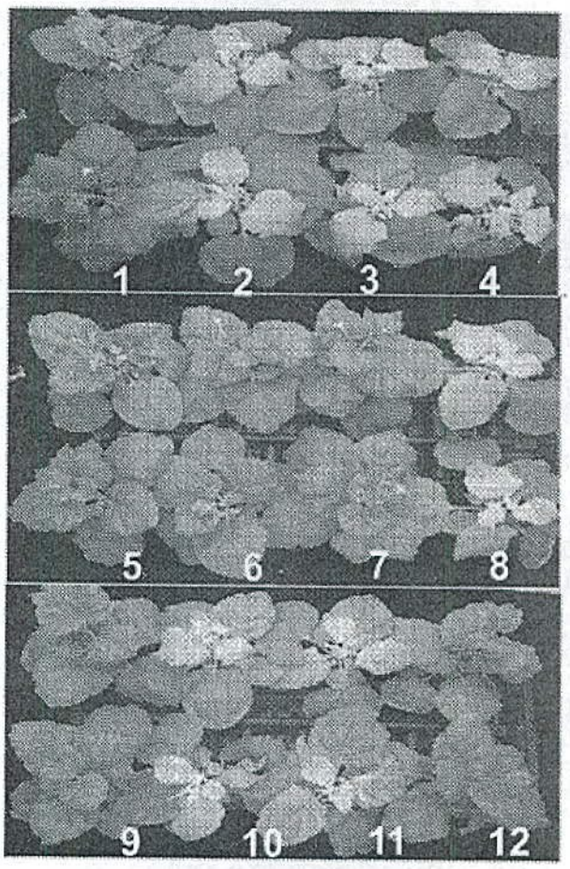
12/42

Figura 12



13/42

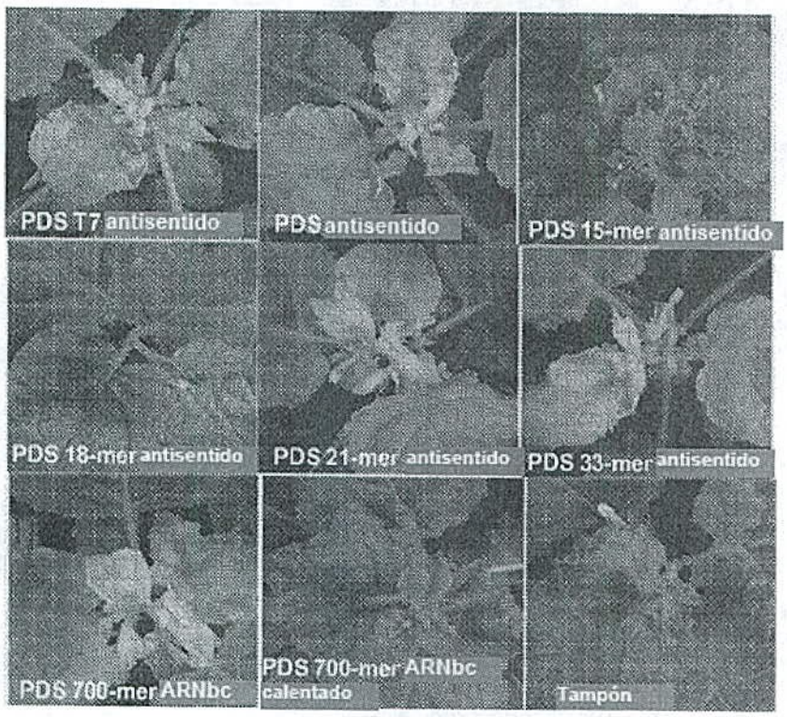
Figura 13



210

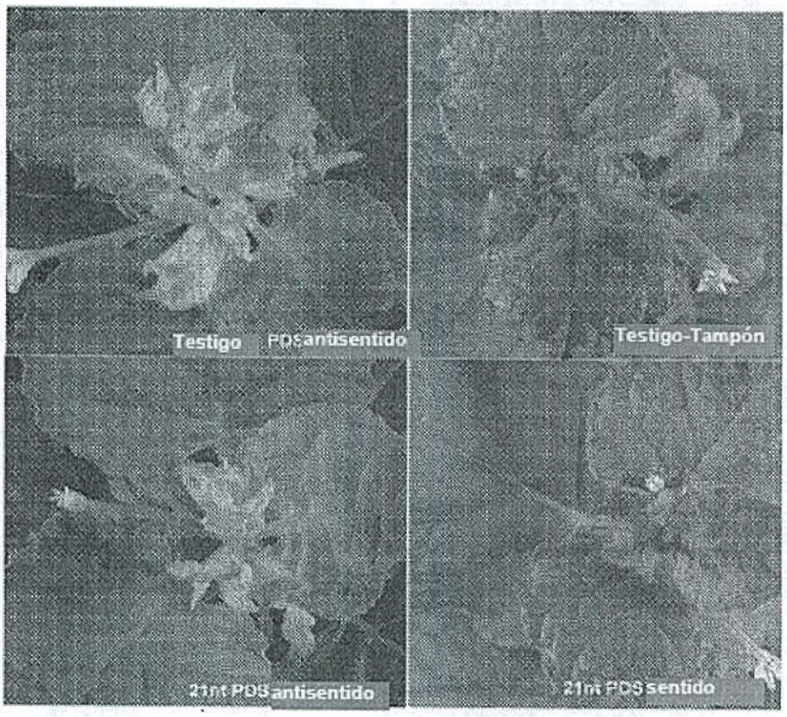
14/42

Figura 14



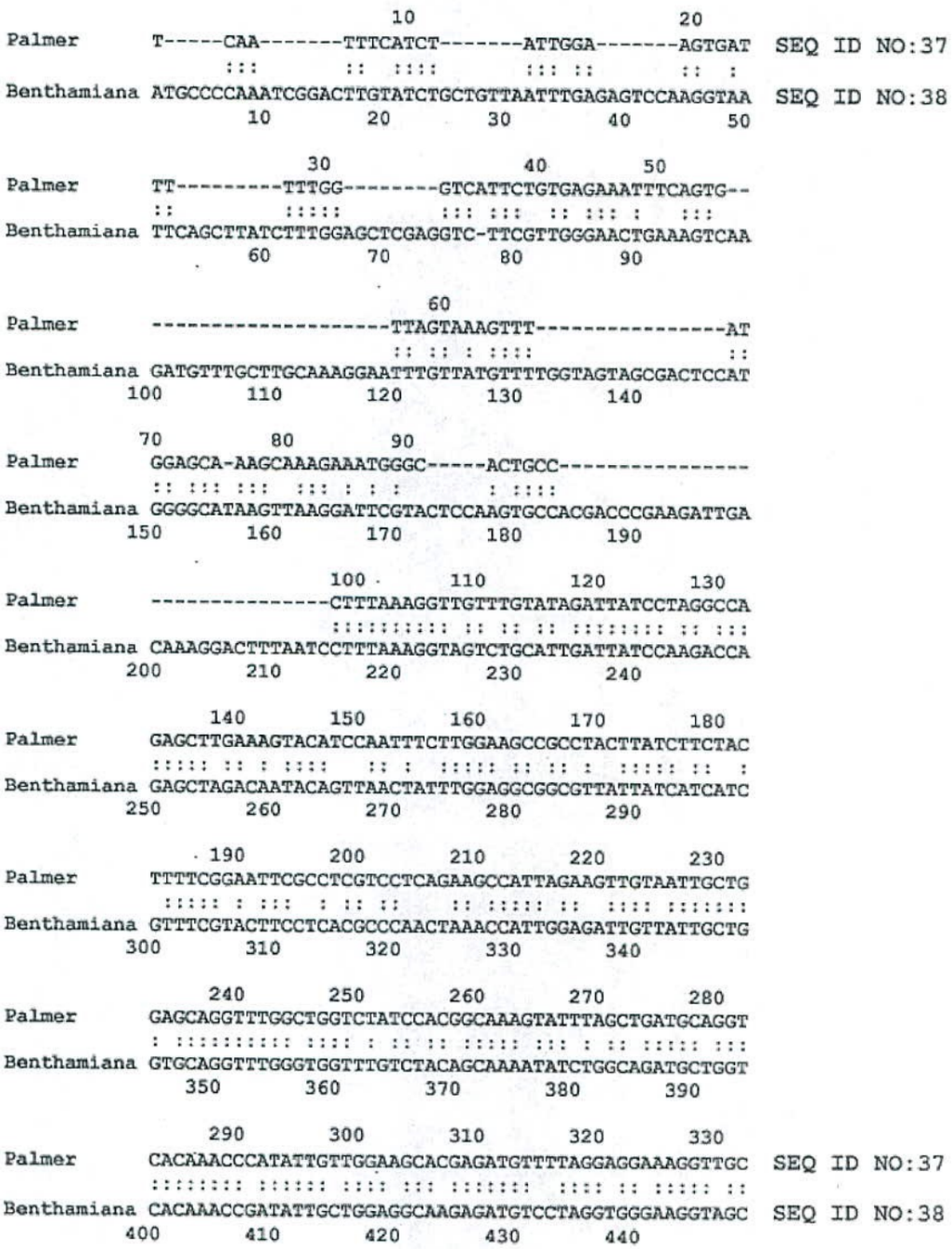
15/42

Figura 15



16/42

Figura 16



17/42

Figura 16 (continuación)

```
                340        350        360        370        380
Palmer      AGCGTGGAAGGATGAGGATGGTGACTGGTATGAGACTGGGCTACATATAT  SEQ ID NO:37
             :: ::::: ::::: ::::: :: ::::: ::::::::: : :: ::::
Benthamiana TGCATGGAAAGATGATGATGGAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATAT  SEQ ID NO:38
          450        460        470        480        490

                390        400        410        420        430
Palmer      TCTTTGGGGCATATCCAAATGTCCAAAATCTATTTGGAGAACTTGGTATA
            :::::::::: :: :::::: : :: :: :: :::::::::::: :: ::
Benthamiana TCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAACCTGTTTGGAGAACTAGGGATT
          500        510        520        530        540

                440        450        460        470        480
Palmer      AATGACCGACTGCAATGGAAGGAGCACTCTATGATTTTTGCAATGCCCAG
             :::: ::  :::: ::::::::: :: :: ::::: ::::: ::::: :
Benthamiana GATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATGCCTAA
          550        560        570        580        590

                490        500        510        520        530
Palmer      CAAGCCCGGTGAATTCAGTCGCTTTGATTTTCCCGAAATCCTGCCTGCAC
            :::::: :: :: ::::: :::::::::::::::: :::   :: ::::: :
Benthamiana CAAGCCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGC
          600        610        620        630        640

                540        550        560        570        580
Palmer      CATTAAATGGCATATGGGCAATCCTAAGAAATAATGAAATGCTAACCTGG
            :::::::::: :: : ::: :: :::: :: :: :::::::: :: :::
Benthamiana CATTAAATGGAATTTTGGCCATACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGG
          650        660        670        680        690

                590        600        610        620        630
Palmer      CCAGAAAAAATCAAGTTTGCCATTGGCTTGTTGCCTGCTATGGCAGGCGG
            :: :: ::: :::: ::::: ::::::  : ::::: :: :::   :: ::
Benthamiana CCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGCAATGCTTGGAGG
          700        710        720        730        740

                640        650        660        670        680
Palmer      ACAGTCATATGTTGAAGCACAAGATGGTTTGAGTGTCCAAGAGTGGATGA
             :: :: :::::::::::: ::::: ::::: :::::  : :: :::::::
Benthamiana GCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGA
          750        760        770        780        790

                690        700        710        720        730
Palmer      GAAAACAAGGAGTACCCGATCGTGTAACTGATGATGTGTTTATTGCCATG
            :::: ::::: :: :: ::: : :: :: ::::: ::::: :::::::::
Benthamiana GAAAGCAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATG
          800        810        820        830        840

                740        750        760        770        780
Palmer      TCAAAGGCACTGAACTTCATAAATCCCGATGAACTTTCAATGCAGTGCAT  SEQ ID NO:37
            :::::::::::: :::::::::::: :: :: :: ::::: ::::::::::::
Benthamiana TCAAAGGCACTTAACTTCATAAACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCAT  SEQ ID NO:38
          850        860        870        880        890
```

18/42

Figura 16 (continuación)

```
                    790        800        810        820        830
Palmer       CTTGATTGCTCTGAACCGATTCCTGCAGGAGAAACATGGTTCTAAGATGG  SEQ ID NO:37
             ::::::::: ::::: :::: :: :::::::::::::::::: :: ::::
Benthamiana TTTGATTGCTTTGAACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGGTTCAAAAATGG  SEQ ID NO:38
          900        910        920        930        940

                    840        850        860        870        880
Palmer       CCTTCCTAGACGGAAACCCTCCAGAGAGGCTGTGCATGCCTATTGTTAAA
             ::::  :::: :: :::::::: ::::: :: :::::::: :::::  ::
Benthamiana CCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTGGAA
          950        960        970        980        990

                    890        900        910        920        930
Palmer       CACATCGAGTCACTAGGTGGTGAAGTTAAACTTAACTCTCGTATACAAAA
             :: :: :::::: :::::: :::: : ::: ::::: :: ::: ::::
Benthamiana CATATTGAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAA
         1000       1010       1020       1030       1040

                    940        950        960        970        980
Palmer       GATTCAGTTGGACCAGAGTGGAAGCGTGAAGAGTTTTTTGCTAAATAACG
             :::  :: :: :  ::  :::::: :: ::  ::::: : :: ::::: :
Benthamiana GATCGAGCTGAATGAGGATGGAAGTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATG
         1050       1060       1070       1080       1090

                    990       1000       1010       1020       1030
Palmer       GGAGGGAAATACGAGGAGATGCCTATGTTTTTGCCACCCCAGTTGACATC
             : ::   :::   ::::::::: : ::: :::::::: ::::: :: :::
Benthamiana GCAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCCAGTGGATATC
         1100       1110       1120       1130       1140

                   1040       1050       1060       1070       1080
Palmer       TTGAAGCTGTTACTACCTGATACTTGGAAGGAAATCTCATACTTCAAAAA
             ::::::::  :  : :::::    ::::: :: ::: :::: ::: ::::
Benthamiana TTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAA
         1150       1160       1170       1180       1190

                   1090       1100       1110       1120       1130
Palmer       ACTTGAGAAATTAGTGGGCGTTCCTGTGATTAATGTTCACATATGGTTTG
               : :::::  ::::::: :::::::::::: ::::: :: ::::::::::
Benthamiana GTTGGAGAAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTG
         1200       1210       1220       1230       1240

                   1140       1150       1160       1170       1180
Palmer       ACAGAAAATTAAAGAATACATATGACCATCTACTCTTCAGCAGGAGTCCT
             :::::::: : ::::: :::: :::  :::: :::::::::::: :: ::
Benthamiana ACAGAAAACTGAAGAACACATCTGATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCG
         1250       1260       1270       1280       1290

                   1190       1200       1210       1220       1230
Palmer       CTTTTGAGTGTCTATGCTGATATGTCGGAGACATGCAAGGAATATAAGGA  SEQ ID NO:37
             :  : ::::: :: ::::: ::::: :  ::::: ::::::::: :  :
Benthamiana TTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGAATATTACAA  SEQ ID NO:38
         1300       1310       1320       1330       1340
```

Figura 16 (continuación)

```
                  1240       1250       1260       1270       1280
Palmer       TCCAAATAGATCCATGCTGGAATTGGTTTTTGCACCCGCGGAGGAATGGA  SEQ ID NO:37
              :: :::   :: ::: :::::::::: :::::::::: :: :: ::::
Benthamiana CCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGA  SEQ ID NO:38
         1350       1360       1370       1380       1390

                  1290       1300       1310       1320       1330
Palmer       TTTCACGAAGCGACACTGATATTATAGAGGCAACAATGAAAGAGCTTGCC
             :    :: :: ::: : :: ::::: :: :: :::::::: :: :: ::
Benthamiana TAAATCGTAGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCG
         1400       1410       1420       1430       1440

                  1340       1350       1360       1370       1380
Palmer       AAGCTTTTCCCGGATGAAATCGCTGCCGATGGAAGCAAGGCCAAGATCCT
             :::::::::: :::::::: : :: ::: ::::: :: :: :: : :
Benthamiana AAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGGCAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATT
         1450       1460       1470       1480       1490

                  1390       1400       1410       1420       1430
Palmer       CAAATATCATGTCGTCAAAACTCCAAGGTCGGTTTATAAGACTGTACCGG
              :: :::::::: :::::::: :::::::: :::::::: ::::: :: :
Benthamiana GAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAACTGTGCCAG
         1500       1510       1520       1530       1540

                  1440       1450       1460       1470       1480
Palmer       ATTGTGAACCTTGTCGGCCGCTGCAAAGATCACCAATAGAGGGTTTCTAT
              ::::::::: :::::::: :::::::::: :: :::::::::: :::
Benthamiana GTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTAT
         1550       1560       1570       1580       1590

               1490       1500       1510       1520       1530
Palmer       TTAGCTGGTGATTACACAAAACAAAAATATTTGGCTTCTATGGAAGGTGC
           :::::::::: ::::: ::::: :: :: :::::::: ::::::::::
Benthamiana TTAGCTGGTGACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGC
     1600       1610       1620       1630       1640

               1540       1550       1560       1570       1580
Palmer       TGTCTTATCTGGGAAGCTTTGTGCACAGGCTATCGTACAGGATTATGA--
           ::::::::: :: :::::::::::::: ::::: :::::::::: ::
Benthamiana TGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCACAAGCTATTGTACAGGATTACGAGT
     1650       1660       1670       1680       1690

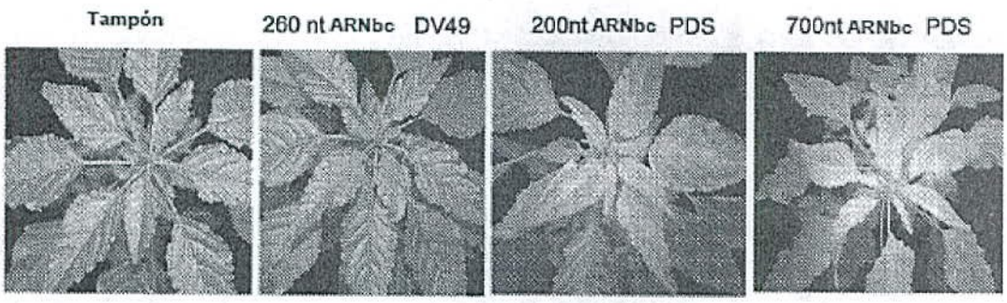
                                 1590       1600       1610
Palmer       ----TCT--GCTG--------AGTTCTCG--AGCACAAAGAGAA-TTGGC
             :::  :: :          :: : : :  :: :  ::: : : :: ::
Benthamiana TACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGTAGTTAGC
     1700       1710       1720       1730       1740


Palmer       G----------  SEQ ID NO:37

Benthamiana ATAGTGAACTAA  SEQ ID NO:38
     1750       1760
```

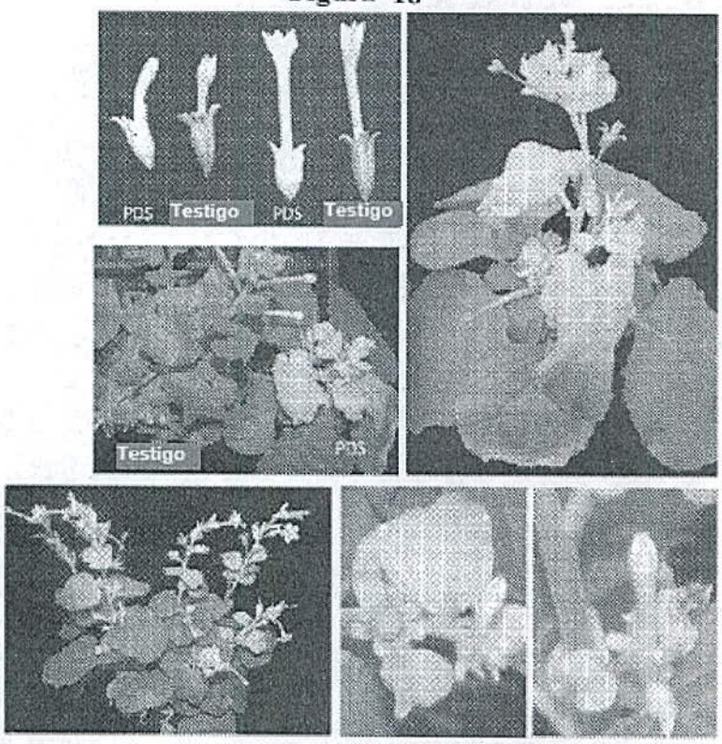
20/42

Figura 17

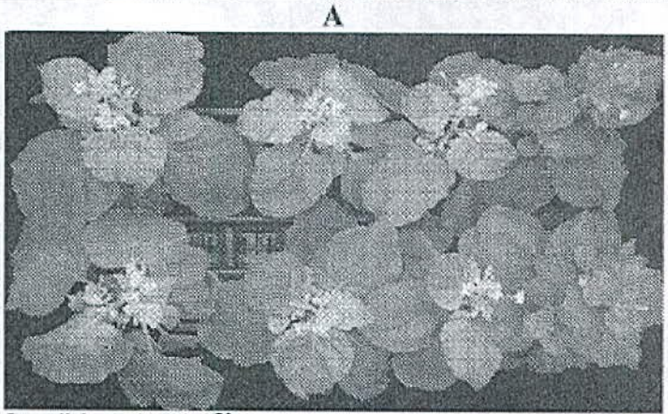


21/42

Figura 18



A



Acondicionamiento 0,1% Silwet seguido de 1 nanomol PDS ADNmc + 0,01% Silwet

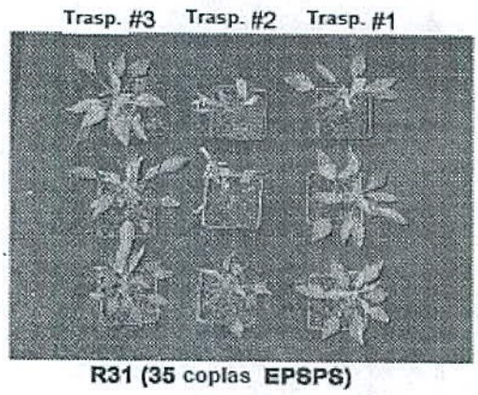
Sin acondicionamiento Silwet; Infiltrado 1 nanomol PDS ADNmc + 0,01% Silwet

Sin Tampón acondicionamiento Silwet; Infiltrado 1 nanomol PDS ADNmc (sin Silwet)

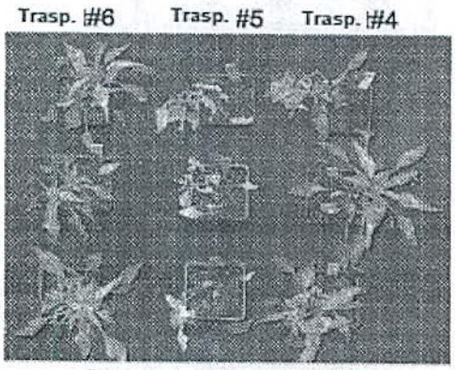
B

22/42

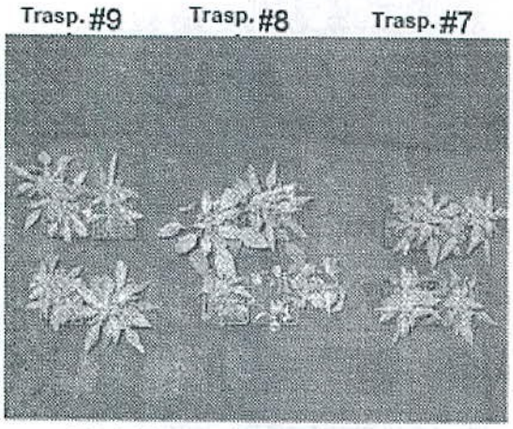
Figura 19



R31 (35 coplas EPSPS)



R34 (57 coplas EPSPS)



R28 (87 coplas EPSPS)

23/42

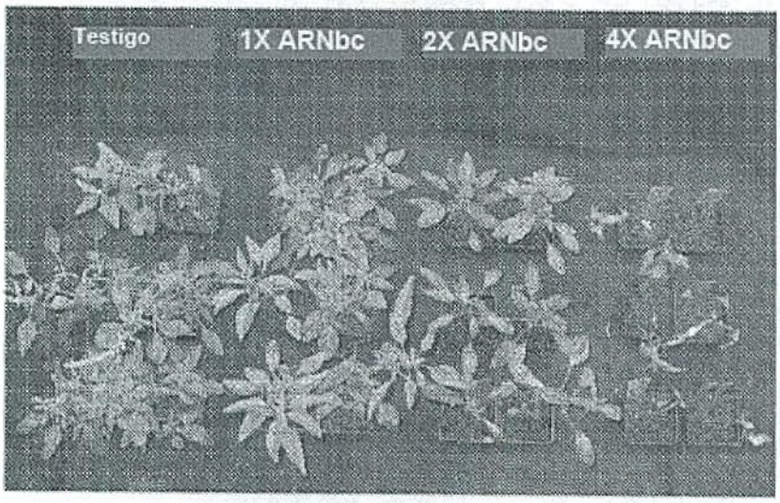
Figura 20

ATGGCTCAAGCTACTACCATCAACAATGGTGTCCATACTGGTCAATTGCACCATACTTTACCCAAAA
CCCAGTTACCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATTTTGGATCAAACTTGAGAATTTCTCCAAAGTTCAT
GTCTTTAACCAATAAAAGAGTTGGTGGGCAATCATCAATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTTGCT
GCTGCAGCTGAGAAACCTTCATCTGTCCCAGAAATTGTGTTACAACCCATCAAAGAGATCTCTGGTA
CTGTTCAATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTTCTTTTAGCTGCTTTGTCTGAGGG
CACAACAGTGGTCGACAACTTGCTGTATAGTGATGATATTCTTTATATGTTGGACGCTCTCAGAACT
CTTGGTTTAAAAGTGGAGGATGATAGTACAGCCAAAAGGGCAGTCGTAGAGGGTTGTGGTGGTCTGT
TTCCTGTTGGTAAAGATGGAAAGGAAGAGATTCAACTTTTCCTTGGTAATGCAGGAACAGCGATGCG
CCCATTGACAGCTGCGGTTGCCGTTGCTGGAGGAAATTCAAGTTATGTGCTTGATGGAGTACCAAGA
ATGAGGGAGCGCCCCATTGGGGATCTGGTAGCAGGTCTAAAGCAACTTGGTTCAGATGTAGATTGTT
TTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGTTCGGGTCAATGCTAAAGGAGGCCTTCCAGGGGGCAAGGTCAA
GCTCTCTGGATCGGTTAGTAGCCAATATTTAACTGCACTTCTCATGGCTACTCCTTTGGGTCTTGGA
GACGTGGAGATTGAGATAGTTGATAAATTGATTTCTGTACCGTATGTTGAAATGACAATAAAGTTGA
TGGAACGCTTTGGAGTATCCGTAGAACATAGTGATAGTTGGGACAGGTTCTACATTCGAGGTGGTCA
GAAATACAAATCTCCTGGAAAGGCATATGTTGAGGGTGATGCTTCAAGTGCTAGCTACTTCCTAGCC
GGAGCCGCCGTCACTGGTGGGACTGTCACTGTCAAGGGTTGTGGAACAAGCAGTTTACAGGGTGATG
TAAAATTTGCCGAAGTTCTTGAGAAGATGGGTTGCAAGGTCACCTGGACAGAGAATAGTGTAACTGT
TACTGGACCACCCAGGGATTCATCTGGAAAGAAACATCTGCGTGCTATCGACGTCAACATGAACAAA
ATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGCCTTGTATGCAGATGGGCCCACCGCCATCAGAG
ATGTGGCTAGCTGGAGAGTGAAGGAAACCGAACGGATGATTGCCATTTGCACAGAACTGAGAAAGCT
TGGGGCAACAGTTGAGGAAGGATCTGATTACTGTGTGATCACTCCGCCTGAAAAGCTAAACCCCACC
GCCATTGAAACTTATGACGATCACCGAATGGCCATGGCATTCTCTCTTGCTGCCTGTGCAGATGTTC
CCGTCACTATCCTTGATCCGGGATGCACCCGTAAAACCTTCCCGGACTACTTTGATGTTTTAGAAAA
GTTCGCCAAGCATTGA

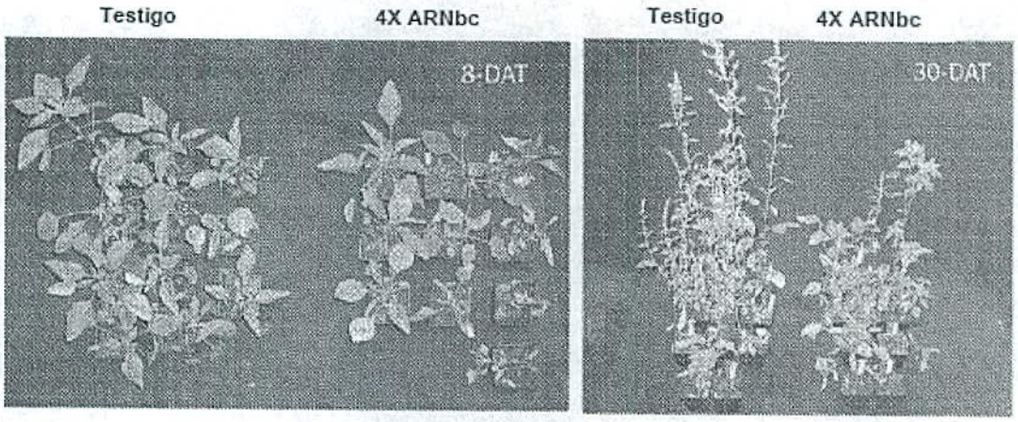
SEQ ID NO:40

24/42

Figura 21



A

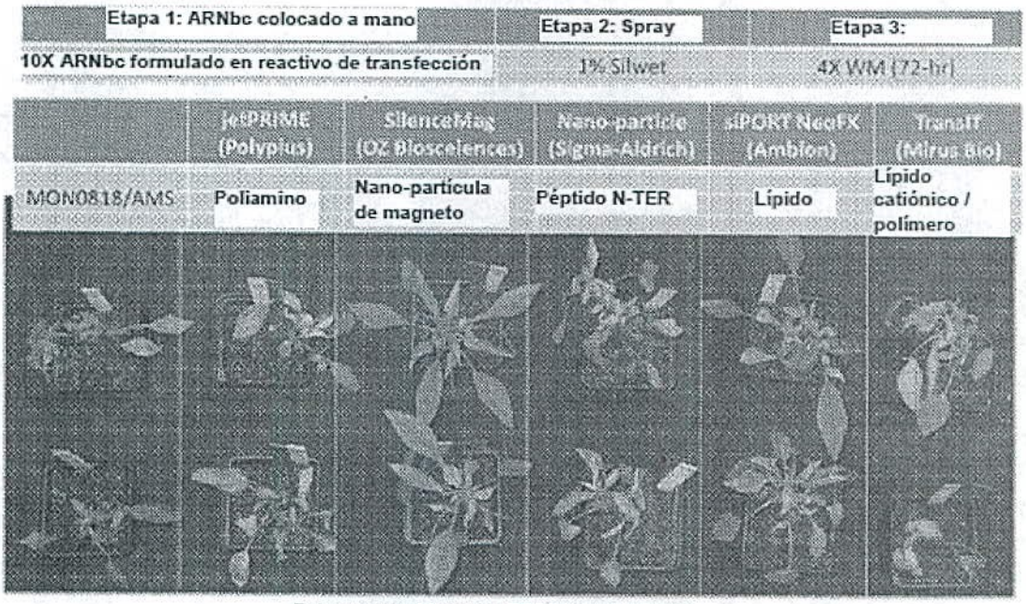


B

Figura 22

Prueba de cinco reactivos de transfección

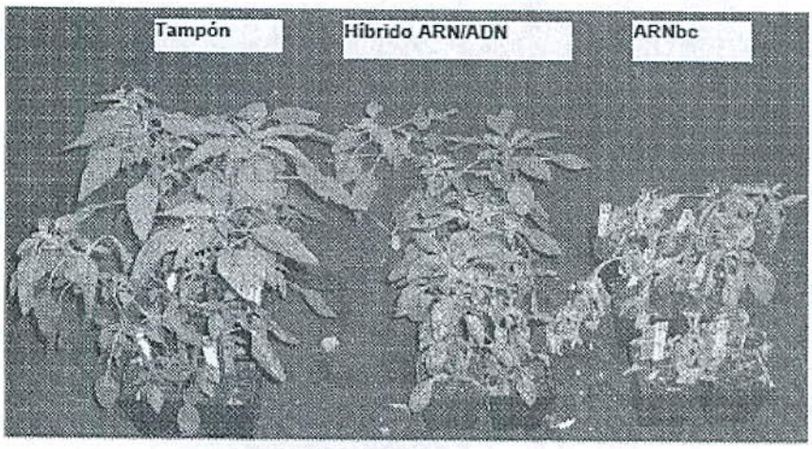
(ARNbc el 18 de junio, 4X WM el 21 de junio; Calific. 7-DAT)

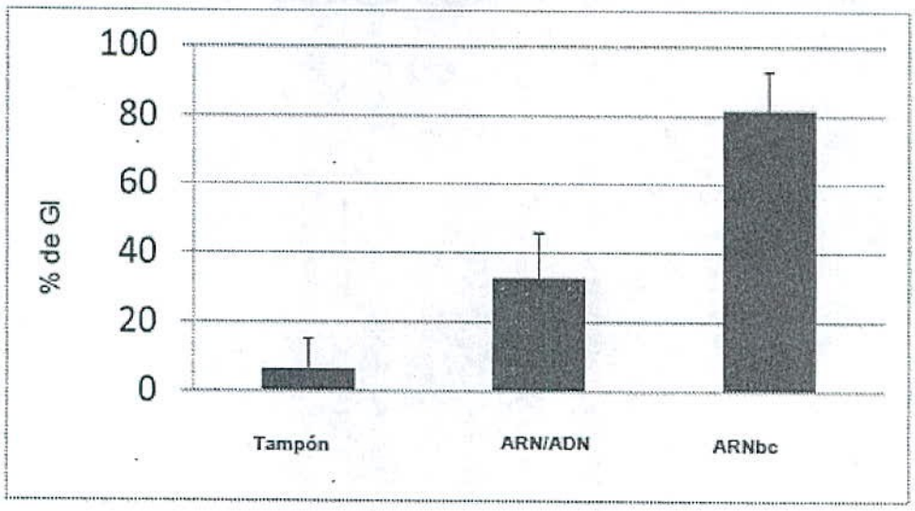


Palmera con 35 copias EPSPS; 10X ARNbc

26/42

Figura 23

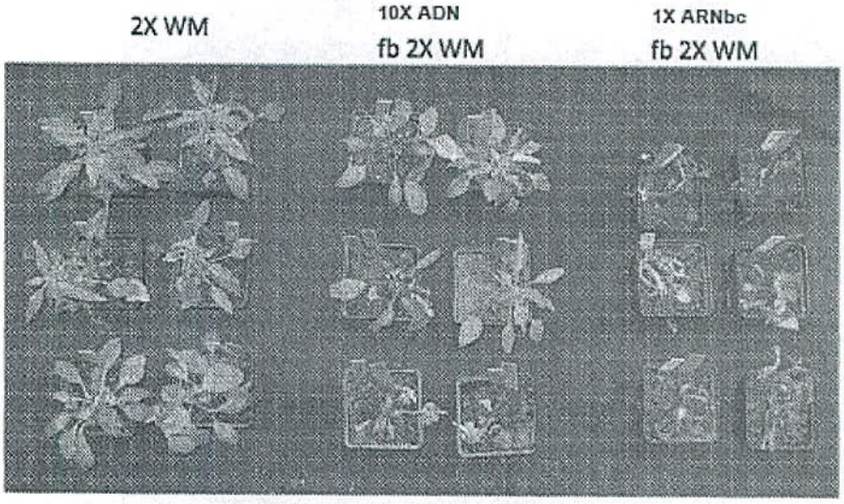




27/42

Figura 24

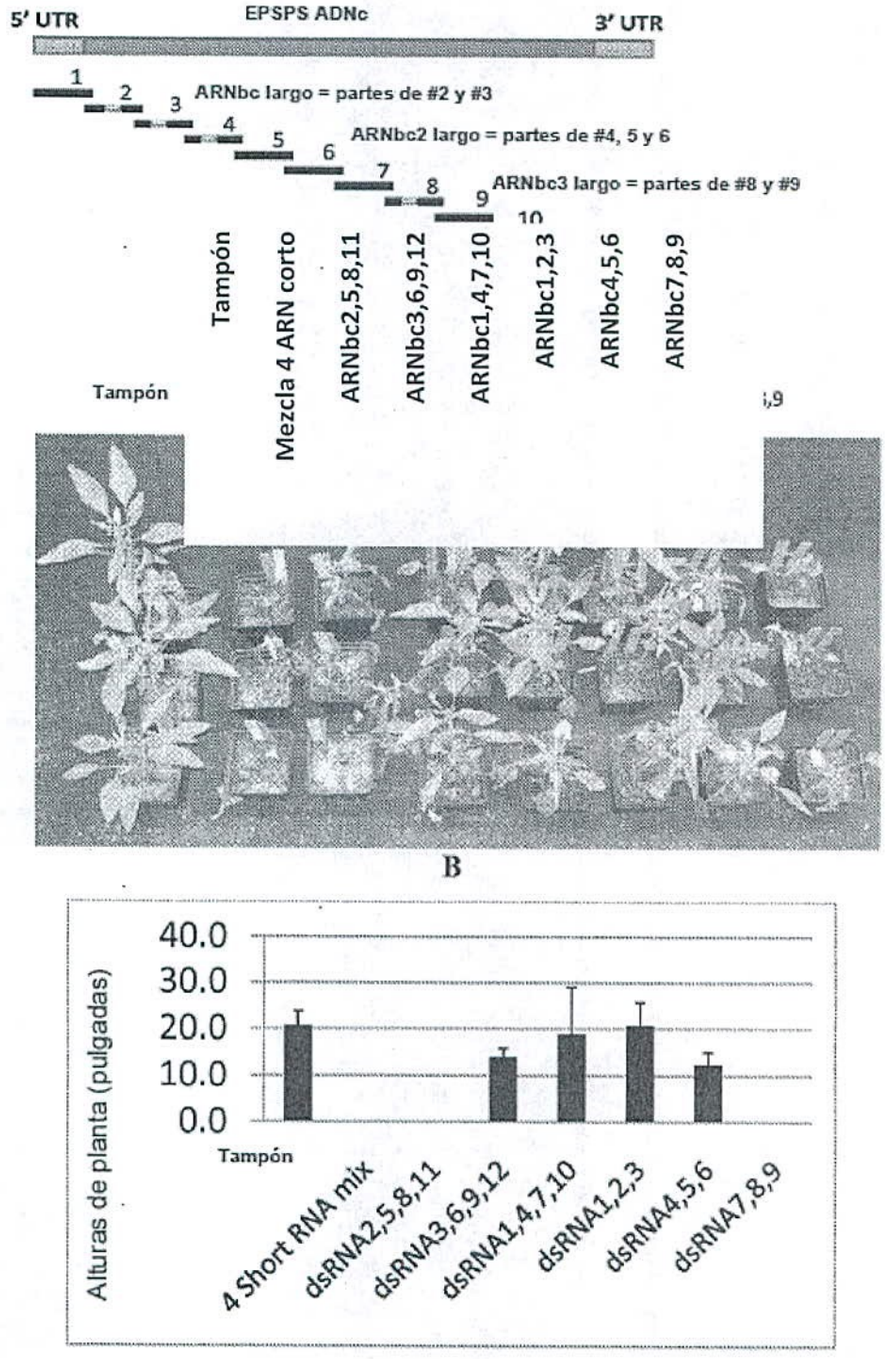
Etapa 1:	Etapa 2: ARNbc formulado en	Etapa 3:
1% Silwet	1X ARNbc o 10X ADN con 2% AMS (colocado a mano)	2X WM (48-hr)



Palmera con 16-copias EPSPS)

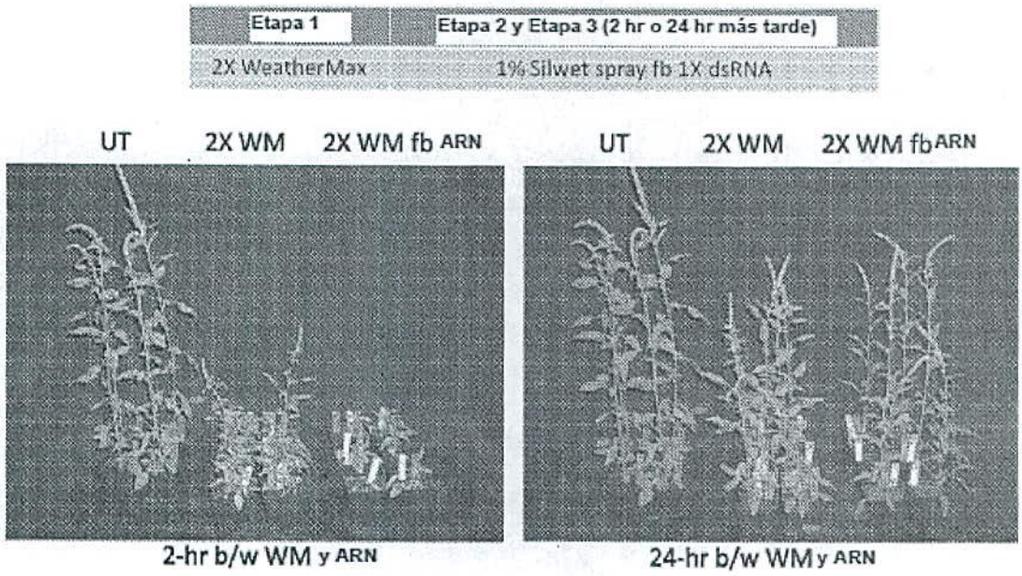
28/42

Figura 25



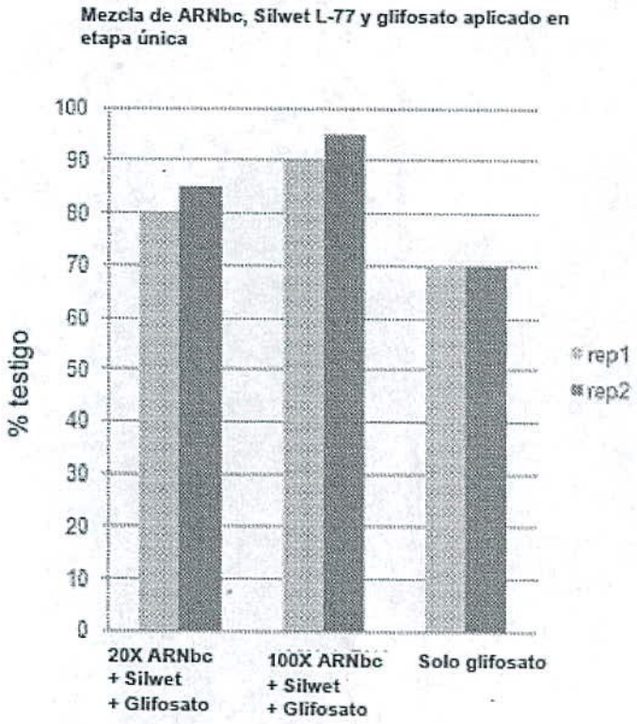
29/42

Figura 26



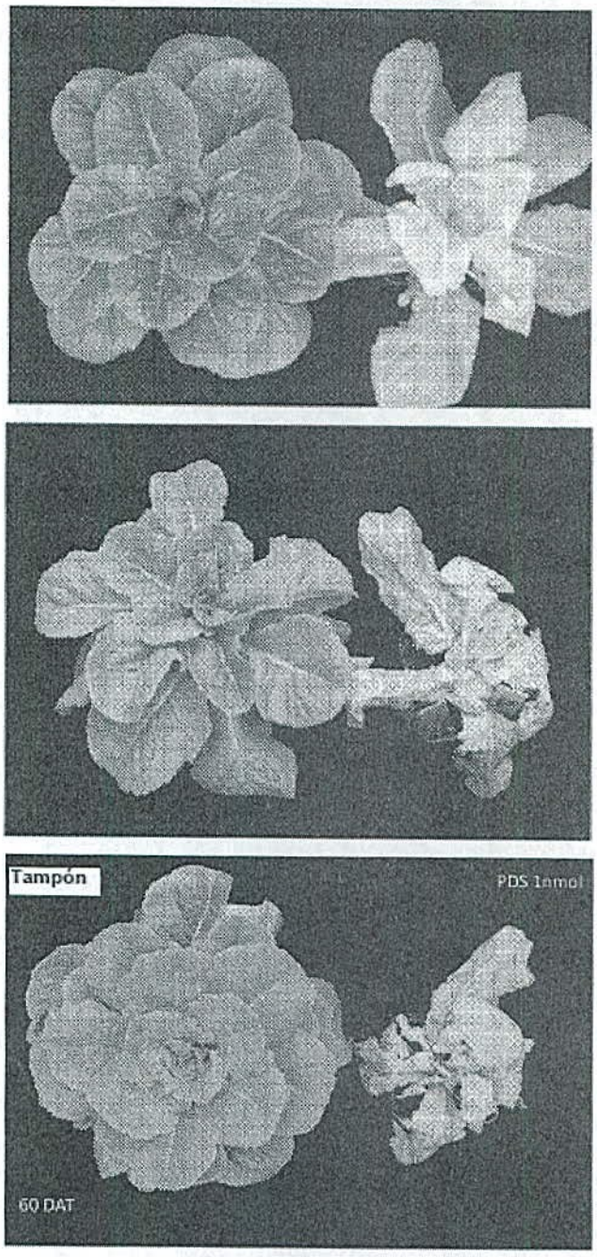
30/42

Figura 27



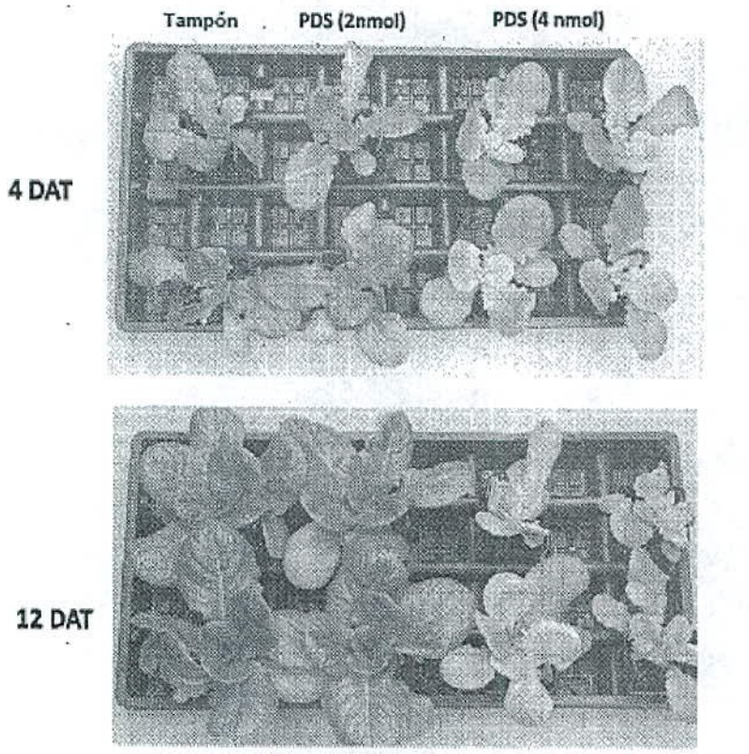
31/42

Figura 28

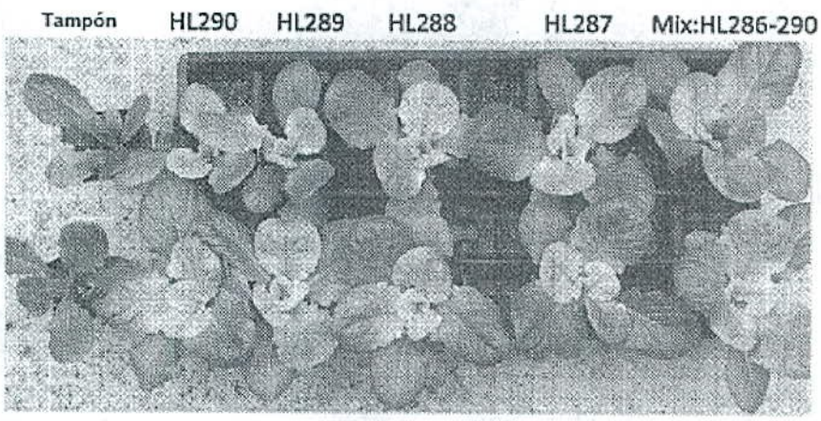


32/42

Figura 29



A



B

33/42

Figura 30

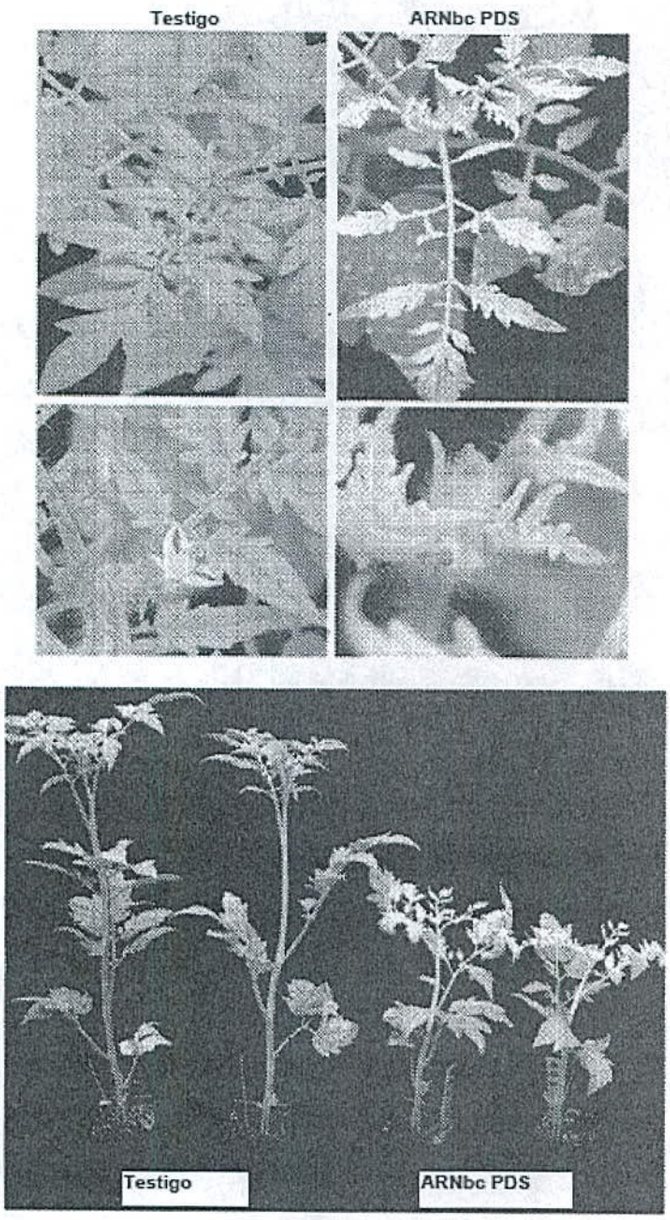
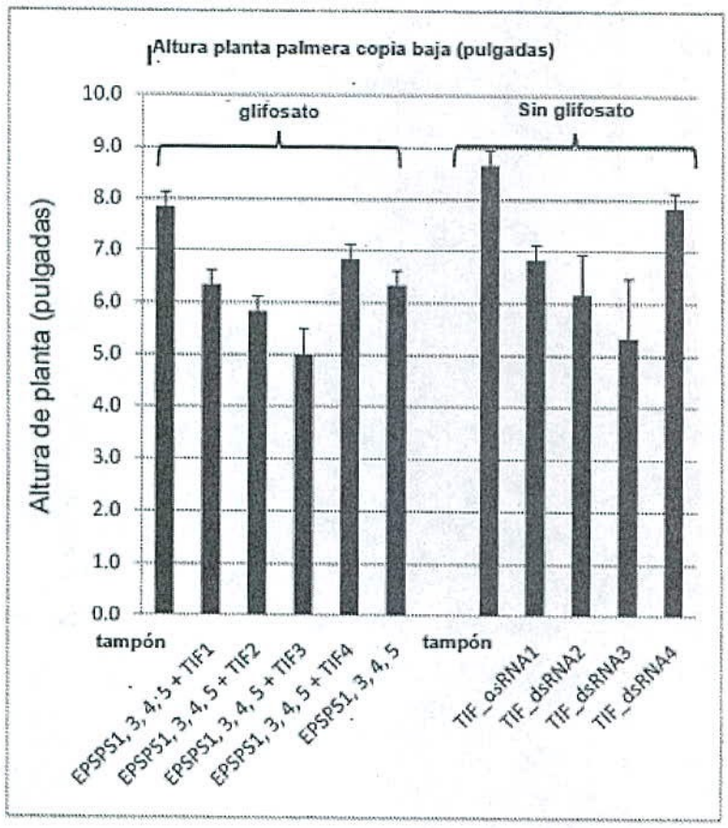
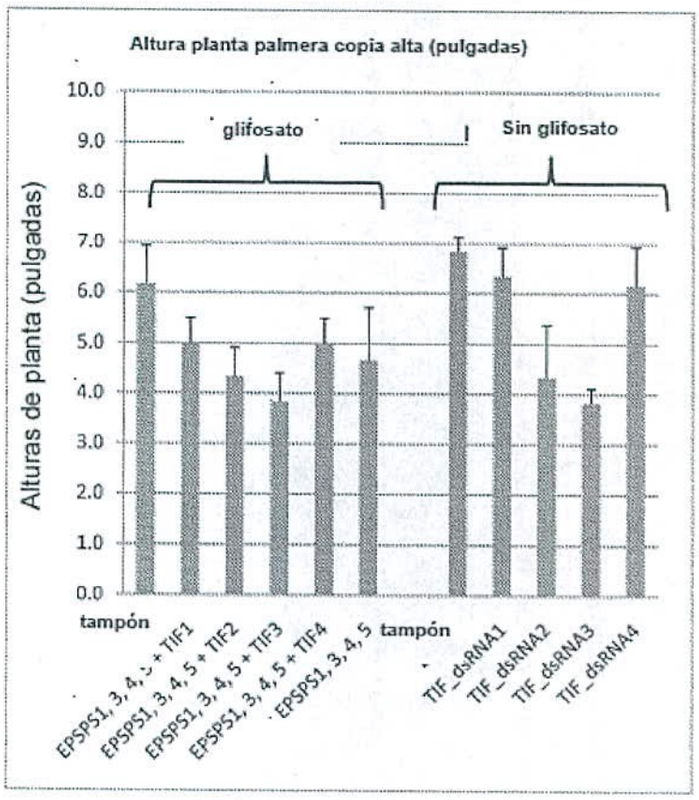


Figura 31


Altura planta palmera copia baja (pulgadas)
glifosato
Sin glifosato
Altura de planta (pulgadas)
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
tampón
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF1
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF2
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF3
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF4
EPSPS1, 3, 4, 5
tampón
TIF_dsRNA1
TIF_dsRNA2
TIF_dsRNA3
TIF_dsRNA4

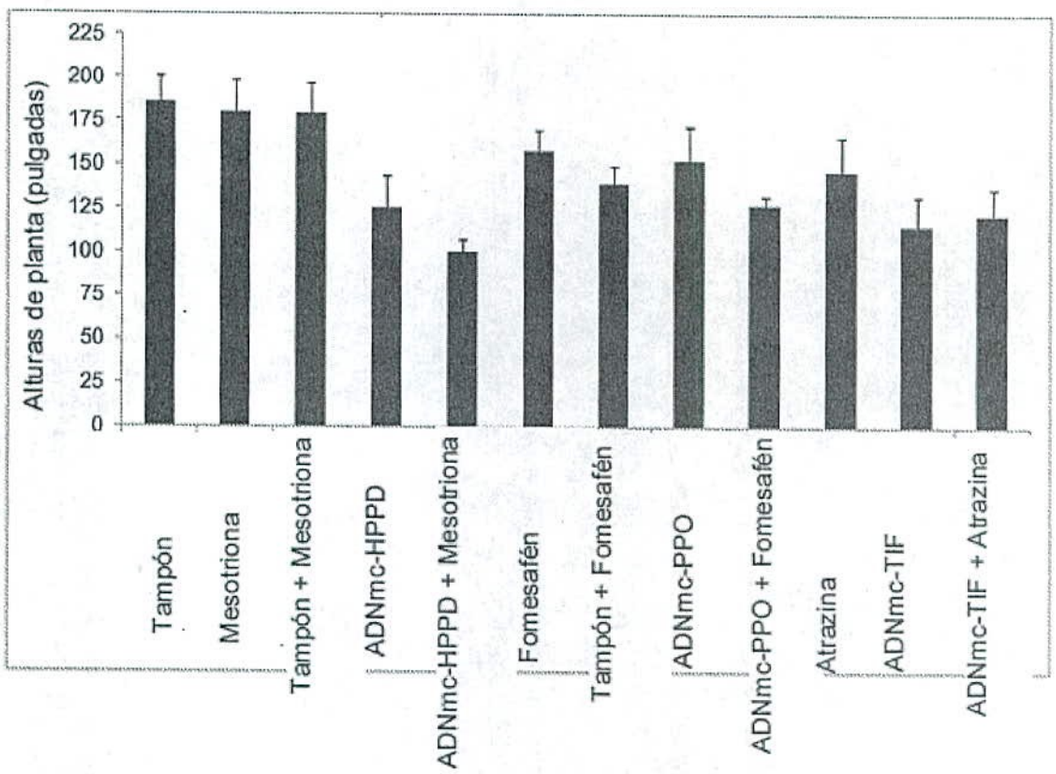
35/42

Figura 32



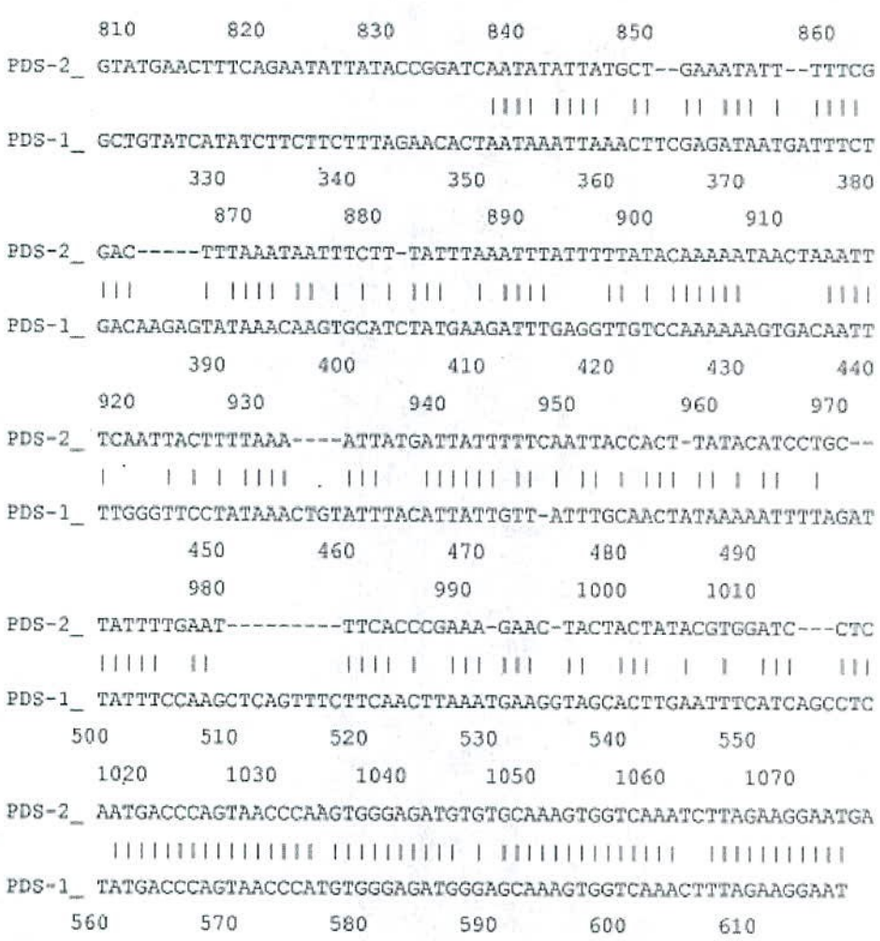
36/42

Figura 33



37/42

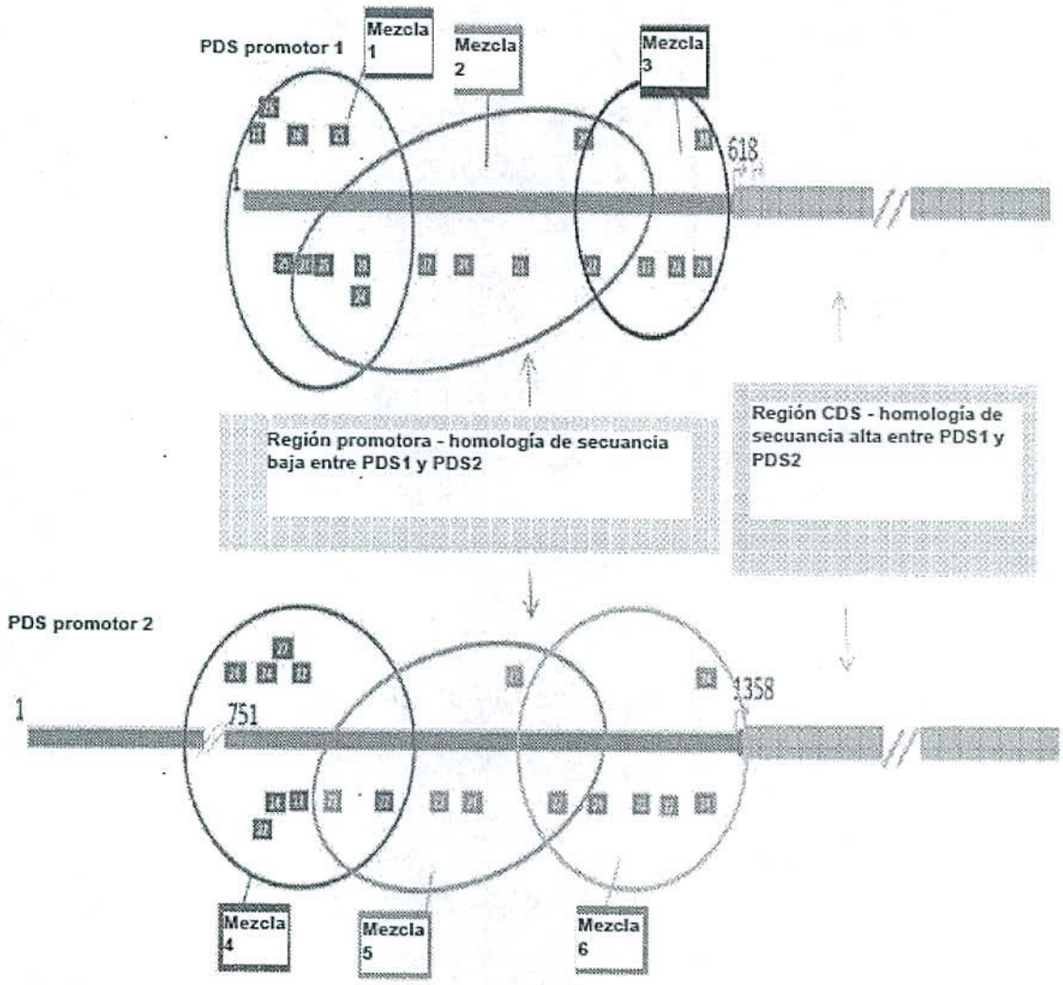
Figura 34



PDS-1 secuencia de promotor (SEQ ID NO:319)
y
PDS-2 secuencia de promotor (SEQ ID NO:320)

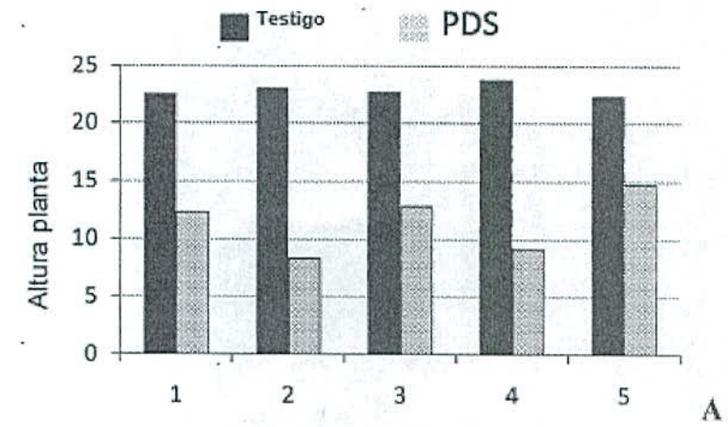
38/42

Figura 35

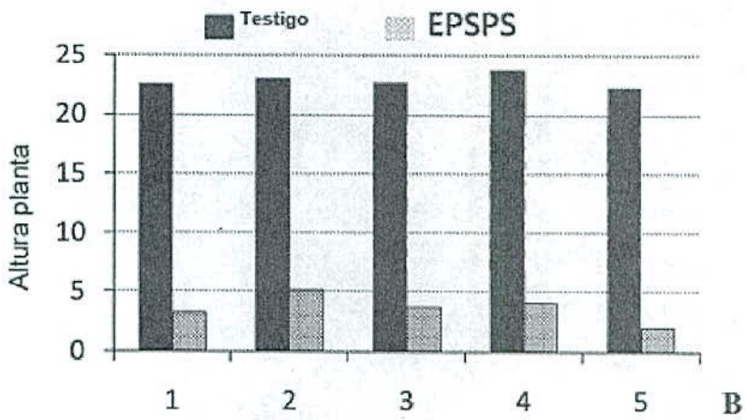


39/42

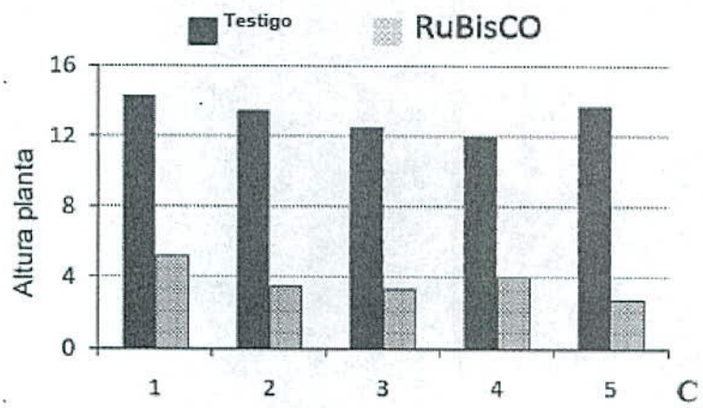
Figura 36



A



B



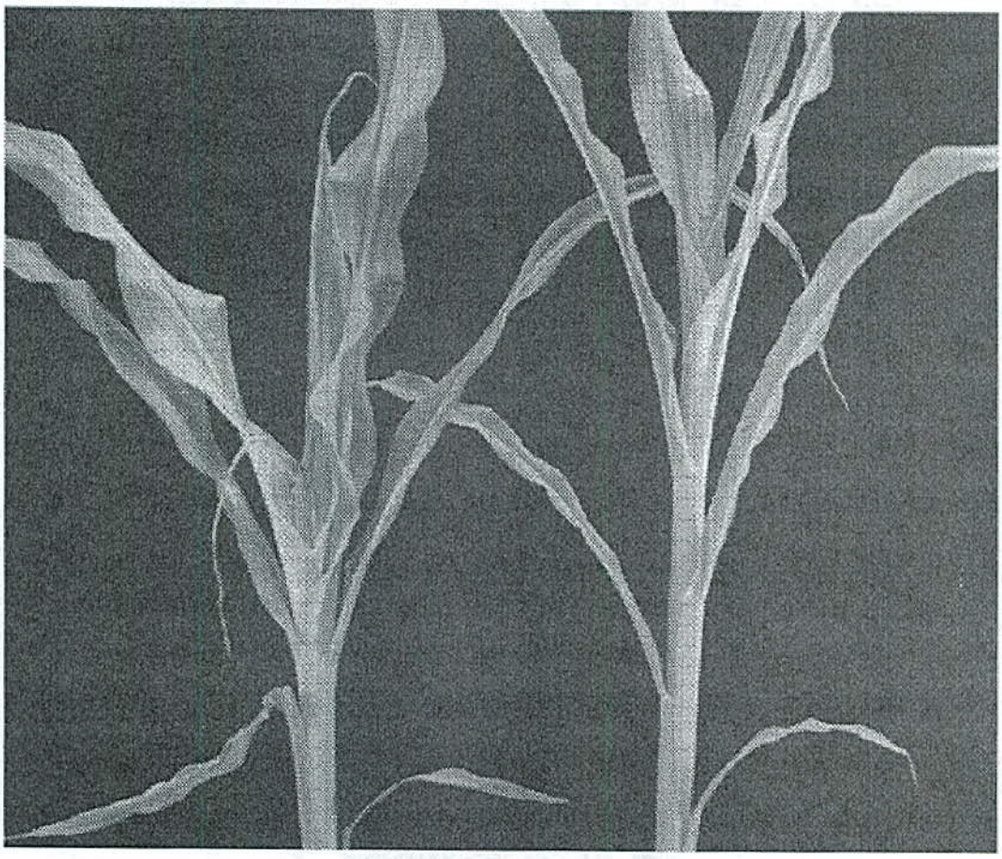
C

40/42

Figura 37

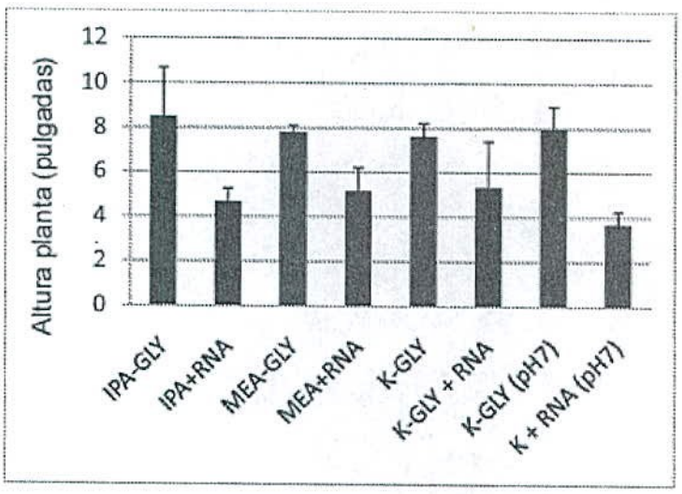
ADN oligo EPSPS

Tampón (testigo)



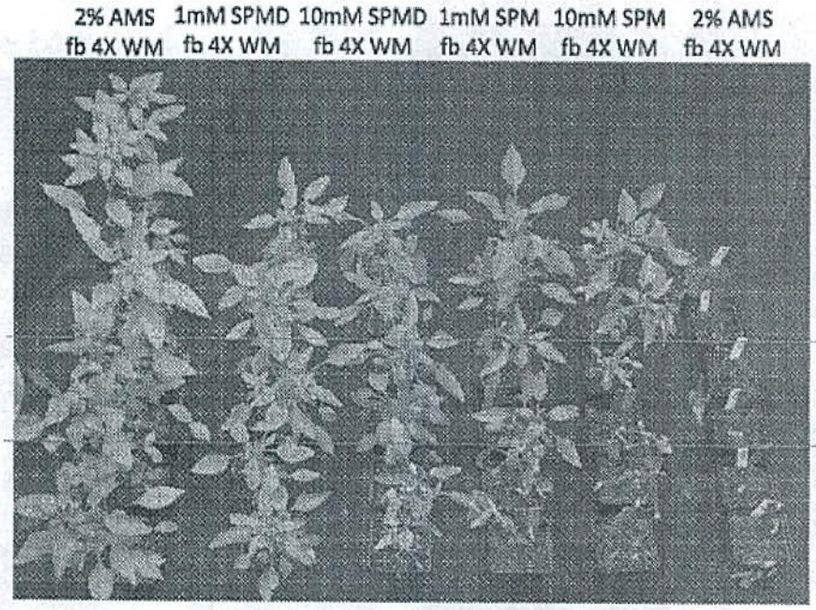
41/42

Figura 38



42/42

Figura 39



Comparación de espumina (SPM), espirmidina (SPMD), sulfato de amonio (AMS)

7782 Listado de secuencias traducido
LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Sammons, Robert D.
Ivashuta, Sergey I.
Liu, Hong
Wang, Dafu
Feng, Paul C.C.
Kouranov, Andrei Y.
Andersen, Scott E.

<120> MOLÉCULAS POLINUCLEOTÍDICAS PARA REGULACIÓN GENÉTICA EN PLANTAS

<130> 38-21(56855)0000/PCT

<140> nulo
<141> 2011-03-08

<150> 61/311,762
<151> 2010-03-08

<150> 61/349,807
<151> 2010-05-28

<150> 61/381,556
<151> 2010-09-10

<160> 320

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 1557
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 1
atggctcaag ctactaccat caacaatggt gtccatactg gtcaattgca ccatacttta 60

cccaaaaccc agttacccaa atcttcaaaa actcttaatt ttggatcaaa cttgagaatt 120

tctccaaagt tcatgtcttt aaccaataaa agagttggtg ggcaatcatc aattgttccc 180

aagattcaag cttctgttgc tgctgcagct gagaaacctt catctgtccc agaaattgtg 240

ttacaaccca tcaaagagat ctctggtact gttcaattgc ctgggtcaaa gtctttatcc 300

aatcgaatcc ttcttttagc tgctttgtct gagggcacaa cagtggtcga caacttgctg 360

tatagtgatg atattcttta tatgttggac gctctcagaa ctcttggttt aaaagtggag 420

gatgatagta cagccaaaag ggcagtcgta gagggttgtg gtggtctgtt tcctgttggt 480

aaagatggaa aggaagagat tcaacttttc cttggtaatg caggaacagc gatgcgccca 540

ttgacagctg cggttgccgt tgctggagga aattcaagtt atgtgcttga tggagtacca 600

agaatgaggg agcgccccat tggggatctg gtagcaggtc taaagcaact tggttcagat 660

gtagattgtt ttcttggcac aaattgccct cctgttcggg tcaatgctaa aggaggcctt 720

ccaggggca aggtcaagct ctctggatcg gttagtagcc aatatttaac tgcacttctc 780

atggctactc ctttgggtct tggagacgtg gagattgaga tagttgataa attgatttct 840

gtaccgtatg ttgaaatgac aataaagttg atggaacgct ttggagtatc cgtagaacat 900

agtgatagtt gggacaggtt ctacattcga ggtggtcaga aatacaaatc tcctggaaag 960

gcatatgttg agggtgatgc ttcaagtgct agctacttcc tagccggagc cgccgtcact 1020

ggtgggactg tcactgtcaa gggttgtgga acaagcagtt tacagggtga tgtaaaattt 1080

gccgaagttc ttgagaagat gggttgcaag gtcacctgga cagagaatag tgtaactgtt 1140

actggaccac ccagggattc atctggaaag aaacatctgc gtgctatcga cgtcaacatg 1200

aacaaaatgc cagatgttgc tatgactctt gcagttgttg ccttgtatgc agatgggccc 1260

accgccatca gagatgtggc tagctggaga gtgaaggaaa ccgaacggat gattgccatt 1320

tgcacagaac tgagaaagct tggggcaaca gttgaggaag gatctgatta ctgtgtgatc 1380

actccgcctg aaaagctaaa ccccaccgcc attgaaactt atgacgatca ccgaatggcc 1440

atggcattct ctcttgctgc ctgtgcagat gttcccgtca ctatccttga tccgggatgc 1500

acccgtaaaa ccttcccgga ctactttgat gttttagaaa agttcgccaa gcattga 1557

<210> 2
<211> 1761
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 2
atgccccaaa tcggacttgt atctgctgtt aatttgagag tccaaggtaa ttcagcttat 60

ctttggagct cgaggtcttc gttgggaact gaaagtcaag atgtttgctt gcaaaggaat 120

ttgttatgtt ttggtagtag cgactccatg gggcataagt taaggattcg tactccaagt 180

gccacgaccc gaagattgac aaaggacttt aatcctttaa aggtagtctg cattgattat 240

ccaagaccag agctagacaa tacagttaac tatttggagg cggcgttatt atcatcatcg 300

tttcgtactt cctcacgccc aactaaacca ttggagattg ttattgctgg tgcaggtttg 360

ggtggtttgt ctacagcaaa atatctggca gatgctggtc acaaaccgat attgctggag 420

gcaagagatg tcctaggtgg gaaggtagct gcatggaaag atgatgatgg agattggtac 480

gagactgggt tgcacatatt ctttggggct tacccaaata tgcagaacct gtttggagaa 540

ctagggattg atgatcggtt gcagtggaag gaacattcaa tgatatttgc gatgcctaac 600

aagccagggg agttcagccg ctttgatttt cctgaagctc ttcctgcgcc attaaatgga 660

attttggcca tactaaagaa caacgaaatg cttacgtggc ccgagaaagt caaatttgct 720

attggactct tgccagcaat gcttggaggg caatcttatg ttgaagctca agacggttta 780

agtgttaagg actggatgag aaagcaaggt gtgcctgata gggtgacaga tgaggtgttc 840

attgccatgt caaaggcact taacttcata aaccctgacg agctttcgat gcagtgcatt 900

ttgattgctt tgaacagatt tcttcaggag aaacatggtt caaaaatggc ctttttagat 960

ggtaaccctc ctgagagact ttgcatgccg attgtggaac atattgagtc aaaaggtggc 1020

caagtcagac taaactcacg aataaaaaag atcgagctga atgaggatgg aagtgtcaaa 1080

tgttttatac tgaataatgg cagtacaatt aaaggagatg cttttgtgtt tgccactcca 1140

gtggatatct tgaagcttct tttgcctgaa gactggaaag agatcccata tttccaaaag 1200

ttggagaagc tagtgggagt tcctgtgata aatgtccata tatggtttga cagaaaactg 1260

aagaacacat ctgataatct gctcttcagc agaagcccgt tgctcagtgt gtacgctgac 1320

atgtctgtta catgtaagga atattacaac cccaatcagt ctatgttgga attggtattt 1380

gcacccgcag aagagtggat aaatcgtagt gactcagaaa ttattgatgc tacaatgaag 1440

gaactagcga agcttttccc tgatgaaatt tcggcagatc agagcaaagc aaaaatattg 1500

aagtatcatg ttgtcaaaac cccaaggtct gtttataaaa ctgtgccagg ttgtgaaccc 1560

tgtcggccct tgcaaagatc ccctatagag ggtttttatt tagctggtga ctacacgaaa 1620

cagaagtact tggcttcaat ggaaggtgct gtcttatcag gaaagctttg tgcacaagct 1680

attgtacagg attacgagtt acttcttggc cggagccaga agatgttggc agaagcaagc 1740

gtagttagca tagtgaacta a 1761

<210> 3
<211> 559
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 3
ggcccatagg ccttttttcta aaataggccc atttaagcta ttaacaatct tcaaaagtac 60

cacatcgctt aggtaaagaa agcagctgag tttatatatg gttagagacg aagtagtgat 120

tgcgacgagc gacgtctcgc cctcatcgca atccacgcca ttgagcttga ggccattggc 180

gacggccgag aggcggtcgc ttaagattag catgtccttg acgcggagtt cttccagacc 240

gttcatcacg gtcgcccctt ccgcgaaggc ggcggcgaca gcgagaatcg gatattcgtc 300

gatcatcgaa ggcgcgcggt cttccggcac cgtgacgcat aaacacggtg ccggaagacc 360

gcgcgccttc gatgatcgac gaatatccga ttctcgctgt cgccgccgcc ttcgcggaag 420

gggcgaccgt gatgaacggt ctggaagaac tccgcgtcaa ggaaagcgac cgcctctcgg 480

ccgtcgccaa tggcctcaag ctcaatggcg tggattgcga tgagggcgag acgtcgctcg 540

tcgttttttt tggcaaaaa 559

<210> 4
<211> 10
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 4
tcccacatcg 10

<210> 5
<211> 13
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 5
aagattagca cgg 13

<210> 6
<211> 11
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 6
acgcataaaa t 11

<210> 7
<211> 6
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 7
tttttt 6

<210> 8
<211> 20
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 8
accctccacg actgcccttt 20

<210> 9
<211> 19
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 9
gtttccttca ctctccagc 19

<210> 10
<211> 20
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 10
gtagcttgag ccattattgt 20

<210> 11
<211> 20
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 11
gttgatggta gtagcttgag 20

<210> 12
<211> 20
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 12
accctccacg actgcccttt 20

<210> 13
<211> 19
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 13

gtttccttca ctctccagc 19

<210> 14
<211> 18
<212> ADN
<213> Hordeum vulgare

<400> 14
aagcggttga gcactgaa 18

<210> 15
<211> 20
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 15
accctccacg actgcccttt 20

<210> 16
<211> 40
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 16
taatacgact cactataggg caagagatgt cctaggtggg 40

<210> 17
<211> 44
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 17
taatacgact cactatagga cagatttctt caggagaaac atgg 44

<210> 18
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 18
gcaagagatg tcctaggtgg g 21

<210> 19
<211> 25
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 19
acagatttct tcaggagaaa catgg 25

<210> 20
<211> 41
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 20
taatacgact cactataggc atctccttta attgtactgc c 41

<210> 21
<211> 41
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 21
taatacgact cactataggt ttaattgtac tgccattatt c 41

<210> 22
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 22
catctccttt aattgtactg cc 22

<210> 23
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 23

tttaattgta ctgccattat tc 22

<210> 24
<211> 25
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 24
cacttccatc ctcattcagc tcgat 25

<210> 25
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 25
acacctcatc tgtcacccta tcag 24

<210> 26
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 26
cagtctcgta ccaatctcca tcat 24

<210> 27
<211> 41
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 27
taatacgact cactataggg atccatgata tcgtgaacat c 41

<210> 28
<211> 38
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 28
taatacgact cactataggg gcaaagaaaa atgcgtcg 38

<210> 29
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 29
atccatgata tcgtgaacat c 21

<210> 30
<211> 18
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 30
gcaaagaaaa atgcgtcg 18

<210> 31
<211> 40
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 31
tgttttatac tgaataatgg cagtacaatt aaaggagatg 40

<210> 32
<211> 15
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 32
catctccttt aattg 15

<210> 33
<211> 18
<212> ADN

<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 33
catctccttt aattgtac 18

<210> 34
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 34
catctccttt aattgtactg c 21

<210> 35
<211> 33
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 35
catctccttt aattgtactg ccattattca gta 33

<210> 36
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 36
gcagtacaat taaaggagat g 21

<210> 37
<211> 1614
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 37
tcaatttcat ctattggaag tgatttttg ggtcattctg tgagaaattt cagtgttagt 60

aaagtttatg gagcaaagca aagaaatggg cactgccctt taaaggttgt ttgtatagat 120

tatcctaggc cagagcttga aagtacatcc aatttcttgg aagccgccta cttatcttct 180

actttttcgga attcgcctcg tcctcagaag ccattagaag ttgtaattgc tggagcaggt 240

ttggctggtc tatccacggc aaagtattta gctgatgcag gtcacaaacc catattgttg 300

gaagcacgag atgttttagg aggaaaggtt gcagcgtgga aggatgagga tggtgactgg 360

tatgagactg ggctacatat attctttggg gcatatccaa atgtccaaaa tctatttgga 420

gaacttggta taaatgaccg actgcaatgg aaggagcact ctatgatttt tgcaatgccc 480

agcaagcccg gtgaattcag tcgctttgat tttcccgaaa tcctgcctgc accattaaat 540

ggcatatggg caatcctaag aaataatgaa atgctaacct ggccagaaaa aatcaagttt 600

gccattggct tgttgcctgc tatggcaggc ggacagtcat atgttgaagc acaagatggt 660

ttgagtgtcc aagagtggat gagaaaacaa ggagtacccg atcgtgtaac tgatgatgtg 720

tttattgcca tgtcaaaggc actgaacttc ataaatcccg atgaactttc aatgcagtgc 780

atcttgattg ctctgaaccg attcctgcag gagaaacatg gttctaagat ggccttccta 840

gacggaaacc ctccagagag gctgtgcatg cctattgtta aacacatcga gtcactaggt 900

ggtgaagtta aacttaactc tcgtatacaa aagattcagt tggaccagag tggaagcgtg 960

aagagttttt tgctaaataa cgggagggaa atacgaggag atgcctatgt ttttgccacc 1020

ccagttgaca tcttgaagct gttactacct gatacttgga aggaaatctc atacttcaaa 1080

aaacttgaga aattagtggg cgttcctgtg attaatgttc acatatggtt tgacagaaaa 1140

ttaaagaata catatgacca tctactcttc agcaggagtc ctcttttgag tgtctatgct 1200

gatatgtcgg agacatgcaa ggaatataag gatccaaata gatccatgct ggaattggtt 1260

tttgcacccg cggaggaatg gatttcacga agcgacactg atattataga ggcaacaatg 1320

aaagagcttg ccaagctttt cccggatgaa atcgctgccg atggaagcaa ggccaagatc 1380

ctcaaatatc atgtcgtcaa aactccaagg tcggtttata agactgtacc ggattgtgaa 1440

ccttgtcggc cgctgcaaag atcaccaata gagggtttct atttagctgg tgattacaca 1500

aaacaaaaat atttggcttc tatggaaggt gctgtcttat ctgggaagct ttgtgcacag 1560

gctatcgtac aggattatga tctgctgagt tctcgagcac aaagagaatt ggcg 1614

<210> 38
<211> 1761
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 38
atgccccaaa tcggacttgt atctgctgtt aatttgagag tccaaggtaa ttcagcttat 60

ctttggagct cgaggtcttc gttgggaact gaaagtcaag atgtttgctt gcaaaggaat 120

ttgttatgtt ttggtagtag cgactccatg gggcataagt taaggattcg tactccaagt 180

gccacgaccc gaagattgac aaaggacttt aatcctttaa aggtagtctg cattgattat 240

ccaagaccag agctagacaa tacagttaac tatttggagg cggcgttatt atcatcatcg 300

tttcgtactt cctcacgccc aactaaacca ttggagattg ttattgctgg tgcaggtttg 360

ggtggtttgt ctacagcaaa atatctggca gatgctggtc acaaaccgat attgctggag 420

gcaagagatg tcctaggtgg gaaggtagct gcatggaaag atgatgatgg agattggtac 480

gagactgggt tgcacatatt ctttggggct tacccaaata tgcagaacct gtttggagaa 540

ctagggattg atgatcggtt gcagtggaag gaacattcaa tgatatttgc gatgcctaac 600

aagccagggg agttcagccg ctttgatttt cctgaagctc ttcctgcgcc attaaatgga 660

attttggcca tactaaagaa caacgaaatg cttacgtggc ccgagaaagt caaatttgct 720

attggactct tgccagcaat gcttggaggg caatcttatg ttgaagctca agacggttta 780

agtgttaagg actggatgag aaagcaaggt gtgcctgata gggtgacaga tgaggtgttc 840

attgccatgt caaaggcact taacttcata aaccctgacg agctttcgat gcagtgcatt 900

ttgattgctt tgaacagatt tcttcaggag aaacatggtt caaaaatggc ctttttagat 960

ggtaaccctc ctgagagact ttgcatgccg attgtggaac atattgagtc aaaaggtggc 1020

caagtcagac taaactcacg aataaaaaag atcgagctga atgaggatgg aagtgtcaaa 1080

tgttttatac tgaataatgg cagtacaatt aaaggagatg cttttgtgtt tgccactcca 1140

gtggatatct tgaagcttct tttgcctgaa gactggaaag agatcccata tttccaaaag 1200

ttggagaagc tagtgggagt tcctgtgata aatgtccata tatggtttga cagaaaactg 1260

aagaacacat ctgataatct gctcttcagc agaagcccgt tgctcagtgt gtacgctgac 1320

atgtctgtta catgtaagga atattacaac cccaatcagt ctatgttgga attggtattt 1380

gcacccgcag aagagtggat aaatcgtagt gactcagaaa ttattgatgc tacaatgaag 1440

gaactagcga agcttttccc tgatgaaatt tcggcagatc agagcaaagc aaaaatattg 1500

aagtatcatg ttgtcaaaac cccaaggtct gtttataaaa ctgtgccagg ttgtgaaccc 1560

tgtcggccct tgcaaagatc ccctatagag ggtttttatt tagctggtga ctacacgaaa 1620

cagaagtact tggcttcaat ggaaggtgct gtcttatcag gaaagctttg tgcacaagct 1680

attgtacagg attacgagtt acttcttggc cggagccaga agatgttggc agaagcaagc 1740

gtagttagca tagtgaacta a 1761

7782 Listado de secuencias traducido

<210> 39
<211> 22
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 39
ggcagtacaa ttaaaggaga tg 22

<210> 40
<211> 1557
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 40
atggctcaag ctactaccat caacaatggt gtccatactg gtcaattgca ccatacttta 60
cccaaaaccc agttacccaa atcttcaaaa actcttaatt ttggatcaaa cttgagaatt 120
tctccaaagt tcatgtcttt aaccaataaa agagttggtg ggcaatcatc aattgttccc 180
aagattcaag cttctgttgc tgctgcagct gagaaacctt catctgtccc agaaattgtg 240
ttacaaccca tcaaagagat ctctggtact gttcaattgc ctgggtcaaa gtctttatcc 300
aatcgaatcc ttcttttagc tgctttgtct gagggcacaa cagtggtcga caacttgctg 360
tatagtgatg atattcttta tatgttggac gctctcagaa ctcttggttt aaaagtggag 420
gatgatagta cagccaaaag ggcagtcgta gagggttgtg gtggtctgtt tcctgttggt 480
aaagatggaa aggaagagat tcaacttttc cttggtaatg caggaacagc gatgcgccca 540
ttgacagctg cggttgccgt tgctggagga aattcaagtt atgtgcttga tggagtacca 600
agaatgaggg agcgccccat tggggatctg gtagcaggtc taaagcaact tggttcagat 660
gtagattgtt ttcttggcac aaattgccct cctgttcggg tcaatgctaa aggaggcctt 720
ccaggggca aggtcaagct ctctggatcg gttagtagcc aatatttaac tgcacttctc 780
atggctactc ctttgggtct tggagacgtg gagattgaga tagttgataa attgatttct 840
gtaccgtatg ttgaaatgac aataaagttg atggaacgct ttggagtatc cgtagaacat 900
agtgatagtt gggacaggtt ctacattcga ggtggtcaga aatacaaatc tcctggaaag 960
gcatatgttg agggtgatgc ttcaagtgct agctacttcc tagccggagc cgccgtcact 1020
ggtgggactg tcactgtcaa gggttgtgga acaagcagtt tacagggtga tgtaaaattt 1080
gccgaagttc ttgagaagat gggttgcaag gtcacctgga cagagaatag tgtaactgtt 1140
actggaccac ccagggattc atctggaaag aaacatctgc gtgctatcga cgtcaacatg 1200

aacaaaatgc cagatgttgc tatgactctt gcagttgttg ccttgtatgc agatgggccc 1260

accgccatca gagatgtggc tagctggaga gtgaaggaaa ccgaacggat gattgccatt 1320

tgcacagaac tgagaaagct tggggcaaca gttgaggaag gatctgatta ctgtgtgatc 1380

actccgcctg aaaagctaaa ccccaccgcc attgaaactt atgacgatca ccgaatggcc 1440

atggcattct ctcttgctgc ctgtgcagat gttcccgtca ctatccttga tccgggatgc 1500

acccgtaaaa ccttcccgga ctactttgat gttttagaaa agttcgccaa gcattga 1557

<210> 41
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<220>
<221> misc_feature
<222> (27)..(27)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 41
cgccagggct gcagacgcgt tacgtantcg gatccagaat tcgtgattaa cgtcacagca 60

tgtcatgtaa aacacgcgaa tcagaccggt ccactcttgt tttaatttga gacaattttg 120

atgttgagtc atcccacacc aaccccaaaa aattcaacaa caaactctta taatgattcc 180

ctctactcta ctagagtcta caccaaccca ctttctcttt gcccaccaaa actttggttt 240

ggtaagaact 250

<210> 42
<211> 244
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 42
caccaaccca ctttctcttt gcccaccaaa actttggttt ggtaagaact aagccctctt 60

ctttcccttc tctctcttaa aagcctaaaa tccacctaac tttttcagcc aacaaacaac 120

gccaaattca gaggaagaat aatgatggct caagctacta ccatcaacaa tggtgtccat 180

actggtcaat tgcaccatac tttacccaaa acccagttac ccaaatcttc aaaaactctt 240

aatt 244

<210> 43
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 43
ccatacttta cccaaaaccc agttacccaa atcttcaaaa actcttaatt ttggatcaaa 60

cttgagaatt tctccaaagt tcatgtcttt aaccaataaa agagttggtg ggcaatcatc 120

aattgttccc aagattcaag cttctgttgc tgctgcagct gagaaacctt catctgtccc 180

agaaattgtg ttacaaccca tcaaagagat ctctggtact gttcaattgc ctgggtcaaa 240

gtctttatcc 250

<210> 44
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 44
tcaaagagat ctctggtact gttcaattgc ctgggtcaaa gtctttatcc aatcgaatcc 60

ttcttttagc tgctttgtct gagggcacaa cagtggtcga caacttgctg tatagtgatg 120

atattcttta tatgttggac gctctcagaa ctcttggttt aaaagtggag gatgatagta 180

cagccaaaag ggcagtcgta gagggttgtg gtggtctgtt tcctgttggt aaagatggaa 240

aggaagagat 250

<210> 45
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 45
gagggttgtg gtggtctgtt tcctgttggt aaagatggaa aggaagagat tcaacttttc 60

cttggtaatg caggaacagc gatgcgccca ttgacagctg cggttgccgt tgctggagga 120

aattcaagtt atgtgcttga tggagtacca agaatgaggg agcgccccat tggggatctg 180

gtagcaggtc taaagcaact tggttcagat gtagattgtt ttcttggcac aaattgccct 240

cctgttcggg 250

<210> 46
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 46
tggttcagat gtagattgtt ttcttggcac aaattgccct cctgttcggg tcaatgctaa 60

aggaggcctt ccaggggca aggtcaagct ctctggatcg gttagtagcc aatatttaac 120

tgcacttctc atggctactc ctttgggtct tggagacgtg gagattgaga tagttgataa 180

attgatttct gtaccgtatg ttgaaatgac aataaagttg atggaacgct ttggagtatc 240

cgtagaacat 250

<210> 47
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 47
ttgaaatgac aataaagttg atggaacgct ttggagtatc cgtagaacat agtgatagtt 60

gggacaggtt ctacattcga ggtggtcaga aatacaaatc tcctggaaag gcatatgttg 120

agggtgatgc ttcaagtgct agctacttcc tagccggagc cgccgtcact ggtgggactg 180

tcactgtcaa gggttgtgga acaagcagtt tacagggtga tgtaaaattt gccgaagttc 240

ttgagaagat 250

<210> 48
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 48
acaagcagtt tacagggtga tgtaaaattt gccgaagttc ttgagaagat gggttgcaag 60

gtcacctgga cagagaatag tgtaactgtt actggaccac ccagggattc atctggaaag 120

aaacatctgc gtgctatcga cgtcaacatg aacaaaatgc cagatgttgc tatgactctt 180

gcagttgttg ccttgtatgc agatgggccc accgccatca gagatgtggc tagctggaga 240

gtgaaggaaa 250

<210> 49
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 49
agatgggccc accgccatca gagatgtggc tagctggaga gtgaaggaaa ccgaacggat 60

gattgccatt tgcacagaac tgagaaagct tggggcaaca gttgaggaag gatctgatta 120

ctgtgtgatc actccgcctg aaaagctaaa ccccaccgcc attgaaactt atgacgatca 180

ccgaatggcc atggcattct ctcttgctgc ctgtgcagat gttcccgtca ctatccttga 240

tccgggatgc 250

<210> 50
<211> 257
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 50
ctcttgctgc ctgtgcagat gttcccgtca ctatccttga tccgggatgc acccgtaaaa 60

ccttcccgga ctactttgat gttttagaaa agttcgccaa gcattgatga gtagctatat 120

acgagatcct taaattgtac gccgaaggtt ttgatttgag tctaatagta gataaaaggc 180

tataaataaa ctggctttct gcttgagtaa ttatgaaatt ctttgtatta tgtttgtgag 240

atttgaagta gcttata 257

<210> 51
<211> 273
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 51
taattatgaa attctttgta ttatgtttgt gagatttgaa gtagcttata aattacaatg 60

tactaaagtc tagaaataag ttatgtatct tttaaatcaa tgagaaatgc atacttgaaa 120

ggcttgacct tgtatttgtg acctaaagag tactaacttt ggagtttcca actcatttgt 180

ttatctcatt ttttttaat ttttgattta aattgtttat ttttatgagt aatcatgtat 240

ctttcttatt ctaaccaaat gtaatactcc ttc 273

<210> 52
<211> 301
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 52
tatgagtaat catgtatctt tcttattcta accaaatgta atactccttc caactctctt 60

taaacgtcca cactctgggc acagagtgta atagtgtggt ggttggagtc ttttaagtga 120

ttataataat tgtaaatgtg gtagttagaa tattttaagt aatgtaggtg gggtattatg 180

gtcttgttga acataggata tttaggtaaa aaatctatgc aaaaaaagga aagtaagcaa 240

ataaagcgaa ttgacctgaa aagaaaagtg gacatgtata gtgagttgga ggaagtattt 300

t 301

<210> 53
<211> 1710
<212> ADN

7782 Listado de secuencias traducido

<213> Lactuca sativa

<400> 53

atgtctctgt ttggaaatgt ttctgccatt aactcaagtg gaaagtgtat agtaatgaat 60

ctttcaagca cacaaatcac ttcaagagat tgtttcaaga ttacctcagg gcaaaaagat 120

gttttgtcat ttggatgctg tgatgctatg ggtaacagat tgcaattccc aagtgctcgt 180

tcttttacac caagatcaaa gaagaatgtc tcccctctaa aggtagtttg tgttgattat 240

ccaagaccag atcttgataa cacatctaat ttcttggaag ctgctcactt gtcttcaacc 300

ttcagaactt ccccacgccc atctaagcca ttgaagattg taattgctgg tgcaggttta 360

gctggtttat caactgctaa gtatttagct gatgcaggtc acaagccaat tttactagaa 420

gcaagagatg ttcttggtgg aaaggtggca gcttggaaag atgatgatgg agattggtat 480

gagacaggtt tacacatatt ctttggagct tacccaaatg tacaaaattt atttggagag 540

ctaggaatta atgatagatt acagtggaag gagcattcta tgatatttgc aatgccaaat 600

aagcctggag aatttagtag gtttgacttc ccagatgttt tacctgcacc attgaatgga 660

atttttgcta tattgaggaa caatgaaatg ctgacgtggc ctgagaaagt gaagtttgca 720

attgggctgt tgcctgcaat gttaggtgga caggcttatg ttgaggccca agatgggctt 780

agtgttcagg actggatgag aaagcaaggt atacctgatc gagttactac tgaagtgttt 840

attgcaatgt caaaagcatt aaactttata aatccagatg aactttcaat gcaatgtatt 900

ctcattgctc taaaccgttt tcttcaggaa aagcatggtt ccaagatggc atttttagat 960

gggagcccac cagaaagact ttgcaagcca attgttgacc acatcgagtc actcggtggc 1020

caagtcagag tcaactcacg aatacaaaaa attgagttaa acaaagacgg aactgtccgg 1080

aactttctat tgagtgatgg gaatgttcta gaagctgatg cttatgtttt cgctacccct 1140

gttgacattc tcaagcttct ttacccgaa gaatggaaac caattccata tttcaaaaaa 1200

ttagagaagt tagtcggtgt tcctgttata aacgttcata tatggtttga cagaaagctg 1260

aaaaacacat atgatcactt acttttcagt aggtcacctc tgctgagtgt gtatgctgac 1320

atgtcagtga catgtaagga atattatgat ccgaataagt caatgttgga gttggttctt 1380

gctccagctg aggaatggat ttcaagaagt gacactgata ttattgatgc aacaatgagt 1440

gaactttcaa ggctttttcc tgatgaaatt gcagctgatc aaagtaaagc aaaaatcttg 1500

aaatataaag ttgttaaaac accaaggtct gtttataaaa ctgttccaga ttgtgaacca 1560

tgtcgacccc tacaaagatc tccaattcaa ggattttatt tatctggtga ttatactaaa 1620

caaaagtatt tggcttcaat ggggggtgct gttttatctg gaaaaatttg tgcacaagct 1680

attttacaag attatgagat gcttgctaca 1710

<210> 54
<211> 42
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 54
taatacgact cactataggg tttggagctt acccaaatgt ac 42

<210> 55
<211> 45
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 55
taatacgact cactataggg aggccacgtc agcatttcat tgttc 45

<210> 56
<211> 23
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 56
ccattcaatg gtgcaggtaa aac 23

<210> 57
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 57
catagaatgc tccttccact g 21

<210> 58
<211> 33
<212> ADN
<213> secuencia artificial

7782 Listado de secuencias traducido

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 58
caaataaatt ttgtacattt gggtaagctc caa 33

<210> 59
<211> 2349
<212> ADN
<213> Solanum lycopersicum

<400> 59
gggtttatct cgcaagtgtg gctatggtgg gacgtgtcaa attttggatt gtagccaaac 60

atgagatttg atttaaaggg aattggccaa atcaccgaaa gcaggcatct tcatcataaa 120

ttagtttgtt tatttataca gaattatacg cttttactag ttatagcatt cggtatcttt 180

ttctgggtaa ctgccaaacc accacaaatt tcaagtttcc atttaactct tcaacttcaa 240

cccaaccaaa tttatttgct taattgtgca gaaccactcc ctatatcttc taggtgcttt 300

cattcgttcc gagtaaaatg cctcaaattg gacttgtttc tgctgttaac ttgagagtcc 360

aaggtagttc agcttatctt tggagctcga ggtcgtcttc tttgggaact gaaagtcgag 420

atggttgctt gcaaaggaat tcgttatgtt ttgctggtag cgaatcaatg ggtcataagt 480

taaagattcg tactccccat gccacgacca gaagattggt taaggacttg gggcctttaa 540

aggtcgtatg cattgattat ccaagaccag agctggacaa tacagttaac tatttggagg 600

ctgcattttt atcatcaacg ttccgtgctt ctccgcgccc aactaaacca ttggagattg 660

ttattgctgg tgcaggtttg ggtggtttgt ctacagcaaa atatttggca gatgctggtc 720

acaaaccgat actgctggag gcaagggatg ttctaggtgg aaaggtagct gcatggaaag 780

atgatgatgg agattggtac gagactggtt tgcatatatt ctttggggct tacccaaata 840

ttcagaacct gtttggagaa ttagggatta acgatcgatt gcaatggaag gaacattcaa 900

tgatatttgc aatgccaagc aagccaggag aattcagccg ctttgatttc tccgaagctt 960

tacccgctcc tttaaatgga attttagcca tcttaaagaa taacgaaatg cttacatggc 1020

cagagaaagt caaatttgca attggactct tgccagcaat gcttggaggg caatcttatg 1080

ttgaagctca agatgggata agtgttaagg actggatgag aaagcaaggt gtgccggaca 1140

gggtgacaga tgaggtgttc attgctatgt caaaggcact caactttata aaccctgacg 1200

aactttcaat gcagtgcatt ttgatcgcat tgaacaggtt tcttcaggag aaacatggtt 1260

caaaaatggc ctttttagat ggtaatcctc ctgagagact ttgcatgccg attgttgaac 1320

acattgagtc aaaaggtggc caagtcagac tgaactcacg aataaaaaag attgagctga 1380

atgaggatgg aagtgtcaag agttttatac tgagtgacgg tagtgcaatc gagggagatg 1440

cttttgtgtt tgccgctcca gtggatattt tcaagcttct attgcctgaa gactggaaag 1500

agattccata tttccaaaag ttggagaagt tagtcggagt acctgtgata aatgtacata 1560

tatggtttga cagaaaactg aagaacacat atgatcattt gctcttcagc agaagctcac 1620

tgctcagtgt gtatgctgac atgtctgtta catgtaagga atattacaac cccaatcagt 1680

ctatgttgga attggttttt gcacctgcag aagagtggat atctcgcagc gactcagaaa 1740

ttattgatgc aacgatgaag gaactagcaa cgctttttcc tgatgaaatt tcagcagatc 1800

aaagcaaagc aaaaatattg aagtaccatg ttgtcaaaac tccgaggtct gtttataaaa 1860

ctgtgccagg ttgtgaaccc tgtcggcctt tacaaagatc cccaatagag gggttttatt 1920

tagccggtga ctacacgaaa cagaaatact tggcttcaat ggaaggcgct gtcttatcag 1980

gaaagctttg tgctcaagct attgtacagg attatgagtt acttgttgga cgtagccaaa 2040

agaagttgtc ggaagcaagc gtagtttagc tttgtggtta ttatttagct tctgtacact 2100

aaatttatga tgcaagaagc gttgtacaca acatatagaa gaagagtgcg aggtgaagca 2160

agtaggagaa atgttaggaa agctcctata caaaaggatg gcatgttgaa gattagcatc 2220

tttttaatcc caagtttaaa tataaagcat attttatgta ccactttctt tatctggggt 2280

ttgtaatccc tttatatctt tatgcaatct ttacgttagt taaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2340

aaaactcga 2349

<210> 60
<211> 200
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 60
tcgcagcgac tcagaaatta ttgatgcaac gatgaaggaa ctagcaacgc tttttcctga 60

tgaaatttca gcagatcaaa gcaaagcaaa aatattgaag taccatgttg tcaaaactcc 120

gaggtctgtt tataaaactg tgccaggttg tgaaccctgt cggcctttac aaagatcccc 180

aatagagggg ttttatttag 200

<210> 61

<211> 43
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 61
taatacgact cactataggg tcgcagcgac tcagaaatta ttg 43

<210> 62
<211> 45
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 62
taatacgact cactataggg gtaaaggccg acagggttca caacc 45

<210> 63
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 63
cuaccaucaa caaugguguc c 21

<210> 64
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 64
ggacaccauu guugauggua g 21

<210> 65
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 65
gucgacaacu ugcuguauag u 21

<210> 66
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 66
acuauacagc aaguugucga c 21

<210> 67
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 67
ggucaccugg acagagaaua g 21

<210> 68
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 68
cuauucucug uccaggugac c 21

<210> 69
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 69
aaugccagau guugcuauga c 21

<210> 70
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

7782 Listado de secuencias traducido

<400> 70
gucauagcaa caucuggcau u 21

<210> 71
<211> 2827
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 71
atggcaacaa tggcttccct agtgagtttg ggaagctctg gagcaacttg ctcagggcaa 60
ttggaggttt ccttttcatt ggttaagaaa attacattgc ctagaagaaa ttgtagttgc 120
aattttaggc aattaggagg ggggaggaga tggcgttacg tttcggtgtg tagactttct 180
gtcactactg attatgtttc tgagcaagga aatgctgttt ctcttgaaaa tgcatatagt 240
gagagtaaag aagagggtct catcttgaag ccttctccta agccggtttt gaaatccggg 300
tctgatggaa atcggaaatt tggggagagt tcggtggcgt tttcgagtaa tgggaaattg 360
gataatgtag aggagaggaa gaaggttatt gattcattgg atgaggtatt agaaaaggcc 420
gagagattag aaacggcgaa cttacaagca gataatagaa aggatagcac aaatgtaaat 480
aaaccgtctc cgagtgtaag tagttcaacc aatggtaaac ctgtaaataa tttgaacaaa 540
gggaagccta aagctgcgaa gagcgtttgg agaaagggaa atccagtttc tactgtgcaa 600
aaagtagtgc aagaatctcc gaagattgaa aaggttgaga gagtggaagc tcgaacgacc 660
agccaatcgt ctgaaacgat aagaccccca gtgccactac agaggcctga gattaagttg 720
caggcaaagc cttctactgc tcctccaccc atgcctaaga agccggtttt gaaggatgtg 780
gggatgtcct ccagagctga tgggaaggac cagtctgtga aatctaaaga gaggaagcct 840
attctagtgg acaaatttgc caccaagaag gcatcagttg atccgtcgat tgctcaagca 900
gtaattgccc caccaaaacc tgctaaattt ccttctggaa agtttaaaga tgattatcgg 960
aagaagggtc ttgcagctgg tgggccgaag aggcgtatgg tcaatgatga tgatattgaa 1020
atgcatgaag acacttcaga gctcggtctt tctattcctg gtgctgctac ggctcggaaa 1080
ggcaggaaat ggagtaaggc aagtcgcaag gctgccagac gccaagcagc tagagatgcc 1140
gctcctgtta aagtggaaat cttagaggtt gaagaaaagg gcatgtcgac cgaagaatta 1200
gcatacaact tggctattag cgaaggtgaa attcttgggt acctgtattc taaggggata 1260
aaaccagatg gtgtgcaaac tcttgacaag gcaatggtaa agatgatatg tgaaagatat 1320
gacgtggagg ttttggacgc actttctgaa caaatggaag aaatggctcg aaagaaggaa 1380

attttcgacg aagatgacct tgacaagctt gaagataggc ctcctgtgct tactataatg 1440

ggtcatgtag atcatggcaa gacgaccctt ctggattata tacggaagag caaggttgct 1500

gcttctgaag ctggtgggat tacacaaggt attggtgctt ataaagtgga agtaccggtt 1560

gatggcaagt tgctgccttg tgtctttctt gacactcccg gacacgaggc gttcggggca 1620

atgagggctc gtggagcaag agtgacagat attgctatta tagttgtagc tgctgacgat 1680

gggatccgtc ctcaaacaaa tgaagccata gcacatgcaa aagcagctgg tgtacctatt 1740

gtggttgcaa ttaataagat tgacaaggat ggggctaatc cggaccgtgt gatgcaagag 1800

ctttcatcaa ttggtctaat gccagaggat tggggtggtg ataccccaat ggtcaagata 1860

agtgctctaa aaggtgaaaa tgtggacgag ttactcgaga cagccatgct tgtcgccgag 1920

ttgcaagagt taaaggctaa tcctcagagg aacgctaagg gcactgtaat tgaggctggt 1980

cttcataaat caaaaggacc cattgccact tttattgtgc agaatggtac cctcaaacaa 2040

ggggatactg tagtttgtgg ggaagcattt gggaaggttc gtgccctatt tgatcacgga 2100

gggaatcgcg ttgatgaagc tggtccatct attcccgtgc aggttattgg attgaataat 2160

gttccttttg ccggtgatga gttcgaggta gtgagttccc ttgatatagc tcgtgaaaag 2220

gcagaggtcc gtgcagagtc tttacgaaat gagcgtatag ctgctaaggc cggagacgga 2280

aaggttacgc tgtcatcctt ggcatcggct gtttcttcag ggaagatggc tggtttggat 2340

ttgcaccagt taaatatcat tttgaaggtt gatgttcagg gatcaatcga ggcattgagg 2400

caagctctag aagttcttcc tcaagataac gtcactttga agtttctctt acaagcgacc 2460

ggagatgtta ctacaagtga tgttgatctt gcagttgcta gtaaagctat tatcttgggg 2520

ttcaatgtga aggcaccagg ttctgtcgaa aaattagcag ataacaaagg tgttgaaatt 2580

cggctttata aagtcattta tgatctaatt gacgacatgc ggagtgcaat ggaaggaatg 2640

ctagatcccg ttgaggaaca agttgcaatt ggttcagccg aagtgcgggc tacattcagt 2700

agtggtagtg gccgtgtcgc tggatgcatg gtgaccgagg gaaagattac caaaggctgt 2760

gggattcgag tgatacggaa gggaaaaact gtccacgttg gagttcttga ttcgttgcgt 2820

cgagtaa 2827

<210> 72
<211> 200
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 72
tttcgagtaa tgggaaattg gataatgtag aggagaggaa gaaggttatt gattcattgg 60

atgaggtatt agaaaaggcc gagagattag aaacggcgaa cttacaagca gataatagaa 120

aggatagcac aaatgtaaat aaaccgtctc cgagtgtaag tagttcaacc aatggtaaac 180

ctgtaaataa tttgaacaaa 200

<210> 73
<211> 160
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 73
uucgaguaau gggaaauugg auaauguaga ggagaggaag aagguuauug auucauugga 60

ugagguauua gaaaaggccg agagauuaga aacggcgaac uuacaagcag auaauagaaa 120

ggauagcaca aauguaaaua aaccgucucc gaguguaagu 160

<210> 74
<211> 160
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 74
acuuacacuc ggagacgguu uauuuacauu ugugcuaucc uuucuauuau cugcuuguaa 60

guucgccguu ucuaaucucu cggccuuuuc uaauaccuca uccaaugaau caauaaccuu 120

cuuccucucc ucuacauuau ccaauuuccc auuacucgaa 160

<210> 75
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 75
atttctccaa acgctcttcg ca 22

<210> 76

<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 76
atccaatttc ccattactcg aa 22

<210> 77
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 77
gtttctaatc tctcggcctt tt 22

<210> 78
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 78
ttgaactact tacactcgga g 21

<210> 79
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 79
taaccttctt cctctcctct a 21

<210> 80
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 80
gtccttccca tcagctctgg a 21

7782 Listado de secuencias traducido

<210> 81
<211> 20
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 81
cgtagcagca ccaggaatag 20

<210> 82
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 82
cagcagctac aactataata g 21

<210> 83
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 83
cuaccaucaa caaugguguc cauac 25

<210> 84
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 84
guauggacac cauuguugau gguagua 27

<210> 85
<211> 23
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 85
aguuggguggg caaucaucaa uug 23

<210> 86
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 86
aacaauugau gauugcccac caacucu 27

<210> 87
<211> 24
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 87
ggucgacaac uugcuguaua guga 24

<210> 88
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 88
aucacuauac agcaaguugu cgaccuc 27

<210> 89
<211> 24
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 89
ugcaagguca ccuggacaga gaaa 24

<210> 90
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 90
uauucucugu ccaggugacc uugcaac 27

<210> 91
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 91
aacaugaaca aaaugccaga u 21

<210> 92
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 92
aucuggcauu uuguucaugu u 21

<210> 93
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 93
guauggacac cauuguugau gguagua 27

<210> 94
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 94
uacuaccauc aacaauggug uccauac 27

<210> 95

<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 95
aauaauugau gauugcccac caacucu 27

<210> 96
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 96
agaguuggug ggcaaucauc aauuauu 27

<210> 97
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 97
aucacuauac agcaaguugu cgaccac 27

<210> 98
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 98
guggucgaca acuugcugua uagugau 27

<210> 99
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 99
uauucucugu ccaggugacc uugcaac 27

<210> 100
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 100
guugcaaggu caccuggaca gagaaua 27

<210> 101
<211> 29
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 101
gguauggaca ccauuguuga ugguaguac 29

<210> 102
<211> 29
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 102
gcuaccauca acaauggugu ccauaccac 29

<210> 103
<211> 29
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 103
gaagaauuga ugauugccca ccaacucac 29

<210> 104
<211> 29
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

7782 Listado de secuencias traducido

<400> 104
gaguuggugg gcaaucauca auuauucac 29

<210> 105
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 105
gaucacuaua cagcaaguug ucgacac 27

<210> 106
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 106
gucgacaacu ugcuguauag ugaucac 27

<210> 107
<211> 29
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 107
guauucucug uccaggugac cuugcacac 29

<210> 108
<211> 29
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 108
gugcaagguc accuggacag agaauacac 29

<210> 109
<211> 58
<212> RNA
<213> secuencia artificial

7782 Listado de secuencias traducido

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 109
guauggacac cauuguugau gguaguagaa auacuaccau caacaauggu guccauac 58

<210> 110
<211> 58
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 110
aauaauugau gauugcccac caacucugaa aagaguuggu gggcaaucau caauuauu 58

<210> 111
<211> 58
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 111
aucacuauac agcaaguugu cgaccacgaa aguggucgac aacuugcugu auagugau 58

<210> 112
<211> 58
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 112
uauucucugu ccaggugacc uugcaacgaa aguugcaagg ucaccuggac agagaaua 58

<210> 113
<211> 168
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 113
gaucacaaau uugccgguuu augaucaaau acggaacaua agacagauac acuugaacac 60

caugauucgc auuggggugg ugguuacucg ucguucugga guauucccuc aguugaugca 120

ggugaaguau gacugcaaua aauguggggc uauccugggu cccuuuuu 168

<210> 114
<211> 168
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 114
aaaaagggac ccaggauagc cccacauuua uugcagucau acuucaccug caucaacuga 60

gggaauacuc cagaacgacg aguaaccaca cccccaaugc gaaucauggu guucaagugu 120

aucugucuua uguuccguau uugaucauaa accggcaaau uugugauc 168

<210> 115
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 115
uuuucuaaua ccucauccaa ugaau 25

<210> 116
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 116
auucauugga ugagguauua gaaaa 25

<210> 117
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 117
uaucugcuug uaaguucgcc guuuc 25

<210> 118
<211> 25

7782 Listado de secuencias traducido

<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 118
gaaacggcga acuuacaagc agaua 25

<210> 119
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 119
ggagacgguu uauuuacauu ugugc 25

<210> 120
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 120
gcacaaaugu aaauaaaccg ucucc 25

<210> 121
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 121
uauuuacagg uuuaccauug guuga 25

<210> 122
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 122
ucaaccaaug guaaaccugu aaaua 25

7782 Listado de secuencias traducido

<210> 123
<211> 185
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 123
gacggaaacc cuccagagag gcugugcaug ccuauuguua aacacaucga gucacuaggu 60

ggugaaguua aacuuaacuc ucguauacaa aagauucagu uggaccagag uggaagcgug 120

aagaguuuuu ugcuaaauaa cgggagggaa auacgaggag augccuaugu uuuugccacc 180

ccagu 185

<210> 124
<211> 185
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 124
acuggggugg caaaaacaua ggcaucuccu cguauuuccc ucccguuauu uagcaaaaaa 60

cucuucacgc uuccacucug guccaacuga aucuuuugua uacgagaguu aaguuuaacu 120

ucaccaccua gugacucgau guguuuaaca auaggcaugc acagccucuc uggaggguuu 180

ccguc 185

<210> 125
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 125
gtgatattac ctccaacacg at 22

<210> 126
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 126
atagtaagca caggatcgga g 21

<210> 127
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 127
ctttcaatcc actgtcaacc g 21

<210> 128
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 128
atcaagcgtt cgaagacctc at 22

<210> 129
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 129
cagcaatggc ggtaggtaac a 21

<210> 130
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 130
gcaattgccc gaatcctttt a 21

<210> 131
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 131
tagctcaata tcaaggtcct a 21

<210> 132
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 132
tcataagcac cctctataca c 21

<210> 133
<211> 20
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 133
ttcttaacct cgtcgagatg 20

<210> 134
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 134
atacccgagt atccttgcaa a 21

<210> 135
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 135
tagggcccac ggccttggag t 21

<210> 136
<211> 21

<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 136
agcggatata acctcagcta g 21

<210> 137
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 137
cttcgtggcc caacgaatga c 21

<210> 138
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 138
caagctcggg tccctgcttg c 21

<210> 139
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 139
ggaaggtaga tgacatgagt t 21

<210> 140
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 140
gatggcatag ttaccactgt c 21

<210> 141
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 141
tccgtagctt acataccgaa g 21

<210> 142
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 142
tccaagtgaa taggagaaac a 21

<210> 143
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 143
agcagcttct gcgtcttcta c 21

<210> 144
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 144
acagcacgca cgccaagacc g 21

<210> 145
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 145
cgatgtaagg aatttggtaa a 21

<210> 146
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 146
cgaggggatt gcagcagaag a 21

<210> 147
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 147
gtaggagaat acggtgaagt a 21

<210> 148
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 148
gaccccaaga aaatcgtctg c 21

<210> 149
<211> 19
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 149
gtcttacaag ggttctcaa 19

<210> 150
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 150
atctatgttc acctccctgt g 21

<210> 151
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 151
ataaaccatt agctttcccg g 21

<210> 152
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 152
tttattggaa caagcggagt t 21

<210> 153
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 153
tatagcacca cttcccgata g 21

<210> 154
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 154
gcaccacgag gatcacaaga a 21

<210> 155
<211> 21

<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 155
ccacccgaga aacctctcca a 21

<210> 156
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 156
cagtcttgac gagtgattcc t 21

<210> 157
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 157
gttcttcagg gctaaatcgg ga 22

<210> 158
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 158
gttcaagagc ttcaacgaga ac 22

<210> 159
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 159
atacaaactc caacgcgtcc ag 22

7782 Listado de secuencias traducido

<210> 160
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 160
ctcttggaaa gcatcagtac ca 22

<210> 161
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 161
ctagaaagat acccacccaa tt 22

<210> 162
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 162
actagaattc aaacacccac cc 22

<210> 163
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 163
tttctgctca ttcaactcct cc 22

<210> 164
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 164
tatgtatgtg cccggttagc tt 22

<210> 165
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 165
tcatatccaa gccagatcct c 21

<210> 166
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 166
tgcatcacac atcaccaaga t 21

<210> 167
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 167
gtactcctgt tcaatgccat a 21

<210> 168
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 168
attgatacca gcatagagac a 21

<210> 169
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 169
agcaattctc tctagaatgt a 21

<210> 170
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 170
catcattcct catcgactta g 21

<210> 171
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 171
ctctcgttgc cctctccata a 21

<210> 172
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 172
caacgcccca ggagaaagtt c 21

<210> 173
<211> 195
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 173
cugaagcugg ugaaggugaa gauggacgaa ugaaaucugc gauuggaauu gggacccuuc 60

uucaggaugg cuugggagau acgaucaggg ugucucuaac agaaccacca gaagaggaga 120

uagacccuug cagaagguug gcaaaucuug gaacaaaagc agcugaaauu cagcaaggag 180

uggcaccauu ugaag 195

<210> 174
<211> 195
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 174
cuucaaaugg ugccacuccu ugcugaauuu cagcugcuuu uguuccaaga uuugccaacc 60

uucugcaagg gucuaucucc ucuucuggug guucuguuag agacacccug aucguaucuc 120

ccaagccauc cugaagaagg gucccaauuc caaucgcaga uuucauucgu ccaucuucac 180

cuucaccagc uucag 195

<210> 175
<211> 183
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 175
ucccaucaaa guucccuaca aaauaugugc aguuuccuau cuuccuugcc gccauucaua 60

caaacuaugu ugauuguaca agguggcuug gugauuuugu ucuuucuaag aguguugaca 120

augagauugu acugugggag ccaauuauga aggagcaauc uccuggagag gguucaguug 180

aca 183

<210> 176
<211> 183
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 176
ugucaacuga acccucucca ggagauugcu ccuucauaau uggcucccac aguacaaucu 60

cauugucaac acucuuagaa agaacaaaau caccaagcca ccuuguacaa ucaacauagu 120

uuguaugaau ggcggcaagg aagauaggaa acugcacaua uuuuguaggg aacuuugaug 180

gga 183

7782 Listado de secuencias traducido

<210> 177
<211> 143
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 177
uugugcuuaa aacaucgacc agacagacaa uauuucuucc uguuguugga cuaguugauc 60

cugauacgcu gaaaccuggu gauuuaguug gugucaacaa agauaguuau cuuauccugg 120

acacucugcc gucggaauau gau 143

<210> 178
<211> 143
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 178
aucauauucc gacggcagag uguccaggau aagauaacua ucuuuguuga caccaacuaa 60

aucaccaggu uucagcguau caggaucaac uaguccaaca acaggaagaa auauugucug 120

ucuggucgau guuuuaagca caa 143

<210> 179
<211> 159
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 179
cgcugcaguu ggugaaguag aucccggcaa ggggauuuca cuccgguuuc cacgucuggu 60

ucguauccga gaggauaaau cuccagagga cgccacauca ucugagcagg uggcggauau 120

guacagaucu caagcaaaca auccacaccg caaaaagag 159

<210> 180
<211> 159
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 180
cucuuuuugc gguguggauu guuugcuuga gaucuguaca uauccgccac cugcucagau 60

gauguggcgu ccucuggaga uuuauccucu cggauacgaa ccagacgugg aaaccggagu 120

gaaaucccCu ugccgggauc uacuucacca acugcagcg 159

<210> 181
<211> 159
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 181
uaaagauggc ggaaaaaucg acuaugauaa auugauugac aaaauucggcu gucagcgacu 60

ugauuuaucg cucauucaga gaauugagcg caucacugcu cguccugcuc auguauuucu 120

ucgccgcaac guuuucuucg cucaccguga uuugaauga 159

<210> 182
<211> 159
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 182
ucauucaaau cacggugagc gaagaaaacg uugcggcgaa gaaauacaug agcaggacga 60

gcagugaugc gcucaauucu cugaaugagc gauaaaucaa gucgcugaca gccgaauuug 120

ucaaucaauu uaucauaguc gauuuuuccg ccaucuuua 159

<210> 183
<211> 150
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 183
ugaagcugau gcugaaggaa aggauauuga ugcuagugaa guaguucgcc caagggugcc 60

auuagaagcu ugccuagcua gcuacucagc uccggaggag gugauggacu ucuacagcac 120

ugcauugaag gcaaaggcaa cugcuacaaa 150

<210> 184

7782 Listado de secuencias traducido

<211> 150
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 184
uuuguagcag uugccuuugc cuucaaugca gugcuguaga aguccaucac cuccuccgga 60

gcugaguagc uagcuaggca agcuucuaau ggcacccuug ggcgaacuac uucacuagca 120

ucaauauccu uuccuucagc aucagcuuca 150

<210> 185
<211> 155
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 185
acaccugccc uaacaucucg ggguuuucuc gaagaagauu uuguuaaagu ggccgaguau 60

uuugaugcug cuguuaagcu ggcucuaaaa aucaaggcug acacaaaagg aacaaaguug 120

aaggacuucg uugccaccuu gcagucuggu guuuu 155

<210> 186
<211> 155
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 186
aaaacaccag acugcaaggu ggcaacgaag uccuucaacu uuguuccuuu ugugucagcc 60

uugauuuuua gagccagcuu aacagcagca ucaaaauacu cggccacuuu aacaaaaucu 120

ucuucgagaa aaccccgaga uguuagggca ggugu 155

<210> 187
<211> 159
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 187
ugaacuacga agcaggcaaa uucuccaaaa guaaaggcau uggaguuuuu gggaaugacg 60

ccaagaauuc uaauauaccu guagaagugu ggagauacua ucugcuaaca aacaggccug 120

agguaucaga cacauuguuc acuugggcgg aucuucaag 159

<210> 188
<211> 159
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 188
cuugaagauc cgcccaagug aacaaugugu cugauaccuc aggccuguuu guuagcagau 60

aguaucucca cacuucuaca gguauauuag aauucuuggc gucauuccca aaaacuccaa 120

ugccuuuacu uuuggagaau uugccugcuu cguaguuca 159

<210> 189
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 189
tcccatctcc cacatgggtt actg 24

<210> 190
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 190
cagtaaccca tgtgggagat ggga 24

<210> 191
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 191
ggctgatgaa attcaagtgc ta 22

<210> 192
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 192
aaactgagct tggaaataat c 21

<210> 193
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 193
gaacccaaaa ttgtcacttt tt 22

<210> 194
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 194
atgcacttgt ttatactctt gtca 24

<210> 195
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 195
atttattagt gttctaaaga a 21

<210> 196
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 196
tgtagtagct tataagatta gctt 24

<210> 197
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 197
gttgtccctt ttatgggtct tt 22

<210> 198
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 198
cccgtgcaat ttctgggaag c 21

<210> 199
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 199
attagttttt tatacacgaa agat 24

<210> 200
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 200
atctttcgtg tataaaaaac taat 24

<210> 201
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

7782 Listado de secuencias traducido

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 201
ttggtggttt ggccacttcc gt 22

<210> 202
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 202
tttgtttgct atttagctgg a 21

<210> 203
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 203
caatttgcag caactcgcac tgga 24

<210> 204
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 204
tcccaccatt ggctattccg ac 22

<210> 205
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 205
ctgtctctct ttttaatttc t 21

<210> 206
<211> 24

<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 206
ccactttgca cacatctccc actt 24

<210> 207
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 207
gaggatccac gtatagtagt ag 22

<210> 208
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 208
tttaaataaa gaaattattt a 21

<210> 209
<211> 40
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 209
taatacgact cactataggg cttgagttta taacgaagct 40

<210> 210
<211> 39
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 210
taatacgact cactataggg cttctaattt tcaaggacg 39

<210> 211
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 211
agcttctaat tttcaaggac gata 24

<210> 212
<211> 25
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 212
gtcatgtgac tccactttga ttttg 25

<210> 213
<211> 25
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 213
ctcaattccg ataaatttaa gaaat 25

<210> 214
<211> 26
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 214
cgaagctatt ggaccgacct aatttc 26

<210> 215
<211> 26
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 215
ggaattgagg gcttcccaga aattgc 26

<210> 216
<211> 25
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 216
atgacttttt gattggtgaa actaa 25

<210> 217
<211> 45
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 217
taatacgact cactataggt ggaactccaa cacacaaaaa atttc 45

<210> 218
<211> 41
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 218
taatacgact cactataggt tgaaaaataa tcataatttt a 41

<210> 219
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 219
gcataatata ttgatccggt at 22

<210> 220
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 220
ctgaaagttc atacataggt actc 24

<210> 221
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 221
ggtactccaa ttttcagtat at 22

<210> 222
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 222
ctgaaaattg gagtacctat gtat 24

<210> 223
<211> 27
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 223
atgtatgaac tttcagaata ttatacc 27

<210> 224
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 224
taccggatca atatattatg ct 22

<210> 225
<211> 647

7782 Listado de secuencias traducido

<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 225
ttcaaaatga atttaaaatt atataaaaat caatatggac acaagaccgg atatcaatcc 60

gacccgaaat agttgacttg aaatcaacct gatgacccga atgaacacct ctagttatca 120

ctaacaaggg tcagattgcg tacatcaaac ccctcaaatc ctgcttaggt gggagcttgt 180

caatggctta ggggtaacgg gaatgtgtgt gctatgtaca ttgtgcatct attcttatgc 240

ttatttatgt tgagttagtt tttttttgg atcaaatata aagagcttaa cttttgtatt 300

ttcttgatgt ggtgtagtgg tgatgaagat caggctgaga gaatctaaat tggccaaaat 360

tctgagagaa caagaagtga gttcagccct tcgtgctgct ggtgttggtg tgattagttg 420

catcatacag agagatgaag ggcgaactcc gatgaggcat tcattctatt ggtcagcaga 480

aaaacaatat tatagtgagg agcctttact acgtcatttg gaaccccctc tatctatgta 540

tctcgagctg gtactagtct ctgaaccgat tgcctttctt ctgctttgtt attttgtgtg 600

atatttcgac ttaagtctaa tttacatcgt tttgtacatt tgttatc 647

<210> 226
<211> 738
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 226
ttttgctttt ttactattat ttccttcttt tcaaggattt gagttgttta ttgctgactg 60

cttcctatgt attacccata tgtctctgta taggcattac gggagctgta cctacatcta 120

actcctatac aacgtgtgaa tattgcccgg catcctaatc gccccacttt tcttgaccac 180

gtattcagca tcacagaaaa ggtttctgat ttattataat ttttgtcatt tgtattcact 240

cttcaataaa gtacatccat tatcaatctt tacggaggtt gttcacacaa cttcttgttt 300

cattttgcat aattagtttg tggaactaca tggagatcgt gctggttatg atgaccctgc 360

tatagttact ggccttggta cgatagatgg taggcgttat atgttcattg gtcatcaaaa 420

gggaagaaat acgaaggaaa atattgcacg gaatttcggg atgcctactc ctcatgggta 480

aatgctttac tataatgttt tactttaatt taattaccta tgttatttag gatgaaaatg 540

aatacttttc ttattactat tacttaggtt cctaatgcac aaaaaccgta attattaatg 600

taccctaatg gaattaacac atggtaatta agctctccgc tttgtgtaat taatccaatt 660

ttttagagag tcaaatagtt caggttaaac tagagctttt catacccaaa taataaaacc 720

aagggtaaat ttccaaaa 738

<210> 227
<211> 880
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 227
atgtgatcaa ttaaagaaaa agtctaatta tatgagcccg tctcacagtg acggagctat 60

catagagccc atggggtcac gtgcccttcg gggtttttag aaaaaattca aagtatactt 120

ttctattaat aagagtaaaa atgtaaaatt aatattaaac tcttttgata ataaatactc 180

tctcacttta gtaattttgt cttatttatt tattttatct catgtgttta ataaggtcag 240

ttgacttatt ttgttccatt ttcttttatg gtatgccgta tttaaaattt tagcaagtaa 300

agataaaata gttgttaatc ttacaaataa aactctatcg aaatttcatc cattagttaa 360

tgtccccaaa aagtccgaac tacaaatcga ccactgtcat cacatggtga gatagtctca 420

tataaaacga gttcagttat taaaggaaaa taggaaacac gaaacagtta atttaggcgg 480

ggcctatgta ttatccaaat gtgatactcc agtccacatt actcagtcct tccaattgaa 540

cagttggctt aatctaccaa gcgcgtggcc ataaatgcct ctaacacttt tcaatctctc 600

agataactct cacaccactt atcatcacaa ttcacaatta ctctaattct ttttattcct 660

ttccatgtcg ctaatttttct actgattcag gttttattct cagcttttat caattttatt 720

tcatgctttt tatgtcaatt tcttgtttcg cattttgtct tccacttgct gtctgtttta 780

ttaatcaatt ttgtatgatt gttggaataa ttgtatgtat ttttcatgat tttcctctta 840

tggaggttca taatgtattg ctagatttgt ttactttcac 880

<210> 228
<211> 453
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 228
aatttgagcg ggaaaatttt aatatcatta aatagtcttt gctttagtat atagaatagt 60

taaaattaat agtcaaactt attgtaatag catgcactaa tctataataa tcttatcctg 120

aaagctataa taaaattata aaaaaatata tgtgaaaaac taatttgagc gggaaaattt 180

taaccaaggg ctaacacgta tcattaaata gtctttactt tagtatatag aatgataatt 240

aacgatcata aaacaaaatt gtcactttca gtagcaaact tacaaaatga gcagagtacc 300

tcatatcata aaattgcttc tttctcattt gttgtgttgc tctcatttta ggagttcatc 360

gtttatatcg tcgtcttacc actcaatcac ttttagattt attagtagca cttcctcaat 420

ctacagcagc aatttctaca gttcaacaac ctc 453

<210> 229
<211> 3953
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 229
ggaaaattta cctagaataa tccaatttat tcgtgatttt tctacaaatt ccaacttcaa 60

ggggtatttg cctaaagtaa ttaaacttgg ataccccgat gacctgctat agtagataat 120

ttaccagaaa attaaaaatg aaaattaatt taaaattaga gaaaaatttt gaaatttcat 180

ataaaaaatt ttaaataata aaaaaaatat aaatttttt gaacatttta ttttaatcta 240

tctttttga aaaaataaaa cttagttata gcaagtgatc tggtcaccgg gtttactcta 300

ggaaaatatc cctcaaagtt gagattattc atggttaata aataggtgag attattatag 360

aaaaattacg aataaattgg attattgttg gtaatttttt tttcaaaact atccctagga 420

aggaccttat tagtgattct ccctctactt tggaggagta tattgtggac ttcccatctt 480

ccttaattgt attgtaactt ttaactattg attctttaaa aaaaagaact tataaaattg 540

tagggttaat aaaatctaag attttatcta atttcacttt gattattccg attttgtatt 600

cacattattt taaatgacat tcgtcaaata aaaaaaaata gtttcattgc attccaattt 660

tgttgactag ggggattaaa gaaagaatag tatcaataat cgtaatgtag caagtagtac 720

aaaagaagta tatttcaata tgtcaaactt tgatctcgtt gtaacttgta atttgtacga 780

tgcggtgtga atgacatact tcacctttt cattatttta tactggtagt gacatgggat 840

tattattgcg atatttgcag taatgaaaat ttttttggtt gttgctttta caaacaaaaa 900

ttctaccgaa ttttttatta atttaattca acacgttggt gttacccatg atttataggt 960

ctgggtccgc cactgctagc taacattaaa caatttaaca aactcaatac accaacctaa 1020

aaataaaatt tttttggcca taatttttag aattttagtt tttaaacatt atatttggga 1080

attttttttc cttttatata tataaaataa aaaaaaatcc aaaaaagggg acacacatta 1140

atacacactt gaaagcatcg atgatatcga agaaaaacca gatggggtgc ccaattatct 1200

tcgtctcctt cgatattatc gaattcatta acaacattat atcaaaaacc aaccaaatta 1260

ccaactttcg aaaccaatat tcgccgtatt tttctctatt caacaatccc tacaatggcg 1320

gcattgccag cttcttcttc tcctgcaatt tcggaatcac ccacttgcaa ttttcttcct 1380

7782 Listado de secuencias traducido

attcaaaaaa tcactaccac tcgctttcta aggtttcatt cggttttact cccaagccta 1440
aatttggcct tttctccaag gtttattttc tatctctttt ttaattggtt aatcaattgg 1500
attgttgaat ttttcagggt ttaacggtat aatatttgtg ggtttttttcg agtacattct 1560
gggtttgtag tattggattt ggcattgctt ttaatttttg agattgggtt ttttgggttt 1620
tatttggttc ttgtgattca aggttattga tttgctgcat taaactgtat ttatggaatg 1680
atgtcaatta actgttacat tacattgctt tatggttttc atcatgctga ttagtgatta 1740
ctgtgtttga atctcttgct tctctatgta ctatttaatc tgatacaaca agtacaacct 1800
agaaaacagg ttaaagggaa atctataagc ttagtaaatt aacacttgaa agaagctaat 1860
gacggagaga ggggtctttt tggagaaggc agttttcata ttattgctca gttctctagt 1920
gcagctttac ttcacttaga cactcttaag tagaggtcat aggtgttcag aatagatcca 1980
aagacccgat atttaccgga ctttgtaaac aacttaaccc gacttcaaaa tgaatttaca 2040
atcatataaa agcaatatgg acttaaaccg attttgaacc gaccttgacc ggttgatccg 2100
aatgaatgcc tctactctta agcatgtcaa ctgtaatatg aaatagaatt ataatataaa 2160
ctaagttcat gttttcttca actacaaatg aaattttatg acccaaataa tgtgtgaata 2220
cccccagcaa taggttgaat ggcatttagt tcagttgatt ttagcagacc acatctgccc 2280
tcatattcca ttgttcagtt tagttgttag tagctgtaca taatagacta attaagttgt 2340
cattttgatc catgttatgg ttgtctggga taaacggatt ggaattgtat aataaaagtt 2400
tgggttagtt tattttgctc taggaggggt tatgtcatat gtgcactctg ttggcaaccc 2460
gacaatgcaa aacattttca tacttggtac gttgttgcgt gttttgtgcc cttcgtattt 2520
tgtaactgtt gatgaatgtg taaaaatata ctacatgatc atatgctagt aggtcttctt 2580
cacctagtaa agaaattttt ctaacacgag aagttcaaaa catattccca ttaccattat 2640
ccaacatcag tacccgagtc caagtaacat agggtgtccc tttatgatag tataagaatt 2700
ggtgcatgaa aaacgcgtga ttgtagcgag gatagtaggc gggagaggta caggatttga 2760
aaattttgaa ttgctaaaac gctatcagga tcttgttttt cttactttga tgttgctttt 2820
ttgaaatttg atccaaattg ttaaattatt gagactaatt cctgttgatc ctgtcgtgaa 2880
ctttgtagaa tctttcaggc cgcattctca cagtgaaggc tcaattaaac aaggtgagtc 2940
ttttttttgtc ttaactctta tgcagttcat tatctcttct actgatgaga aaaccactat 3000
ttggcctaat tctaatttcc ttctaggttg ctttggatgg ttcaaatcat gctccatcac 3060

cttcgcacga aaaatctggg ctaccagccc aagaaaagaa gaacgatgag ccgtctagtg 3120

aatcttctcc tgcagcatca gtgtctgaag aacgagtctc cgaattcttg agccaagttg 3180

ccggtcttgt caagtatgta acattcttta ttttcattct tccacacact cgcaatttgg 3240

ataacgagat gtctttagag acgtctgggg aacaagggag aaatgagtct agaggttgct 3300

agagagaacg agataaatac taatatatat gaatatttca taatccacat taaaaaaata 3360

caattgaatt tgcattatgg tgaactacca aagaatcgaa tatttttaa tactccatgt 3420

tttgtggtct agacttgtgg attctagaga cattgtagag ttgcaattaa aacaactgga 3480

ctgtgagata ttgatccgca agcaggaagc tattcctcaa ccacaaattc ctaatcctac 3540

acatgtcgtt gcaatgcaac caccaccacc tgctgtagcg tctgccccag ctcccgtctc 3600

ttcaccagcc actcctcgtc ctgcgttacc tgccccagcg cctgctgcca cgtcagctaa 3660

gccatcactt ccacctctca agagccctat gtcaggcaca ttctaccgta gtccagctcc 3720

tggcgagccg cctttcgtga aggtaagtgt ataccccttt tttagtgttg tatttctgtg 3780

ttatatcaat ttttgcattt tgtgaagctg aaaataaatc tttcattttc cataggttgg 3840

agataaagtt aagaaaggac aagtcatatg cattatcgag gctatgaagt tgatgaatga 3900

aatcgaggta cgtatgttat tgctttaaac ttcatgcctt aggccgtgaa gtt 3953

<210> 230
<211> 595
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 230
acaaaaagca caaattcaat aatatactct ttaagtttgt ttatcttcta attagttcgg 60

ttaaaacggt tccccacttt cttctccgac tctcacaatt atcttcccct attcattttt 120

cttccaccct ctctaatggc ggctgtttcc ttcaatatca atggtggaaa gattggaact 180

ttatgttcaa gacacgaatt cgtttgtggg tttgtaagaa aatttcattt tagaactcat 240

acttctatat ttgaaaaaca tatgccaaaa acttcaaggt ttaaagcaat ggaagtttct 300

gcaaatgcaa cagtaaatat agttcctgtt tcagctcatt ctaggtaatt ttatttctcg 360

aaaatttccg atttacaatt aaattaatct tgttttgtag gtaatgaatt gcagaagaaa 420

tagatggatt cttatttgtt tattggtatt tgtttataaa tttttgttta tattagtttc 480

tgaattgtga ttattctgat tgtatgtcaa ggtttaggtt gttattaata aatgtaaatt 540

ggattgattg aagttgcaat aaggtgatgg cgtgatgctg attgttgtaa atttt 595

7782 Listado de secuencias traducido

<210> 231
<211> 667
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 231
caacaatgag aatttagaat ccatatcaat cttgatattc aagggtattt aagtaattaa 60

agaacaacca ttgttaagcg cctccactat cttcttcctt ctcattctcc attctcgctt 120

agctttcctc tcgcactaat tacctccatt tgcaaccttt caagctttca acaatggcgt 180

ccacttcttc aaacccacca ttttcctctt ttactaaacc taacaaaatc cctaatctgc 240

aatcatccat ttacgctatc cctttgtcca attctcttaa acccacttct tcttcttcaa 300

tcctccgccg ccccccttcaa atctcatcat cttcttctca atcacctaaa cctaaacctc 360

cttccgctac tataactcaa tcaccttcat ctctcaccga tgataaaccc tcttcttttg 420

tttcccgatt tagccctgaa gaacccagaa aaggttgcga tgttctcgtt gaagctcttg 480

aacgtgaagg tgttaccgat gtttttgctt accctggtgg agcatccatg gaaatccatc 540

aagctcttac tcgttctaat atcattagaa atgttcttcc tcgacatgaa caaggtgggg 600

ttttcgctgc tgaaggctac gctcgtgcta ctggacgcgt tggagtttgt attgccactt 660

ctggtcc 667

<210> 232
<211> 2415
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 232
atttggataa ctttttcctt tgattcgaat cggattattt ttaatacagt attatgaact 60

gatttaatga aagtggagga agtttcaatt tttaaagttg taggtgtaat gttttctcat 120

tttggatatg aaagtggagg aagtttcaat ttcgaatcat gtttgccagt tgattcaatg 180

aatgctcttg gaaatgacca agagttcaag gcttcttgtt ataaaacatt tcaattttga 240

tctaagaatg aactatttag aacttaaagt aattaaatta ttagttataa cttataaaaa 300

aattcaattt taaccttaaa tttataaatt atgaccttaa aaagatcaag tattgaacgc 360

atatttagaa aaattataat tcggcttatc agtctcatat tgagacggtc tcgtccaaga 420

caagttgtat catttatata atcaaatata attatgagtg tattcatgta ggtttcaact 480

ttaaagccta ggtgaaagat atgttgtagc atctttgtga aagtcagcct ataacttggt 540

tctaaaattt tgaagcataa ccatatagtc cctcgaattc attcaagttg tccaatttac 600

7782 Listado de secuencias traducido

```
ttttttatac ttgccgagac aacatttaaa cccttaatat ttctaattaa tcttaattaa     660
aaattatgaa aatttgatat taataatctt tgtattgaaa cgaatttaac aagatctcac     720
atgactatgt tttaacttat agattaaaaa aaaatacaaa ttaagagtga taagtgaata     780
gtgccccaaa acaaatggga caacttagat gaattggagg taatattagg tagcaagtga     840
tcactttaac atcaaaattg atcacttata ggttcaaatt gaaactttta ctttaattga     900
tatgtttaaa tactacttta aattgaaatt gatattttta aggtcaaaat tgaaaccttt     960
aagattataa ttgaaaattg gcagaagaaa aacaaagaga aagaatataa gacacgcaaa    1020
ttgtaccgat ctactcttat ttcaatttga gacggtctcg cccaagacta gatgttcggt    1080
catcctacac caaccccaaa aaattcaaca acaaagtctt ataatgattc cctctaatct    1140
actacagtct acaccaaccc actttctctt tgcccaccaa aactttggtt tggtaagaac    1200
taagccctct tctttccctt ctctctctct taaaagcctg aaaaatccac ctaacttttt    1260
tttaagccaa caaacaacgc caaattcaga gaaagaataa tggctcaagc tactaccatc    1320
aacaatggtg tccaaactgg tcaattgcac catactttac ccaaatccca gttacccaaa    1380
tcttcaaaaa ctcttaattt tggatcaaac ttgagaattt ctccaaagtt catgtcttta    1440
accaataaaa aagagttggt gggcaatcat tcaattgttc ccaagattca agcttctgtt    1500
gctgctgcag ctgagaaacc ttcatctgtc ccagaaattg tgttacaacc catcaaagag    1560
atctctggta ctgttcaatt gcctgggtca aagtctttat ccaatcgaat ccttctttta    1620
gctgctttgt ctgaggtatt tatttctcaa ctgcgaaaac aatctctatt tgatattgga    1680
atttatatta catactccat cttgttgtaa ttgcattagt agatacttat gttttgacct    1740
ttgttcattt gtttgttgaa ttggtagtgt tgagaatttg aatgtaatta tttgtttttc    1800
catgtgaatt taatctgatt aaatccactt cttatttatg ttaagttgca atgatgtttg    1860
ccaaatggtt atcattgaag gataagtttg cctacttttg accctcccaa cttcgcggtg    1920
gtagagccat tttatgttat tgggggaaat tagaaagatt tatttgtttt gcctttcgaa    1980
atagtagcgt tcgtgattct gatttgggtg tctttataga tatgatatat gggttattca    2040
tgtaatgtgt aggtttatgc attatgttgg atgcatgtct ggtgttattg ctgtaaatgg    2100
atgaatgttg ttatttggag acatttttttc attcattttt tccctttta attggaactg    2160
gaagagggaa agttattggg agtaattaaa aggttgtgag ttcgatacac tgcatcaaag    2220
acgaagaact tgacatagat gttgaaggct aatccttatc actgcttgaa ttcaatatgt    2280
```

atctgaaaat tttacccctc tatatgcatc tgtttttgct aataaagtgt ttttggacta 2340

tcatgttttg tgatgcttaa gagggtgata ttactgagat aaatggaaat atcaaaataa 2400

catctattgt gaagt 2415

<210> 233
<211> 3049
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 233
caagcttcaa ttatcgtttt caaaataagt atttcaaagt ctataaagat attgtataag 60

ttttagttca aatttaataa gttttttttt ttttttttgg aaaatccaaa 120

ttgaataagt taatarttaa attatgacat ataattatga catataattt gaccatgata 180

ttttacaatc taacttaatt ttgaacttat tatttctaat attcaattat cgttctaaaa 240

ataagtattt aaattgtata gatatattgt ataacattta gttcaaattt aattattgat 300

agttttattg actatttatt tggkgtttga aattcatcca tagaatgata gaataacacc 360

atttttata taacttcgtt ctaaaatttt gaagcataac catatactcc ctccaattca 420

tccaagttgt ccaatttact ttttcatact tgccgaggca acatttaaac ccttaatatt 480

tctaattaat gttaattaaa aattatgaaa atttgatatt aataatcctt gtattgaaac 540

aaatctaaca agatcccaca tgactatgtt ttaacttata gattaagaat aaaatacaaa 600

ttaagagtaa taagtgaata gtgtcccaaa acaaatagga caacttggat gaattggagg 660

tagtattagg tagcaagtga tcactttaac atcaaaattg atcagttaca ggttcaaatt 720

gaaactttta ctttaattga tatgtttaaa tactacttta aattgaaatt gatattctta 780

aggtcaaaat tgaaaacttt aagattataa ttgaaaaatg cccagaagat gaaaaaacag 840

agagaaagca tgtaagacac gcaaattgaa ccagtctact cttgtttcaa tttgagacgg 900

tctcgcccaa gaccagatgt tcagtcatcc tacaccaacc ccaaaaaatt caacaacaaa 960

ctcttataat gattccctct aatctactag agtctacacc aacccacttt ctctttgccc 1020

accaaaactt tggtttggtg agaactaagc cctcttcttt cccttctctc tcttaaaagc 1080

ctaaaaccca ccaacttttt cagccaagaa acaacgcgaa attcagagga agaataatgg 1140

ctcaagctac taccatcaac aatggtgtcc atactggtca attgcaccat actttaccca 1200

aaacccagtt acccaaatct tcaaaaactc ttaattttgg atcaaacttg agaatttctc 1260

caaagttcat gtctttaacc aataaaagag ttggtgggca atcatcaatt gttcccaaga 1320

ttcaagcttc tgttgctgct gcagctgaga aaccttcatc tgtcccagaa attgtgttac 1380

aacccatcaa agagatctct ggtactgttc aattgcctgg gtcaaagtct ttatccaatc 1440

gaatccttct tttagctgct ttgtctgagg gcacaacagt ggtcgacaac ttgctgtata 1500

gtgatgatat tctttatatg ttggacgctc tcagaactct tggtttaaaa gtggaggatg 1560

atagtacagc caaaagggca gtcgtagagg gttgtggtgg tctgtttcct gttggtaaag 1620

atggaaagga agagattcaa cttttccttg gtaatgcagg aacagcgatg cgcccattga 1680

cagctgcggt tgccgttgct ggaggaaatt caagttatgt gcttgatgga gtaccaagaa 1740

tgagggagcg ccccattggg gatctggtag caggtctaaa gcaacttggt tcagatgtag 1800

attgttttct tggcacaaat tgccctcctg ttcgggtcaa tgctaaagga ggccttccag 1860

ggggcaaggt caagctctct ggatcggtta gtagccaata tttaactgca cttctcatgg 1920

ctactccttt gggtcttgga gacgtggaga ttgagatagt tgataaattg atttctgtac 1980

cgtatgttga aatgacaata aagttgatgg aacgctttgg agtatccgta gaacatagtg 2040

atagttggga caggttctac attcgaggtg gtcagaaata caaatctcct ggaaaggcat 2100

atgttgaggg tgatgcttca agtgctagct acttcctagc cggagccgcc gtcactggtg 2160

ggactgtcac tgtcaagggt tgtggaacaa gcagtttaca ggtataatgt taacccttac 2220

ccttcacatt gttctgctaa attctagagg acccttcaa ttctgggtgg gataagcacg 2280

gcaatttgac cgcaaaaaaa ttgcaaaatt attctgctga tagaacatct cgagatgaga 2340

tcatattgag ttttggcgtc aacataaacc taatcaaata atgaaaaata caaacatcat 2400

atggtttctt ttgtctttat gactagacac tctctattat tccttgattg ggatcttatt 2460

tgaaattgct gtgtagccta cacctcatgt tcagattttg ttcgtatacc agacttttct 2520

tgattgggat cttatttgtc ccctggattt tgcatagggt gatgtaaaat ttgccgaagt 2580

tcttgagaag atgggttgca aggtcacctg gacagagaat agtgtaactg ttactggacc 2640

acccagggat tcatctggaa agaaacatct gcgtgctatc gacgtcaaca tgaacaaaat 2700

gccagatgtt gctatgactc ttgcagttgt tgccttgtat gcagatgggc ccaccgccat 2760

cagagatgtg gctagctgga gagtgaagga aaccgaacgg atgattgcca tttgcacaga 2820

actgagaaag cttggggcaa cagttgagga aggatctgat tactgtgtga tcactccgcc 2880

tgaaaagcta aaccccaccg ccattgaaac ttatgacgat caccgaatgg ccatggcatt 2940

ctctcttgct gcctgtgcag atgttcccgt cactatcctt gatccgggat gcacccgtaa 3000

aaccttcccg gactactttg atgttttaga aaagttcgcc aagcattga 3049

7782 Listado de secuencias traducido

<210> 234
<211> 1113
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 234
tcttaatttg tattttatta ttaatctata agttaaaaca tagtcaagtg agatcttgtt 60

tgattcgtct ctatgcaagg attttcatat caacttttca taatttttga ttatacacaa 120

ttacaaatat taacgaacga ataagtgcat taaaaagagt gcaaaaagca aatgggacac 180

ttgtgttgaa taggagggag tatacattaa gatgaatcta acgagatctc acatggatat 240

aatttgtctt ctatatatgt ctaaaaaatc ttgatcaaat ttctctttcc aaaatagaat 300

attctaaatg ggaagaacat taagaaacgg agggagtact tataagttaa gatagttggg 360

ggtatttagg taaaaaaatc tatgccaaaa gtagaaagtg gacaattaga gtgactttac 420

taaataagga aagtggacat ttaaaatgaa tcggagggag catattaact ttattttcaa 480

agtgtgaaac ataatcatat ttaggtaaaa aaattatcaa tttaacgtca aaattgatca 540

caaataggtt aaaattgaaa ttttttatgt taattgatct attgttcact ttaaattgaa 600

attgatatcc tttaaggtta aaattaatac ctctaaaatt aaaattatta aaggcccaga 660

aaataaaaaa aaaagaagac aggctattag taaaattatt aagtatgtaa ggttgataca 720

cgcgcgaatt gagccggccc acttttagtt tcaatttgaa acagtctcaa tcaagaccaa 780

ttatttatta ttttattatt ttattgtttt aagctcaatg ggttggactt gataaattat 840

attttgagga gacgggctat tagtaaaatt aatagttgga atctttttg atatactata 900

aaaagaggta tctggtggag ccttaaatct gcgcaattga agtcctcaat acacatctcg 960

ctcttcttat tctctttcat ctatttcctc ctttgatcaa actacgccat gtctctctta 1020

aatgatctcg ttaaccttaa tctctctgaa actaccgata agattatcgc tgaatacata 1080

tggtaataca acaatccttc ctctttttca ttt 1113

<210> 235
<211> 882
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<220>
<221> misc_feature
<222> (451)..(459)
<223> n is a, c, g, or t

7782 Listado de secuencias traducido

<400> 235
aaaaaaccgt cttatttgta gaaaataaaa aactaaaaag tagtatcaac ttttagacta 60
gtcataagtg agtggcatca aacttgttct ataaaaaggg aagagttcct caacttgaga 120
ttcatatttt ttgtgatttc taaatagaag aacatactca tcttccactt ctcttattca 180
tcaaatttta tttgttcccc aaaaaaacat gtctcttctt acagatctca tcaatcttaa 240
tctttctgac tccactgaga agatcattgc tgaatacata tggtcagttt tcatcccttt 300
tttttacctt taatcccact ttttgttttt acccaccatt tttttcatct attttctctt 360
aaagatttta actttttact tttttgtgta tataacattc attttttcaa ttgggtaggt 420
tagaaaattt ctataaataa ataaataaat nnnnnnnnnt accttaatcc cacttttttgt 480
ttctacccac catttttttc atcaattttt cttaaagatt ttaacttttt ttaacttttt 540
cttggttttt gtgtatatac caatcattta ttttcactag tgtaggttaa aaaatatcta 600
aaaataaata aaatagaata aaaatgtaat cactagatta acccatgaat tatttccctt 660
gtttttactc aaacttttta cccttgttaa aaaaataatg atataaataa atttttgagg 720
gtttgttaaa cccatatgta atctatatcg aaaaaattag atagcgggtt ttgttgtgga 780
caaactaaat aacaaattta ggaataaact tttgagggtt tattgaaaaa ataacccata 840
tttaatctat atcgaaaaaa tgatagcgag ctttgtatag at 882

<210> 236
<211> 1083
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 236
cgtcgaagta gaagacgcgg aagctgcttt taacatcagc gtttcgcatg gggctattcc 60
ctgtgtttct cctattcaat tggaaaacgg tgtcgtttta tctgaggttc atttatatgg 120
ggatgttgtg cttcggtatg taagctacgg aaatgaatgt ggggatgtgt tttttcttcc 180
tgggtttgag gaaatgccgg aggaatcatc gtttagagga cttgattttg gcattcgaag 240
gttggatcat gctgtaggga atgtccctga gttggctcct gcaattgctt atttgaagaa 300
gtttactggg tttcatgagt ttgctgagtt tacagctgaa gatgttggga cgagtgaaag 360
tggattgaat tcagccgtat tggcaaacaa tgatgaaatg gtgttgtttc cgatgaatga 420
acctgtgtat gggacaaaaa ggaagagcca aattcaaact tatttggagc ataatgaagg 480
ggctggtgta cagcatttgg ctttgatgag tgaagacata ttttggactt taagggagat 540

gaggaagaga agtgttcttg gtgggtttga gtttatgccg tcgccgcctc cgacttatta 600

ccggaatttg aggaacagag ctgctgatgt attgagtgag gagcagatga aggagtgtga 660

agagttgggg attttggtgg ataaagatga tcagggcact ttgcttcaaa tcttcaccaa 720

acctattgga gacaggtaaa ttttaatctt gctttcaatt gcttttgctt gatggattga 780

ctagcaaatt tgatcgcatt ttgttgctta tatgacttga tgatacttcc tctgtttcga 840

aatactcgct acattcgcta cattttgttt tgtgcactat tcatcgttca agcttatttt 900

acatattgcg actaatgtgt aactaaaaat atagtcaagt gggatcttgt ttgaatcgtc 960

taatggcata ctttcatcat attaaatttt tataattttt agattagtgt agtttaagat 1020

attaatgctc aaaattgtgc attggattgc gtaaaaaagt gaaatgtagc aagtattatg 1080

aaa 1083

<210> 237
<211> 788
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 237
aaaaccaaag gaaataagtt ataggtagga aaaattgtta ttgaagttaa tgtagtaaac 60

tagtaactta aactgtgata ccccggattt agcttaaaaa gagattgata gactactcat 120

atcaacaagg tgcatcttct tttctaggga gcccatttgc taagaactct acagttaagc 180

gtgcttggtg gggagcaatc ttaggatggg tgacctcctg ggaagttttc ctgggtgcgc 240

acgggtgagg ccaaagtgcg ttaaaaagac ttgtgttggt ctgtggggct tgtctacagt 300

ctccatgagt agtcaccggc ggtacgagag gccggggtgt tacataaaca gactcaaagg 360

cgctaagcca agtagccaat agcaacatgt gtggcctgcg gacagtcaca aaaacacaca 420

atttcttatt tttactctct tttatctctt ttaggcttta gccatcaaca ataaaacaac 480

atgataaagc aattcattta ctgctaaatt ccaacaattt ggtccctttt tcctgttctt 540

tcagtttcac ataccctctt atcaatctat atccaaaact atttcatttt ccaaactctt 600

ttaaacccaa aaatcaaaac ttttgattga agaacaaact ttgggggttt tggaaaatga 660

gtcattttgg atatgcttgt gctactcaat ccacatcaag atatgttctt ttaggaaatt 720

caaataaccc cacttcaatt tcatctattg gaagtgattt tttgggtcat tctgtgagaa 780

atttcagt 788

<210> 238

7782 Listado de secuencias traducido

<211> 2631
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 238

tggtacctac cctgtttaca ttttcaattt ccccctttt tctctactac tcctacttta 60

ttgattctta tccatgtgtg ttctatggga attgacatta attgttcagg tgtgtatgct 120

ggtgatcctt ctaagttgag tatgaaagct gcatttggaa aggtctggac cttagagcaa 180

aagggtggta gtatcattgc cggtacactc aaaactattc aggaaaggaa gaataatcct 240

ccaccgcctc gagacccgtc cgtaatcacc attactcatt gctttccttc accttgtatc 300

ttaccttaat atacatgtat ttaattgata atgtcacatt gcctcatttg cagccgcctt 360

cctaaaccta agggccagac tgttggatcc tttaggaaag ggctcattat gttacctacc 420

gccattgctg ctaggtatct tttgactctc aaatcttaaa tatttctcat cttctccttc 480

tgctaatact agtatgttta ccatcttttt atttttttag gcttggcagt aaagtcaaac 540

tatcgtggac actttctaat attgataagt cgctcaatgg tgaatacaat ctcacttatc 600

aaacacccga tggaccggtt tctgttagga ccaaagcggt tgtcatgact gtcccttcat 660

acattgcaag tagcctgctt cgtccgctct cagtgagtat cattctttcc ttcatttctt 720

ttcgtttatt gttgtccaat gtcttgttaa acaccagttt ggccttgtgc tcgtgaatta 780

tggctacaat gttaactgat tcaggcactg tgggagatgc ctaagtttct aaaacctctg 840

cgcataatgt ttgtttggat gttaggaatt gcattgaaaa attgcttttg tgatgttgat 900

gttaatacca attacaagtg tgttcttcaa cttctgcaat accttgttcg agtgagcttg 960

aggggttta gattagtgtc caatgtgaaa ctagcaaatg aactccaagc gctgggatag 1020

gtccttggga tggagcccct gatacccaag acagtattca aaccctctaa gtagagtgag 1080

agatcaagga aagaaactgg gtggttcctc aaatcgtaaa aaatgaatac agtgtcatga 1140

ttgctaatct tatcacaaat cgtaaaaaat gaattatggt cgattttgga ctatttttgg 1200

gtcattttga gtgaatctcg aacttaaaaa gcgagtcttc tagcagttct tgttacagcg 1260

gggcatacat aggtaggaat ttggtttttt actatttgag ccttttgact gttgtggccg 1320

gtaatatgga atagtctagc acttctgcgt gtgtacaact agtatttatt gtaattatgt 1380

gatcgcactt aactctcaga taaaacctta agcactaaca ttttgttttg gttgaaggaa 1440

tcaggaggaa agaaaattga gggatttgtt ggtatataga ttcctttgtt tggataacaa 1500

aattggagtg gagagatttg gaaggaagaa ttttataggg attagttccc attacactta 1560

tgttgattac aaaatttctc caaaagtgga aagattttga gtgaaaatgt tttttatttc 1620

tcttcctctc cctttctttc cctcttaaac aaacaaggaa agttaatctt atcattccgt 1680

accttcccct tctgttcttt tttttctctc caaaattctt atcctaacgt agtgttattg 1740

tcactgtctt atgaacgaga attcttttct tcctaatact gcttgtgttg cacagtcaat 1800

gatttagcta gatcatcttt ggttagctac tcaaaatatt tacataaaat acttgtagaa 1860

ataaatacca ataggtcttg tcaagaagta gtttcaatgc tataagtttt aaccaatcct 1920

caaaatttac accatggaga tatctgcgga taagaactag taactgtagc agctgtaact 1980

gttgcaatca gttttatggt ttgccttgca aatcaaactt tggatgttgt ttgccttaca 2040

atttgttact attacgtgaa gtttagtgtt cgcccttcac attgtacttt ggtttttgtt 2100

ttccttgcaa tttgctcttt gaagtataaa gtgctgagtg ctgagtgctg agtgctgacc 2160

tttcctgctc aggatgttgc tgcagattct ctttctcaat tttactatcc accagtcgca 2220

gcagtgtccc tttcttatcc caaagaagca attagaccag aatgcttgat cgatggagaa 2280

ctaaaaggat tcgggcaatt gcatcctcgc agccagggtg tggaaacctt gggtatatgc 2340

tcccattcaa ctatatctca atttttatga gtatttttct ttctctgaat tattcaattt 2400

ggtgacgtta aattttgatt gtactcgaca ggaacaattt atagttcatc tcttttccct 2460

ggtcgagcac cacctggtag gaccttgatc ttgagctaca ttggaggtgc tacaaatgtt 2520

ggcatattac aaaaggcaag tcatttatac aattatatct gttgtatcct caaataagtg 2580

ggtatcaatc ctgacgacat gcttgcttgt atcgatgcag agtgaagatg a 2631

<210> 239
<211> 23
<212> ADN
<213> Euphorbia heterophylla

<400> 239
agtttacagg gagatgtaaa gtt 23

<210> 240
<211> 23
<212> ADN
<213> Euphorbia heterophylla

<400> 240
agtttgcagg gagatgtgaa att 23

<210> 241
<211> 23

7782 Listado de secuencias traducido

<212> ADN
<213> Ambrosia trifida

<400> 241
agtttacagg gggatgtaaa gtt 23

<210> 242
<211> 23
<212> ADN
<213> Abutilon theophrasti

<400> 242
agtttgcagg gtgatgtaaa att 23

<210> 243
<211> 23
<212> ADN
<213> Xanthium strumarium

<400> 243
agtttgcagg gtgatgtgaa att 23

<210> 244
<211> 23
<212> ADN
<213> Ipomoea hederacea

<400> 244
agtttacagg gggatgttaa gtt 23

<210> 245
<211> 23
<212> ADN
<213> Chenopodium album

<400> 245
agtttacagg gtgatgtaaa att 23

<210> 246
<211> 23
<212> ADN
<213> Digitaria sanguinalis

<400> 246
agtttgcagg gtgatgtgaa att 23

<210> 247
<211> 23
<212> ADN
<213> Senna obtusifolia

<400> 247
agtttacagg gagatgtaaa att 23

<210> 248
<211> 23
<212> ADN
<213> Amaranthus rudis/tuberculatus

<400> 248
agtttacagg gtgatgtaaa att 23

<210> 249
<211> 23
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 249
agtttacagg gtgatgtaaa att 23

<210> 250
<211> 23
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 250
agtttacagg gtgatgtaaa att 23

<210> 251
<211> 54
<212> ADN
<213> Euphorbia heterophylla

<400> 251
tcgatgtgaa catgaacaaa atgccagatg tcgctatgac attggctgtg gttg 54

<210> 252
<211> 55
<212> ADN
<213> Euphorbia heterophylla

<400> 252
tcgatgtgaa tatgaacaaa atgccagatg ttgctatgac attagctgtg gttgc 55

<210> 253
<211> 55
<212> ADN
<213> Ambrosia trifida

<400> 253
tcgatgttaa catgaacaaa atgccagatg ttgccatgac gcttgcagtc gttgc 55

7782 Listado de secuencias traducido

<210> 254
<211> 55
<212> ADN
<213> Abutilon theophrasti

<400> 254
ttgatgtcaa catgaacaaa atgccagatg ttgccatgac tctcgctgtt gttgc 55

<210> 255
<211> 55
<212> ADN
<213> Xanthium strumarium

<400> 255
ttgatgtcaa catgaacaaa atgcctgatg tcgcaatgac tcttgctgtg gttgc 55

<210> 256
<211> 55
<212> ADN
<213> Ipomoea hederacea

<400> 256
ttgatgtcaa catgaacaaa atgccagatg ttgccatgac tcttgctgta gttgc 55

<210> 257
<211> 55
<212> ADN
<213> Chenopodium album

<400> 257
ttgatgtcaa catgaacaaa atgccagatg tcgcaatgac tcttgctgtt gttgc 55

<210> 258
<211> 55
<212> ADN
<213> Digitaria sanguinalis

<400> 258
ttgacgtcaa catgaacaaa atgcctgatg tcgcaatgac tcttgctgtg gttgc 55

<210> 259
<211> 55
<212> ADN
<213> Senna obtusifolia

<400> 259
ttgatgtcaa catgaacaag atgccagatg ttgccatgac gcttgctgta gttgc 55

<210> 260
<211> 55

7782 Listado de secuencias traducido

<212> ADN
<213> Amaranthus rudis/tuberculatus

<400> 260
tcgacgtcaa catgaataaa atgccagatg ttgctatgac tcttgcagtt gttgc 55

<210> 261
<211> 55
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 261
tcgacgtcaa catgaacaaa atgccagatg ttgctatgac tcttgcagtt gttgc 55

<210> 262
<211> 55
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 262
tcgacgtcaa catgaacaaa atgccagatg ttgctatgac tcttgcagtt gttgc 55

<210> 263
<211> 55
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (32)..(32)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (35)..(35)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(41)

<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (47)..(47)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (50)..(50)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 263
tngangtcaa catgaacaaa atgccagatg tngcnatgac ncttgcngtn gttgc 55

<210> 264
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 264
aacaugaaca aaaugccaga u 21

<210> 265
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 265
aucuggcauu uuguucaugu u 21

<210> 266
<211> 22
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 266
aacaugaaca aaaugccaga ug 22

<210> 267
<211> 22
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 267
caucuggcau uuuguucaug uu 22

<210> 268
<211> 24
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 268
caacaugaac aaaaugccag augu 24

<210> 269
<211> 24
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 269
acaucuggca uuuuguucau guug 24

<210> 270
<211> 35
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 270
ucgacgucaa caugaacaaa augccagaug uugcu 35

<210> 271
<211> 35
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 271
agcaacaucu ggcauuuugu ucauguugac gucga 35

<210> 272
<211> 45

<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 272
ucgacgucaa caugaacaaa augccagaug uugcuaugac ucuug 45

<210> 273
<211> 45
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 273
caagagucau agcaacaucu ggcauuuugu ucauguugac gucga 45

<210> 274
<211> 55
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 274
ucgacgucaa caugaacaaa augccagaug uugcuaugac ucuugcaguu guugc 55

<210> 275
<211> 55
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 275
gcaacaacug caagagucau agcaacaucu ggcauuuugu ucauguugac gucga 55

<210> 276
<211> 45
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 276
taatacgact cactataggg ctttattgaa tttagctatg taatc 45

<210> 277
<211> 41
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 277
taatacgact cactataggg tttatcaacc aaatgtgcag c 41

<210> 278
<211> 49
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 278
taatacgact cactataggg ttgtctgtac ataattgtga gatttgtgg 49

<210> 279
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 279
ctgtgatcat catatgtatc a 21

<210> 280
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 280
ccttaactct ccagctagca a 21

<210> 281
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 281
cagcccgcaa atgtttcatt c 21

<210> 282
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 282
gccgtcaatg gccgcattgc t 21

<210> 283
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 283
tccttccctc agaaagggca g 21

<210> 284
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 284
ttgcctcatg ctgctaatct g 21

<210> 285
<211> 789
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 285
cttatatgtg cttaagccta acgtgcaccc ggccccttaa ccccagcagt tttcaatcta 60

cctaccgtct ctaccatttt cttctagttg gtgaaaattt ctaactttga gaaaacaagc 120

caaagttttt gtttctaaga acgcaaaatg agtgaaattt tttgcagcaa tggcacagat 180

tagcagcatg aggcaaggga tacagacccc taatcttaat tcctattttc ctaaaaccca 240

aaaggttcct ctttttcgc attctatctt ctttggatca aagaaaataa cccaaaattc 300

agcaaaatct ttgtgggtgt gtaagaaaga ttcagttttg agggtggcaa agtcaccttt 360

taggatttgt gcatcagtgg ccactgcaca gaagcccaac gagattgtgc tgcaacccat 420

caaagatata tcaggcactg ttaaattgcc tggttctaaa tccctttcca accgtattct 480

ccttcttgct gccctttctg agggaaggac tgttgttgac aatttactga gtagtgatga 540

cattcattac atgcttggtg cgttgaaaac acttggactt catgtagaag atgacaatga 600

aaaccaacga gcaattgtgg aaggttgtgg tgggcagttt cctgtcggcg agaagtctga 660

ggaagaaatc caactattcc ttggaaatgc aggaacagca atgcggccat tgacggcagc 720

agttactgta gctggaggac attcaagata tgtacttgat ggagttccta ggatgagaga 780

gagaccgat 789

<210> 286
<211> 799
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 286
cactgacgtt ggattagagg taggctcctt atatgtgctt aagcctaacg tgcagccggc 60

ccccaacccc agcagttttc aatctaccta ccgtctctac cattttctta tagtagttga 120

aaatttctaa ctttgagaaa acaagccaaa gttttgtttc taagaacaca aagggagtga 180

aatttttgc agcaatggca cagattagca gcatgaggca agggatacag acccctaatc 240

ttaattccta ttttcctaaa acccaaaagg ttcctctttt ttcgcattct atcttcattg 300

gatcaaagaa aataacccaa aattcagcaa aatctttgtg ggtgtgtaag aaagattcag 360

ttttgagggt ggcaaagtca ccttttagga tttgtgcatc agtggccact gcacagaagc 420

ctaacgagat tgtgctgcaa cctatcaaag atatatcagg cactgttaaa ttacctggtt 480

ctaaatccct ttccaatcgt attctccttc ttgctgccct ttctgaggga aggactgttg 540

ttgacaattt actgagtagt gatgacattc attacatgct tggtgcattg aaaacacttg 600

gacttcatgt agaagatgac aatgaaaacc aacgagcaat cgtagaaggt tgtggtgggc 660

agtttcctgt cggcaagaag tctgaggaag aaatccaact attccttgga aatgcaggaa 720

cagcaatgcg gccattgacg gcagcagtta ctgtagctgg tggacattct agatatgtac 780

ttgatggagt tcctaggat 799

<210> 287
<211> 845
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 287
aaattcttgg ttcgaggagg tcagaagtac aagtctcctg gaaaagcata tgttgaagga 60

gatgcctcaa gtgctagcta ctttttggcg ggtgcagctg tcacaggtgg aactgtcact 120

gttgaaggtt gtggaacaag cagtttacag ggggatgtta agtttgctga ggtcctcgaa 180

aagatggggg cagaagttac atggacagag aacagtgtca cggttaaagg acctccaagg 240

aactcttctg gaatgaaaca tttgcgggct gttgacgtta acatgaacaa aatgccagat 300

gttgccatga ctcttgctgt agttgcactt tttgctgata gtcctactgc cataagagat 360

gttgctagct ggagagttaa ggaaactgag cggatgattg ccatatgcac agaacttagg 420

aagttgggtg caacagttgt agaagggcca gactactgca taatcactcc acctgaaaag 480

ttaaaagtag cggaaattga tacatatgat gatcacagaa tggccatggc tttctctctt 540

gcggcttgtg ctgatgttcc agtcaccatt aaggaccccg gttgtactcg caaaaccttc 600

cccaactact ttgacgttct ccagcagtat tccaagcatt aaaccacttt ccattaagaa 660

ttttgaaaaa gagagacttt gacaacaatg gtgtcatacc ggaagagaaa agctttgatc 720

caagctttca actccttttc atttgtcatg tgatgatcat tgtatttgtt gaagttgagc 780

tgcttttctt ttgtccagaa gacatgtatg gatactatta ctatatagtt aaggtgaact 840

cagca 845

<210> 288
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 288
ccacatggtc cagtatctgc c 21

<210> 289
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 289
caagcaagga acccatccat t 21

<210> 290
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 290
ggccacacct gcatgcattg c 21

<210> 291
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 291
gtgttcacgg tagacaaatc c 21

<210> 292
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 292
tgcactgcac ttgacgcacg t 21

<210> 293
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 293
aactgatgca ttgcacttga c 21

<210> 294
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 294

caaatcagga aggtatgaga g 21

<210> 295
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 295
tgtcaaggtt ttgtttcctg g 21

<210> 296
<211> 543
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 296
gcaatggctt cctcagttct ttcctcagca gcagttgcca cccgcagcaa tgttgctcaa 60

gctaacatgg ttgcaccttt cacaggtctt aagtctgctg cctcattccc tgtttcaaga 120

aagcaaaacc ttgacatcac ttccattgcc agcaacggcg gaagagtgca atgcatgcag 180

gtgtggccac caattaacat gaagaagtat gagactctct cataccttcc cgatttgagc 240

caggagcaat tgctctccga aattgagtac cttttgaaga atggatgggt tccttgcttg 300

gaattcgaga ctgagaaagg atttgtctac cgtgaacacc acaagtcacc aggatactat 360

gatggcagat actggaccat gtggaagcta cctatgttcg gatgcactga tgccacccaa 420

gtgttggctg aggtgggaga ggcgaagaag gaatacccac aggcctgggt ccgtatcatt 480

ggatttgaca acgtgcgtca agtgcagtgc atcagtttca ttgcctccaa gcctgacggc 540

tac 543

<210> 297
<211> 543
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 297
acaatggctt cctcagttct ttcctcagca gcagttgcca cccgcagcaa tgttgctcaa 60

gctaacatgg ttgcaccttt cactggtctt aagtcagctg ccttttttccc tgtttcaagg 120

aagcaaaacc ttgacatcac ttccattgcc agcaacggcg gaagagtgca atgcatgcag 180

gtgtggccac caattaacaa gaagaagtac gagactctct cataccttcc tgatctgagc 240

gtggagcaat tgcttagcga aattgagtac ctcttgaaaa atggatgggt tccttgcttg 300

gaattcgaga ctgagcgcgg atttgtctac cgtgaacacc acaagtcacc gggatactat 360

gacggcagat actggaccat gtggaagttg cctatgttcg gatgcactga tgccacccaa 420

gtgttggccg aggtggaaga ggcgaagaag gcatacccac aggcctggat ccgtattatt 480

ggattcgaca acgtgcgtca agtgcagtgc atcagtttca ttgcctacaa gccagaaggc 540

tac 543

<210> 298
<211> 486
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 298
caagccaaca tggttgcacc cttcactggc ctcaagtccg cctcctcctt ccctgttacc 60

aggaaacaaa accttgacat tacctccatt gctagcaatg gtggaagagt tcaatgcatg 120

caggtgtggc caccaattaa catgaagaag tacgagacac tctcatacct tcctgatttg 180

agccaggagc aattgcttag tgaagttgag tacctttga aaaatggatg ggttccttgc 240

ttggaattcg agactgagcg tggattcgtc taccgtgaac accacaactc accaggatac 300

tacgatggca gatactggac catgtggaag ttgcccatgt tcgggtgcac tgatgccact 360

caggtgttgg ctgaggtcga ggaggcaaag aaggcttacc cacaagcctg ggttagaatc 420

attggattcg acaacgtccg tcaagtgcaa tgcatcagtt ttatcgcctc caagccagaa 480

ggctac 486

<210> 299
<211> 537
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 299
ggctcagtta tgtcctcagc tgccgctgtt tccaccggcg ccaatgctgt tcaagccagc 60

atggtcgcac ccttcactgg cctcaaggcc gcctcctcct tcccggtttc caggaaacaa 120

aaccttgaca ttacttccat tgctagaaat ggtggaagag tccaatgcat gcaggtgtgg 180

ccgccaatta acaagaagaa gtacgagaca ctctcatacc ttcctgattt gagcgtggag 240

caattgctta gcgaaattga gtacctttg aaaaatggat gggttccttg cttggaattc 300

gagactgagc atggattcgt ctaccgtgaa caccaccact caccaggata ctacgatggc 360

agatactgga cgatgtggaa gttgcccatg ttcgggtgca ccgatgccac tcaggtcttg 420

gctgaggtag aggaggccaa gaaggcttac ccacaagcct gggtcagaat cattggattc 480

gacaacgtcc gtcaagtgca atgcatcagt ttcatcgcct acaagcccga aggctat 537

<210> 300
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 300
ggaggcaaaa tacgagcctc a 21

<210> 301
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 301
cactaatctt aataccaaac t 21

<210> 302
<211> 25
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 302
tatgggtcat tagcataggc attat 25

<210> 303
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 303
tctcaagaat atcacgctcc c 21

<210> 304
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 304
cccttgggga cgctggcagg tcac 24

<210> 305
<211> 40
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 305
taatacgact cactataggg ggagagagct agatcttttg 40

<210> 306
<211> 41
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 306
taatacgact cactataggc acagtatttc ttcctccaac c 41

<210> 307
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 307
ttgctcatct taaatacatg t 21

<210> 308
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 308
tcatcttaaa tacatgtttt gtca 24

<210> 309

<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 309
ttatcttcag ggatacatta gc 22

<210> 310
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 310
aatactgctt gctcatctta aata 24

<210> 311
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 311
gacaattcca agttcagttt c 21

<210> 312
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 312
ccgttttaga tcaccataaa gaga 24

<210> 313
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 313
ttgtctggta atatcacaat c 21

7782 Listado de secuencias traducido

<210> 314
<211> 2937
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 314
atggtgagga agaggagaac tgagttacct ggttctggtg agagctctgg gtctcaagaa 60

actggcggac agggtcgtgg ccagcatcca cagcagctgc accaagctac ctcccagact 120

ccatatcaaa ctgcaatgac tactcagcca ataccttatg caagaccaac tgaaacatcc 180

tccgaagctg gttcctcatc tcagccacct gagcaggcag ctctacaagt gacacaacag 240

ttccagcaac ttgctttgca acaagaagcg gctacaacgc aagcagttcc acctgcatca 300

agcaaattac taaggtttcc cctgcgtcca gggaagggga gcaatggtat gagatgcata 360

gtcaaagcca atcacttctt cgcagagctg cctgacaaag acttgcacca gtatgatgtc 420

acaatttctc cagaggtgtc atcacgtggc gtcaaccgtg ctgtcatggc gcaactggtg 480

aagctgtacc aagaatctca tcttgggaag agacttccag catatgatgg aaggaaaagt 540

ctatacactg cagggcccct tccatttgtt caaaaagact tcaaaataac tcttattgat 600

gatgaggatg ggcctggtgg tgctagaagg gaaagggaat ttaaagttgt gatcaaattg 660

gctgcccgtg ctgatcttca tcacttggga atgtttttag aagggaaaca ggctgatgca 720

cctcaagagg cgcttcaagt tctggatatt gttctgcgtg agttgccaac atctaggttt 780

tgtcctgtgg gtcgttcttt ctattcccgt gatttagggc gaaagcaacc attgggtgaa 840

ggtttagaaa gttggcgtgg gttctatcaa agcattcgcc ccacacaaat gggcttatca 900

ctgaacatcg atatgtcttc cactgcattc attgagccac tgccagtcat tgattttgtg 960

acacagcttc tgaaccgaga tgtgccatct agaccactgt ctgatgctgg ccgtgtaaag 1020

ataaaaaaag ctctgagagg tgtgaaggtg gaggttactc atcgtggaaa tatgcggagg 1080

aagtaccgca tttcgggttt aacatctcaa gcaacaagag agttgacctt ccctgttgat 1140

gaaaatggta cagtgaaatc tgtaattgag tattttcgag aaacatatgg gtttgtaatt 1200

cagcatactc agtggccttg tctacaagtt ggaaatcagc agagacctaa ttacttgcca 1260

atggaagtct gcaagattgt ggagggacaa aggtactcaa agcgcttgaa tgagagacag 1320

attactgcac ttctgaaagt gacctgccag cgtccccaag ggagggagcg tgatattctt 1380

gagaccgtac atcataatgc ctatgctaat gacccatatg ccaaggagtt tggtattaag 1440

attagtgaca agttggcaca agttgaggct cgtattttgc ctccacctcg gcttaaatat 1500

catgataacg gtcgagaaaa ggactgcctg ccacaagttg gccaatggaa tatgatgaat 1560
aagaaaatgg taaatggagg gacggtgaac aattggatct gcataaactt ctctcgcaat 1620
gtgcaagata gtgttgctca tgggttttgc tctgagcttg cacaaatgtg ccagatatct 1680
ggcatgaatt tcaatccaaa tcctgttctg ccaccttcga gtgcacgccc tgatcaggtc 1740
gaaagagtat tgaaaactcg atttcatgat gctatgacta agttgcagct gcatgggaga 1800
gagcttgatt tgctagttgt catcttgcca gacaataatg gatctcttta tggtgatctg 1860
aagcgcattt gtgagactga actaggagtc gtctcacagt gctgtttgac aaaacatgta 1920
tttaagatga gcaaacagta tctagccaat gtagcgctga aaatcaatgt gaaggtggga 1980
gggagaaaca ctgtgcttgt tgatgcaata tcgaggcgaa ttcctcttgt cagcgaccgg 2040
cctaccatca tttttggtgc agatgtcacc caccctcacc ctggggagga ctctagccca 2100
tccattgccg cggtggttgc ttctcaagat tggcctgaga ttacaaagta tgctggtcta 2160
gtttctgctc aagcccatag gcaagagctt attcaggatc tgtacacgac taggcaagat 2220
cctgttaagg ggacagttgc tggtggaatg attaaggact tacttatatc cttccgaaga 2280
gctactggac aaaagcccca gagaataatt ttctataggg atggtgttag tgaaggacaa 2340
ttttatcaag tgcttctgtt cgaacttgat gcgatccgca aagcatgtgc gtctttggag 2400
ccaaattatc agcccccagt cacatttgtt gtggttcaga aacgacatca cacaaggctt 2460
tttgccaata accaccgtga cagaaatgca gttgacagga gcgggaacat tatacctggt 2520
actgttgtag attcaaagat atgccacccg acagagtttg atttctatct ttgtagccat 2580
gccggcatac agggtacgag ccgtccagct cactaccatg ttctatggga cgagaacaaa 2640
ttcacagccg atgcgctgca gtctttgacc aacaacctct gctatacata tgcaaggtgc 2700
acgcgttccg tctccatcgt tccccctgca tattatgcac atttggcagc tttccgtgct 2760
cgattttata tggagccgga gacatctgac ggtggttcag taacaagtgg ggctgctggt 2820
ggcagagggg gtggtgcagg agctgctgga aggaacaccc gagccccaag tgctggtgct 2880
gctgttagac ctcttcctgc gctcaaggat aatgtgaaga gggttatgtt ctactgc 2937

<210> 315
<211> 3274
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 315
cacctatcac tctctttctc tctctacaaa catatcgtgc cgtttctctc tcggcctctc 60

7782 Listado de secuencias traducido

ttcgtgtttt agggcaccgt ggtggttggt atccaggcgg cggttttgag ttattaccat 120
ggtgcggaag aagaggactg atgttcctgg tggtgctgag agttttgagt cccatgaaac 180
tggaggggca cgaggtggtg cccaacgccc atcacagcag cagcaacatc agcatcagca 240
aggcggagga agaggctggg cacctcagca tggaggacat ggtggccgtg gtggtggggg 300
agctccacgt ggtggaatgg cccctcaaca atcctatggt ggacctcctg aatactacca 360
acagggcagg ggaactcaac agtatcaacg aggtggagga caaccccagc gccgtggtgg 420
catgggggc cgtggggcac ggccaccagt acccgagctg caccaagcaa cccagactcc 480
acatcagcct gtaccatatg gaagaccatc agaaacatac tcagaggctg gttcctcgtc 540
tcagccacct gaaccaacga cacagcaagt gactcagcaa ttccagcaac ttgttgtgca 600
gccagaagca gctgcaaccc aagcaataca accagcatcg agcaagtcga tgaggtttcc 660
actccggcca ggaaagggta gtactggtat tagatgcata gttaaggcca atcacttctt 720
tgccgagtta cctgacaaag atctgcacca gtatgatgtt tcaattactc ctgaggtcgc 780
ctctcggggt gtcaaccggg ccgtcatgga gcagctggtg aagctttata gagaatccca 840
tcttgggaag aggcttccag cctatgacgg aagaaaaagt ctatacacag cagggcccct 900
ccctttgtt caaaaggatt ttaaaatcac tctaattgat gatgatgatg gacctggtgg 960
tgctaggagg gaaagagagt ttaaagttgt gatcaagctg gcggctcgtg ctgatcttca 1020
tcacttgggg atgttcttac aagggagaca ggctgatgca ccgcaagaag cacttcaggt 1080
gctggatatt gtgctacgtg agttgccaac atctaggtat tgtcctgtgg gccgctcttt 1140
ctattccct catttaggac gaagacaacc actgggtgaa ggtttagaga gctggcgtgg 1200
cttctatcaa agtattcgtc ctacacagat gggattatcc ctgaatattg atatgtcttc 1260
cacggctttc attgagccac tgccgattat tgacttcgtg agccagcttc tgaatcggga 1320
tatctcttct agaccactgt ctgatgctga ccgcgttaag ataaagaagg cactgagagg 1380
tgtaaaggtg ggggtcactc atcgtggaaa tatgcggagg aagtatcgca tttctggctt 1440
gacgtctcaa gcaacaagag agttgacttt tcctgtcgat gaaaggggta cgatgaaagc 1500
tgttgtggaa tattttcggg aaacctatgg ttttgtcatt cggcataccc agtggccttg 1560
tcttcaagtt ggaaatacgc agaggccaaa ttacttgcca atggaagtat gtaagattgt 1620
agagggacag agatactcaa agcgcttgaa tgagaggcag ataacagcac ttctaaaagt 1680
gacctgccaa cgtcctcaag agagagaacg tgatattctt cagactgttc atcacaatgc 1740

ttatgctgat gacccatatg cgaaggagtt tggtattaag atcagtgagg agcttgctca 1800

agttgaggct cgcgttttgc ctgcaccttg gcttaaatac catgatacag gtcgagagaa 1860

agactgtctg ccacaagtgg gccagtggaa tatgatgaat aagaaaatgg ttaatggagg 1920

aacagtgaac aactggatct gtgtaaactt ttctcgcaat gtgcaagaca cagttgcacg 1980

tggattttgt tccgagcttg cacaaatgtg catgatatcc ggaatgaact tcaatcccaa 2040

tcctgttcta ccaccagtga gtgctcgccc tgatcaagtt gagagagtct tgaaaactcg 2100

atttcacgat gctatgacaa agttgcagcc aaatgggaga gagctagatc ttttgattgt 2160

gatattacca gacaataacg gctctcttta tggtgatcta aaacggattt gtgaaactga 2220

acttggaatt gtctcacaat gctgcttgac aaaacatgta tttaagatga gcaagcagta 2280

tttagctaat gtatccctga agataaatgt gaaggttgga ggaagaaata ctgtgctggt 2340

tgatgcgctc tctagacgaa ttccccttgt cagcgaccgc ccaactatca tttttggtgc 2400

agatgtcacc catccccacc ctggggagga ttctagcccg tcaattgctg cggtggttgc 2460

ttctcaagat tggcctgaaa ttacaaagta tgctggtttg gtttctgctc aagcgcatag 2520

gcaagagctt atacaagatc tgtacaagac ttggcaagat ccagttagag gacctgtgac 2580

tggtggcatg ataaaggaat tacttatttc cttccgtcga gcaactggac agaagccgca 2640

gagaattata ttctacagag atggtgttag tgaaggacaa ttttaccaag ttcttctttt 2700

tgaacttgat gcaatccgca aggcatgtgc atctttagaa cccaactatc agcccccggt 2760

tacgtttgtt gtggtccaga aacggcatca tactaggttg tttgccaata accaccacga 2820

cagaaatgca gttgatcgga gtgggaacat tttgcctggt accgttgtag attcaaagat 2880

atgccaccct actgaatttg atttctatct ctgtagccat gccggcatac agggtactag 2940

ccgcccagct cattatcatg ttctgtggga tgagaacaat tttactgctg acgccctgca 3000

gtctttgact aacaatcttt gctatacata tgctaggtgt actcgttctg tctccattgt 3060

tccaccagca tattatgcac atttggcagc tttccgtgct cggttttaca tggagccaga 3120

gacatctgat aatggatcag tcacaagcgc agctgcttca aacagaggag gtttaggagc 3180

tatgggaagg agcacgcgag caccaggtgc tggtgctgct gtaaggcccc ttcctgctct 3240

caaggagaat gttaagaggg ttatgtttta ttgt 3274

<210> 316
<211> 3907
<212> ADN
<213> Zea mays

7782 Listado de secuencias traducido

<400> 316

acctacttcc ccctcgcccc tctcatggtc tctctcgcgc ccagatctgc tactagacgg 60

caccgctgca gcgcgtcgtg tcgcgggggt tggtggcagg cagcgagagc ttgccgttcc 120

tctctctcag ttgtcaggtc ctaggctcac ctcaccggct cccagcccgc ttctatttct 180

tcctccccga ccccgtgcag gtggcagtcc agtccacgcc accaaccgcg aggcgaacca 240

aaccaaccca ctctccccaa ccccgcgcgc ccaggccgcc cgccctacca accatcggcg 300

tcggcaatgg cggccatggc gaccaaggcc gccgcgggca ccgtgtcgct ggacctcgcc 360

gcgccgccgg cggcggcagc ggcggcggcg gtgcaggcgg gtgccgagga gatcgtgctg 420

cagcccatca aggagatctc cggcaccgtc aagctgccgg ggtccaagtc gctttccaac 480

cggatcctcc tgctcgccgc cctgtccgag gtgagcgatt ttggtgcttg ctgcgctgcc 540

ctgtctcact gctacctaaa tgttttgcct gtcgaatacc atggattctc ggtgtaatcc 600

atctcacgat cagatgcacc gcatgtcgca tgcctagctc tctctaattt gtctagtagt 660

ttgtatacgg attaatattg ataaatcggt accgcaaaag ctaggtgtaa ataaacacta 720

gaaaattgga tgttccccta tcggcctgta ctcggctact cgttcttgtg atggcatgct 780

gtctcttctt ggtgtttggt gaacaacctt atgaaatttg ggcgcaaaga actcgccctc 840

aagggttgat cttatgccat cgtcatgata aacagtggag cacggacgat cctttacgtt 900

gtttttaaca aactttgtca gaaaactagc atcattaact tcttaatgac gatttcacaa 960

caaaaaaagg taacctcgct actaacataa caaaatactt gttgcttatt aattatatgt 1020

tttttaatct ttgatcaggg gacaacagtg gttgataacc tgttgaacag tgaggatgtc 1080

cactacatgc tcggggcctt gaggactctt ggtctctctg tcgaagcgga caaagctgcc 1140

aaaagagctg tagttgttgg ctgtggtgga aagttcccag ttgaggattc taaagaggaa 1200

gtgcagctct tcttggggaa tgctggaact gcaatgcggc cattgacagc agctgttact 1260

gctgctggtg gaaatgcaac gtatgtttcc tctctttctc tctacaatac ttgctggagt 1320

tagtatgaaa cccatgggta tgtctagtgg cttatggtgt attggttttt gaacttcagt 1380

tacgtgcttg atggagtacc aagaatgagg gagagaccca ttggcgactt ggttgtcgga 1440

ttgaagcagc ttggtgcaga tgttgattgt ttccttggca ctgactgccc acctgttcgt 1500

gtcaatggaa tcggagggct acctggtggc aaggttagct actaagggcc acatgttaca 1560

ttcttctgta aatggtacaa ctattgtcga gcttttgcat ttgtaaggaa agcattgatt 1620

gatctgaatt tgatgctaca ccacaaaata tcctacaaat ggtcatccct aactagcaaa 1680

caatgaagta atacttggca tgtgtttatc aaattaattt ccatcttctg gggcattgcc 1740
tgttttctag tctaatagca tttgttttta gcattaatta gctcttacaa ttgttatgtt 1800
ctacaggtca agctgtctgg ctccatcagc agtcagtact tgagtgcctt gctgatggct 1860
gctcctttgg ctcttgggga tgtggagatt gaaatcattg ataaattaat ctccattccc 1920
tacgtcgaaa tgacattgag attgatggag cgttttggtg tgaaagcaga gcattctgat 1980
agctgggaca gattctacat taagggaggt caaaaatаca agtaagctct gtaatgtatt 2040
tcactacttt gatgccaatg tttcagtttt cagttttcca aacagtcgca tcaatatttg 2100
aatagatgca ctgtagaaaa aaaatcattg cagggaaaaa ctagtactga gtattttgac 2160
tgtaaattat tttaccagtc ggaatatagt cagtctattg gagtcaagag cgtgaaccga 2220
aatagccagt taattatccc attatacaga ggacaaccat gtatactatt gaaacttggt 2280
ttataagaga atctaggtag ctggactcgt agctgcttgg catggatacc ttcttatctt 2340
taggaaaaga cacttgattt ttttttctg tggccctcta tgatgtgtga acctgcttct 2400
ctattgcttt agaaggatat atctatgtcg ttatgcaaca tgcttccctt agccatttgt 2460
actgaaatca gtttcataag ttcgttagtg gttccctaaa cgaaaccttg tttttctttg 2520
caatcaacag gtcccctaaa aatgcctatg ttgaaggtga tgcctcaagc gcaagctatt 2580
tcttggctgg tgctgcaatt actggaggga ctgtgactgt ggaaggttgt ggcaccacca 2640
gtttgcaggt aaagatttct tggctggtgc tacaataact gcttttgtct ttttggtttc 2700
agcattgttc tcagagtcac taaataacat tatcatctgc aaatgtcaaa tagacatact 2760
taggtgaatt catgtaaccg tttccttaca aatttgctga aacctcaggg tgatgtgaag 2820
tttgctgagg tactggagat gatgggagcg aaggttacat ggaccgagac tagcgtaact 2880
gttactggcc caccgcggga gccatttggg aggaaacacc tcaaggcgat tgatgtcaac 2940
atgaacaaga tgcctgatgt cgccatgact cttgctgtgg ttgccctctt tgccgatggc 3000
ccgacagcca tcagagacgg taaaacattc tcagccctac aaccatgcct cttctacatc 3060
actacttgac aagactaaaa actattggct cgttggcagt ggcttcctgg agagtaaagg 3120
agaccgagag gatggttgcg atccggacgg agctaaccaa ggtaaggcta catacttcac 3180
atgtctcacg tcgtctttcc atagctcgct gcctcttagc ggcttgcctg cggtcgctcc 3240
atcctcggtt gctgtctgtg ttttccacag ctgggagcat ctgttgagga agggccggac 3300
tactgcatca tcacgccgcc ggagaagctg aacgtgacgg cgatcgacac gtacgacgac 3360

cacaggatgg ccatggcctt ctcccttgcc gcctgtgccg aggtccccgt gaccatccgg 3420

gaccctgggt gcacccggaa gaccttcccc gactacttcg atgtgctgag cactttcgtc 3480

aagaattaat aaagcgtgcg atactaccac gcagcttgat tgaagtgata ggcttgtgct 3540

gaggaaatac atttcttttg ttctgttttt tctctttcac gggattaagt tttgagtctg 3600

taacgttagt tgtttgtagc aagtttctat ttcggatctt aagtttgtgc actgtaagcc 3660

aaatttcatt tcaagagtgg ttcgttggaa taataagaat aataaattac gtttcagtgg 3720

ctgtcaagcc tgctgctacg ttttaggaga tggcattaga cattcatcat caacaacaat 3780

aaaacctttt agcctcaaac aataatagtg aagttatttt ttagtcctaa acaagttgca 3840

ttaggatata gttaaaacac aaaagaagct aaagttaggg tttagacatg tggatattgt 3900

tttccat 3907

<210> 317
<211> 2149
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 317
acctacttcc ccctcgcccc tctcatggtc tctctcgcgc ccagatctgc tactagacgg 60

caccgctgca gcgcgtcgtg tcgcgggggt tggtggcagg cagcgagagc ttgccgttcc 120

tctctctcag ttgtcaggtc ctaggctcac ctcaccggct cccagcccgc ttctatttct 180

tcctccccga ccccgtgcag gtggcagtcc agtccacgcc accaaccgcg aggcgaacca 240

aaccaaccca ctctccccaa ccccgcgcgc ccaggccgcc cgccctacca accatcggcg 300

tcggcaatgg cggccatggc gaccaaggcc gccgcgggca ccgtgtcgct ggacctcgcc 360

gcgccgccgg cggcggcagc ggcggcggcg gtgcaggcgg gtgccgagga gatcgtgctg 420

cagcccatca aggagatctc cggcaccgtc aagctgccgg ggtccaagtc gctttccaac 480

cggatcctcc tgctcgccgc cctgtccgag gggacaacag tggttgataa cctgttgaac 540

agtgaggatg tccactacat gctcggggcc ttgaggactc ttggtctctc tgtcgaagcg 600

gacaaagctg ccaaaagagc tgtagttgtt ggctgtggtg gaaagttccc agttgaggat 660

tctaaagagg aagtgcagct cttcttgggg aatgctggaa ctgcaatgcg gccattgaca 720

gcagctgtta ctgctgctgg tggaaatgca acttacgtgc ttgatggagt accaagaatg 780

agggagagac ccattggcga cttggttgtc ggattgaagc agcttggtgc agatgttgat 840

tgtttccttg gcactgactg cccacctgtt cgtgtcaatg gaatcggagg gctacctggt 900

ggcaaggtca agctgtctgg ctccatcagc agtcagtact tgagtgcctt gctgatggct 960

gctcctttgg ctcttgggga tgtggagatt gaaatcattg ataaattaat ctccattccc 1020

tacgtcgaaa tgacattgag attgatggag cgttttggtg tgaaagcaga gcattctgat 1080

agctgggaca gattctacat taagggaggt caaaaataca agtcccctaa aaatgcctat 1140

gttgaaggtg atgcctcaag cgcaagctat ttcttggctg gtgctgcaat tactggaggg 1200

actgtgactg tggaaggttg tggcaccacc agtttgcagg gtgatgtgaa gtttgctgag 1260

gtactggaga tgatgggagc gaaggttaca tggaccgaga ctagcgtaac tgttactggc 1320

ccaccgcggg agccatttgg gaggaaacac ctcaaggcga ttgatgtcaa catgaacaag 1380

atgcctgatg tcgccatgac tcttgctgtg gttgccctct ttgccgatgg cccgacagcc 1440

atcagagacg tggcttcctg gagagtaaag gagaccgaga ggatggttgc gatccggacg 1500

gagctaacca agctgggagc atctgttgag gaagggccgg actactgcat catcacgccg 1560

ccggagaagc tgaacgtgac ggcgatcgac acgtacgacg accacaggat ggccatggcc 1620

ttctcccttg ccgcctgtgc cgaggtcccc gtgaccatcc gggaccctgg gtgcacccgg 1680

aagaccttcc ccgactactt cgatgtgctg agcactttcg tcaagaatta ataaagcgtg 1740

cgatactacc acgcagcttg attgaagtga taggcttgtg ctgaggaaat acatttcttt 1800

tgttctgttt tttctctttc acgggattaa gttttgagtc tgtaacgtta gttgtttgta 1860

gcaagtttct atttcggatc ttaagtttgt gcactgtaag ccaaatttca tttcaagagt 1920

ggttcgttgg aataataaga ataataaatt acgtttcagt ggctgtcaag cctgctgcta 1980

cgttttagga gatggcatta gacattcatc atcaacaaca ataaaacctt ttagcctcaa 2040

acaataatag tgaagttatt ttttagtcct aaacaagttg cattaggata tagttaaaac 2100

acaaaagaag ctaaagttag ggtttagaca tgtggatatt gttttccat 2149

<210> 318
<211> 240
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 318
tacttgagtg ccttgctgat ggctgctcct ttggctcttg gggatgtgga gattgaaatc 60

attgataaat taatctccat tccgtacgtc gaaatgacat tgagattgat ggagcgtttt 120

ggtgtgaaag cagagcattc tgatagctgg gacagattct acattaaggg aggtcaaaaa 180

tacaagtccc ctaaaaatgc ctatgttgaa ggtgatgcct caagcgcaag ctatttcttg 240

7782 Listado de secuencias traducido

<210> 319
<211> 297
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 319
gctgtatcat atcttcttct ttagaacact aataaattaa acttcgagat aatgatttct 60

gacaagagta taaacaagtg catctatgaa gatttgaggt tgtccaaaaa agtgacaatt 120

ttgggttcct ataaactgta tttacattat tgttatttgc aactataaaa attttagatt 180

atttccaagc tcagtttctt caacttaaat gaaggtagca cttgaatttc atcagcctct 240

atgacccagt aacccatgtg ggagatggga gcaaagtggt caaactttag aaggaat 297

<210> 320
<211> 269
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 320
gtatgaactt tcagaatatt ataccggatc aatatattat gctgaaatat ttttcggact 60

ttaaataatt tctttattta aatttatttt tatacaaaaa taactaaatt tcaattactt 120

ttaaaattat gattattttt caattaccac ttatacatcc tgctattttg aatttcaccc 180

gaaagaacta ctactatacg tggatcctca atgacccagt aacccaagtg ggagatgtgt 240

gcaaagtggt caaatcttag aaggaatga 269

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
TARJETA ARCHIVO PROPIETARIOS

PATENTE DE INVENCION ___ PCT __X__ MODELO DE UTILIDAD ___ DISEÑO INDUSTRIAL ___

(21) N° de solicitud:
(22) Fecha de solicitud:
(51) Clasificación Internacional :

(71)Solicitante(s) **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**

(72) Inventor(es) **SAMMONS, Robert, D.; IVASHUTA, Sergey, I.; LIU, Hong; WANG, Dafu; FENG, Paul; KOURANOV, Andrei, Y.; ANDERSEN, Scott, E.**

(74) Apoderado: **DRA. MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**

(30) Prioridad	(31)	No. Prioridad	32)	Fecha	(33)	País
		61/311.762		2010/03/08		US
		61/349.807		2010/05/28		US
		61/381.556		2010/09/10		US

(85) Fecha inicio fase nacional:
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT
Fecha de presentación de la solicitud: **2011/03/08**
No. de solicitud **PCT/US2011/027528**

(87) Publicación internacional
Fecha: **2011/09/15**
N° publicación: **WO 2011/112570 A1**

(54) Titulo: **MOLÉCULAS POLINUCLEOTÍDICAS PARA REGULACIÓN GENÉTICA EN PLANTAS**

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN ___ Patente de Invención ___ Patente modelo de utilidad _X_ PCT

(21) No. De solicitud	(51) int. Cl:
(22) Fecha de solicitud	(71) Solicitante (s) **MONSANTO TECHNOLOGY LLC**
(30) Prioridad (31) No. Prioridad **61/311.762, 61/349.807, 61/381.556** (32) Fecha **2010/03/08, 2010/05/28, 2010/09/10** (33) País **US, US, US**	(72) Interventor (es) **SAMMONS, Robert, D.** **IVASHUTA, Sergey, I.** **LIU, Hong** **WANG, Dafu** **FENG, Paul** **KOURANOV, Andrei, Y.** **ANDERSEN, Scott, E.** (74) Apoderado (s) **DRA. MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**
(54) Título **MOLÉCULAS POLINUCLEOTÍDICAS PARA REGULACIÓN GENÉTICA EN PLANTAS**	
Las casillas identificadas con 85, 86 y 87 sólo aplican para PCT	
(85) Fecha límite inicio Fase Nacional (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud **2011/03/08** No. de solicitud **PCT/US2011/027528**	(87) Publicación internacional Fecha **2011/09/15** No. Publicación **WO 2011/112570 A1**

Resumen reivindicación (es):

1. Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en dicho gen endógeno objetivo o en el ARN mensajero transcrito a partir de dicho gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de dichas plantas u órganos vegetales en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión de dicho gen endógeno objetivo.

2. Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que comprende:
(a) revestir tópicamente la superficie de dichas plantas en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende:
(i) al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de dichas plantas crecientes, en donde dicho gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y
(ii) una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que dichos polinucleótidos permeen el interior de dichas plantas en crecimiento y
(b) aplicar dicho herbicida a dichas plantas en crecimiento;
con lo cual dicho al menos un polinucleótido permea el interior de dichas plantas en crecimiento e induce la supresión de dicho gen endógeno, potenciando así la actividad dicho herbicida en dichas plantas en crecimiento.

3. En un composición herbicida líquida adaptada para revestimiento tópico sobre la superficie exterior de plantas en crecimiento que comprende tensioactivo y al menos un agente letal para plantas, donde la mejora de dicho agente letal para plantas comprende polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen vegetal o a la secuencia del ARN transcrito de dicho gen vegetal, produciendo dochos polinucleótidos la producción sistémica de ARN pequeños que hibridan con una sonda para dicho gen vegetal.

4. En una composición herbicida líquida que comprende un herbicida no polinucleotídico, la mejora en donde dicha composición comprende además polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de una planta vegetal o a una secuencia del ARN transcrito de dicho gen vegetal.

5. Una composición que consiste esencialmente en
(a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de dicho gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dicha planta con dicho gen endógeno o dicho ARN transcrito a partir de dicho gen endógeno para producir el silenciamiento de dicho gen endógeno; y
(b) transferir un agente eficaz para facilitar la transferencia de dichos polinucleótidos de ADN bicatenario desde la superficie de dicha planta hacia las células de dicha planta.

6. Una composición que consiste esencialmente en
(a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de dicho gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dicha planta con dicho gen endógeno o dicho ARN transcrito a partir de dicho gen endógeno para producir el silenciamiento de dicho gen endógeno; y
(b) transferir un agente eficaz para facilitar la transferencia de dichos polinucleótidos de ADN monocatenario desde la .....

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 12-152898- -00000-0000
Fecha: 2012-09-06 14:32:08 Dep: 2020 DIR NULVASCR
Tra: 11 PATENTEYII Eve: 378 FASE NACIONALI
Act: 411 PRESENTACION Folios: 212

PATENTE DE INVENCIÓN ____ **MODELO DE UTILIDAD** ____ **Art 33 Decisión 486/00**

Indicación que se solicita una patente.
Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
Descripción de la invención
Dibujos de ser estos pertinentes
Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa ____ Incompleta ____

PATENTE DE INVENCIÓN PCT X **MODELO DE UTILIDAD PCT** ___ **Art.33 Decisión 486/00, Circular Única**

X Indicación que se solicita una PCT
X Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
X Dibujos de ser estos pertinentes
X Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa X Incompleta ____

DISEÑO INDUSTRIAL ____ **(Art. 119 Decisión 486/00)**

Indicación que se solicita Diseño industrial
Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ____ Incompleta ____

ESQUEMA DE TRAZADO ____ **(Art. 92 Decisión 486/00)**

Indicación que se solicita un esquema de trazado

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

Representación gráfica de un esquema de trazado

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa ____ Incompleta ____

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Sammons, Robert D.
Ivashuta, Sergey I.
Liu, Hong
Wang, Dafu
Feng, Paul C.C.
Kouranov, Andrei Y.
Andersen, Scott E.

<120> MOLÉCULAS POLINUCLEOTÍDICAS PARA REGULACIÓN GENÉTICA EN PLANTAS

<130> 38-21(56855)0000/PCT

<140> nulo
<141> 2011-03-08

<150> 61/311,762
<151> 2010-03-08

<150> 61/349,807
<151> 2010-05-28

<150> 61/381,556
<151> 2010-09-10

<160> 320

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1
<211> 1557
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 1
atggctcaag ctactaccat caacaatggt gtccatactg gtcaattgca ccatacttta 60

cccaaaaccc agttacccaa atcttcaaaa actcttaatt ttggatcaaa cttgagaatt 120

tctccaaagt tcatgtcttt aaccaataaa agagttggtg ggcaatcatc aattgttccc 180

aagattcaag cttctgttgc tgctgcagct gagaaacctt catctgtccc agaaattgtg 240

ttacaaccca tcaaagagat ctctggtact gttcaattgc ctgggtcaaa gtctttatcc 300

aatcgaatcc ttcttttagc tgctttgtct gagggcacaa cagtggtcga caacttgctg 360

tatagtgatg atattcttta tatgttggac gctctcagaa ctcttggttt aaaagtggag 420

gatgatagta cagccaaaag ggcagtcgta gagggttgtg gtggtctgtt tcctgttggt 480

aaagatggaa aggaagagat tcaacttttc cttggtaatg caggaacagc gatgcgccca 540

ttgacagctg cggttgccgt tgctggagga aattcaagtt atgtgcttga tggagtacca 600

agaatgaggg agcgccccat tggggatctg gtagcaggtc taaagcaact tggttcagat 660

gtagattgtt ttcttggcac aaattgccct cctgttcggg tcaatgctaa aggaggcctt 720

ccaggggca aggtcaagct ctctggatcg gttagtagcc aatatttaac tgcacttctc 780

atggctactc ctttgggtct tggagacgtg gagattgaga tagttgataa attgatttct 840

gtaccgtatg ttgaaatgac aataaagttg atggaacgct ttggagtatc cgtagaacat 900

agtgatagtt gggacaggtt ctacattcga ggtggtcaga aatacaaatc tcctggaaag 960

gcatatgttg agggtgatgc ttcaagtgct agctacttcc tagccggagc cgccgtcact 1020

ggtgggactg tcactgtcaa gggttgtgga acaagcagtt tacagggtga tgtaaaattt 1080

gccgaagttc ttgagaagat gggttgcaag gtcacctgga cagagaatag tgtaactgtt 1140

actggaccac ccagggattc atctggaaag aaacatctgc gtgctatcga cgtcaacatg 1200

aacaaaatgc cagatgttgc tatgactctt gcagttgttg ccttgtatgc agatgggccc 1260

accgccatca gagatgtggc tagctggaga gtgaaggaaa ccgaacggat gattgccatt 1320

tgcacagaac tgagaaagct tggggcaaca gttgaggaag gatctgatta ctgtgtgatc 1380

actccgcctg aaaagctaaa ccccaccgcc attgaaactt atgacgatca ccgaatggcc 1440

atggcattct ctcttgctgc ctgtgcagat gttcccgtca ctatccttga tccgggatgc 1500

acccgtaaaa ccttcccgga ctactttgat gttttagaaa agttcgccaa gcattga 1557

<210> 2
<211> 1761
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 2
atgccccaaa tcggacttgt atctgctgtt aatttgagag tccaaggtaa ttcagcttat 60

ctttggagct cgaggtcttc gttgggaact gaaagtcaag atgtttgctt gcaaaggaat 120

ttgttatgtt ttggtagtag cgactccatg gggcataagt taaggattcg tactccaagt 180

gccacgaccc gaagattgac aaaggacttt aatcctttaa aggtagtctg cattgattat 240

ccaagaccag agctagacaa tacagttaac tatttggagg cggcgttatt atcatcatcg 300

tttcgtactt cctcacgccc aactaaacca ttggagattg ttattgctgg tgcaggtttg 360

ggtggtttgt ctacagcaaa atatctggca gatgctggtc acaaaccgat attgctggag 420

gcaagagatg tcctaggtgg gaaggtagct gcatggaaag atgatgatgg agattggtac 480

gagactgggt tgcacatatt ctttggggct tacccaaata tgcagaacct gtttggagaa 540

ctagggattg atgatcggtt gcagtggaag gaacattcaa tgatatttgc gatgcctaac 600

aagccagggg agttcagccg ctttgatttt cctgaagctc ttcctgcgcc attaaatgga 660

attttggcca tactaaagaa caacgaaatg cttacgtggc ccgagaaagt caaatttgct 720

attggactct tgccagcaat gcttggaggg caatcttatg ttgaagctca agacggttta 780

agtgttaagg actggatgag aaagcaaggt gtgcctgata gggtgacaga tgaggtgttc 840

attgccatgt caaaggcact taacttcata aaccctgacg agctttcgat gcagtgcatt 900

ttgattgctt tgaacagatt tcttcaggag aaacatggtt caaaaatggc ctttttagat 960

ggtaaccctc ctgagagact ttgcatgccg attgtggaac atattgagtc aaaaggtggc 1020

caagtcagac taaactcacg aataaaaaag atcgagctga atgaggatgg aagtgtcaaa 1080

tgttttatac tgaataatgg cagtacaatt aaaggagatg cttttgtgtt tgccactcca 1140

gtggatatct tgaagcttct tttgcctgaa gactggaaag agatcccata tttccaaaag 1200

ttggagaagc tagtgggagt tcctgtgata aatgtccata tatggtttga cagaaaactg 1260

aagaacacat ctgataatct gctcttcagc agaagcccgt tgctcagtgt gtacgctgac 1320

atgtctgtta catgtaagga atattacaac cccaatcagt ctatgttgga attggtattt 1380

gcacccgcag aagagtggat aaatcgtagt gactcagaaa ttattgatgc tacaatgaag 1440

gaactagcga agcttttccc tgatgaaatt tcggcagatc agagcaaagc aaaaatattg 1500

aagtatcatg ttgtcaaaac cccaaggtct gtttataaaa ctgtgccagg ttgtgaaccc 1560

tgtcggccct tgcaaagatc ccctatagag ggtttttatt tagctggtga ctacacgaaa 1620

cagaagtact tggcttcaat ggaaggtgct gtcttatcag gaaagctttg tgcacaagct 1680

attgtacagg attacgagtt acttcttggc cggagccaga agatgttggc agaagcaagc 1740

gtagttagca tagtgaacta a 1761

<210> 3
<211> 559
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 3
ggcccatagg ccttttttcta aaataggccc atttaagcta ttaacaatct tcaaaagtac 60

cacatcgctt aggtaaagaa agcagctgag tttatatatg gttagagacg aagtagtgat 120

tgcgacgagc gacgtctcgc cctcatcgca atccacgcca ttgagcttga ggccattggc 180

gacggccgag aggcggtcgc ttaagattag catgtccttg acgcggagtt cttccagacc 240

gttcatcacg gtcgcccctt ccgcgaaggc ggcggcgaca gcgagaatcg gatattcgtc 300

gatcatcgaa ggcgcgcggt cttccggcac cgtgacgcat aaacacggtg ccggaagacc 360

gcgcgccttc gatgatcgac gaatatccga ttctcgctgt cgccgccgcc ttcgcggaag 420

gggcgaccgt gatgaacggt ctggaagaac tccgcgtcaa ggaaagcgac cgcctctcgg 480

ccgtcgccaa tggcctcaag ctcaatggcg tggattgcga tgagggcgag acgtcgctcg 540

tcgttttttt tggcaaaaa 559

<210> 4
<211> 10
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 4
tcccacatcg 10

<210> 5
<211> 13
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 5
aagattagca cgg 13

<210> 6
<211> 11
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 6
acgcataaaa t 11

<210> 7
<211> 6
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 7
tttttt 6

<210> 8
<211> 20
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 8
accctccacg actgcccttt 20

<210> 9
<211> 19
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 9
gtttccttca ctctccagc 19

<210> 10
<211> 20
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 10
gtagcttgag ccattattgt 20

<210> 11
<211> 20
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 11
gttgatggta gtagcttgag 20

<210> 12
<211> 20
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 12
accctccacg actgcccttt 20

<210> 13
<211> 19
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 13

gtttccttca ctctccagc 19

<210> 14
<211> 18
<212> ADN
<213> Hordeum vulgare

<400> 14
aagcggttga gcactgaa 18

<210> 15
<211> 20
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 15
accctccacg actgcccttt 20

<210> 16
<211> 40
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 16
taatacgact cactataggg caagagatgt cctaggtggg 40

<210> 17
<211> 44
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 17
taatacgact cactatagga cagatttctt caggagaaac atgg 44

<210> 18
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 18
gcaagagatg tcctaggtgg g 21

<210> 19
<211> 25
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 19
acagatttct tcaggagaaa catgg 25

<210> 20
<211> 41
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 20
taatacgact cactataggc atctccttta attgtactgc c 41

<210> 21
<211> 41
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 21
taatacgact cactataggt ttaattgtac tgccattatt c 41

<210> 22
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 22
catctccttt aattgtactg cc 22

<210> 23
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 23

tttaattgta ctgccattat tc 22

<210> 24
<211> 25
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 24
cacttccatc ctcattcagc tcgat 25

<210> 25
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 25
acacctcatc tgtcacccta tcag 24

<210> 26
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 26
cagtctcgta ccaatctcca tcat 24

<210> 27
<211> 41
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 27
taatacgact cactataggg atccatgata tcgtgaacat c 41

<210> 28
<211> 38
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 28
taatacgact cactataggg gcaaagaaaa atgcgtcg 38

<210> 29
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 29
atccatgata tcgtgaacat c 21

<210> 30
<211> 18
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 30
gcaaagaaaa atgcgtcg 18

<210> 31
<211> 40
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 31
tgttttatac tgaataatgg cagtacaatt aaaggagatg 40

<210> 32
<211> 15
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 32
catctccttt aattg 15

<210> 33
<211> 18
<212> ADN

<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 33
catctccttt aattgtac 18

<210> 34
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 34
catctccttt aattgtactg c 21

<210> 35
<211> 33
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 35
catctccttt aattgtactg ccattattca gta 33

<210> 36
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 36
gcagtacaat taaaggagat g 21

<210> 37
<211> 1614
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 37
tcaatttcat ctattggaag tgatttttg ggtcattctg tgagaaattt cagtgttagt 60

aaagtttatg gagcaaagca aagaaatggg cactgccctt taaaggttgt ttgtatagat 120

tatcctaggc cagagcttga aagtacatcc aatttcttgg aagccgccta cttatcttct 180

actttttcgga attcgcctcg tcctcagaag ccattagaag ttgtaattgc tggagcaggt 240

ttggctggtc tatccacggc aaagtattta gctgatgcag gtcacaaacc catattgttg 300

gaagcacgag atgttttagg aggaaaggtt gcagcgtgga aggatgagga tggtgactgg 360

tatgagactg ggctacatat attctttggg gcatatccaa atgtccaaaa tctatttgga 420

gaacttggta taaatgaccg actgcaatgg aaggagcact ctatgatttt tgcaatgccc 480

agcaagcccg gtgaattcag tcgctttgat tttcccgaaa tcctgcctgc accattaaat 540

ggcatatggg caatcctaag aaataatgaa atgctaacct ggccagaaaa aatcaagttt 600

gccattggct tgttgcctgc tatggcaggc ggacagtcat atgttgaagc acaagatggt 660

ttgagtgtcc aagagtggat gagaaaacaa ggagtacccg atcgtgtaac tgatgatgtg 720

tttattgcca tgtcaaaggc actgaacttc ataaatcccg atgaactttc aatgcagtgc 780

atcttgattg ctctgaaccg attcctgcag gagaaacatg gttctaagat ggccttccta 840

gacggaaacc ctccagagag gctgtgcatg cctattgtta aacacatcga gtcactaggt 900

ggtgaagtta aacttaactc tcgtatacaa aagattcagt tggaccagag tggaagcgtg 960

aagagttttt tgctaaataa cgggagggaa atacgaggag atgcctatgt ttttgccacc 1020

ccagttgaca tcttgaagct gttactacct gatacttgga aggaaatctc atacttcaaa 1080

aaacttgaga aattagtggg cgttcctgtg attaatgttc acatatggtt tgacagaaaa 1140

ttaaagaata catatgacca tctactcttc agcaggagtc ctcttttgag tgtctatgct 1200

gatatgtcgg agacatgcaa ggaatataag gatccaaata gatccatgct ggaattggtt 1260

tttgcacccg cggaggaatg gatttcacga agcgacactg atattataga ggcaacaatg 1320

aaagagcttg ccaagctttt cccggatgaa atcgctgccg atggaagcaa ggccaagatc 1380

ctcaaatatc atgtcgtcaa aactccaagg tcggtttata agactgtacc ggattgtgaa 1440

ccttgtcggc cgctgcaaag atcaccaata gagggtttct atttagctgg tgattacaca 1500

aaacaaaaat atttggcttc tatggaaggt gctgtcttat ctgggaagct ttgtgcacag 1560

gctatcgtac aggattatga tctgctgagt tctcgagcac aaagagaatt ggcg 1614

<210> 38
<211> 1761
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 38
atgccccaaa tcggacttgt atctgctgtt aatttgagag tccaaggtaa ttcagcttat 60

ctttggagct cgaggtcttc gttgggaact gaaagtcaag atgtttgctt gcaaaggaat 120

ttgttatgtt ttggtagtag cgactccatg gggcataagt taaggattcg tactccaagt 180

gccacgaccc gaagattgac aaaggacttt aatcctttaa aggtagtctg cattgattat 240

ccaagaccag agctagacaa tacagttaac tatttggagg cggcgttatt atcatcatcg 300

tttcgtactt cctcacgccc aactaaacca ttggagattg ttattgctgg tgcaggtttg 360

ggtggtttgt ctacagcaaa atatctggca gatgctggtc acaaaccgat attgctggag 420

gcaagagatg tcctaggtgg gaaggtagct gcatggaaag atgatgatgg agattggtac 480

gagactgggt tgcacatatt ctttggggct tacccaaata tgcagaacct gtttggagaa 540

ctagggattg atgatcggtt gcagtggaag gaacattcaa tgatatttgc gatgcctaac 600

aagccagggg agttcagccg ctttgatttt cctgaagctc ttcctgcgcc attaaatgga 660

attttggcca tactaaagaa caacgaaatg cttacgtggc ccgagaaagt caaatttgct 720

attggactct tgccagcaat gcttggaggg caatcttatg ttgaagctca agacggttta 780

agtgttaagg actggatgag aaagcaaggt gtgcctgata gggtgacaga tgaggtgttc 840

attgccatgt caaaggcact taacttcata aaccctgacg agctttcgat gcagtgcatt 900

ttgattgctt tgaacagatt tcttcaggag aaacatggtt caaaaatggc ctttttagat 960

ggtaaccctc ctgagagact ttgcatgccg attgtggaac atattgagtc aaaaggtggc 1020

caagtcagac taaactcacg aataaaaaag atcgagctga atgaggatgg aagtgtcaaa 1080

tgttttatac tgaataatgg cagtacaatt aaaggagatg cttttgtgtt tgccactcca 1140

gtggatatct tgaagcttct tttgcctgaa gactggaaag agatcccata tttccaaaag 1200

ttggagaagc tagtgggagt tcctgtgata aatgtccata tatggtttga cagaaaactg 1260

aagaacacat ctgataatct gctcttcagc agaagcccgt tgctcagtgt gtacgctgac 1320

atgtctgtta catgtaagga atattacaac cccaatcagt ctatgttgga attggtattt 1380

gcacccgcag aagagtggat aaatcgtagt gactcagaaa ttattgatgc tacaatgaag 1440

gaactagcga agcttttccc tgatgaaatt tcggcagatc agagcaaagc aaaaatattg 1500

aagtatcatg ttgtcaaaac cccaaggtct gtttataaaa ctgtgccagg ttgtgaaccc 1560

tgtcggccct tgcaaagatc ccctatagag ggtttttatt tagctggtga ctacacgaaa 1620

cagaagtact tggcttcaat ggaaggtgct gtcttatcag gaaagctttg tgcacaagct 1680

attgtacagg attacgagtt acttcttggc cggagccaga agatgttggc agaagcaagc 1740

gtagttagca tagtgaacta a 1761

<210> 39
<211> 22
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 39
ggcagtacaa ttaaaggaga tg 22

<210> 40
<211> 1557
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 40
atggctcaag ctactaccat caacaatggt gtccatactg gtcaattgca ccatacttta 60

cccaaaaccc agttacccaa atcttcaaaa actcttaatt ttggatcaaa cttgagaatt 120

tctccaaagt tcatgtcttt aaccaataaa agagttggtg ggcaatcatc aattgttccc 180

aagattcaag cttctgttgc tgctgcagct gagaaacctt catctgtccc agaaattgtg 240

ttacaaccca tcaaagagat ctctggtact gttcaattgc ctgggtcaaa gtctttatcc 300

aatcgaatcc ttcttttagc tgctttgtct gagggcacaa cagtggtcga caacttgctg 360

tatagtgatg atattcttta tatgttggac gctctcagaa ctcttggttt aaaagtggag 420

gatgatagta cagccaaaag ggcagtcgta gagggttgtg gtggtctgtt tcctgttggt 480

aaagatggaa aggaagagat tcaacttttc cttggtaatg caggaacagc gatgcgccca 540

ttgacagctg cggttgccgt tgctggagga aattcaagtt atgtgcttga tggagtacca 600

agaatgaggg agcgccccat tggggatctg gtagcaggtc taaagcaact tggttcagat 660

gtagattgtt ttcttggcac aaattgccct cctgttcggg tcaatgctaa aggaggcctt 720

ccaggggca aggtcaagct ctctggatcg gttagtagcc aatatttaac tgcacttctc 780

atggctactc ctttgggtct tggagacgtg gagattgaga tagttgataa attgatttct 840

gtaccgtatg ttgaaatgac aataaagttg atggaacgct ttggagtatc cgtagaacat 900

agtgatagtt gggacaggtt ctacattcga ggtggtcaga aatacaaatc tcctggaaag 960

gcatatgttg agggtgatgc ttcaagtgct agctacttcc tagccggagc cgccgtcact 1020

ggtgggactg tcactgtcaa gggttgtgga acaagcagtt tacagggtga tgtaaaattt 1080

gccgaagttc ttgagaagat gggttgcaag gtcacctgga cagagaatag tgtaactgtt 1140

actggaccac ccagggattc atctggaaag aaacatctgc gtgctatcga cgtcaacatg 1200

aacaaaatgc cagatgttgc tatgactctt gcagttgttg ccttgtatgc agatgggccc 1260

accgccatca gagatgtggc tagctggaga gtgaaggaaa ccgaacggat gattgccatt 1320

tgcacagaac tgagaaagct tggggcaaca gttgaggaag gatctgatta ctgtgtgatc 1380

actccgcctg aaaagctaaa ccccaccgcc attgaaactt atgacgatca ccgaatggcc 1440

atggcattct ctcttgctgc ctgtgcagat gttcccgtca ctatccttga tccgggatgc 1500

acccgtaaaa ccttcccgga ctactttgat gttttagaaa agttcgccaa gcattga 1557

<210> 41
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<220>
<221> misc_feature
<222> (27)..(27)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 41
cgccagggct gcagacgcgt tacgtantcg gatccagaat tcgtgattaa cgtcacagca 60

tgtcatgtaa aacacgcgaa tcagaccggt ccactcttgt tttaatttga gacaattttg 120

atgttgagtc atcccacacc aaccccaaaa aattcaacaa caaactctta taatgattcc 180

ctctactcta ctagagtcta caccaaccca ctttctcttt gcccaccaaa actttggttt 240

ggtaagaact 250

<210> 42
<211> 244
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 42
caccaaccca ctttctcttt gcccaccaaa actttggttt ggtaagaact aagccctctt 60

ctttcccttc tctctcttaa aagcctaaaa tccacctaac tttttcagcc aacaaacaac 120

gccaaattca gaggaagaat aatgatggct caagctacta ccatcaacaa tggtgtccat 180

actggtcaat tgcaccatac tttacccaaa acccagttac ccaaatcttc aaaaactctt 240

aatt 244

<210> 43
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 43
ccatacttta cccaaaaccc agttacccaa atcttcaaaa actcttaatt ttggatcaaa 60

cttgagaatt tctccaaagt tcatgtcttt aaccaataaa agagttggtg ggcaatcatc 120

aattgttccc aagattcaag cttctgttgc tgctgcagct gagaaacctt catctgtccc 180

agaaattgtg ttacaaccca tcaaagagat ctctggtact gttcaattgc ctgggtcaaa 240

gtctttatcc 250

<210> 44
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 44
tcaaagagat ctctggtact gttcaattgc ctgggtcaaa gtctttatcc aatcgaatcc 60

ttcttttagc tgctttgtct gagggcacaa cagtggtcga caacttgctg tatagtgatg 120

atattcttta tatgttggac gctctcagaa ctcttggttt aaaagtggag gatgatagta 180

cagccaaaag ggcagtcgta gagggttgtg gtggtctgtt tcctgttggt aaagatggaa 240

aggaagagat 250

<210> 45
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 45
gagggttgtg gtggtctgtt tcctgttggt aaagatggaa aggaagagat tcaacttttc 60

cttggtaatg caggaacagc gatgcgccca ttgacagctg cggttgccgt tgctggagga 120

aattcaagtt atgtgcttga tggagtacca agaatgaggg agcgccccat tggggatctg 180

gtagcaggtc taaagcaact tggttcagat gtagattgtt ttcttggcac aaattgccct 240

cctgttcggg 250

<210> 46
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 46
tggttcagat gtagattgtt ttcttggcac aaattgccct cctgttcggg tcaatgctaa 60

aggaggcctt ccaggggca aggtcaagct ctctggatcg gttagtagcc aatatttaac 120

tgcacttctc atggctactc ctttgggtct tggagacgtg gagattgaga tagttgataa 180

attgatttct gtaccgtatg ttgaaatgac aataaagttg atggaacgct ttggagtatc 240

cgtagaacat 250

<210> 47
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 47
ttgaaatgac aataaagttg atggaacgct ttggagtatc cgtagaacat agtgatagtt 60

gggacaggtt ctacattcga ggtggtcaga aatacaaatc tcctggaaag gcatatgttg 120

agggtgatgc ttcaagtgct agctacttcc tagccggagc cgccgtcact ggtgggactg 180

tcactgtcaa gggttgtgga acaagcagtt tacagggtga tgtaaaattt gccgaagttc 240

ttgagaagat 250

<210> 48
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 48
acaagcagtt tacagggtga tgtaaaattt gccgaagttc ttgagaagat gggttgcaag 60

gtcacctgga cagagaatag tgtaactgtt actggaccac ccagggattc atctggaaag 120

aaacatctgc gtgctatcga cgtcaacatg aacaaaatgc cagatgttgc tatgactctt 180

gcagttgttg ccttgtatgc agatgggccc accgccatca gagatgtggc tagctggaga 240

gtgaaggaaa 250

<210> 49
<211> 250
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 49
agatgggccc accgccatca gagatgtggc tagctggaga gtgaaggaaa ccgaacggat 60

gattgccatt tgcacagaac tgagaaagct tggggcaaca gttgaggaag gatctgatta 120

ctgtgtgatc actccgcctg aaaagctaaa ccccaccgcc attgaaactt atgacgatca 180

ccgaatggcc atggcattct ctcttgctgc ctgtgcagat gttcccgtca ctatccttga 240

tccgggatgc 250

<210> 50
<211> 257
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 50
ctcttgctgc ctgtgcagat gttcccgtca ctatccttga tccgggatgc acccgtaaaa 60

ccttcccgga ctactttgat gttttagaaa agttcgccaa gcattgatga gtagctatat 120

acgagatcct taaattgtac gccgaaggtt ttgatttgag tctaatagta gataaaaggc 180

tataaataaa ctggctttct gcttgagtaa ttatgaaatt ctttgtatta tgtttgtgag 240

atttgaagta gcttata 257

<210> 51
<211> 273
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 51
taattatgaa attctttgta ttatgtttgt gagatttgaa gtagcttata aattacaatg 60

tactaaagtc tagaaataag ttatgtatct tttaaatcaa tgagaaatgc atacttgaaa 120

ggcttgacct tgtatttgtg acctaaagag tactaacttt ggagtttcca actcatttgt 180

ttatctcatt ttttttaat ttttgattta aattgtttat ttttatgagt aatcatgtat 240

ctttcttatt ctaaccaaat gtaatactcc ttc 273

<210> 52
<211> 301
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 52
tatgagtaat catgtatctt tcttattcta accaaatgta atactccttc caactctctt 60

taaacgtcca cactctgggc acagagtgta atagtgtggt ggttggagtc ttttaagtga 120

ttataataat tgtaaatgtg gtagttagaa tattttaagt aatgtaggtg gggtattatg 180

gtcttgttga acataggata tttaggtaaa aaatctatgc aaaaaaagga aagtaagcaa 240

ataaagcgaa ttgacctgaa aagaaaagtg gacatgtata gtgagttgga ggaagtattt 300

t 301

<210> 53
<211> 1710
<212> ADN

<213> Lactuca sativa

<400> 53

atgtctctgt ttggaaatgt ttctgccatt aactcaagtg gaaagtgtat agtaatgaat 60

ctttcaagca cacaaatcac ttcaagagat tgtttcaaga ttacctcagg gcaaaaagat 120

gttttgtcat ttggatgctg tgatgctatg ggtaacagat tgcaattccc aagtgctcgt 180

tcttttacac caagatcaaa gaagaatgtc tcccctctaa aggtagtttg tgttgattat 240

ccaagaccag atcttgataa cacatctaat ttcttggaag ctgctcactt gtcttcaacc 300

ttcagaactt ccccacgccc atctaagcca ttgaagattg taattgctgg tgcaggttta 360

gctggtttat caactgctaa gtatttagct gatgcaggtc acaagccaat tttactagaa 420

gcaagagatg ttcttggtgg aaaggtggca gcttggaaag atgatgatgg agattggtat 480

gagacaggtt tacacatatt ctttggagct tacccaaatg tacaaaattt atttggagag 540

ctaggaatta atgatagatt acagtggaag gagcattcta tgatatttgc aatgccaaat 600

aagcctggag aatttagtag gtttgacttc ccagatgttt tacctgcacc attgaatgga 660

atttttgcta tattgaggaa caatgaaatg ctgacgtggc ctgagaaagt gaagtttgca 720

attgggctgt tgcctgcaat gttaggtgga caggcttatg ttgaggccca agatgggctt 780

agtgttcagg actggatgag aaagcaaggt atacctgatc gagttactac tgaagtgttt 840

attgcaatgt caaaagcatt aaactttata aatccagatg aactttcaat gcaatgtatt 900

ctcattgctc taaaccgttt tcttcaggaa aagcatggtt ccaagatggc atttttagat 960

gggagcccac cagaaagact ttgcaagcca attgttgacc acatcgagtc actcggtggc 1020

caagtcagag tcaactcacg aatacaaaaa attgagttaa acaaagacgg aactgtccgg 1080

aactttctat tgagtgatgg gaatgttcta gaagctgatg cttatgtttt cgctacccct 1140

gttgacattc tcaagcttct tttacccgaa gaatggaaac caattccata tttcaaaaaa 1200

ttagagaagt tagtcggtgt tcctgttata aacgttcata tatggtttga cagaaagctg 1260

aaaaacacat atgatcactt acttttcagt aggtcacctc tgctgagtgt gtatgctgac 1320

atgtcagtga catgtaagga atattatgat ccgaataagt caatgttgga gttggttctt 1380

gctccagctg aggaatggat ttcaagaagt gacactgata ttattgatgc aacaatgagt 1440

gaactttcaa ggctttttcc tgatgaaatt gcagctgatc aaagtaaagc aaaaatcttg 1500

aaatataaag ttgttaaaac accaaggtct gtttataaaa ctgttccaga ttgtgaacca 1560

tgtcgacccc tacaaagatc tccaattcaa ggattttatt tatctggtga ttatactaaa 1620

caaaagtatt tggcttcaat ggggggtgct gttttatctg gaaaaatttg tgcacaagct 1680

attttacaag attatgagat gcttgctaca 1710

<210> 54
<211> 42
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 54
taatacgact cactataggg tttggagctt acccaaatgt ac 42

<210> 55
<211> 45
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 55
taatacgact cactataggg aggccacgtc agcatttcat tgttc 45

<210> 56
<211> 23
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 56
ccattcaatg gtgcaggtaa aac 23

<210> 57
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 57
catagaatgc tccttccact g 21

<210> 58
<211> 33
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 58
caaataaatt ttgtacattt gggtaagctc caa 33

<210> 59
<211> 2349
<212> ADN
<213> Solanum lycopersicum

<400> 59
gggtttatct cgcaagtgtg gctatggtgg gacgtgtcaa attttggatt gtagccaaac 60

atgagatttg atttaaaggg aattggccaa atcaccgaaa gcaggcatct tcatcataaa 120

ttagtttgtt tatttataca gaattatacg cttttactag ttatagcatt cggtatcttt 180

ttctgggtaa ctgccaaacc accacaaatt tcaagtttcc atttaactct tcaacttcaa 240

cccaaccaaa tttatttgct taattgtgca gaaccactcc ctatatcttc taggtgcttt 300

cattcgttcc gagtaaaatg cctcaaattg gacttgtttc tgctgttaac ttgagagtcc 360

aaggtagttc agcttatctt tggagctcga ggtcgtcttc tttgggaact gaaagtcgag 420

atggttgctt gcaaaggaat tcgttatgtt ttgctggtag cgaatcaatg ggtcataagt 480

taaagattcg tactccccat gccacgacca gaagattggt taaggacttg gggcctttaa 540

aggtcgtatg cattgattat ccaagaccag agctggacaa tacagttaac tatttggagg 600

ctgcattttt atcatcaacg ttccgtgctt ctccgcgccc aactaaacca ttggagattg 660

ttattgctgg tgcaggtttg ggtggtttgt ctacagcaaa atatttggca gatgctggtc 720

acaaaccgat actgctggag gcaagggatg ttctaggtgg aaaggtagct gcatggaaag 780

atgatgatgg agattggtac gagactggtt tgcatatatt ctttggggct tacccaaata 840

ttcagaacct gtttggagaa ttagggatta acgatcgatt gcaatggaag gaacattcaa 900

tgatatttgc aatgccaagc aagccaggag aattcagccg ctttgatttc tccgaagctt 960

tacccgctcc tttaaatgga attttagcca tcttaaagaa taacgaaatg cttacatggc 1020

cagagaaagt caaatttgca attggactct tgccagcaat gcttggaggg caatcttatg 1080

ttgaagctca agatgggata agtgttaagg actggatgag aaagcaaggt gtgccggaca 1140

gggtgacaga tgaggtgttc attgctatgt caaaggcact caactttata aaccctgacg 1200

aactttcaat gcagtgcatt ttgatcgcat tgaacaggtt tcttcaggag aaacatggtt 1260

caaaaatggc ctttttagat ggtaatcctc ctgagagact ttgcatgccg attgttgaac 1320

acattgagtc aaaaggtggc caagtcagac tgaactcacg aataaaaaag attgagctga 1380

atgaggatgg aagtgtcaag agttttatac tgagtgacgg tagtgcaatc gagggagatg 1440

cttttgtgtt tgccgctcca gtggatattt tcaagcttct attgcctgaa gactggaaag 1500

agattccata tttccaaaag ttggagaagt tagtcggagt acctgtgata aatgtacata 1560

tatggtttga cagaaaactg aagaacacat atgatcattt gctcttcagc agaagctcac 1620

tgctcagtgt gtatgctgac atgtctgtta catgtaagga atattacaac cccaatcagt 1680

ctatgttgga attggttttt gcacctgcag aagagtggat atctcgcagc gactcagaaa 1740

ttattgatgc aacgatgaag gaactagcaa cgctttttcc tgatgaaatt tcagcagatc 1800

aaagcaaagc aaaaatattg aagtaccatg ttgtcaaaac tccgaggtct gtttataaaa 1860

ctgtgccagg ttgtgaaccc tgtcggcctt tacaaagatc cccaatagag gggttttatt 1920

tagccggtga ctacacgaaa cagaaatact tggcttcaat ggaaggcgct gtcttatcag 1980

gaaagctttg tgctcaagct attgtacagg attatgagtt acttgttgga cgtagccaaa 2040

agaagttgtc ggaagcaagc gtagtttagc tttgtggtta ttatttagct tctgtacact 2100

aaatttatga tgcaagaagc gttgtacaca acatatagaa gaagagtgcg aggtgaagca 2160

agtaggagaa atgttaggaa agctcctata caaaaggatg gcatgttgaa gattagcatc 2220

tttttaatcc caagtttaaa tataaagcat attttatgta ccactttctt tatctggggt 2280

ttgtaatccc tttatatctt tatgcaatct ttacgttagt taaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2340

aaaactcga 2349

<210> 60
<211> 200
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 60
tcgcagcgac tcagaaatta ttgatgcaac gatgaaggaa ctagcaacgc tttttcctga 60

tgaaatttca gcagatcaaa gcaaagcaaa aatattgaag taccatgttg tcaaaactcc 120

gaggtctgtt tataaaactg tgccaggttg tgaaccctgt cggcctttac aaagatcccc 180

aatagagggg ttttatttag 200

<210> 61

<211> 43
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 61
taatacgact cactataggg tcgcagcgac tcagaaatta ttg 43

<210> 62
<211> 45
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 62
taatacgact cactataggg gtaaaggccg acagggttca caacc 45

<210> 63
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 63
cuaccaucaa caaugguguc c 21

<210> 64
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 64
ggacaccauu guugauggua g 21

<210> 65
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 65
gucgacaacu ugcuguauag u 21

<210> 66
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 66
acuauacagc aaguugucga c 21

<210> 67
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 67
ggucaccugg acagagaaua g 21

<210> 68
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 68
cuauucucug uccaggugac c 21

<210> 69
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 69
aaugccagau guugcuauga c 21

<210> 70
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 70
gucauagcaa caucuggcau u 21

<210> 71
<211> 2827
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 71
atggcaacaa tggcttccct agtgagtttg ggaagctctg gagcaacttg ctcagggcaa 60

ttggaggttt ccttttcatt ggttaagaaa attacattgc ctagaagaaa ttgtagttgc 120

aattttaggc aattaggagg ggggaggaga tggcgttacg tttcggtgtg tagactttct 180

gtcactactg attatgtttc tgagcaagga aatgctgttt ctcttgaaaa tgcatatagt 240

gagagtaaag aagagggtct catcttgaag ccttctccta agccggtttt gaaatccggg 300

tctgatggaa atcggaaatt tggggagagt tcggtggcgt tttcgagtaa tgggaaattg 360

gataatgtag aggagaggaa gaaggttatt gattcattgg atgaggtatt agaaaaggcc 420

gagagattag aaacggcgaa cttacaagca gataatagaa aggatagcac aaatgtaaat 480

aaaccgtctc cgagtgtaag tagttcaacc aatggtaaac ctgtaaataa tttgaacaaa 540

gggaagccta aagctgcgaa gagcgtttgg agaaagggaa atccagtttc tactgtgcaa 600

aaagtagtgc aagaatctcc gaagattgaa aaggttgaga gagtggaagc tcgaacgacc 660

agccaatcgt ctgaaacgat aagaccccca gtgccactac agaggcctga gattaagttg 720

caggcaaagc cttctactgc tcctccaccc atgcctaaga agccggtttt gaaggatgtg 780

gggatgtcct ccagagctga tgggaaggac cagtctgtga aatctaaaga gaggaagcct 840

attctagtgg acaaatttgc caccaagaag gcatcagttg atccgtcgat tgctcaagca 900

gtaattgccc caccaaaacc tgctaaattt ccttctggaa agtttaaaga tgattatcgg 960

aagaagggtc ttgcagctgg tgggccgaag aggcgtatgg tcaatgatga tgatattgaa 1020

atgcatgaag acacttcaga gctcggtctt tctattcctg gtgctgctac ggctcggaaa 1080

ggcaggaaat ggagtaaggc aagtcgcaag gctgccagac gccaagcagc tagagatgcc 1140

gctcctgtta aagtggaaat cttagaggtt gaagaaaagg gcatgtcgac cgaagaatta 1200

gcatacaact tggctattag cgaaggtgaa attcttgggt acctgtattc taaggggata 1260

aaaccagatg gtgtgcaaac tcttgacaag gcaatggtaa agatgatatg tgaaagatat 1320

gacgtggagg ttttggacgc actttctgaa caaatggaag aaatggctcg aaagaaggaa 1380

attttcgacg aagatgacct tgacaagctt gaagataggc ctcctgtgct tactataatg 1440

ggtcatgtag atcatggcaa gacgaccctt ctggattata tacggaagag caaggttgct 1500

gcttctgaag ctggtgggat tacacaaggt attggtgctt ataaagtgga agtaccggtt 1560

gatggcaagt tgctgccttg tgtctttctt gacactcccg gacacgaggc gttcggggca 1620

atgagggctc gtggagcaag agtgacagat attgctatta tagttgtagc tgctgacgat 1680

gggatccgtc ctcaaacaaa tgaagccata gcacatgcaa aagcagctgg tgtacctatt 1740

gtggttgcaa ttaataagat tgacaaggat ggggctaatc cggaccgtgt gatgcaagag 1800

ctttcatcaa ttggtctaat gccagaggat tggggtggtg ataccccaat ggtcaagata 1860

agtgctctaa aaggtgaaaa tgtggacgag ttactcgaga cagccatgct tgtcgccgag 1920

ttgcaagagt taaaggctaa tcctcagagg aacgctaagg gcactgtaat tgaggctggt 1980

cttcataaat caaaaggacc cattgccact tttattgtgc agaatggtac cctcaaacaa 2040

ggggatactg tagtttgtgg ggaagcattt gggaaggttc gtgccctatt tgatcacgga 2100

gggaatcgcg ttgatgaagc tggtccatct attcccgtgc aggttattgg attgaataat 2160

gttccttttg ccggtgatga gttcgaggta gtgagttccc ttgatatagc tcgtgaaaag 2220

gcagaggtcc gtgcagagtc tttacgaaat gagcgtatag ctgctaaggc cggagacgga 2280

aaggttacgc tgtcatcctt ggcatcggct gtttcttcag ggaagatggc tggtttggat 2340

ttgcaccagt taaatatcat tttgaaggtt gatgttcagg gatcaatcga ggcattgagg 2400

caagctctag aagttcttcc tcaagataac gtcactttga agtttctctt acaagcgacc 2460

ggagatgtta ctacaagtga tgttgatctt gcagttgcta gtaaagctat tatcttgggg 2520

ttcaatgtga aggcaccagg ttctgtcgaa aaattagcag ataacaaagg tgttgaaatt 2580

cggctttata aagtcattta tgatctaatt gacgacatgc ggagtgcaat ggaaggaatg 2640

ctagatcccg ttgaggaaca agttgcaatt ggttcagccg aagtgcgggc tacattcagt 2700

agtggtagtg gccgtgtcgc tggatgcatg gtgaccgagg gaaagattac caaaggctgt 2760

gggattcgag tgatacggaa gggaaaaact gtccacgttg gagttcttga ttcgttgcgt 2820

cgagtaa 2827

<210> 72
<211> 200
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 72
tttcgagtaa tgggaaattg gataatgtag aggagaggaa gaaggttatt gattcattgg 60

atgaggtatt agaaaaggcc gagagattag aaacggcgaa cttacaagca gataatagaa 120

aggatagcac aaatgtaaat aaaccgtctc cgagtgtaag tagttcaacc aatggtaaac 180

ctgtaaataa tttgaacaaa 200

<210> 73
<211> 160
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 73
uucgaguaau gggaaauugg auaauguaga ggagaggaag aagguuauug auucauugga 60

ugagguauua gaaaaggccg agagauuaga aacggcgaac uuacaagcag auaauagaaa 120

ggauagcaca aauguaaaua aaccgucucc gaguguaagu 160

<210> 74
<211> 160
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 74
acuuacacuc ggagacgguu uauuuacauu ugugcuaucc uuucuauuau cugcuuguaa 60

guucgccguu ucuaaucucu cggccuuuuc uaauaccuca uccaaugaau caauaaccuu 120

cuuccucucc ucuacauuau ccaauuuccc auuacucgaa 160

<210> 75
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 75
atttctccaa acgctcttcg ca 22

<210> 76

<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 76
atccaatttc ccattactcg aa 22

<210> 77
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 77
gtttctaatc tctcggcctt tt 22

<210> 78
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 78
ttgaactact tacactcgga g 21

<210> 79
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 79
taaccttctt cctctcctct a 21

<210> 80
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 80
gtccttccca tcagctctgg a 21

<210> 81
<211> 20
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 81
cgtagcagca ccaggaatag 20

<210> 82
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 82
cagcagctac aactataata g 21

<210> 83
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 83
cuaccaucaa caaugguguc cauac 25

<210> 84
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 84
guauggacac cauuguugau gguagua 27

<210> 85
<211> 23
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 85
aguugguggg caaucaucaa uug 23

<210> 86
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 86
aacaauugau gauugcccac caacucu 27

<210> 87
<211> 24
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 87
ggucgacaac uugcuguaua guga 24

<210> 88
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 88
aucacuauac agcaaguugu cgaccuc 27

<210> 89
<211> 24
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 89
ugcaagguca ccuggacaga gaaa 24

<210> 90
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 90
uauucucugu ccaggugacc uugcaac 27

<210> 91
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 91
aacaugaaca aaaugccaga u 21

<210> 92
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 92
aucuggcauu uuguucaugu u 21

<210> 93
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 93
guauggacac cauuguugau gguagua 27

<210> 94
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 94
uacuaccauc aacaauggug uccauac 27

<210> 95

<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 95
aauaauugau gauugcccac caacucu 27

<210> 96
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 96
agaguuggug ggcaaucauc aauuauu 27

<210> 97
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 97
aucacuauac agcaaguugu cgaccac 27

<210> 98
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 98
guggucgaca acuugcugua uagugau 27

<210> 99
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 99
uauucucugu ccaggugacc uugcaac 27

<210> 100
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 100
guugcaaggu caccuggaca gagaaua 27

<210> 101
<211> 29
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 101
gguauggaca ccauuguuga ugguaguac 29

<210> 102
<211> 29
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 102
gcuaccauca acaauggugu ccauaccac 29

<210> 103
<211> 29
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 103
gaagaauuga ugauugccca ccaacucac 29

<210> 104
<211> 29
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 104
gaguuggugg gcaaucauca auuauucac 29

<210> 105
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 105
gaucacuaua cagcaaguug ucgacac 27

<210> 106
<211> 27
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 106
gucgacaacu ugcuguauag ugaucac 27

<210> 107
<211> 29
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 107
guauucucug uccaggugac cuugcacac 29

<210> 108
<211> 29
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 108
gugcaagguc accuggacag agaauacac 29

<210> 109
<211> 58
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 109
guauggacac cauuguugau gguaguagaa auacuaccau caacaauggu guccauac 58

<210> 110
<211> 58
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 110
aauaauugau gauugcccac caacucugaa aagaguuggu gggcaaucau caauuauu 58

<210> 111
<211> 58
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 111
aucacuauac agcaaguugu cgaccacgaa aguggucgac aacuugcugu auagugau 58

<210> 112
<211> 58
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 112
uauucucugu ccaggugacc uugcaacgaa aguugcaagg ucaccuggac agagaaua 58

<210> 113
<211> 168
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 113
gaucacaaau uugccgguuu augaucaaau acggaacaua agacagauac acuugaacac 60

caugauucgc auugggggug ugguuacucg ucguucugga guauucccuc aguugaugca 120

ggugaaguau gacugcaaua aaugugggc uauccugggu cccuuuuu 168

<210> 114
<211> 168
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 114
aaaaagggac ccaggauagc cccacauuua uugcagucau acuucaccug caucaacuga 60

gggaauacuc cagaacgacg aguaaccaca ccccccaaugc gaaucauggu guucaagugu 120

aucugucuua uguuccguau uugaucauaa accggcaaau uugugauc 168

<210> 115
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 115
uuuucuaaua ccucauccaa ugaau 25

<210> 116
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 116
auucauugga ugagguauua gaaaa 25

<210> 117
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 117
uaucugcuug uaaguucgcc guuuc 25

<210> 118
<211> 25

<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 118
gaaacggcga acuuacaagc agaua 25

<210> 119
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 119
ggagacgguu uauuuacauu ugugc 25

<210> 120
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 120
gcacaaaugu aaauaaaccg ucucc 25

<210> 121
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 121
uauuuacagg uuuaccauug guuga 25

<210> 122
<211> 25
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 122
ucaaccaaug guaaaccugu aaaua 25

<210> 123
<211> 185
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 123
gacggaaacc cuccagagag gcugugcaug ccuauuguua aacacaucga gucacuaggu 60

ggugaaguua aacuuaacuc ucguauacaa aagauucagu uggaccagag uggaagcgug 120

aagaguuuuu ugcuaaauaa cgggagggaa auacgaggag augccuaugu uuuugccacc 180

ccagu 185

<210> 124
<211> 185
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 124
acuggggugg caaaaacaua ggcaucuccu cguauuuccc ucccguuauu uagcaaaaaa 60

cucuucacgc uuccacucug guccaacuga aucuuuugua uacgagaguu aaguuuaacu 120

ucaccaccua gugacucgau guguuuaaca auaggcaugc acagccucuc uggaggguuu 180

ccguc 185

<210> 125
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 125
gtgatattac ctccaacacg at 22

<210> 126
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 126
atagtaagca caggatcgga g 21

<210> 127
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 127
ctttcaatcc actgtcaacc g 21

<210> 128
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 128
atcaagcgtt cgaagacctc at 22

<210> 129
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 129
cagcaatggc ggtaggtaac a 21

<210> 130
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 130
gcaattgccc gaatcctttt a 21

<210> 131
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 131
tagctcaata tcaaggtcct a 21

<210> 132
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 132
tcataagcac cctctataca c 21

<210> 133
<211> 20
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 133
ttcttaacct cgtcgagatg 20

<210> 134
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 134
atacccgagt atccttgcaa a 21

<210> 135
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 135
tagggcccac ggccttggag t 21

<210> 136
<211> 21

<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 136
agcggatata acctcagcta g 21

<210> 137
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 137
cttcgtggcc caacgaatga c 21

<210> 138
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 138
caagctcggg tccctgcttg c 21

<210> 139
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 139
ggaaggtaga tgacatgagt t 21

<210> 140
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 140
gatggcatag ttaccactgt c 21

<210> 141
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 141
tccgtagctt acataccgaa g 21

<210> 142
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 142
tccaagtgaa taggagaaac a 21

<210> 143
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 143
agcagcttct gcgtcttcta c 21

<210> 144
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 144
acagcacgca cgccaagacc g 21

<210> 145
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 145
cgatgtaagg aatttggtaa a 21

<210> 146
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 146
cgaggggatt gcagcagaag a 21

<210> 147
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 147
gtaggagaat acggtgaagt a 21

<210> 148
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 148
gaccccaaga aaatcgtctg c 21

<210> 149
<211> 19
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 149
gtcttacaag ggttctcaa 19

<210> 150
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 150
atctatgttc acctccctgt g 21

<210> 151
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 151
ataaaccatt agctttcccg g 21

<210> 152
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 152
tttattggaa caagcggagt t 21

<210> 153
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 153
tatagcacca cttcccgata g 21

<210> 154
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 154
gcaccacgag gatcacaaga a 21

<210> 155
<211> 21

<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 155
ccacccgaga aacctctcca a 21

<210> 156
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 156
cagtcttgac gagtgattcc t 21

<210> 157
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 157
gttcttcagg gctaaatcgg ga 22

<210> 158
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 158
gttcaagagc ttcaacgaga ac 22

<210> 159
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 159
atacaaactc caacgcgtcc ag 22

<210> 160
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 160
ctcttggaaa gcatcagtac ca 22

<210> 161
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 161
ctagaaagat acccacccaa tt 22

<210> 162
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 162
actagaattc aaacacccac cc 22

<210> 163
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 163
tttctgctca ttcaactcct cc 22

<210> 164
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 164
tatgtatgtg cccggttagc tt 22

<210> 165
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 165
tcatatccaa gccagatcct c 21

<210> 166
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 166
tgcatcacac atcaccaaga t 21

<210> 167
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 167
gtactcctgt tcaatgccat a 21

<210> 168
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 168
attgatacca gcatagagac a 21

<210> 169
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 169
agcaattctc tctagaatgt a 21

<210> 170
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 170
catcattcct catcgactta g 21

<210> 171
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 171
ctctcgttgc cctctccata a 21

<210> 172
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 172
caacgcccca ggagaaagtt c 21

<210> 173
<211> 195
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 173
cugaagcugg ugaaggugaa gauggacgaa ugaaaucugc gauuggaauu gggacccuuc 60

uucaggaugg cuugggagau acgaucaggg ugucucuaac agaaccacca gaagaggaga 120

uagacccuug cagaagguug gcaaaucuug gaacaaaagc agcugaaauu cagcaaggag 180

uggcaccauu ugaag 195

<210> 174
<211> 195
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 174
cuucaaaugg ugccacuccu ugcugaauuu cagcugcuuu uguuccaaga uuugccaacc 60

uucugcaagg gucuaucucc ucuucuggug guucuguuag agacacccug aucguaucuc 120

ccaagccauc cugaagaagg gucccaauuc caaucgcaga uuucauucgu ccaucuucac 180

cuucaccagc uucag 195

<210> 175
<211> 183
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 175
ucccaucaaa guucccuaca aaauaugugc aguuuccuau cuuccuugcc gccauucaua 60

caaacuaugu ugauuguaca agguggcuug gugauuuugu ucuuucuaag aguguugaca 120

augagauugu acugugggag ccaauuauga aggagcaauc uccuggagag gguucaguug 180

aca 183

<210> 176
<211> 183
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 176
ugucaacuga acccucucca ggagauugcu ccuucauaau uggcucccac aguacaaucu 60

cauugucaac acucuuagaa agaacaaaau caccaagcca ccuuguacaa ucaacauagu 120

uuguaugaau ggcggcaagg aagauaggaa acugcacaua uuuuguaggg aacuuugaug 180

gga 183

<210> 177
<211> 143
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 177
uugugcuuaa aacaucgacc agacagacaa uauuucuucc uguuguugga cuaguugauc 60

cugauacgcu gaaaccuggu gauuuaguug gugucaacaa agauaguuau cuuauccugg 120

acacucugcc gucggaauau gau 143

<210> 178
<211> 143
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 178
aucauauucc gacggcagag uguccaggau aagauaacua ucuuuguuga caccaacuaa 60

aucaccaggu uucagcguau caggaucaac uaguccaaca acaggaagaa auauugucug 120

ucuggucgau guuuuaagca caa 143

<210> 179
<211> 159
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 179
cgcugcaguu ggugaaguag aucccggcaa ggggauuuca cuccgguuuc cacgucuggu 60

ucguauccga gaggauaaau cuccagagga cgccacauca ucugagcagg uggcggauau 120

guacagaucu caagcaaaca auccacaccg caaaaagag 159

<210> 180
<211> 159
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 180
cucuuuuugc gguguggauu guuugcuuga gaucuguaca uauccgccac cugcucagau 60

gauguggcgu ccucuggaga uuuauccucu cggauacgaa ccagacgugg aaaccggagu 120

gaaaucccu ugccgggauc uacuucacca acugcagcg 159

<210> 181
<211> 159
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 181
uaaagauggc ggaaaaaucg acuaugauaa auugauugac aaauucggcu gucagcgacu 60

ugauuuaucg cucauucaga gaauugagcg caucacugcu cguccugcuc auguauuucu 120

ucgccgcaac guuuucuucg cucaccguga uuugaauga 159

<210> 182
<211> 159
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 182
ucauucaaau cacggugagc gaagaaaacg uugcggcgaa gaaauacaug agcaggacga 60

gcagugaugc gcucaauucu cugaaugagc gauaaaucaa gucgcugaca gccgaauuug 120

ucaaucaauu uaucauaguc gauuuuuccg ccaucuuua 159

<210> 183
<211> 150
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 183
ugaagcugau gcugaaggaa aggauauuga ugcuagugaa guaguucgcc caagggugcc 60

auuagaagcu ugccuagcua gcuacucagc uccggaggag gugauggacu ucuacagcac 120

ugcauugaag gcaaaggcaa cugcuacaaa 150

<210> 184

<211> 150
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 184
uuuguagcag uugccuuugc cuucaaugca gugcuguaga aguccaucac cuccuccgga 60

gcugaguagc uagcuaggca agcuucuaau ggcacccuug ggcgaacuac uucacuagca 120

ucaauauccu uuccuucagc aucagcuuca 150

<210> 185
<211> 155
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 185
acaccugccc uaacaucucg ggguuuucuc gaagaagauu uuguuaaagu ggccgaguau 60

uuugaugcug cuguuaagcu ggcucuaaaa aucaaggcug acacaaaagg aacaaaguug 120

aaggacuucg uugccaccuu gcagucuggu guuuu 155

<210> 186
<211> 155
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 186
aaaacaccag acugcaaggu ggcaacgaag uccuucaacu uuguuccuuu ugugucagcc 60

uugauuuuua gagccagcuu aacagcagca ucaaaauacu cggccacuuu aacaaaaucu 120

ucuucgagaa aaccccgaga uguuagggca ggugu 155

<210> 187
<211> 159
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 187
ugaacuacga agcaggcaaa uucuccaaaa guaaaggcau uggaguuuuu gggaaugacg 60

ccaagaauuc uaauauaccu guagaagugu ggagauacua ucugcuaaca aacaggccug 120

agguaucaga cacauuguuc acuugggcgg aucuucaag 159

<210> 188
<211> 159
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 188
cuugaagauc cgcccaagug aacaaugugu cugauaccuc aggccuguuu guuagcagau 60

aguaucucca cacuucuaca gguauauuag aauucuuggc gucauuccca aaaacuccaa 120

ugccuuuacu uuuggagaau uugccugcuu cguaguuca 159

<210> 189
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 189
tcccatctcc cacatgggtt actg 24

<210> 190
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 190
cagtaaccca tgtgggagat ggga 24

<210> 191
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 191
ggctgatgaa attcaagtgc ta 22

<210> 192
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 192
aaactgagct tggaaataat c 21

<210> 193
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 193
gaacccaaaa ttgtcacttt tt 22

<210> 194
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 194
atgcacttgt ttatactctt gtca 24

<210> 195
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 195
atttattagt gttctaaaga a 21

<210> 196
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 196
tgtagtagct tataagatta gctt 24

<210> 197
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 197
gttgtccctt ttatgggtct tt 22

<210> 198
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 198
cccgtgcaat ttctgggaag c 21

<210> 199
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 199
attagttttt tatacacgaa agat 24

<210> 200
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 200
atctttcgtg tataaaaaac taat 24

<210> 201
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 201
ttggtggttt ggccacttcc gt 22

<210> 202
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 202
tttgtttgct atttagctgg a 21

<210> 203
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 203
caatttgcag caactcgcac tgga 24

<210> 204
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 204
tcccaccatt ggctattccg ac 22

<210> 205
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 205
ctgtctctct ttttaatttc t 21

<210> 206
<211> 24

<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 206
ccactttgca cacatctccc actt 24

<210> 207
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 207
gaggatccac gtatagtagt ag 22

<210> 208
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 208
tttaaataaa gaaattattt a 21

<210> 209
<211> 40
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 209
taatacgact cactataggg cttgagttta taacgaagct 40

<210> 210
<211> 39
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 210
taatacgact cactataggg cttctaattt tcaaggacg 39

<210> 211
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 211
agcttctaat tttcaaggac gata 24

<210> 212
<211> 25
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 212
gtcatgtgac tccactttga ttttg 25

<210> 213
<211> 25
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 213
ctcaattccg ataaatttaa gaaat 25

<210> 214
<211> 26
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 214
cgaagctatt ggaccgacct aatttc 26

<210> 215
<211> 26
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 215
ggaattgagg gcttcccaga aattgc 26

<210> 216
<211> 25
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 216
atgacttttt gattggtgaa actaa 25

<210> 217
<211> 45
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 217
taatacgact cactataggt ggaactccaa cacacaaaaa atttc 45

<210> 218
<211> 41
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 218
taatacgact cactataggt tgaaaaataa tcataatttt a 41

<210> 219
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 219
gcataatata ttgatccggt at 22

<210> 220
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 220
ctgaaagttc atacataggt actc 24

<210> 221
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 221
ggtactccaa ttttcagtat at 22

<210> 222
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 222
ctgaaaattg gagtacctat gtat 24

<210> 223
<211> 27
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 223
atgtatgaac tttcagaata ttatacc 27

<210> 224
<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 224
taccggatca atatattatg ct 22

<210> 225
<211> 647

<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 225
ttcaaaatga atttaaaatt atataaaaat caatatggac acaagaccgg atatcaatcc 60

gacccgaaat agttgacttg aaatcaacct gatgacccga atgaacacct ctagttatca 120

ctaacaaggg tcagattgcg tacatcaaac ccctcaaatc ctgcttaggt gggagcttgt 180

caatggctta ggggtaacgg gaatgtgtgt gctatgtaca ttgtgcatct attcttatgc 240

ttatttatgt tgagttagtt tttttttgg atcaaatata aagagcttaa cttttgtatt 300

ttcttgatgt ggtgtagtgg tgatgaagat caggctgaga gaatctaaat tggccaaaat 360

tctgagagaa caagaagtga gttcagccct tcgtgctgct ggtgttggtg tgattagttg 420

catcatacag agagatgaag ggcgaactcc gatgaggcat tcattctatt ggtcagcaga 480

aaaacaatat tatagtgagg agcctttact acgtcatttg gaacccccctc tatctatgta 540

tctcgagctg gtactagtct ctgaaccgat tgcctttctt ctgctttgtt attttgtgtg 600

atatttcgac ttaagtctaa tttacatcgt tttgtacatt tgttatc 647

<210> 226
<211> 738
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 226
ttttgctttt ttactattat ttccttcttt tcaaggattt gagttgttta ttgctgactg 60

cttcctatgt attacccata tgtctctgta taggcattac gggagctgta cctacatcta 120

actcctatac aacgtgtgaa tattgcccgg catcctaatc gccccacttt tcttgaccac 180

gtattcagca tcacagaaaa ggtttctgat ttattataat ttttgtcatt tgtattcact 240

cttcaataaa gtacatccat tatcaatctt tacggaggtt gttcacacaa cttcttgttt 300

cattttgcat aattagtttg tggaactaca tggagatcgt gctggttatg atgaccctgc 360

tatagttact ggccttggta cgatagatgg taggcgttat atgttcattg gtcatcaaaa 420

gggaagaaat acgaaggaaa atattgcacg gaatttcggg atgcctactc ctcatgggta 480

aatgctttac tataatgttt tactttaatt taattaccta tgttatttag gatgaaaatg 540

aatacttttc ttattactat tacttaggtt cctaatgcac aaaaaccgta attattaatg 600

taccctaatg gaattaacac atggtaatta agctctccgc tttgtgtaat taatccaatt 660

ttttagagag tcaaatagtt caggttaaac tagagctttt catacccaaa taataaaacc 720

aagggtaaat ttccaaaa 738

<210> 227
<211> 880
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 227
atgtgatcaa ttaaagaaaa agtctaatta tatgagcccg tctcacagtg acggagctat 60

catagagccc atggggtcac gtgcccttcg gggtttttag aaaaaattca aagtatactt 120

ttctattaat aagagtaaaa atgtaaaatt aatattaaac tcttttgata ataaatactc 180

tctcacttta gtaattttgt cttatttatt tattttatct catgtgttta ataaggtcag 240

ttgacttatt ttgttccatt ttcttttatg gtatgccgta tttaaaattt tagcaagtaa 300

agataaaata gttgttaatc ttacaaataa aactctatcg aaatttcatc cattagttaa 360

tgtccccaaa aagtccgaac tacaaatcga ccactgtcat cacatggtga gatagtctca 420

tataaaacga gttcagttat taaaggaaaa taggaaacac gaaacagtta atttaggcgg 480

ggcctatgta ttatccaaat gtgatactcc agtccacatt actcagtcct tccaattgaa 540

cagttggctt aatctaccaa gcgcgtggcc ataaatgcct ctaacacttt tcaatctctc 600

agataactct cacaccactt atcatcacaa ttcacaatta ctctaattct ttttattcct 660

ttccatgtcg ctaattttct actgattcag gttttattct cagcttttat caattttatt 720

tcatgctttt tatgtcaatt tcttgtttcg cattttgtct tccacttgct gtctgtttta 780

ttaatcaatt ttgtatgatt gttggaataa ttgtatgtat ttttcatgat tttcctctta 840

tggaggttca taatgtattg ctagatttgt ttactttcac 880

<210> 228
<211> 453
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 228
aatttgagcg ggaaaatttt aatatcatta aatagtcttt gctttagtat atagaatagt 60

taaaattaat agtcaaactt attgtaatag catgcactaa tctataataa tcttatcctg 120

aaagctataa taaaattata aaaaaatata tgtgaaaaac taatttgagc gggaaaattt 180

taaccaaggg ctaacacgta tcattaaata gtctttactt tagtatatag aatgataatt 240

aacgatcata aaacaaaatt gtcactttca gtagcaaact tacaaaatga gcagagtacc 300

tcatatcata aaattgcttc tttctcattt gttgtgttgc tctcatttta ggagttcatc 360

gtttatatcg tcgtcttacc actcaatcac ttttagattt attagtagca cttcctcaat 420

ctacagcagc aatttctaca gttcaacaac ctc 453

<210> 229
<211> 3953
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 229
ggaaaattta cctagaataa tccaatttat tcgtgatttt tctacaaatt ccaacttcaa 60

ggggtatttg cctaaagtaa ttaaacttgg ataccccgat gacctgctat agtagataat 120

ttaccagaaa attaaaaatg aaaattaatt taaaattaga gaaaaatttt gaaatttcat 180

ataaaaaatt ttaaataata aaaaaaatat aaatttttt gaacatttta ttttaatcta 240

tctttttga aaaaataaaa cttagttata gcaagtgatc tggtcaccgg gtttactcta 300

ggaaaatatc cctcaaagtt gagattattc atggttaata aataggtgag attattatag 360

aaaaattacg aataaattgg attattgttg gtaatttttt tttcaaaact atccctagga 420

aggaccttat tagtgattct ccctctactt tggaggagta tattgtggac ttcccatctt 480

ccttaattgt attgtaactt ttaactattg attctttaaa aaaaagaact tataaaattg 540

tagggttaat aaaatctaag attttatcta atttcacttt gattattccg attttgtatt 600

cacattattt taaatgacat tcgtcaaata aaaaaaaata gtttcattgc attccaattt 660

tgttgactag ggggattaaa gaaagaatag tatcaataat cgtaatgtag caagtagtac 720

aaaagaagta tatttcaata tgtcaaactt tgatctcgtt gtaacttgta atttgtacga 780

tgcggtgtga atgacatact tcacctttt cattatttta tactggtagt gacatgggat 840

tattattgcg atatttgcag taatgaaaat ttttttggtt gttgctttta caaacaaaaa 900

ttctaccgaa ttttttatta atttaattca acacgttggt gttacccatg atttataggt 960

ctgggtccgc cactgctagc taacattaaa caatttaaca aactcaatac accaacctaa 1020

aaataaaatt ttttggcca taatttttag aattttagtt tttaaacatt atatttggga 1080

attttttttc cttttatata tataaaataa aaaaaaatcc aaaaaagggg acacacatta 1140

atacacactt gaaagcatcg atgatatcga agaaaaacca gatggggtgc ccaattatct 1200

tcgtctcctt cgatattatc gaattcatta acaacattat atcaaaaacc aaccaaatta 1260

ccaactttcg aaaccaatat tcgccgtatt tttctctatt caacaatccc tacaatggcg 1320

gcattgccag cttcttcttc tcctgcaatt tcggaatcac ccacttgcaa ttttcttcct 1380

attcaaaaaa tcactaccac tcgctttcta aggtttcatt cggttttact cccaagccta 1440

aatttggcct tttctccaag gtttattttc tatctctttt ttaattggtt aatcaattgg 1500

attgttgaat ttttcagggt ttaacggtat aatatttgtg ggtttttttcg agtacattct 1560

gggtttgtag tattggattt ggcattgctt ttaatttttg agattgggtt ttttgggttt 1620

tatttggttc ttgtgattca aggttattga tttgctgcat taaactgtat ttatggaatg 1680

atgtcaatta actgttacat tacattgctt tatggttttc atcatgctga ttagtgatta 1740

ctgtgtttga atctcttgct tctctatgta ctatttaatc tgatacaaca agtacaacct 1800

agaaaacagg ttaaagggaa atctataagc ttagtaaatt aacacttgaa agaagctaat 1860

gacggagaga ggggtctttt tggagaaggc agttttcata ttattgctca gttctctagt 1920

gcagctttac ttcacttaga cactcttaag tagaggtcat aggtgttcag aatagatcca 1980

aagacccgat atttaccgga ctttgtaaac aacttaaccc gacttcaaaa tgaatttaca 2040

atcatataaa agcaatatgg acttaaaccg attttgaacc gaccttgacc ggttgatccg 2100

aatgaatgcc tctactctta agcatgtcaa ctgtaatatg aaatagaatt ataatataaa 2160

ctaagttcat gttttcttca actacaaatg aaattttatg acccaaataa tgtgtgaata 2220

cccccagcaa taggttgaat ggcatttagt tcagttgatt ttagcagacc acatctgccc 2280

tcatattcca ttgttcagtt tagttgttag tagctgtaca taatagacta attaagttgt 2340

cattttgatc catgttatgg ttgtctggga taaacggatt ggaattgtat aataaaagtt 2400

tgggttagtt tattttgctc taggaggggt tatgtcatat gtgcactctg ttggcaaccc 2460

gacaatgcaa aacattttca tacttggtac gttgttgcgt gttttgtgcc cttcgtattt 2520

tgtaactgtt gatgaatgtg taaaaatata ctacatgatc atatgctagt aggtcttctt 2580

cacctagtaa agaaattttt ctaacacgag aagttcaaaa catattccca ttaccattat 2640

ccaacatcag tacccgagtc caagtaacat agggtgtccc tttatgatag tataagaatt 2700

ggtgcatgaa aaacgcgtga ttgtagcgag gatagtaggc gggagaggta caggatttga 2760

aaattttgaa ttgctaaaac gctatcagga tcttgttttt cttactttga tgttgctttt 2820

ttgaaatttg atccaaattg ttaaattatt gagactaatt cctgttgatc ctgtcgtgaa 2880

ctttgtagaa tctttcaggc cgcattctca cagtgaaggc tcaattaaac aaggtgagtc 2940

ttttttttgtc ttaactctta tgcagttcat tatctcttct actgatgaga aaaccactat 3000

ttggcctaat tctaatttcc ttctaggttg ctttggatgg ttcaaatcat gctccatcac 3060

cttcgcacga aaaatctggg ctaccagccc aagaaaagaa gaacgatgag ccgtctagtg 3120

aatcttctcc tgcagcatca gtgtctgaag aacgagtctc cgaattcttg agccaagttg 3180

ccggtcttgt caagtatgta acattcttta ttttcattct tccacacact cgcaatttgg 3240

ataacgagat gtctttagag acgtctgggg aacaagggag aaatgagtct agaggttgct 3300

agagagaacg agataaatac taatatatat gaatatttca taatccacat taaaaaaata 3360

caattgaatt tgcattatgg tgaactacca aagaatcgaa tatttttaa tactccatgt 3420

tttgtggtct agacttgtgg attctagaga cattgtagag ttgcaattaa aacaactgga 3480

ctgtgagata ttgatccgca agcaggaagc tattcctcaa ccacaaattc ctaatcctac 3540

acatgtcgtt gcaatgcaac caccaccacc tgctgtagcg tctgccccag ctcccgtctc 3600

ttcaccagcc actcctcgtc ctgcgttacc tgccccagcg cctgctgcca cgtcagctaa 3660

gccatcactt ccacctctca agagccctat gtcaggcaca ttctaccgta gtccagctcc 3720

tggcgagccg cctttcgtga aggtaagtgt ataccccttt tttagtgttg tatttctgtg 3780

ttatatcaat ttttgcattt tgtgaagctg aaaataaatc tttcattttc cataggttgg 3840

agataaagtt aagaaaggac aagtcatatg cattatcgag gctatgaagt tgatgaatga 3900

aatcgaggta cgtatgttat tgctttaaac ttcatgcctt aggccgtgaa gtt 3953

<210> 230
<211> 595
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 230
acaaaaagca caaattcaat aatatactct ttaagtttgt ttatcttcta attagttcgg 60

ttaaaacggt tccccacttt cttctccgac tctcacaatt atcttcccct attcattttt 120

cttccaccct ctctaatggc ggctgtttcc ttcaatatca atggtggaaa gattggaact 180

ttatgttcaa gacacgaatt cgtttgtggg tttgtaagaa aatttcattt tagaactcat 240

acttctatat ttgaaaaaca tatgccaaaa acttcaaggt ttaaagcaat ggaagtttct 300

gcaaatgcaa cagtaaatat agttcctgtt tcagctcatt ctaggtaatt ttatttctcg 360

aaaatttccg atttacaatt aaattaatct tgttttgtag gtaatgaatt gcagaagaaa 420

tagatggatt cttatttgtt tattggtatt tgtttataaa tttttgttta tattagtttc 480

tgaattgtga ttattctgat tgtatgtcaa ggtttaggtt gttattaata aatgtaaatt 540

ggattgattg aagttgcaat aaggtgatgg cgtgatgctg attgttgtaa atttt 595

<210> 231
<211> 667
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 231
caacaatgag aatttagaat ccatatcaat cttgatattc aagggtattt aagtaattaa 60

agaacaacca ttgttaagcg cctccactat cttcttcctt ctcattctcc attctcgctt 120

agctttcctc tcgcactaat tacctccatt tgcaaccttt caagctttca acaatggcgt 180

ccacttcttc aaacccacca ttttcctctt ttactaaacc taacaaaatc cctaatctgc 240

aatcatccat ttacgctatc cctttgtcca attctcttaa acccacttct tcttcttcaa 300

tcctccgccg ccccccttcaa atctcatcat cttcttctca atcacctaaa cctaaacctc 360

cttccgctac tataactcaa tcaccttcat ctctcaccga tgataaaccc tcttcttttg 420

tttcccgatt tagccctgaa gaacccagaa aaggttgcga tgttctcgtt gaagctcttg 480

aacgtgaagg tgttaccgat gtttttgctt accctggtgg agcatccatg gaaatccatc 540

aagctcttac tcgttctaat atcattagaa atgttcttcc tcgacatgaa caaggtgggg 600

ttttcgctgc tgaaggctac gctcgtgcta ctggacgcgt tggagtttgt attgccactt 660

ctggtcc 667

<210> 232
<211> 2415
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 232
atttggataa ctttttcctt tgattcgaat cggattattt ttaatacagt attatgaact 60

gatttaatga aagtggagga agtttcaatt tttaaagttg taggtgtaat gttttctcat 120

tttggatatg aaagtggagg aagtttcaat ttcgaatcat gtttgccagt tgattcaatg 180

aatgctcttg gaaatgacca agagttcaag gcttcttgtt ataaaacatt tcaattttga 240

tctaagaatg aactatttag aacttaaagt aattaaatta ttagttataa cttataaaaa 300

aattcaattt taaccttaaa tttataaatt atgaccttaa aaagatcaag tattgaacgc 360

atatttagaa aaattataat tcggcttatc agtctcatat tgagacggtc tcgtccaaga 420

caagttgtat catttatata atcaaatata attatgagtg tattcatgta ggtttcaact 480

ttaaagccta ggtgaaagat atgttgtagc atctttgtga aagtcagcct ataacttggt 540

tctaaaattt tgaagcataa ccatatagtc cctcgaattc attcaagttg tccaatttac 600

tttttttatac ttgccgagac aacatttaaa cccttaatat ttctaattaa tcttaattaa 660
aaattatgaa aatttgatat taataatctt tgtattgaaa cgaatttaac aagatctcac 720
atgactatgt tttaacttat agattaaaaa aaaatacaaa ttaagagtga taagtgaata 780
gtgccccaaa acaaatggga caacttagat gaattggagg taatattagg tagcaagtga 840
tcactttaac atcaaaattg atcacttata ggttcaaatt gaaactttta ctttaattga 900
tatgtttaaa tactacttta aattgaaatt gatattttta aggtcaaaat tgaaaccttt 960
aagattataa ttgaaaattg gcagaagaaa aacaaagaga aagaatataa gacacgcaaa 1020
ttgtaccgat ctactcttat ttcaatttga gacggtctcg cccaagacta gatgttcggt 1080
catcctacac caaccccaaa aaattcaaca acaaagtctt ataatgattc cctctaatct 1140
actacagtct acaccaaccc actttctctt tgcccaccaa aactttggtt tggtaagaac 1200
taagccctct tctttccctt ctctctctct taaaagcctg aaaaatccac ctaacttttt 1260
tttaagccaa caaacaacgc caaattcaga gaaagaataa tggctcaagc tactaccatc 1320
aacaatggtg tccaaactgg tcaattgcac catactttac ccaaatccca gttacccaaa 1380
tcttcaaaaa ctcttaattt tggatcaaac ttgagaattt ctccaaagtt catgtcttta 1440
accaataaaa aagagttggt gggcaatcat tcaattgttc ccaagattca agcttctgtt 1500
gctgctgcag ctgagaaacc ttcatctgtc ccagaaattg tgttacaacc catcaaagag 1560
atctctggta ctgttcaatt gcctgggtca aagtctttat ccaatcgaat ccttctttta 1620
gctgctttgt ctgaggtatt tatttctcaa ctgcgaaaac aatctctatt tgatattgga 1680
atttatatta catactccat cttgttgtaa ttgcattagt agatacttat gttttgacct 1740
ttgttcattt gtttgttgaa ttggtagtgt tgagaatttg aatgtaatta tttgtttttc 1800
catgtgaatt taatctgatt aaatccactt cttatttatg ttaagttgca atgatgtttg 1860
ccaaatggtt atcattgaag gataagtttg cctacttttg accctcccaa cttcgcggtg 1920
gtagagccat tttatgttat tgggggaaat tagaaagatt tatttgtttt gcctttcgaa 1980
atagtagcgt tcgtgattct gatttgggtg tctttataga tatgatatat gggttattca 2040
tgtaatgtgt aggtttatgc attatgttgg atgcatgtct ggtgttattg ctgtaaatgg 2100
atgaatgttg ttatttggag acatttttтc attcattttt tccctttta attggaactg 2160
gaagagggaa agttattggg agtaattaaa aggttgtgag ttcgatacac tgcatcaaag 2220
acgaagaact tgacatagat gttgaaggct aatccttatc actgcttgaa ttcaatatgt 2280

atctgaaaat tttacccctc tatatgcatc tgtttttgct aataaagtgt ttttggacta 2340

tcatgttttg tgatgcttaa gagggtgata ttactgagat aaatggaaat atcaaaataa 2400

catctattgt gaagt 2415

<210> 233
<211> 3049
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 233
caagcttcaa ttatcgtttt caaaataagt atttcaaagt ctataaagat attgtataag 60

ttttagttca aatttaataa gttttttttt ttttttttt ttttttttg aaaatccaaa 120

ttgaataagt taatarttaa attatgacat ataattatga catataattt gaccatgata 180

ttttacaatc taacttaatt ttgaacttat tatttctaat attcaattat cgttctaaaa 240

ataagtattt aaattgtata gatatattgt ataacattta gttcaaattt aattattgat 300

agttttattg actatttatt tggkgtttga aattcatcca tagaatgata gaataacacc 360

atttttata taacttcgtt ctaaaatttt gaagcataac catatactcc ctccaattca 420

tccaagttgt ccaatttact ttttcatact tgccgaggca acatttaaac ccttaatatt 480

tctaattaat gttaattaaa aattatgaaa atttgatatt aataatcctt gtattgaaac 540

aaatctaaca agatcccaca tgactatgtt ttaacttata gattaagaat aaaatacaaa 600

ttaagagtaa taagtgaata gtgtcccaaa acaaatagga caacttggat gaattggagg 660

tagtattagg tagcaagtga tcactttaac atcaaaattg atcagttaca ggttcaaatt 720

gaaactttta ctttaattga tatgtttaaa tactacttta aattgaaatt gatattctta 780

aggtcaaaat tgaaaacttt aagattataa ttgaaaaatg cccagaagat gaaaaaacag 840

agagaaagca tgtaagacac gcaaattgaa ccagtctact cttgtttcaa tttgagacgg 900

tctcgcccaa gaccagatgt tcagtcatcc tacaccaacc ccaaaaaatt caacaacaaa 960

ctcttataat gattccctct aatctactag agtctacacc aacccacttt ctctttgccc 1020

accaaaactt tggtttggtg agaactaagc cctcttcttt cccttctctc tcttaaaagc 1080

ctaaaaccca ccaacttttt cagccaagaa acaacgcgaa attcagagga agaataatgg 1140

ctcaagctac taccatcaac aatggtgtcc atactggtca attgcaccat actttaccca 1200

aaacccagtt acccaaatct tcaaaaactc ttaattttgg atcaaacttg agaatttctc 1260

caaagttcat gtctttaacc aataaaagag ttggtgggca atcatcaatt gttcccaaga 1320

ttcaagcttc tgttgctgct gcagctgaga aaccttcatc tgtcccagaa attgtgttac 1380

aacccatcaa agagatctct ggtactgttc aattgcctgg gtcaaagtct ttatccaatc 1440

gaatccttct tttagctgct ttgtctgagg gcacaacagt ggtcgacaac ttgctgtata 1500

gtgatgatat tctttatatg ttggacgctc tcagaactct tggtttaaaa gtggaggatg 1560

atagtacagc caaaagggca gtcgtagagg gttgtggtgg tctgtttcct gttggtaaag 1620

atggaaagga agagattcaa cttttccttg gtaatgcagg aacagcgatg cgcccattga 1680

cagctgcggt tgccgttgct ggaggaaatt caagttatgt gcttgatgga gtaccaagaa 1740

tgagggagcg ccccattggg gatctggtag caggtctaaa gcaacttggt tcagatgtag 1800

attgttttct tggcacaaat tgccctcctg ttcgggtcaa tgctaaagga ggccttccag 1860

ggggcaaggt caagctctct ggatcggtta gtagccaata tttaactgca cttctcatgg 1920

ctactccttt gggtcttgga gacgtggaga ttgagatagt tgataaattg atttctgtac 1980

cgtatgttga aatgacaata aagttgatgg aacgctttgg agtatccgta gaacatagtg 2040

atagttggga caggttctac attcgaggtg gtcagaaata caaatctcct ggaaaggcat 2100

atgttgaggg tgatgcttca agtgctagct acttcctagc cggagccgcc gtcactggtg 2160

ggactgtcac tgtcaagggt tgtggaacaa gcagtttaca ggtataatgt taacccttac 2220

ccttcacatt gttctgctaa attctagagg acccctttcaa ttctgggtgg gataagcacg 2280

gcaatttgac cgcaaaaaaa ttgcaaaatt attctgctga tagaacatct cgagatgaga 2340

tcatattgag ttttggcgtc aacataaacc taatcaaata atgaaaaata caaacatcat 2400

atggtttctt ttgtctttat gactagacac tctctattat tccttgattg ggatcttatt 2460

tgaaattgct gtgtagccta cacctcatgt tcagattttg ttcgtatacc agacttttct 2520

tgattgggat cttatttgtc ccctggattt tgcatagggt gatgtaaaat ttgccgaagt 2580

tcttgagaag atgggttgca aggtcacctg gacagagaat agtgtaactg ttactggacc 2640

acccagggat tcatctggaa agaaacatct gcgtgctatc gacgtcaaca tgaacaaaat 2700

gccagatgtt gctatgactc ttgcagttgt tgccttgtat gcagatgggc ccaccgccat 2760

cagagatgtg gctagctgga gagtgaagga aaccgaacgg atgattgcca tttgcacaga 2820

actgagaaag cttggggcaa cagttgagga aggatctgat tactgtgtga tcactccgcc 2880

tgaaaagcta aaccccaccg ccattgaaac ttatgacgat caccgaatgg ccatggcatt 2940

ctctcttgct gcctgtgcag atgttcccgt cactatcctt gatccgggat gcacccgtaa 3000

aaccttcccg gactactttg atgttttaga aaagttcgcc aagcattga 3049

<210> 234
<211> 1113
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 234
tcttaatttg tattttatta ttaatctata agttaaaaca tagtcaagtg agatcttgtt 60

tgattcgtct ctatgcaagg attttcatat caacttttca taatttttga ttatacacaa 120

ttacaaatat taacgaacga ataagtgcat taaaaagagt gcaaaaagca aatgggacac 180

ttgtgttgaa taggagggag tatacattaa gatgaatcta acgagatctc acatggatat 240

aatttgtctt ctatatatgt ctaaaaaatc ttgatcaaat ttctctttcc aaaatagaat 300

attctaaatg ggaagaacat taagaaacgg agggagtact tataagttaa gatagttggg 360

ggtatttagg taaaaaaatc tatgccaaaa gtagaaagtg gacaattaga gtgactttac 420

taaataagga aagtggacat ttaaaatgaa tcggagggag catattaact ttattttcaa 480

agtgtgaaac ataatcatat ttaggtaaaa aaattatcaa tttaacgtca aaattgatca 540

caaataggtt aaaattgaaa ttttttatgt taattgatct attgttcact ttaaattgaa 600

attgatatcc tttaaggtta aaattaatac ctctaaaatt aaaattatta aaggcccaga 660

aaataaaaaa aaaagaagac aggctattag taaaattatt aagtatgtaa ggttgataca 720

cgcgcgaatt gagccggccc acttttagtt tcaatttgaa acagtctcaa tcaagaccaa 780

ttatttatta ttttattatt ttattgtttt aagctcaatg ggttggactt gataaattat 840

attttgagga gacgggctat tagtaaaatt aatagttgga atctttttg atatactata 900

aaaagaggta tctggtggag ccttaaatct gcgcaattga agtcctcaat acacatctcg 960

ctcttcttat tctctttcat ctatttcctc ctttgatcaa actacgccat gtctctctta 1020

aatgatctcg ttaaccttaa tctctctgaa actaccgata agattatcgc tgaatacata 1080

tggtaataca acaatccttc ctctttttca ttt 1113

<210> 235
<211> 882
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<220>
<221> misc_feature
<222> (451)..(459)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 235
aaaaaaccgt cttatttgta gaaaataaaa aactaaaaag tagtatcaac ttttagacta 60

gtcataagtg agtggcatca aacttgttct ataaaaaggg aagagttcct caacttgaga 120

ttcatatttt ttgtgatttc taaatagaag aacatactca tcttccactt ctcttattca 180

tcaaatttta tttgttcccc aaaaaaacat gtctcttctt acagatctca tcaatcttaa 240

tctttctgac tccactgaga agatcattgc tgaatacata tggtcagttt tcatcccttt 300

tttttacctt taatcccact ttttgttttt acccaccatt tttttcatct attttctctt 360

aaagatttta acttttttact tttttgtgta tataacattc atttttttcaa ttgggtaggt 420

tagaaaattt ctataaataa ataaataaat nnnnnnnnnt accttaatcc cacttttttgt 480

ttctacccac catttttttc atcaattttt cttaaagatt ttaacttttt ttaacttttt 540

cttggttttt gtgtatatac caatcattta ttttcactag tgtaggttaa aaaatatcta 600

aaaataaata aaatagaata aaaatgtaat cactagatta acccatgaat tatttccctt 660

gtttttactc aaacttttta cccttgttaa aaaaataatg atataaataa atttttgagg 720

gtttgttaaa cccatatgta atctatatcg aaaaaattag atagcgggtt ttgttgtgga 780

caaactaaat aacaaattta ggaataaact tttgagggtt tattgaaaaa ataacccata 840

tttaatctat atcgaaaaaa tgatagcgag ctttgtatag at 882

<210> 236
<211> 1083
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 236
cgtcgaagta gaagacgcgg aagctgcttt taacatcagc gtttcgcatg gggctattcc 60

ctgtgtttct cctattcaat tggaaaacgg tgtcgtttta tctgaggttc atttatatgg 120

ggatgttgtg cttcggtatg taagctacgg aaatgaatgt ggggatgtgt tttttcttcc 180

tgggtttgag gaaatgccgg aggaatcatc gtttagagga cttgattttg gcattcgaag 240

gttggatcat gctgtaggga atgtccctga gttggctcct gcaattgctt atttgaagaa 300

gtttactggg tttcatgagt ttgctgagtt tacagctgaa gatgttggga cgagtgaaag 360

tggattgaat tcagccgtat tggcaaacaa tgatgaaatg gtgttgtttc cgatgaatga 420

acctgtgtat gggacaaaaa ggaagagcca aattcaaact tatttggagc ataatgaagg 480

ggctggtgta cagcatttgg ctttgatgag tgaagacata ttttggactt taagggagat 540

gaggaagaga agtgttcttg gtgggtttga gtttatgccg tcgccgcctc cgacttatta 600

ccggaatttg aggaacagag ctgctgatgt attgagtgag gagcagatga aggagtgtga 660

agagttgggg attttggtgg ataaagatga tcagggcact ttgcttcaaa tcttcaccaa 720

acctattgga gacaggtaaa ttttaatctt gctttcaatt gcttttgctt gatggattga 780

ctagcaaatt tgatcgcatt ttgttgctta tatgacttga tgatacttcc tctgtttcga 840

aatactcgct acattcgcta cattttgttt tgtgcactat tcatcgttca agcttatttt 900

acatattgcg actaatgtgt aactaaaaat atagtcaagt gggatcttgt ttgaatcgtc 960

taatggcata ctttcatcat attaaatttt tataattttt agattagtgt agtttaagat 1020

attaatgctc aaaattgtgc attggattgc gtaaaaaagt gaaatgtagc aagtattatg 1080

aaa 1083

<210> 237
<211> 788
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 237
aaaaccaaag gaaataagtt ataggtagga aaaattgtta ttgaagttaa tgtagtaaac 60

tagtaactta aactgtgata ccccggattt agcttaaaaa gagattgata gactactcat 120

atcaacaagg tgcatcttct tttctaggga gcccatttgc taagaactct acagttaagc 180

gtgcttggtg gggagcaatc ttaggatggg tgacctcctg ggaagttttc ctgggtgcgc 240

acgggtgagg ccaaagtgcg ttaaaaagac ttgtgttggt ctgtggggct tgtctacagt 300

ctccatgagt agtcaccggc ggtacgagag gccggggtgt tacataaaca gactcaaagg 360

cgctaagcca agtagccaat agcaacatgt gtggcctgcg gacagtcaca aaaacacaca 420

atttcttatt tttactctct tttatctctt ttaggcttta gccatcaaca ataaaacaac 480

atgataaagc aattcattta ctgctaaatt ccaacaattt ggtccctttt tcctgttctt 540

tcagtttcac ataccctctt atcaatctat atccaaaact atttcatttt ccaaactctt 600

ttaaacccaa aaatcaaaac ttttgattga agaacaaact ttgggggttt tggaaaatga 660

gtcattttgg atatgcttgt gctactcaat ccacatcaag atatgttctt ttaggaaatt 720

caaataaccc cacttcaatt tcatctattg gaagtgattt tttgggtcat tctgtgagaa 780

atttcagt 788

<210> 238

<211> 2631
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 238
tggtacctac cctgtttaca ttttcaattt ccccctttt tctctactac tcctacttta 60

ttgattctta tccatgtgtg ttctatggga attgacatta attgttcagg tgtgtatgct 120

ggtgatcctt ctaagttgag tatgaaagct gcatttggaa aggtctggac cttagagcaa 180

aagggtggta gtatcattgc cggtacactc aaaactattc aggaaaggaa gaataatcct 240

ccaccgcctc gagacccgtc cgtaatcacc attactcatt gctttccttc accttgtatc 300

ttaccttaat atacatgtat ttaattgata atgtcacatt gcctcatttg cagccgcctt 360

cctaaaccta agggccagac tgttggatcc tttaggaaag ggctcattat gttacctacc 420

gccattgctg ctaggtatct tttgactctc aaatcttaaa tatttctcat cttctccttc 480

tgctaatact agtatgttta ccatcttttt atttttttag gcttggcagt aaagtcaaac 540

tatcgtggac actttctaat attgataagt cgctcaatgg tgaatacaat ctcacttatc 600

aaacacccga tggaccggtt tctgttagga ccaaagcggt tgtcatgact gtcccttcat 660

acattgcaag tagcctgctt cgtccgctct cagtgagtat cattctttcc ttcatttctt 720

ttcgtttatt gttgtccaat gtcttgttaa acaccagttt ggccttgtgc tcgtgaatta 780

tggctacaat gttaactgat tcaggcactg tgggagatgc ctaagtttct aaaacctctg 840

cgcataatgt ttgtttggat gttaggaatt gcattgaaaa attgcttttg tgatgttgat 900

gttaatacca attacaagtg tgttcttcaa cttctgcaat accttgttcg agtgagcttg 960

aggggttta gattagtgtc caatgtgaaa ctagcaaatg aactccaagc gctgggatag 1020

gtccttggga tggagcccct gatacccaag acagtattca aaccctctaa gtagagtgag 1080

agatcaagga aagaaactgg gtggttcctc aaatcgtaaa aaatgaatac agtgtcatga 1140

ttgctaatct tatcacaaat cgtaaaaaat gaattatggt cgattttgga ctatttttgg 1200

gtcattttga gtgaatctcg aacttaaaaa gcgagtcttc tagcagttct tgttacagcg 1260

gggcatacat aggtaggaat ttggtttttt actatttgag ccttttgact gttgtggccg 1320

gtaatatgga atagtctagc acttctgcgt gtgtacaact agtatttatt gtaattatgt 1380

gatcgcactt aactctcaga taaaacctta agcactaaca ttttgttttg gttgaaggaa 1440

tcaggaggaa agaaaattga gggatttgtt ggtatataga ttcctttgtt tggataacaa 1500

aattggagtg gagagatttg gaaggaagaa ttttataggg attagttccc attacactta 1560

tgttgattac aaaatttctc caaaagtgga aagattttga gtgaaaatgt tttttatttc 1620

tcttcctctc cctttctttc cctcttaaac aaacaaggaa agttaatctt atcattccgt 1680

accttcccct tctgttcttt tttttctctc caaaattctt atcctaacgt agtgttattg 1740

tcactgtctt atgaacgaga attcttttct tcctaatact gcttgtgttg cacagtcaat 1800

gatttagcta gatcatcttt ggttagctac tcaaaatatt tacataaaat acttgtagaa 1860

ataaatacca ataggtcttg tcaagaagta gtttcaatgc tataagtttt aaccaatcct 1920

caaaatttac accatggaga tatctgcgga taagaactag taactgtagc agctgtaact 1980

gttgcaatca gttttatggt ttgccttgca aatcaaactt tggatgttgt ttgccttaca 2040

atttgttact attacgtgaa gtttagtgtt cgcccttcac attgtacttt ggtttttgtt 2100

ttccttgcaa tttgctcttt gaagtataaa gtgctgagtg ctgagtgctg agtgctgacc 2160

tttcctgctc aggatgttgc tgcagattct ctttctcaat tttactatcc accagtcgca 2220

gcagtgtccc tttcttatcc caaagaagca attagaccag aatgcttgat cgatggagaa 2280

ctaaaaggat tcgggcaatt gcatcctcgc agccagggtg tggaaacctt gggtatatgc 2340

tcccattcaa ctatatctca atttttatga gtatttttct ttctctgaat tattcaattt 2400

ggtgacgtta aattttgatt gtactcgaca ggaacaattt atagttcatc tcttttccct 2460

ggtcgagcac cacctggtag gaccttgatc ttgagctaca ttggaggtgc tacaaatgtt 2520

ggcatattac aaaaggcaag tcatttatac aattatatct gttgtatcct caaataagtg 2580

ggtatcaatc ctgacgacat gcttgcttgt atcgatgcag agtgaagatg a 2631

<210> 239
<211> 23
<212> ADN
<213> Euphorbia heterophylla

<400> 239
agtttacagg gagatgtaaa gtt 23

<210> 240
<211> 23
<212> ADN
<213> Euphorbia heterophylla

<400> 240
agtttgcagg gagatgtgaa att 23

<210> 241
<211> 23

<212> ADN
<213> Ambrosia trifida

<400> 241
agtttacagg gggatgtaaa gtt 23

<210> 242
<211> 23
<212> ADN
<213> Abutilon theophrasti

<400> 242
agtttgcagg gtgatgtaaa att 23

<210> 243
<211> 23
<212> ADN
<213> Xanthium strumarium

<400> 243
agtttgcagg gtgatgtgaa att 23

<210> 244
<211> 23
<212> ADN
<213> Ipomoea hederacea

<400> 244
agtttacagg gggatgttaa gtt 23

<210> 245
<211> 23
<212> ADN
<213> Chenopodium album

<400> 245
agtttacagg gtgatgtaaa att 23

<210> 246
<211> 23
<212> ADN
<213> Digitaria sanguinalis

<400> 246
agtttgcagg gtgatgtgaa att 23

<210> 247
<211> 23
<212> ADN
<213> Senna obtusifolia

<400> 247
agtttacagg gagatgtaaa att 23

<210> 248
<211> 23
<212> ADN
<213> Amaranthus rudis/tuberculatus

<400> 248
agtttacagg gtgatgtaaa att 23

<210> 249
<211> 23
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 249
agtttacagg gtgatgtaaa att 23

<210> 250
<211> 23
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 250
agtttacagg gtgatgtaaa att 23

<210> 251
<211> 54
<212> ADN
<213> Euphorbia heterophylla

<400> 251
tcgatgtgaa catgaacaaa atgccagatg tcgctatgac attggctgtg gttg 54

<210> 252
<211> 55
<212> ADN
<213> Euphorbia heterophylla

<400> 252
tcgatgtgaa tatgaacaaa atgccagatg ttgctatgac attagctgtg gttgc 55

<210> 253
<211> 55
<212> ADN
<213> Ambrosia trifida

<400> 253
tcgatgttaa catgaacaaa atgccagatg ttgccatgac gcttgcagtc gttgc 55

<210> 254
<211> 55
<212> ADN
<213> Abutilon theophrasti

<400> 254
ttgatgtcaa catgaacaaa atgccagatg ttgccatgac tctcgctgtt gttgc 55

<210> 255
<211> 55
<212> ADN
<213> Xanthium strumarium

<400> 255
ttgatgtcaa catgaacaaa atgcctgatg tcgcaatgac tcttgctgtg gttgc 55

<210> 256
<211> 55
<212> ADN
<213> Ipomoea hederacea

<400> 256
ttgatgtcaa catgaacaaa atgccagatg ttgccatgac tcttgctgta gttgc 55

<210> 257
<211> 55
<212> ADN
<213> Chenopodium album

<400> 257
ttgatgtcaa catgaacaaa atgccagatg tcgcaatgac tcttgctgtt gttgc 55

<210> 258
<211> 55
<212> ADN
<213> Digitaria sanguinalis

<400> 258
ttgacgtcaa catgaacaaa atgcctgatg tcgcaatgac tcttgctgtg gttgc 55

<210> 259
<211> 55
<212> ADN
<213> Senna obtusifolia

<400> 259
ttgatgtcaa catgaacaag atgccagatg ttgccatgac gcttgctgta gttgc 55

<210> 260
<211> 55

<212> ADN
<213> Amaranthus rudis/tuberculatus

<400> 260
tcgacgtcaa catgaataaa atgccagatg ttgctatgac tcttgcagtt gttgc 55

<210> 261
<211> 55
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 261
tcgacgtcaa catgaacaaa atgccagatg ttgctatgac tcttgcagtt gttgc 55

<210> 262
<211> 55
<212> ADN
<213> Amaranthus palmeri

<400> 262
tcgacgtcaa catgaacaaa atgccagatg ttgctatgac tcttgcagtt gttgc 55

<210> 263
<211> 55
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (32)..(32)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (35)..(35)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(41)

<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (47)..(47)
<223> n is a, c, g, or t

<220>
<221> misc_feature
<222> (50)..(50)
<223> n is a, c, g, or t

<400> 263
tngangtcaa catgaacaaa atgccagatg tngcnatgac ncttgcngtn gttgc 55

<210> 264
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 264
aacaugaaca aaaugccaga u 21

<210> 265
<211> 21
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 265
aucuggcauu uuguucaugu u 21

<210> 266
<211> 22
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 266
aacaugaaca aaaugccaga ug 22

<210> 267
<211> 22
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 267
caucuggcau uuuguucaug uu 22

<210> 268
<211> 24
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 268
caacaugaac aaaaugccag augu 24

<210> 269
<211> 24
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 269
acaucuggca uuuuguucau guug 24

<210> 270
<211> 35
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 270
ucgacgucaa caugaacaaa augccagaug uugcu 35

<210> 271
<211> 35
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 271
agcaacaucu ggcauuuugu ucauguugac gucga 35

<210> 272
<211> 45

<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 272
ucgacgucaa caugaacaaa augccagaug uugcuaugac ucuug 45

<210> 273
<211> 45
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 273
caagagucau agcaacaucu ggcauuuugu ucauguugac gucga 45

<210> 274
<211> 55
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 274
ucgacgucaa caugaacaaa augccagaug uugcuaugac ucuugcaguu guugc 55

<210> 275
<211> 55
<212> RNA
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 275
gcaacaacug caagagucau agcaacaucu ggcauuuugu ucauguugac gucga 55

<210> 276
<211> 45
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 276
taatacgact cactataggg ctttattgaa tttagctatg taatc 45

<210> 277
<211> 41
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 277
taatacgact cactataggg tttatcaacc aaatgtgcag c 41

<210> 278
<211> 49
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 278
taatacgact cactataggg ttgtctgtac ataattgtga gatttgtgg 49

<210> 279
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 279
ctgtgatcat catatgtatc a 21

<210> 280
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 280
ccttaactct ccagctagca a 21

<210> 281
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 281
cagcccgcaa atgtttcatt c 21

<210> 282
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 282
gccgtcaatg gccgcattgc t 21

<210> 283
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 283
tccttccctc agaaagggca g 21

<210> 284
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 284
ttgcctcatg ctgctaatct g 21

<210> 285
<211> 789
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 285
cttatatgtg cttaagccta acgtgcaccc ggccccttaa ccccagcagt tttcaatcta 60

cctaccgtct ctaccatttt cttctagttg gtgaaaattt ctaactttga gaaaacaagc 120

caaagttttt gtttctaaga acgcaaaatg agtgaaattt tttgcagcaa tggcacagat 180

tagcagcatg aggcaaggga tacagacccc taatcttaat tcctattttc ctaaaaccca 240

aaaggttcct ctttttcgc attctatctt ctttggatca aagaaaataa cccaaaattc 300

agcaaaatct ttgtgggtgt gtaagaaaga ttcagttttg agggtggcaa agtcaccttt 360

taggatttgt gcatcagtgg ccactgcaca gaagcccaac gagattgtgc tgcaacccat 420

caaagatata tcaggcactg ttaaattgcc tggttctaaa tccctttcca accgtattct 480

ccttcttgct gccctttctg agggaaggac tgttgttgac aatttactga gtagtgatga 540

cattcattac atgcttggtg cgttgaaaac acttggactt catgtagaag atgacaatga 600

aaaccaacga gcaattgtgg aaggttgtgg tgggcagttt cctgtcggcg agaagtctga 660

ggaagaaatc caactattcc ttggaaatgc aggaacagca atgcggccat tgacggcagc 720

agttactgta gctggaggac attcaagata tgtacttgat ggagttccta ggatgagaga 780

gagaccgat 789

<210> 286
<211> 799
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 286
cactgacgtt ggattagagg taggctcctt atatgtgctt aagcctaacg tgcagccggc 60

ccccaacccc agcagttttc aatctaccta ccgtctctac cattttctta tagtagttga 120

aaatttctaa ctttgagaaa acaagccaaa gttttgtttc taagaacaca aagggagtga 180

aatttttgc agcaatggca cagattagca gcatgaggca agggatacag acccctaatc 240

ttaattccta ttttcctaaa acccaaaagg ttcctctttt ttcgcattct atcttcattg 300

gatcaaagaa aataacccaa aattcagcaa aatctttgtg ggtgtgtaag aaagattcag 360

ttttgagggt ggcaaagtca ccttttagga tttgtgcatc agtggccact gcacagaagc 420

ctaacgagat tgtgctgcaa cctatcaaag atatatcagg cactgttaaa ttacctggtt 480

ctaaatccct ttccaatcgt attctccttc ttgctgccct ttctgaggga aggactgttg 540

ttgacaattt actgagtagt gatgacattc attacatgct tggtgcattg aaaacacttg 600

gacttcatgt agaagatgac aatgaaaacc aacgagcaat cgtagaaggt tgtggtgggc 660

agtttcctgt cggcaagaag tctgaggaag aaatccaact attccttgga aatgcaggaa 720

cagcaatgcg gccattgacg gcagcagtta ctgtagctgg tggacattct agatatgtac 780

ttgatggagt tcctaggat 799

<210> 287
<211> 845
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 287
aaattcttgg ttcgaggagg tcagaagtac aagtctcctg gaaaagcata tgttgaagga 60

gatgcctcaa gtgctagcta ctttttggcg ggtgcagctg tcacaggtgg aactgtcact 120

gttgaaggtt gtggaacaag cagtttacag ggggatgtta agtttgctga ggtcctcgaa 180

aagatggggg cagaagttac atggacagag aacagtgtca cggttaaagg acctccaagg 240

aactcttctg gaatgaaaca tttgcgggct gttgacgtta acatgaacaa aatgccagat 300

gttgccatga ctcttgctgt agttgcactt tttgctgata gtcctactgc cataagagat 360

gttgctagct ggagagttaa ggaaactgag cggatgattg ccatatgcac agaacttagg 420

aagttgggtg caacagttgt agaagggcca gactactgca taatcactcc acctgaaaag 480

ttaaaagtag cggaaattga tacatatgat gatcacagaa tggccatggc tttctctctt 540

gcggcttgtg ctgatgttcc agtcaccatt aaggaccccg gttgtactcg caaaaccttc 600

cccaactact ttgacgttct ccagcagtat tccaagcatt aaaccacttt ccattaagaa 660

ttttgaaaaa gagagacttt gacaacaatg gtgtcatacc ggaagagaaa agctttgatc 720

caagctttca actccttttc atttgtcatg tgatgatcat tgtatttgtt gaagttgagc 780

tgcttttctt ttgtccagaa gacatgtatg gatactatta ctatatagtt aaggtgaact 840

cagca 845

<210> 288
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 288
ccacatggtc cagtatctgc c 21

<210> 289
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 289
caagcaagga acccatccat t 21

<210> 290
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 290
ggccacacct gcatgcattg c 21

<210> 291
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 291
gtgttcacgg tagacaaatc c 21

<210> 292
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 292
tgcactgcac ttgacgcacg t 21

<210> 293
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 293
aactgatgca ttgcacttga c 21

<210> 294
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 294

caaatcagga aggtatgaga g 21

<210> 295
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 295
tgtcaaggtt ttgtttcctg g 21

<210> 296
<211> 543
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 296
gcaatggctt cctcagttct ttcctcagca gcagttgcca cccgcagcaa tgttgctcaa 60

gctaacatgg ttgcaccttt cacaggtctt aagtctgctg cctcattccc tgtttcaaga 120

aagcaaaacc ttgacatcac ttccattgcc agcaacggcg gaagagtgca atgcatgcag 180

gtgtggccac caattaacat gaagaagtat gagactctct cataccttcc cgatttgagc 240

caggagcaat tgctctccga aattgagtac cttttgaaga atggatgggt tccttgcttg 300

gaattcgaga ctgagaaagg atttgtctac cgtgaacacc acaagtcacc aggatactat 360

gatggcagat actggaccat gtggaagcta cctatgttcg gatgcactga tgccacccaa 420

gtgttggctg aggtgggaga ggcgaagaag gaatacccac aggcctgggt ccgtatcatt 480

ggatttgaca acgtgcgtca agtgcagtgc atcagtttca ttgcctccaa gcctgacggc 540

tac 543

<210> 297
<211> 543
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 297
acaatggctt cctcagttct ttcctcagca gcagttgcca cccgcagcaa tgttgctcaa 60

gctaacatgg ttgcaccttt cactggtctt aagtcagctg ccttttttccc tgtttcaagg 120

aagcaaaacc ttgacatcac ttccattgcc agcaacggcg gaagagtgca atgcatgcag 180

gtgtggccac caattaacaa gaagaagtac gagactctct cataccttcc tgatctgagc 240

gtggagcaat tgcttagcga aattgagtac ctcttgaaaa atggatgggt tccttgcttg 300

gaattcgaga ctgagcgcgg atttgtctac cgtgaacacc acaagtcacc gggatactat 360

gacggcagat actggaccat gtggaagttg cctatgttcg gatgcactga tgccacccaa 420

gtgttggccg aggtggaaga ggcgaagaag gcatacccac aggcctggat ccgtattatt 480

ggattcgaca acgtgcgtca agtgcagtgc atcagtttca ttgcctacaa gccagaaggc 540

tac 543

<210> 298
<211> 486
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 298
caagccaaca tggttgcacc cttcactggc ctcaagtccg cctcctcctt ccctgttacc 60

aggaaacaaa accttgacat tacctccatt gctagcaatg gtggaagagt tcaatgcatg 120

caggtgtggc caccaattaa catgaagaag tacgagacac tctcatacct tcctgatttg 180

agccaggagc aattgcttag tgaagttgag tacctttga aaaatggatg ggttccttgc 240

ttggaattcg agactgagcg tggattcgtc taccgtgaac accacaactc accaggatac 300

tacgatggca gatactggac catgtggaag ttgcccatgt tcgggtgcac tgatgccact 360

caggtgttgg ctgaggtcga ggaggcaaag aaggcttacc cacaagcctg ggttagaatc 420

attggattcg acaacgtccg tcaagtgcaa tgcatcagtt ttatcgcctc caagccagaa 480

ggctac 486

<210> 299
<211> 537
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 299
ggctcagtta tgtcctcagc tgccgctgtt tccaccggcg ccaatgctgt tcaagccagc 60

atggtcgcac ccttcactgg cctcaaggcc gcctcctcct tcccggtttc caggaaacaa 120

aaccttgaca ttacttccat tgctagaaat ggtggaagag tccaatgcat gcaggtgtgg 180

ccgccaatta acaagaagaa gtacgagaca ctctcatacc ttcctgattt gagcgtggag 240

caattgctta gcgaaattga gtacctttg aaaaatggat gggttccttg cttggaattc 300

gagactgagc atggattcgt ctaccgtgaa caccaccact caccaggata ctacgatggc 360

agatactgga cgatgtggaa gttgcccatg ttcgggtgca ccgatgccac tcaggtcttg 420

gctgaggtag aggaggccaa gaaggcttac ccacaagcct gggtcagaat cattggattc 480

gacaacgtcc gtcaagtgca atgcatcagt ttcatcgcct acaagcccga aggctat 537

<210> 300
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 300
ggaggcaaaa tacgagcctc a 21

<210> 301
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 301
cactaatctt aataccaaac t 21

<210> 302
<211> 25
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 302
tatgggtcat tagcataggc attat 25

<210> 303
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 303
tctcaagaat atcacgctcc c 21

<210> 304
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 304
cccttgggga cgctggcagg tcac 24

<210> 305
<211> 40
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 305
taatacgact cactataggg ggagagagct agatcttttg 40

<210> 306
<211> 41
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 306
taatacgact cactataggc acagtatttc ttcctccaac c 41

<210> 307
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 307
ttgctcatct taaatacatg t 21

<210> 308
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 308
tcatcttaaa tacatgtttt gtca 24

<210> 309

<211> 22
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 309
ttatcttcag ggatacatta gc 22

<210> 310
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 310
aatactgctt gctcatctta aata 24

<210> 311
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 311
gacaattcca agttcagttt c 21

<210> 312
<211> 24
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 312
ccgttttaga tcaccataaa gaga 24

<210> 313
<211> 21
<212> ADN
<213> secuencia artificial

<220>
<223> Construcción sintética

<400> 313
ttgtctggta atatcacaat c 21

<210> 314
<211> 2937
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 314
atggtgagga agaggagaac tgagttacct ggttctggtg agagctctgg gtctcaagaa 60

actggcggac agggtcgtgg ccagcatcca cagcagctgc accaagctac ctcccagact 120

ccatatcaaa ctgcaatgac tactcagcca ataccttatg caagaccaac tgaaacatcc 180

tccgaagctg gttcctcatc tcagccacct gagcaggcag ctctacaagt gacacaacag 240

ttccagcaac ttgctttgca acaagaagcg gctacaacgc aagcagttcc acctgcatca 300

agcaaattac taaggtttcc cctgcgtcca gggaagggga gcaatggtat gagatgcata 360

gtcaaagcca atcacttctt cgcagagctg cctgacaaag acttgcacca gtatgatgtc 420

acaatttctc cagaggtgtc atcacgtggc gtcaaccgtg ctgtcatggc gcaactggtg 480

aagctgtacc aagaatctca tcttgggaag agacttccag catatgatgg aaggaaaagt 540

ctatacactg cagggcccct tccatttgtt caaaaagact tcaaaataac tcttattgat 600

gatgaggatg ggcctggtgg tgctagaagg gaaagggaat ttaaagttgt gatcaaattg 660

gctgcccgtg ctgatcttca tcacttggga atgtttttag aagggaaaca ggctgatgca 720

cctcaagagg cgcttcaagt tctggatatt gttctgcgtg agttgccaac atctaggttt 780

tgtcctgtgg gtcgttcttt ctattcccgt gatttagggc gaaagcaacc attgggtgaa 840

ggtttagaaa gttggcgtgg gttctatcaa agcattcgcc ccacacaaat gggcttatca 900

ctgaacatcg atatgtcttc cactgcattc attgagccac tgccagtcat tgattttgtg 960

acacagcttc tgaaccgaga tgtgccatct agaccactgt ctgatgctgg ccgtgtaaag 1020

ataaaaaaag ctctgagagg tgtgaaggtg gaggttactc atcgtggaaa tatgcggagg 1080

aagtaccgca tttcgggttt aacatctcaa gcaacaagag agttgacctt ccctgttgat 1140

gaaaatggta cagtgaaatc tgtaattgag tattttcgag aaacatatgg gtttgtaatt 1200

cagcatactc agtggccttg tctacaagtt ggaaatcagc agagacctaa ttacttgcca 1260

atggaagtct gcaagattgt ggagggacaa aggtactcaa agcgcttgaa tgagagacag 1320

attactgcac ttctgaaagt gacctgccag cgtccccaag ggagggagcg tgatattctt 1380

gagaccgtac atcataatgc ctatgctaat gacccatatg ccaaggagtt tggtattaag 1440

attagtgaca agttggcaca agttgaggct cgtattttgc ctccacctcg gcttaaatat 1500

catgataacg gtcgagaaaa ggactgcctg ccacaagttg gccaatggaa tatgatgaat 1560

aagaaaatgg taaatggagg gacggtgaac aattggatct gcataaactt ctctcgcaat 1620

gtgcaagata gtgttgctca tgggttttgc tctgagcttg cacaaatgtg ccagatatct 1680

ggcatgaatt tcaatccaaa tcctgttctg ccaccttcga gtgcacgccc tgatcaggtc 1740

gaaagagtat tgaaaactcg atttcatgat gctatgacta agttgcagct gcatgggaga 1800

gagcttgatt tgctagttgt catcttgcca gacaataatg gatctcttta tggtgatctg 1860

aagcgcattt gtgagactga actaggagtc gtctcacagt gctgtttgac aaaacatgta 1920

tttaagatga gcaaacagta tctagccaat gtagcgctga aaatcaatgt gaaggtggga 1980

gggagaaaca ctgtgcttgt tgatgcaata tcgaggcgaa ttcctcttgt cagcgaccgg 2040

cctaccatca tttttggtgc agatgtcacc caccctcacc ctggggagga ctctagccca 2100

tccattgccg cggtggttgc ttctcaagat tggcctgaga ttacaaagta tgctggtcta 2160

gtttctgctc aagcccatag gcaagagctt attcaggatc tgtacacgac taggcaagat 2220

cctgttaagg ggacagttgc tggtggaatg attaaggact tacttatatc cttccgaaga 2280

gctactggac aaaagcccca gagaataatt ttctataggg atggtgttag tgaaggacaa 2340

ttttatcaag tgcttctgtt cgaacttgat gcgatccgca aagcatgtgc gtctttggag 2400

ccaaattatc agcccccagt cacatttgtt gtggttcaga aacgacatca cacaaggctt 2460

tttgccaata accaccgtga cagaaatgca gttgacagga gcgggaacat tatacctggt 2520

actgttgtag attcaaagat atgccacccg acagagtttg atttctatct ttgtagccat 2580

gccggcatac agggtacgag ccgtccagct cactaccatg ttctatggga cgagaacaaa 2640

ttcacagccg atgcgctgca gtctttgacc aacaacctct gctatacata tgcaaggtgc 2700

acgcgttccg tctccatcgt tccccctgca tattatgcac atttggcagc tttccgtgct 2760

cgattttata tggagccgga gacatctgac ggtggttcag taacaagtgg ggctgctggt 2820

ggcagagggg gtggtgcagg agctgctgga aggaacaccc gagccccaag tgctggtgct 2880

gctgttagac ctcttcctgc gctcaaggat aatgtgaaga gggttatgtt ctactgc 2937

<210> 315
<211> 3274
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 315
cacctatcac tctctttctc tctctacaaa catatcgtgc cgtttctctc tcggcctctc 60

ttcgtgtttt agggcaccgt ggtggttggt atccaggcgg cggttttgag ttattaccat 120

ggtgcggaag aagaggactg atgttcctgg tggtgctgag agttttgagt cccatgaaac 180

tggaggggca cgaggtggtg cccaacgccc atcacagcag cagcaacatc agcatcagca 240

aggcggagga agaggctggg cacctcagca tggaggacat ggtggccgtg gtggtggggg 300

agctccacgt ggtggaatgg cccctcaaca atcctatggt ggacctcctg aatactacca 360

acagggcagg ggaactcaac agtatcaacg aggtggagga caaccccagc gccgtggtgg 420

catgggggc cgtggggcac ggccaccagt acccgagctg caccaagcaa cccagactcc 480

acatcagcct gtaccatatg gaagaccatc agaaacatac tcagaggctg gttcctcgtc 540

tcagccacct gaaccaacga cacagcaagt gactcagcaa ttccagcaac ttgttgtgca 600

gccagaagca gctgcaaccc aagcaataca accagcatcg agcaagtcga tgaggtttcc 660

actccggcca ggaaagggta gtactggtat tagatgcata gttaaggcca atcacttctt 720

tgccgagtta cctgacaaag atctgcacca gtatgatgtt tcaattactc ctgaggtcgc 780

ctctcggggt gtcaaccggg ccgtcatgga gcagctggtg aagctttata gagaatccca 840

tcttgggaag aggcttccag cctatgacgg aagaaaaagt ctatacacag cagggcccct 900

ccctttttgtt caaaaggatt ttaaaatcac tctaattgat gatgatgatg gacctggtgg 960

tgctaggagg gaaagagagt ttaaagttgt gatcaagctg gcggctcgtg ctgatcttca 1020

tcacttgggg atgttcttac aagggagaca ggctgatgca ccgcaagaag cacttcaggt 1080

gctggatatt gtgctacgtg agttgccaac atctaggtat tgtcctgtgg gccgctcttt 1140

ctattcccct catttaggac gaagacaacc actgggtgaa ggtttagaga gctggcgtgg 1200

cttctatcaa agtattcgtc ctacacagat gggattatcc ctgaatattg atatgtcttc 1260

cacggctttc attgagccac tgccgattat tgacttcgtg agccagcttc tgaatcggga 1320

tatctcttct agaccactgt ctgatgctga ccgcgttaag ataaagaagg cactgagagg 1380

tgtaaaggtg ggggtcactc atcgtggaaa tatgcggagg aagtatcgca tttctggctt 1440

gacgtctcaa gcaacaagag agttgacttt tcctgtcgat gaaaggggta cgatgaaagc 1500

tgttgtggaa tattttcggg aaacctatgg ttttgtcatt cggcataccc agtggccttg 1560

tcttcaagtt ggaaatacgc agaggccaaa ttacttgcca atggaagtat gtaagattgt 1620

agagggacag agatactcaa agcgcttgaa tgagaggcag ataacagcac ttctaaaagt 1680

gacctgccaa cgtcctcaag agagagaacg tgatattctt cagactgttc atcacaatgc 1740

ttatgctgat gacccatatg cgaaggagtt tggtattaag atcagtgagg agcttgctca 1800

agttgaggct cgcgttttgc ctgcaccttg gcttaaatac catgatacag gtcgagagaa 1860

agactgtctg ccacaagtgg gccagtggaa tatgatgaat aagaaaatgg ttaatggagg 1920

aacagtgaac aactggatct gtgtaaactt ttctcgcaat gtgcaagaca cagttgcacg 1980

tggattttgt tccgagcttg cacaaatgtg catgatatcc ggaatgaact tcaatcccaa 2040

tcctgttcta ccaccagtga gtgctcgccc tgatcaagtt gagagagtct tgaaaactcg 2100

atttcacgat gctatgacaa agttgcagcc aaatgggaga gagctagatc ttttgattgt 2160

gatattacca gacaataacg gctctcttta tggtgatcta aaacggattt gtgaaactga 2220

acttggaatt gtctcacaat gctgcttgac aaaacatgta tttaagatga gcaagcagta 2280

tttagctaat gtatccctga agataaatgt gaaggttgga ggaagaaata ctgtgctggt 2340

tgatgcgctc tctagacgaa ttccccttgt cagcgaccgc ccaactatca tttttggtgc 2400

agatgtcacc catccccacc ctggggagga ttctagcccg tcaattgctg cggtggttgc 2460

ttctcaagat tggcctgaaa ttacaaagta tgctggtttg gtttctgctc aagcgcatag 2520

gcaagagctt atacaagatc tgtacaagac ttggcaagat ccagttagag gacctgtgac 2580

tggtggcatg ataaaggaat tacttatttc cttccgtcga gcaactggac agaagccgca 2640

gagaattata ttctacagag atggtgttag tgaaggacaa ttttaccaag ttcttctttt 2700

tgaacttgat gcaatccgca aggcatgtgc atctttagaa cccaactatc agcccccggt 2760

tacgtttgtt gtggtccaga aacggcatca tactaggttg tttgccaata accaccacga 2820

cagaaatgca gttgatcgga gtgggaacat tttgcctggt accgttgtag attcaaagat 2880

atgccaccct actgaatttg atttctatct ctgtagccat gccggcatac agggtactag 2940

ccgcccagct cattatcatg ttctgtggga tgagaacaat tttactgctg acgccctgca 3000

gtctttgact aacaatcttt gctatacata tgctaggtgt actcgttctg tctccattgt 3060

tccaccagca tattatgcac atttggcagc tttccgtgct cggttttaca tggagccaga 3120

gacatctgat aatggatcag tcacaagcgc agctgcttca aacagaggag gtttaggagc 3180

tatgggaagg agcacgcgag caccaggtgc tggtgctgct gtaaggcccc ttcctgctct 3240

caaggagaat gttaagaggg ttatgtttta ttgt 3274

<210> 316
<211> 3907
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 316
acctacttcc ccctcgcccc tctcatggtc tctctcgcgc ccagatctgc tactagacgg 60

caccgctgca gcgcgtcgtg tcgcgggggt tggtggcagg cagcgagagc ttgccgttcc 120

tctctctcag ttgtcaggtc ctaggctcac ctcaccggct cccagcccgc ttctatttct 180

tcctccccga ccccgtgcag gtggcagtcc agtccacgcc accaaccgcg aggcgaacca 240

aaccaaccca ctctccccaa ccccgcgcgc ccaggccgcc cgccctacca accatcggcg 300

tcggcaatgg cggccatggc gaccaaggcc gccgcgggca ccgtgtcgct ggacctcgcc 360

gcgccgccgg cggcggcagc ggcggcggcg gtgcaggcgg gtgccgagga gatcgtgctg 420

cagcccatca aggagatctc cggcaccgtc aagctgccgg ggtccaagtc gctttccaac 480

cggatcctcc tgctcgccgc cctgtccgag gtgagcgatt ttggtgcttg ctgcgctgcc 540

ctgtctcact gctacctaaa tgttttgcct gtcgaatacc atggattctc ggtgtaatcc 600

atctcacgat cagatgcacc gcatgtcgca tgcctagctc tctctaattt gtctagtagt 660

ttgtatacgg attaatattg ataaatcggt accgcaaaag ctaggtgtaa ataaacacta 720

gaaaattgga tgttccccta tcggcctgta ctcggctact cgttcttgtg atggcatgct 780

gtctcttctt ggtgtttggt gaacaacctt atgaaatttg ggcgcaaaga actcgccctc 840

aagggttgat cttatgccat cgtcatgata aacagtggag cacggacgat cctttacgtt 900

gtttttaaca aactttgtca gaaaactagc atcattaact tcttaatgac gatttcacaa 960

caaaaaaagg taacctcgct actaacataa caaaatactt gttgcttatt aattatatgt 1020

tttttaatct ttgatcaggg gacaacagtg gttgataacc tgttgaacag tgaggatgtc 1080

cactacatgc tcggggcctt gaggactctt ggtctctctg tcgaagcgga caaagctgcc 1140

aaaagagctg tagttgttgg ctgtggtgga aagttcccag ttgaggattc taaagaggaa 1200

gtgcagctct tcttggggaa tgctggaact gcaatgcggc cattgacagc agctgttact 1260

gctgctggtg gaaatgcaac gtatgtttcc tctctttctc tctacaatac ttgctggagt 1320

tagtatgaaa cccatgggta tgtctagtgg cttatggtgt attggttttt gaacttcagt 1380

tacgtgcttg atggagtacc aagaatgagg gagagaccca ttggcgactt ggttgtcgga 1440

ttgaagcagc ttggtgcaga tgttgattgt ttccttggca ctgactgccc acctgttcgt 1500

gtcaatggaa tcggagggct acctggtggc aaggttagct actaagggcc acatgttaca 1560

ttcttctgta aatggtacaa ctattgtcga gcttttgcat ttgtaaggaa agcattgatt 1620

gatctgaatt tgatgctaca ccacaaaata tcctacaaat ggtcatccct aactagcaaa 1680

caatgaagta atacttggca tgtgtttatc aaattaattt ccatcttctg gggcattgcc 1740

tgttttctag tctaatagca tttgttttta gcattaatta gctcttacaa ttgttatgtt 1800

ctacaggtca agctgtctgg ctccatcagc agtcagtact tgagtgcctt gctgatggct 1860

gctcctttgg ctcttgggga tgtggagatt gaaatcattg ataaattaat ctccattccc 1920

tacgtcgaaa tgacattgag attgatggag cgttttggtg tgaaagcaga gcattctgat 1980

agctgggaca gattctacat taagggaggt caaaaataca agtaagctct gtaatgtatt 2040

tcactacttt gatgccaatg tttcagtttt cagttttcca aacagtcgca tcaatatttg 2100

aatagatgca ctgtagaaaa aaaatcattg cagggaaaaa ctagtactga gtattttgac 2160

tgtaaattat tttaccagtc ggaatatagt cagtctattg gagtcaagag cgtgaaccga 2220

aatagccagt taattatccc attatacaga ggacaaccat gtatactatt gaaacttggt 2280

ttataagaga atctaggtag ctggactcgt agctgcttgg catggatacc ttcttatctt 2340

taggaaaaga cacttgattt ttttttctg tggccctcta tgatgtgtga acctgcttct 2400

ctattgcttt agaaggatat atctatgtcg ttatgcaaca tgcttccctt agccatttgt 2460

actgaaatca gtttcataag ttcgttagtg gttccctaaa cgaaaccttg tttttctttg 2520

caatcaacag gtcccctaaa aatgcctatg ttgaaggtga tgcctcaagc gcaagctatt 2580

tcttggctgg tgctgcaatt actggaggga ctgtgactgt ggaaggttgt ggcaccacca 2640

gtttgcaggt aaagatttct tggctggtgc tacaataact gcttttgtct ttttggtttc 2700

agcattgttc tcagagtcac taaataacat tatcatctgc aaatgtcaaa tagacatact 2760

taggtgaatt catgtaaccg tttccttaca aatttgctga aacctcaggg tgatgtgaag 2820

tttgctgagg tactggagat gatgggagcg aaggttacat ggaccgagac tagcgtaact 2880

gttactggcc caccgcggga gccatttggg aggaaacacc tcaaggcgat tgatgtcaac 2940

atgaacaaga tgcctgatgt cgccatgact cttgctgtgg ttgccctctt tgccgatggc 3000

ccgacagcca tcagagacgg taaaacattc tcagccctac aaccatgcct cttctacatc 3060

actacttgac aagactaaaa actattggct cgttggcagt ggcttcctgg agagtaaagg 3120

agaccgagag gatggttgcg atccggacgg agctaaccaa ggtaaggcta catacttcac 3180

atgtctcacg tcgtctttcc atagctcgct gcctcttagc ggcttgcctg cggtcgctcc 3240

atcctcggtt gctgtctgtg ttttccacag ctgggagcat ctgttgagga agggccggac 3300

tactgcatca tcacgccgcc ggagaagctg aacgtgacgg cgatcgacac gtacgacgac 3360

cacaggatgg ccatggcctt ctcccttgcc gcctgtgccg aggtccccgt gaccatccgg 3420

gaccctgggt gcacccggaa gaccttcccc gactacttcg atgtgctgag cactttcgtc 3480

aagaattaat aaagcgtgcg atactaccac gcagcttgat tgaagtgata ggcttgtgct 3540

gaggaaatac atttcttttg ttctgttttt tctctttcac gggattaagt tttgagtctg 3600

taacgttagt tgtttgtagc aagtttctat ttcggatctt aagtttgtgc actgtaagcc 3660

aaatttcatt tcaagagtgg ttcgttggaa taataagaat aataaattac gtttcagtgg 3720

ctgtcaagcc tgctgctacg ttttaggaga tggcattaga cattcatcat caacaacaat 3780

aaaacctttt agcctcaaac aataatagtg aagttatttt ttagtcctaa acaagttgca 3840

ttaggatata gttaaaacac aaaagaagct aaagttaggg tttagacatg tggatattgt 3900

tttccat 3907

<210> 317
<211> 2149
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 317
acctacttcc ccctcgcccc tctcatggtc tctctcgcgc ccagatctgc tactagacgg 60

caccgctgca gcgcgtcgtg tcgcgggggt tggtggcagg cagcgagagc ttgccgttcc 120

tctctctcag ttgtcaggtc ctaggctcac ctcaccggct cccagcccgc ttctatttct 180

tcctccccga ccccgtgcag gtggcagtcc agtccacgcc accaaccgcg aggcgaacca 240

aaccaaccca ctctccccaa ccccgcgcgc ccaggccgcc cgccctacca accatcggcg 300

tcggcaatgg cggccatggc gaccaaggcc gccgcgggca ccgtgtcgct ggacctcgcc 360

gcgccgccgg cggcggcagc ggcggcggcg gtgcaggcgg gtgccgagga gatcgtgctg 420

cagcccatca aggagatctc cggcaccgtc aagctgccgg ggtccaagtc gctttccaac 480

cggatcctcc tgctcgccgc cctgtccgag gggacaacag tggttgataa cctgttgaac 540

agtgaggatg tccactacat gctcggggcc ttgaggactc ttggtctctc tgtcgaagcg 600

gacaaagctg ccaaaagagc tgtagttgtt ggctgtggtg gaaagttccc agttgaggat 660

tctaaagagg aagtgcagct cttcttgggg aatgctggaa ctgcaatgcg gccattgaca 720

gcagctgtta ctgctgctgg tggaaatgca acttacgtgc ttgatggagt accaagaatg 780

agggagagac ccattggcga cttggttgtc ggattgaagc agcttggtgc agatgttgat 840

tgtttccttg gcactgactg cccacctgtt cgtgtcaatg gaatcggagg gctacctggt 900

ggcaaggtca agctgtctgg ctccatcagc agtcagtact tgagtgcctt gctgatggct 960

gctcctttgg ctcttgggga tgtggagatt gaaatcattg ataaattaat ctccattccc 1020

tacgtcgaaa tgacattgag attgatggag cgttttggtg tgaaagcaga gcattctgat 1080

agctgggaca gattctacat taagggaggt caaaaataca agtcccctaa aaatgcctat 1140

gttgaaggtg atgcctcaag cgcaagctat ttcttggctg gtgctgcaat tactggaggg 1200

actgtgactg tggaaggttg tggcaccacc agtttgcagg gtgatgtgaa gtttgctgag 1260

gtactggaga tgatgggagc gaaggttaca tggaccgaga ctagcgtaac tgttactggc 1320

ccaccgcggg agccatttgg gaggaaacac ctcaaggcga ttgatgtcaa catgaacaag 1380

atgcctgatg tcgccatgac tcttgctgtg gttgccctct ttgccgatgg cccgacagcc 1440

atcagagacg tggcttcctg gagagtaaag gagaccgaga ggatggttgc gatccggacg 1500

gagctaacca agctgggagc atctgttgag gaagggccgg actactgcat catcacgccg 1560

ccggagaagc tgaacgtgac ggcgatcgac acgtacgacg accacaggat ggccatggcc 1620

ttctcccttg ccgcctgtgc cgaggtcccc gtgaccatcc gggaccctgg gtgcacccgg 1680

aagaccttcc ccgactactt cgatgtgctg agcactttcg tcaagaatta ataaagcgtg 1740

cgatactacc acgcagcttg attgaagtga taggcttgtg ctgaggaaat acatttcttt 1800

tgttctgttt tttctctttc acgggattaa gttttgagtc tgtaacgtta gttgtttgta 1860

gcaagtttct atttcggatc ttaagtttgt gcactgtaag ccaaatttca tttcaagagt 1920

ggttcgttgg aataataaga ataataaatt acgtttcagt ggctgtcaag cctgctgcta 1980

cgttttagga gatggcatta gacattcatc atcaacaaca ataaaacctt ttagcctcaa 2040

acaataatag tgaagttatt ttttagtcct aaacaagttg cattaggata tagttaaaac 2100

acaaaagaag ctaaagttag ggtttagaca tgtggatatt gttttccat 2149

<210> 318
<211> 240
<212> ADN
<213> Zea mays

<400> 318
tacttgagtg ccttgctgat ggctgctcct ttggctcttg gggatgtgga gattgaaatc 60

attgataaat taatctccat tccgtacgtc gaaatgacat tgagattgat ggagcgtttt 120

ggtgtgaaag cagagcattc tgatagctgg gacagattct acattaaggg aggtcaaaaa 180

tacaagtccc ctaaaaatgc ctatgttgaa ggtgatgcct caagcgcaag ctatttcttg 240

<210> 319
<211> 297
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 319
gctgtatcat atcttcttct ttagaacact aataaattaa acttcgagat aatgatttct 60

gacaagagta taaacaagtg catctatgaa gatttgaggt tgtccaaaaa agtgacaatt 120

ttgggttcct ataaactgta tttacattat tgttatttgc aactataaaa attttagatt 180

atttccaagc tcagtttctt caacttaaat gaaggtagca cttgaatttc atcagcctct 240

atgacccagt aacccatgtg ggagatggga gcaaagtggt caaactttag aaggaat 297

<210> 320
<211> 269
<212> ADN
<213> Nicotiana benthamiana

<400> 320
gtatgaactt tcagaatatt ataccggatc aatatattat gctgaaatat ttttcggact 60

ttaaataatt tctttattta aatttatttt tatacaaaaa taactaaatt tcaattactt 120

ttaaaattat gattattttt caattaccac ttatacatcc tgctattttg aatttcaccc 180

gaaagaacta ctactatacg tggatcctca atgacccagt aacccaagtg ggagatgtgt 240

gcaaagtggt caaatcttag aaggaatga 269

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau

(43) International Publication Date
15 September 2011 (15.09.2011)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2011/112570 A1

(51) **International Patent Classification**:
C12P 19/34 (2006.01) *C12N 15/113* (2010.01)
C07H 21/04 (2006.01)

(21) **International Application Number**:
PCT/US2011/027528

(22) **International Filing Date**:
8 March 2011 (08.03.2011)

(25) **Filing Language**: English

(26) **Publication Language**: English

(30) **Priority Data**:

61/311,762	8 March 2010 (08.03.2010)	US
61/349,807	28 May 2010 (28.05.2010)	US
61/381,556	10 September 2010 (10.09.2010)	US

(71) **Applicant** *(for all designated States except US)*: **MONSANTO TECHNOLOGY LLC** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US).

(72) **Inventors; and**

(75) **Inventors/Applicants** *(for US only)*: **SAMMONS, Robert, D.** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US). **IVASHUTA, Sergey, I.** [RU/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US). **LIU, Hong** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US). **WANG, Dafu** [CN/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US). **FENG, Paul, C.c.** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US). **KOURANOV, Andrei, Y.** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US). **ANDERSEN, Scott, E.** [US/US]; 800 North Lindbergh Boulevard, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US).

(74) **Agent**: **MCBRIDE, Thomas, P.**; Monsanto Technology LLC, 800 North Lindbergh Boulevard, Attention: Gail Wuellner, Mail Zone E1na, St. Louis, MO 63167 (US).

(81) **Designated States** *(unless otherwise indicated, for every kind of national protection available)*: AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) **Designated States** *(unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available)*: ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— *with international search report (Art. 21(3))*

— *with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))*

WO 2011/112570 A1

(54) **Title**: POLYNUCLEOTIDE MOLECULES FOR GENE REGULATION IN PLANTS

(57) **Abstract**: This invention provides polynucleotide molecules and methods for regulating genes in plants, *e. g.*, by providing RNA for systemic regulation of genes. Various aspects of the invention provide polynucleotide molecules and methods for regulating endogenous genes and transgenes in a plant cell and polynucleotide molecules.

POLYNUCLEOTIDE MOLECULES FOR GENE REGULATION IN PLANTS

CROSS-REFERENCE TO RELATED APPLICATIONS AND INCORPORATION OF SEQUENCE LISTING

[0001] This application claims the benefit of priority of U. S. Provisional Patent Applications 61/311,762 filed 8 March 2010, 61/349,807 filed 28 May 2010, and 61/381,556 filed 10 September 2010, which are incorporated by reference in their entirety herein. The sequence listing that is contained in the file named "38-21_56855_D.txt", which is 133 kilobytes (measured in operating system MS-Windows) and was created on 7 March 2011, is filed herewith and incorporated herein by reference.

FIELD OF THE INVENTION

[0002] Disclosed herein are polynucleotide molecules for regulating genes in plants and methods of making and using such molecules.

BACKGROUND

[0003] The failure of herbicides to control resistant weeds is a problem especially when such weeds are growing in field of herbicide resistant crops that may have lower herbicide resistance than the weed. Herbicide-resistant weeds are identified with a variety of modes of action. Resistance resulting from selection for multiple copies of genes producing herbicide targetted proteins in pigweed is reported by Gaines *et al.* (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA,* 107(3):1029-1034. Resistance resulting from mutations in genes producing herbicide targetted proteins in goosegrass, prickly lettuce, and ryegrass are reported by Baerson *et al.* (2002) *Plant Physiol.,* 129(3):1265-1275; Preston *et al.* (2006) *Pesticide Biochem. Physiol.,* 84(3):227-235; and Wakelin *et al.* (2006) *Weed Res. (Oxford),* 46(5):432-440. Vacuolar sequestration of glyphosate is an observed mechanism in glyphosate resistant horseweed; see Ge *et al.* (2010) *Pest Management Sci.,* 66:576-576. Resistance resulting from expression of enzymes that metabolize herbicides to an inactive chemical form in hairy crabgrass is reported by Hidayat *et al.* (1997) *Pesticide Biochem. Physiol.,* 57(2):137-146. Reddy *et al.* (2008) *J. Agric. Food Chem.,* 56(6):2125-2130 reported the accumulation of aminomethylphosphonic acid in plant species treated with glyphosate.

SUMMARY OF THE INVENTION

[0004] This invention provides polynucleotide molecules and methods for regulating genes in plants, *e. g.,* by providing RNA for systemic regulation of genes. Various aspects of the invention provide polynucleotide molecules and methods for regulating endogenous genes and transgenes in a plant cell and polynucleotide molecules. The polynucleotides, compositions, and methods disclosed herein are useful for regulating endogenous genes of a plant pest or pathogen. In an aspect of the invention, the polynucleotide molecules are provided in compositions that can permeate or be absorbed into living plant tissue to initiate systemic gene silencing of endogenous genes or transgenes, or of their transcribed RNA. In some aspects of the invention polynucleotide molecules ultimately provide to a plant, or allow the production in cells in a plant, RNA that is capable of hybridizing under physiological conditions in a plant cell to RNA transcribed from a target endogenous gene or target transgene in the plant cell, thereby effecting regulation of the target gene, *e. g.,* silencing or suppression of the target gene. In other aspects of the invention polynucleotide molecules disclosed herein are useful also for ultimately providing to a plant, or allowing the production in cells of a plant, RNA that is capable of hybridizing under physiological conditions to RNA transcribed from a target gene in a cell of an invertebrate pest or of a viral pathogen of the plant, thereby effecting regulation of the target gene, *e. g.,* silencing or suppression of the target gene. In some aspects, the silencing or suppression of the target gene leads to the upregulation of another gene that is itself affected or regulated by the target gene's expression.

[0005] The compositions and methods of this invention are believed to operate through one or more of the several natural cellular pathways involved in RNA-mediated gene suppression as generally described in reviews by Brodersen and Voinnet (2006), *Trends Genetics,* 22:268-280; Tomari and Zamore (2005) *Genes & Dev.,* 19:517-529; Vaucheret (2006) *Genes Dev.,* 20:759-771; Meins *et al.* (2005) *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.,* 21:297-318; and Jones-Rhoades *et al.* (2006) *Annu. Rev. Plant Biol.,* 57:19-53. RNA-mediated gene suppression generally involves a double-stranded RNA (dsRNA) intermediate that is formed intramolecularly within a single RNA molecule or intermolecularly between two RNA molecules. This longer dsRNA intermediate is processed by a ribonuclease of the RNase III family (Dicer or Dicer-like ribonuclease) to one or more shorter double-stranded RNAs, one strand of which is incorporated into the RNA-induced silencing complex ("RISC"). For example, the siRNA pathway involves the cleavage of a longer double-stranded RNA intermediate to small interfering RNAs ("siRNAs"). The size of siRNAs is believed to range

from about 19 to about 25 base pairs, but the most common classes of siRNAs in plants include those containing 21 base pairs or 24 base pairs. See, Hamilton *et al.* (2002) *EMBO J.*, 21:4671-4679. As used herein, "oligonucleotide" means a polynucleotide molecule having a length of 18-25 nucleotides, similar to the size of processed small RNA molecules in gene silencing mechanisms. Various embodiments of this invention include compositions including oligonucleotides or polynucleotides or a mixture of both.

[0006] Aspects of the invention include compositions and methods for: providing single-stranded RNA molecules in a plant cell for systemic regulation of genes; herbicidal treatment with compositions including surfactant and a plant lethal agent which provides single-stranded RNA for suppression of an endogenous gene in a plant cell; topical coating onto a plant surface including a surfactant (*e. g.*, an organosilicone surfactant) and an oligonucleotide or polynucleotide molecule for suppression of an endogenous gene in a plant cell; topically applied compositions for inducing systemic silencing of a target gene in a plant including (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides and (b) polynucleotide molecules; and, herbicidal treatment with compositions including (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotide molecules, (b) polynucleotide molecules. Optionally these compositions can include a non-nucleotide herbicide.

[0007] In other aspects the invention provides methods for: controlling herbicide-resistant volunteer plants; investigating reverse genetics by modulating an endogenous gene in a plant by applying onto tissue of a growing plant a composition for providing single-stranded RNA molecules in a plant cell for systemic regulation of genes; inducing systemic silencing of a target gene including topical application of polynucleotides to a plant; inducing systemic silencing of a target gene in a plant by (a) conditioning of a plant to permeation by polynucleotides and (b) topically applying polynucleotides to the plant; investigating reverse genetics by modulating an endogenous gene in a plant by topically applying onto a living plant a topically applied composition including polynucleotide molecules and an agent for conditioning of a plant to permeation by such polynucleotide molecules.

[0008] In other aspects the invention provides a plant with exogenous DNA or RNA for suppressing an endogenous gene, where the exogenous DNA is not integrated into a chromosome of the plant, the exogenous RNA is not transcribed from DNA integrated into a chromosome of the plant, and the endogenous gene is suppressed by topical application of a polynucleotide to the plant. These and other aspects of the invention are described in greater detail in the following sections.

BRIEF DESCRIPTION OF THE DRAWINGS

[0009] **Figure 1** presents **SEQ ID NO:1**, a nucleotide sequence encoding Palmer amaranth EPSPS.

10)Figure 2 presents **SEQ ID NO:3** which is a nucleotide sequence of a synthesized Pol III gene.

11)Figure 3 illustrates the morbidity of Palmer amaranth plants treated with a dsRNA. **Figure 3A** depicts the plants 7 days after the glyphosate treatment. **Figure 3B** depicts surfactant-treated plants that were treated with the long dsRNA solution followed by glyphosate treatment after 72 hours. **Figure 3C** depicts surfactant-treated plants that were treated with the short dsRNA solution followed by glyphosate treatment after 72 hours.

12)Figure 4 illustrates the bleaching in *Nicotiana benthamiana* plants treated with a dsRNA composition.

13)Figure 5 presents **SEQ ID NO:2** which is a nucleotide sequence of a *Nicotiana benthamiana* phytoene desaturase.

14)Figure 6 illustrates 5'-Alexa Fluor 488-labelled anti-sense ssDNA oligonucleotides (**SEQ ID NO:15**) permeating glyphosate-resistant Palmer amaranth leaves as described in **Example 9**.

15)Figure 7 depicts results of EPSPS mRNA measured in glyphosate-resistant Palmer amaranth leaves treated with anti-sense ssDNA oligonucleotides for EPSPS as described in **Example 9**. Bars represent replicate experiments for each of treatments #1 - #4 (indicated by the numbers enclosed in circles and referring to **Table 2**) and for controls (leaves permeated with anti-sense ssDNA oligonucleotides for a barley seed protein, **SEQ ID NO:14**, treated with or without glyphosate).

16)Figure 8 depicts results of EPSPS protein measured in glyphosate-resistant Palmer amaranth leaves topically treated with anti-sense ssDNA oligonucleotides for EPSPS as described in **Example 9**; treatments are indicated by the numbers enclosed in circles and refer to **Table 2**.

17)Figure 9 depicts results of shikimate accumulation measured in glyphosate-resistant Palmer amaranth leaves treated with anti-sense ssDNA oligonucleotides for EPSPS in two experiments as described in **Example 9**; treatments are indicated by the numbers enclosed in circles and refer to **Table 2**.

18)Figure 10 depicts the nucleotide sequence of a *Nicotiana benthamiana* phytoene desaturase (**SEQ ID NO:2**).

19)Figure 11 schematically depicts the location of the sequences of assayed oligonucleotides and polynucleotides (see **Table 3**) in relation to the phytoene synthase sequence (**SEQ ID NO:16**) as described in **Example 10**.

20)Figure 12A illustrates apical leaf bleaching in *Nicotiana benthamiana* plants topically treated with buffer ("Control"), a 200-mer dsRNA polynucleotide with an RNA sequence corresponding to the segment consisting of nucleotides 914 – 1113 of **SEQ ID NO:2** ("200 nt dsRNA"), and a combination of single-stranded DNA oligonucleotides and polynucleotides (**SEQ ID NOs:16**, **17**, **20**, **21**, **24**, **25**, and **26**) ("ssDNA oligos") as described in **Example 10**. **Figure 12B** illustrates results of northern blot analysis of RNA isolated from *Nicotiana benthamiana* plants treated with buffer (control), the 200-mer dsRNA polynucleotide, and the ssDNA oligonucleotides. Also shown is RNA isolated from plants that had been stressed by being kept at 4 degrees Celsius and in the dark overnight prior to treatment with the 200-mer dsRNA polynucleotides.

21)Figure 13 illustrates apical leaf bleaching in *Nicotiana benthamiana* plants topically treated in duplicate with various combinations of polynucleotides or oligonucleotides (numbers refer to the treatments listed in **Table 4**) as described in **Example 10**. The control (Treatment 13 in **Table 4**) plants are not shown.

22)Figure 14 illustrates apical leaf bleaching in *Nicotiana benthamiana* plants topically treated with the polynucleotides listed in **Table 5** as described in **Example 10**.

23)Figure 15 illustrates apical leaf bleaching observed in *Nicotiana benthamiana* plants after topical treatment with the PDS 21-mer anti-sense ssDNA (**SEQ ID NO:34**, "21nt PDS anti-sense") or with previously assayed PDS anti-sense 22-mer oligonucleotides without a T7 promoter (**SEQ ID NOs:22** and **23**) ("PDS anti-sense"). Little or no visible bleaching of apical leaves was observed after topical treatment with the buffer only or after topical treatment with PDS 21-mer sense ssDNA (**SEQ ID NO:36**, "21nt PDS sense") as described in **Example 10**.

24)Figure 16 illustrates an alignment of the Palmer amaranth and *Nicotiana benthamiana* PDS DNA sequences showing about 71% identity (1252/1762) as described in **Example 11**.

25)Figure 17 illustrates apical leaf bleaching observed in Palmer amaranth plants topically treated with 678 bp or 198 bp Palmer PDS dsRNA but not in Palmer amaranth plants topically treated with a 260 base pair dsRNA of corn root worm gene as described in **Example 11**.

26)Figure 18A illustrates bleaching of apical leaves, stems, and flowers of *Nicotiana benthamiana* plants topically treated first with a surfactant solution and then with an ssDNA PDS oligonucleotide to induce systemic silencing of phytoene desaturase as described in **Example 12**. **Figure 18B** illustrates bleaching of apical leaves, stems, and flowers of *Nicotiana benthamiana* plants topically treated with an ssDNA PDS oligonucleotide to induce systemic silencing of phytoene desaturase, with or without conditioning with a surfactant solution, as described in **Example 12**.

27)Figure 19 illustrates results of assays on different glyphosate-resistant Palmer amaranth lines (3 plants per replicate) treated with the conditions listed in **Table 6**, as described in **Example 13**. Photographs were taken at 7 days after glyphosate treatment (experiments 1 – 6) or at 9 days after glyphosate treatment (experiments 7 – 9).

28)Figure 20 illustrates location of two small RNAs identified as abundant in EPSPS dsRNA-treated Palmer amaranth plants and which are shown as italicized underlined nucleotides at positions 564-588 and 743 – 767 of the full-length EPSPS (**SEQ ID NO:40**), as described in **Example 14**. The EPSPS sequence also shows the location of the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules (underlined, non-italicized text) and the three "long" double-stranded RNA polynucleotides (bolded text as described in **Example 1**.

29)Figure 21A illustrates results of treating Palmer amaranth plants with surfactant followed by dsRNA at one of three application amounts, followed by herbicide, as described in **Example 17**. **Figure 21B** illustrates results of assay 1 carried out on glyphosate-resistant Palmer amaranth grown from field-collected seeds as described in **Example 17**; plants are shown at 8 days and 30 days after treatment with herbicide.

30)Figure 22 illustrates results obtained from treating Palmer amaranth with tallowamine surfactant and ammonium sulfate or with transfection reagents, as described in **Example 18**.

31)Figure 23 illustrates results of treating glyphosate-resistant Palmer amaranth plants with either EPSPS dsRNAs or EPSPS DNA/RNA hybrids, as described in **Example 19**.

32)Figure 24 illustrates results of treating glyphosate-resistant Palmer amaranth plants with either EPSPS dsRNA or EPSPS ssDNA polynucleotides, as described in **Example 20**. The upper photography was taken at 8 days after herbicide spray and the lower (bar) graph presents the results as a glyphosate injury (GI) scored 8 days after herbicide spray.

33)Figure 25A illustrates twelve dsRNA polynucleotides corresponding to DNA segments of approximately 250 bp each covering in a tiling manner the full coding sequence and part of the 5' and 3' untranslated regions of the Palmer EPSPS gene, as described in **Example 21**; the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules as described in **Example 1** and **Figure 1** are located in the tiling segments 2, 3, 4, and 8 respectively, and are shown as light grey bars within those segments. **Figure 25B** and **Figure 25C** illustrates results of treating glyphosate-resistant Palmer amaranth plants with dsRNAs designed from these tiling segments or the four "short" dsRNA molecules or buffer.

34)Figure 26 illustrates results of treating glyphosate-resistant Palmer amaranth plants with glyphosate followed by spraying with 1% Silwet L-77 followed by application of EPSPS dsRNA in buffer containing 2% ammonium sulfate, as described in **Example 22**. Untreated ("UT") control plants were treated only with the 1% Silwet L-77 spray but not with herbicide or dsRNA. Plants were photographed and rated at 16 days after treatment.

35)Figure 27 illustrates results of treating a field population of high copy number glyphosate-resistant Palmer amaranth with a composition containing a 20X or 100X amount of EPSPS dsRNA polynucleotides, surfactant, ammonium sulfate, and herbicide or with a composition containing , surfactant, ammonium sulfate, and herbicide, as described in **Example 23**. For each treatment, two replicate 1 foot by 5 foot plots were treated.

36)Figure 28 depicts the progression of bleaching and death of the lettuce plants treated with 1 nanomole ssDNA per plant at (from top to bottom) 37, 46, and 60 days after treatment, as described in **Example 24**.

37)Figure 29A illustrates systemic silencing in lettuce plants evidenced by bleaching observed at 4 or 12 days after topical treatment with polynucleotides, as described in **Example 24**. **Figure 29B** depicts the systemic silencing evidenced by bleaching observed at 4 after topical treatment with the four individual anti-sense ssDNAs ("HL287", **SEQ ID NO:43**; "HL288", **SEQ ID NO:44**; "HL289", **SEQ ID NO:45**; and "HL290", **SEQ ID NO:46**) or with a mixture of all four.

38)Figure 30 illustrates bleaching of leaves (right top panel) and flowers (right middle panel) of tomato plants treated with tomato phytoene desaturase polynucleotides, as described in **Example 25**. **Figure 30** also illustrates the stunting of the tomato plants treated with PDS polynucleotides (lower panel).

39)Figure 31 illustrates enhancement of glyphosate herbicidal activity in low-copy number Palmer amaranth of the EPSPS polynucleotides by TIF polynucleotides and that the TIF polynucleotides have herbicidal activity on their own, as described in **Example 26**.

EPSPS polynucleotides "1, 3, 4" refer to "short" dsRNAs having an anti-sense strand that is capable of hybridizing to the mRNA transcribed from the Palmer amaranth EPSPS gene (**SEQ ID NO:1**) at positions 14-38 (short dsRNA-1), 345-369 (short dsRNA-3), and 1105-1129 (short dsRNA-4), respectively as indicated by underlined nucleotides in **Figure 1** (see **Example 1**). EPSPS "5" refers to IDT [5] (**SEQ ID NOS:91-92** as described in **Table 11**).

40)Figure 32 illustrates enhancement of glyphosate herbicidal activity in high-copy number Palmer amaranth of the EPSPS polynucleotides by TIF polynucleotides and that the TIF polynucleotides have herbicidal activity on their own, as described in **Example 26**. EPSPS polynucleotides "1, 3, 4" refer to "short" dsRNAs having an anti-sense strand that is capable of hybridizing to the mRNA transcribed from the Palmer amaranth EPSPS gene (**SEQ ID NO:1**) at positions 14-38 (short dsRNA-1), 345-369 (short dsRNA-3), and 1105-1129 (short dsRNA-4), respectively as indicated by underlined nucleotides in **Figure 1** (see **Example 1**). EPSPS "5" refers to IDT [5] (**SEQ ID NOS:91-92** as described in **Table 11**).

41)Figure 33 illustrates the herbicidal effect on Palmer amaranth after treatment with the indicated combinations of non-polynucleotide herbicides and polynucleotides, as described in **Example 28**.

42)Figure 34 illustrates an alignment of the *Nicotiana benthamiana* PDS locus 1 promoter (**SEQ ID NO:319**) and PDS locus 2 promoter (**SEQ ID NO:320**), as described in **Example 30**.

43)Figure 35 schematically illustrates the *Nicotiana benthamiana* PDS locus 1 and locus 2 promoters and the regions targetted by mixtures of polynucleotides, as described in **Example 30**.

44)Figure 36 illustrates the effect on plant height in *Nicotiana benthamiana* in plants treated with a PDS anti-sense polynucleotide (**Figure 36A**), EPSPS anti-sense polynucleotides (**Figure 36B**), or RuBisCO anti-sense polynucleotides (**Figure 36C**), as described in **Example 33**.

45)Figure 37 illustrates the effect on *Zea mays* (Gaspe) monocot plants by topical treatment with dsRNA polynucleotides ("EPSPS DNA oligo") targetting the endogenous EPSPS gene, or with buffer alone as a control, as described in **Example 34**.

46)Figure 38 illustrates the effect of varying glyphosate counter-ions on herbicidal activity on glyphosate-resistant Palmer amaranth plants, as described in **Example 35**.

47)Figure 39 illustrates the effect of the polyamines spermine ("SPM") and spermidine ("SPMD") or ammonium sulfate ("AMS") on glyphosate-resistant Palmer amaranth containing 33, 36, or 57 copies of EPSPS, as described in **Example 35**. "fb 4X

WM" means "followed by treatment with glyphosate (3360 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide)".

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

48) Unless otherwise stated, nucleic acid sequences in the text of this specification are given, when read from left to right, in the 5' to 3' direction. Nucleic acid sequences may be provided as DNA or as RNA, as specified; disclosure of one necessarily defines the other, as is known to one of ordinary skill in the art. Where a term is provided in the singular, the inventors also contemplate aspects of the invention described by the plural of that term. By "non-transcribable" polynucleotides is meant that the polynucleotides do not comprise a complete polymerase II transcription unit. As used here "solution" refers to homogeneous mixtures and non-homogeneous mixtures such as suspensions, colloids, micelles, and emulsions.

Polynucleotides

49) As used herein, "polynucleotide" refers to a nucleic acid molecule containing multiple nucleotides and generally refers both to "oligonucleotides" (a polynucleotide molecule of 18-25 nucleotides in length) and polynucleotides of 26 or more nucleotides. Embodiments of this invention include compositions including oligonucleotides having a length of 18-25 nucleotides (*e. g.*, 18-mers, 19-mers, 20-mers, 21-mers, 22-mers, 23-mers, 24-mers, or 25-mers), or medium-length polynucleotides having a length of 26 or more nucleotides (*e. g.*, polynucleotides of 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, about 65, about 70, about 75, about 80, about 85, about 90, about 95, about 100, about 110, about 120, about 130, about 140, about 150, about 160, about 170, about 180, about 190, about 200, about 210, about 220, about 230, about 240, about 250, about 260, about 270, about 280, about 290, or about 300 nucleotides), or long polynucleotides having a length greater than about 300 nucleotides (*e. g.*, polynucleotides of between about 300 to about 400 nucleotides, between about 400 to about 500 nucleotides, between about 500 to about 600 nucleotides, between about 600 to about 700 nucleotides, between about 700 to about 800 nucleotides, between about 800 to about 900 nucleotides, between about 900 to about 1000 nucleotides, between about 300 to about 500 nucleotides, between about 300 to about 600 nucleotides, between about 300 to about 700 nucleotides, between about 300 to about 800 nucleotides, between about 300 to about 900 nucleotides, or about 1000 nucleotides in length, or even greater than

about 1000 nucleotides in length, for example up to the entire length of a target gene including coding or non-coding or both coding and non-coding portions of the target gene). Where a polynucleotide is double-stranded, its length can be similarly described in terms of base pairs.

50)Polynucleotide compositions used in the various embodiments of this invention include compositions including oligonucleotides or polynucleotides or a mixture of both, including RNA or DNA or RNA/DNA hybrids or chemically modified oligonucleotides or polynucleotides or a mixture thereof. In some embodiments, the polynucleotide may be a combination of ribonucleotides and deoxyribonucleotides, *e. g.*, synthetic polynucleotides consisting mainly of ribonucleotides but with one or more terminal deoxyribonucleotides or synthetic polynucleotides consisting mainly of deoxyribonucleotides but with one or more terminal dideoxyribonucleotides. In some embodiments, the polynucleotide includes non-canonical nucleotides such as inosine, thiouridine, or pseudouridine. In some embodiments, the polynucleotide includes chemically modified nucleotides. Examples of chemically modified oligonucleotides or polynucleotides are well known in the art; see, *e. g.,* Verma and Eckstein (1998) *Annu. Rev. Biochem.,* 67:99–134. For example, the naturally occurring phosphodiester backbone of an oligonucleotide or polynucleotide can be partially or completely modified with phosphorothioate, phosphorodithioate, or methylphosphonate internucleotide linkage modifications, modified nucleoside bases or modified sugars can be used in oligonucleotide or polynucleotide synthesis, and oligonucleotides or polynucleotides can be labelled with a fluorescent moiety (*e. g.*, fluorescein or rhodamine) or other label (*e. g.*, biotin).

51)The polynucleotides can be single- or double-stranded RNA or single- or double-stranded DNA or double-stranded DNA/RNA hybrids or modified analogues thereof, and can be of oligonucleotide lengths or longer. In more specific embodiments of the invention the polynucleotides that provide single-stranded RNA in the plant cell are selected from the group consisting of (a) a single-stranded RNA molecule, (b) a single-stranded RNA molecule that self-hybridizes to form a double-stranded RNA molecule, (c) a double-stranded RNA molecule, (d) a single-stranded DNA molecule, (e) a single-stranded DNA molecule that self-hybridizes to form a double-stranded DNA molecule, and (f) a single-stranded DNA molecule including a modified Pol III gene that is transcribed to an RNA molecule, (g) a double-stranded DNA molecule, (h) a double-stranded DNA molecule including a modified Pol III gene that is transcribed to an RNA molecule, (i) a double-stranded, hybridized RNA/DNA molecule, or combinations thereof. In some embodiments these polynucleotides

include chemically modified nucleotides or non-canonical nucleotides. In embodiments of the method the polynucleotides include double-stranded DNA formed by intramolecular hybridization, double-stranded DNA formed by intermolecular hybridization, double-stranded RNA formed by intramolecular hybridization, or double-stranded RNA formed by intermolecular hybridization. In one embodiment the polynucleotides include single-stranded DNA or single-stranded RNA that self-hybridizes to form a hairpin structure having an at least partially double-stranded structure including at least one segment that will hybridize under physiological conditions in the cell to RNA transcribed from the gene targetted for suppression. Not intending to be bound by any mechanism, it is believed that such polynucleotides are or will produce single-stranded RNA with at least one segment that will hybridize under physiological conditions in a cell to RNA transcribed from the gene targetted for suppression. In certain other embodiments the polynucleotides further includes a promoter, generally a promoter functional in a plant, *e. g.*, a pol II promoter, a pol III promoter, a pol IV promoter, or a pol V promoter.

52) In some embodiments, the polynucleotide compositions are formulated with counter-ions or other molecules that are known to associate with nucleic acid molecules, *e. g.*, tetraalkyl ammonium ions, trialkyl ammonium ions, sulfonium ions, lithium ions, and polyamines such as spermine, spermidine, or putrescine. In some embodiments, the polynucleotide compositions are formulated with a non-polynucleotide herbicide (*e. g.*, the chemical herbicides disclosed herein in the section headed "Herbicide-Tolerance Proteins") or with a transferring agent or permeability-enhancing agent (see the section headed "Permeability-Enhancing Agents and Treatments").

53) The polynucleotides are designed to induce systemic regulation or suppression of an endogenous gene in a plant and are designed to have a sequence essentially identical or essentially complementary to the sequence (which can be coding sequence or non-coding sequence) of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from an endogenous gene of a plant. By "essentially identical" or "essentially complementary" is meant that the polynucleotides (or at least one strand of a double-stranded polynucleotide) are designed to hybridize under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to RNA transcribed from the endogenous gene to effect regulation or suppression of the endogenous gene.

54) Embodiments of single-stranded polynucleotides functional in this invention have sequence complementarity that need not be 100% but is at least sufficient to permit hybridization to RNA transcribed from the target gene to form a duplex under physiological

conditions in a plant cell to permit cleavage by a gene silencing mechanism. Thus, in embodiments the segment is designed to be essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target gene or messenger RNA transcribed from the target gene. By "essentially identical" is meant having 100% sequence identity or at least about 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, or 99% sequence identity when compared to the sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target gene or RNA transcribed from the target gene; by "essentially complementary" is meant having 100% sequence complementarity or at least about 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, or 99% sequence complementarity when compared to the sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target gene or RNA transcribed from the target gene. In some embodiments of this invention polynucleotide molecules are designed to have 100% sequence identity with or complementarity to one allele of a given target gene (*e. g.*, coding or non-coding sequence of a gene for an herbicide-tolerance protein, an herbicide-deactivating protein, a stress-response gene, or an essential gene); in other embodiments the polynucleotide molecules are designed to have 100% sequence identity with or complementarity to multiple alleles of a given target gene.

55) In one aspect of the invention the polynucleotides are modified RNA polymerase III genes, *e. g.,* genes that transcribe 7SL signal recognition particle RNA or U6 spliceosomal RNA (Pol III genes) or polynucleotides containing a functional Pol III promoter sequence. In one embodiment, the polynucleotides are modified Pol III genes containing sense and anti-sense DNA corresponding to RNA of the targetted gene identified for regulation replacing the DNA sequence originally transcribed by the Pol III gene.

56) The polynucleotides useful in this invention typically effect regulation or modulation (*e. g.*, suppression) of gene expression during a period during the life of the treated plant of at least 1 week or longer and typically in systemic fashion. For instance, within days of treating a plant leaf with a polynucleotide composition of this invention, primary and transitive siRNAs can be detected in other leaves lateral to and above the treated leaf and in apical tissue.

57) Methods of making polynucleotides are well known in the art. Commercial preparation of oligonucleotides often provides 2 deoxyribonucleotides on the 3' end of the sense strand. Long polynucleotide molecules can be synthesized from commercially available kits, *e. g.,* kits from Ambion have DNA ligated on the 5' end that encodes a bacterial T7 polymerase promoter that makes RNA strands that can be assembled into a

dsRNA. Alternatively, dsRNA molecules can be produced from expression cassettes in bacterial cells that have regulated or deficient RNase III enzyme activity. Long polynucleotide molecules can also be assembled from multiple RNA or DNA fragments. In some embodiments design parameters such as Reynolds score and Tuschl rules are known in the art and are used in selecting polynucleotide sequences effective in gene silencing. In some embodiments random design or empirical selection of polynucleotide sequences is used in selecting polynucleotide sequences effective in gene silencing. In some embodiments the sequence of a polynucleotide is screened against the genomic DNA of the intended plant to minimize unintentional silencing of other genes.

58)The polynucleotide compositions of this invention are useful in compositions, such as solutions of polynucleotide molecules, at low concentrations, alone or in combination with other components (*e. g.,* surfactants, salts, and non-polynucleotide herbicides) either in the same solution or in separately applied solutions. While there is no upper limit on the concentrations and dosages of polynucleotide molecules that can useful in the methods of this invention, lower effective concentrations and dosages will generally be sought for efficiency. The concentrations can be adjusted in consideration of the volume of spray applied to plant leaves. In one embodiment, a useful treatment for herbaceous plants using 25-mer oligonucleotide molecules is about 1 nanomole of oligonucleotide molecules per plant, *e. g.*, from about 0.05 to 1 nanomole per plant. Other embodiments for herbaceous plants include useful ranges of about 0.05 to about 100 nanomoles, or about 0.1 to about 20 nanomoles, or about 1 nanomole to about 10 nanomoles of polynucleotides per plant. Very large plants, trees, or vines may require correspondingly larger amounts of polynucleotides. When using long dsRNA molecules that can be processed into multiple oligonucleotides, lower concentrations can be used. In the examples to below to illustrate embodiments of the invention the factor 1X when applied to oligonucleotide molecules is arbitrarily used to denote a treatment of 0.8 nanomoles of polynucleotide molecule per plant; 10X, 8 nanomoles of polynucleotide molecule per plant; and 100X, 80 nanomoles of polynucleotide molecule per plant, For example, in example 23 plants were treated with an aqueous solution comprising a 100X treatment of EPSPS dsRNA (264 micrograms or 80 nanomoles) per plant.

Single-stranded RNA Molecules

59)This invention provides polynucleotide molecules for providing single-stranded RNA for systemic regulation of genes in a plant cell. More specifically, the invention also provides compositions and methods for inducing systemic regulation (*e. g.*, systemic

suppression or silencing) of a target gene in a plant by topical application to the plant of a polynucleotide molecule with a segment in a nucleotide sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target gene or RNA transcribed from the target gene, whereby the composition permeates the interior of the plant and induces systemic regulation of the target gene by the action of single-stranded RNA that hybridizes to the transcribed RNA, *e. g.*, messenger RNA. The polynucleotide molecule can be one or more polynucleotide molecules with a single such segment, multiples of such a segment, multiple different such segments, or combination thereof.

Transferring Agents, Permeability-Enhancing Agents and Treatments

60)The compositions and methods of this invention can comprise transferring agents or permeability-enhancing agents and treatments to condition the surface of plant tissue, *e. g.*, leaves, stems, roots, flowers, or fruits, to permeation by the polynucleotide molecules into plant cells. The transfer of polynucleotides into plant cells can be facilitated by the prior or contemporaneous application of a polynucleotide-transferring agent to the plant tissue. In some embodiments the transferring agent is applied subsequent to the application of the polynucleotide composition. The polynucleotide transferring agent enables a pathway for polynucleotides through cuticle wax barriers, stomata and/or cell wall or membrane barriers and into plant cells. Suitable agents to facilitate transfer of the composition into a plant cell include agents that increase permeability of the exterior of the plant or that increase permeability of plant cells to oligonucleotides or polynucleotides. Such agents to facilitate transfer of the composition into a plant cell include a chemical agent, or a physical agent, or combinations thereof. Chemical agents for conditioning includes (a) surfactants, (b) an organic solvents or an aqueous solutions or aqueous mixtures of organic solvents, (c) oxidizing agents, (e) acids, (f) bases, (g) oils, (h) enzymes, or combinations thereof. Embodiments of the method can optionally include an incubation step, a neutralization step (*e. g.*, to neutralize an acid, base, or oxidizing agent, or to inactivate an enzyme), a rinsing step, or combinations thereof. Embodiments of agents or treatments for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides include emulsions, reverse emulsions, liposomes, and other micellar-like compositions. Embodiments of agents or treatments for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides include counter-ions or other molecules that are known to associate with nucleic acid molecules, *e. g.*, inorganic ammonium ions, alkyl ammonium ions, lithium ions, polyamines such as spermine, spermidine, or putrescine, and

other cations. Organic solvents useful in conditioning a plant to permeation by polynucleotides include DMSO, DMF, pyridine, *N*-pyrrolidine, hexamethylphosphoramide, acetonitrile, dioxane, polypropylene glycol, other solvents miscible with water or that will dissolve phosphonucleotides in non-aqueous systems (such as is used in synthetic reactions). Naturally derived or synthetic oils with or without surfactants or emulsifiers can be used, *e. g.*, plant-sourced oils, crop oils (such as those listed in the 9th Compendium of Herbicide Adjuvants, publicly available on line at www.herbicide.adjuvants.com) can be used, *e. g.*, paraffinic oils, polyol fatty acid esters, or oils with short-chain molecules modified with amides or polyamines such as polyethyleneimine or *N*-pyrrolidine.

61) Such agents for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides are applied to the plant by any convenient method, *e.g.*, spraying or coating with a powder, emulsion, suspension, or solution; similarly, the polynucleotide molecules are applied to the plant by any convenient method, *e. g.*, spraying or wiping a solution, emulsion, or suspension.

62) Examples of useful surfactants include sodium or lithium salts of fatty acids (such as tallow or tallowamines or phospholipids) and organosilicone surfactants. Other useful surfactants include organosilicone surfactants including nonionic organosilicone surfactants, *e. g.*, trisiloxane ethoxylate surfactants or a silicone polyether copolymer such as a copolymer of polyalkylene oxide modified heptamethyl trisiloxane and allyloxypolypropylene glycol methylether (commercially available as Silwet® L-77 surfactant having CAS Number 27306-78-1 and EPA Number: CAL.REG.NO. 5905-50073-AA, currently available from Momentive Performance Materials, Albany, New York). When Silwet L-77 surfactant is used as a pre-spray treatment of plant leaves or other surfaces, concentrations in the range of about 0.015 to about 2 percent by weight (wt %) (*e. g.*, about 0.01, 0.015, 0.02, 0.025, 0.03, 0.035, 0.04, 0.045, 0.05, 0.055, 0.06, 0.065, 0.07, 0.075, 0.08, 0.085, 0.09, 0.095, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2.0, 2.1, 2.2, 2.3, 2.5 wt %) are efficacious in preparing a leaf or other plant surface for transfer of polynucleotide molecules into plant cells from a topical application on the surface.

63) Useful physical agents can include (a) abrasives such as carborundum, corundum, sand, calcite, pumice, garnet, and the like, (b) nanoparticles such as carbon nanotubes or (c) a physical force. Carbon nanotubes are disclosed by Kam *et al.* (2004) *J. Am. Chem. Soc.,* 126 (22):6850–6851, Liu *et al.* (2009) *Nano Lett.,* 9(3):1007–1010, and Khodakovskaya *et al.* (2009) *ACS Nano,* 3(10):3221–3227. Physical force agents can include heating, chilling, the

application of positive pressure, or ultrasound treatment. Embodiments of the method can optionally include an incubation step, a neutralization step (*e. g.*, to neutralize an acid, base, or oxidizing agent, or to inactivate an enzyme), a rinsing step, or combinations thereof. The methods of the invention can further include the application of other agents which will have enhanced effect due to the silencing of certain genes. For example, when a polynucleotide is designed to regulate genes that provide herbicide resistance, the subsequent application of the herbicide can have a dramatic effect on herbicide efficacy.

64) Agents for laboratory conditioning of a plant to permeation by polynucleotides include, *e. g.*, application of a chemical agent, enzymatic treatment, heating or chilling, treatment with positive or negative pressure, or ultrasound treatment. Agents for conditioning plants in a field include chemical agents such as surfactants and salts.

Target Genes and Essential Genes

65) Compositions and methods of the invention are useful for modulating the expression of an endogenous or transgenic target gene in a plant cell. In various embodiments, a target gene includes coding (protein-coding or translatable) sequence, non-coding (non-translatable) sequence, or both coding and non-coding sequence. Compositions of the invention can include polynucleotides and oligonucleotides designed to target multiple genes, or multiple segments of one or more genes. The target gene can include multiple consecutive segments of a target gene, multiple non-consecutive segments of a target gene, multiple alleles of a target gene, or multiple target genes from one or more species. Examples of target genes include endogenous plant genes and transgenes expressed in plant cells. Other examples of target genes include endogenous genes of plant viral pathogens or endogenous genes of invertebrate plant pests.

66) Target genes can include genes encoding herbicide-tolerance proteins, non-coding sequences including regulatory RNAs, and essential genes, which are genes necessary for sustaining cellular life or to support reproduction of an organism. Embodiments of essential genes include genes involved in DNA or RNA replication, gene transcription, RNA-mediated gene regulation, protein synthesis, energy production, and cell division. One example of a compendium of essential genes is described in Zhang *et al.* (2004) *Nucleic Acids Res.*, 32:D271-D272, and is available at tubic.tju. edu.cn/deg/; version DEG 5.4 lists 777 essential genes for *Arabidopsis thaliana.* Examples of essential genes include translation initiation factor (TIF) and ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase (RuBisCO). Target genes can include genes encoding transcription factors and genes encoding enzymes involved in the

biosynthesis or catabolism of molecules in plants such as, but not limited to, amino acids, fatty acids and other lipids, sugars and other carbohydrates, biological polymers, and secondary metabolites including alkaloids, terpenoids, polyketides, non-ribosomal peptides, and secondary metabolites of mixed biosynthetic origin.

Compositions and Methods

67)Single-stranded RNA molecules of this invention can be provided directly to the plant cell as RNA or provided indirectly, *e. g.*, where a polynucleotide molecule in the treatment composition causes in cells of a plant the production of the single-stranded RNA that is capable of hybridizing to the target gene's transcript. In many embodiments compositions of polynucleotide molecules further include one or more permeability enhancing agents to facilitate transfer of the polynucleotide molecules into a plant cell, such as agents for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides. In aspects of the invention methods include one or more applications of the polynucleotide composition and one or more applications of a permeability-enhancing agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides. When the agent for conditioning to permeation is an organosilicone surfactant, embodiments of the polynucleotide molecules are double-stranded RNA oligonucleotides, single-stranded RNA oligonucleotides, double-stranded RNA polynucleotides, single-stranded RNA polynucleotides, double-stranded DNA oligonucleotides, single-stranded DNA oligonucleotides, double-stranded DNA polynucleotides, single-stranded DNA polynucleotides, chemically modified RNA or DNA oligonucleotides or polynucleotides or mixtures thereof.

68)An aspect of the invention provides a method for inducing systemic silencing of a target gene in a plant including (a) conditioning of a plant to permeation by polynucleotides and (b) topical application of polynucleotide molecules to the plant, where the polynucleotide molecules include at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides cloned from or otherwise identified from the target gene in either anti-sense or sense orientation, whereby the polynucleotide molecules permeate the interior of the plant and induce systemic silencing of the target gene. The conditioning and polynucleotide application can be performed separately or in a single step. When the conditioning and polynucleotide application are performed in separate steps, the conditioning can precede or can follow the polynucleotide application within minutes, hours, or days. In some embodiments more than one conditioning step or more than one polynucleotide molecule application can be performed on the same plant. In embodiments of the method, the segment can be cloned or identified from

(a) coding (*i. e.*, protein-encoding), (b) non-coding, or (c) both coding and non-coding parts of the target gene. Non-coding parts include DNA (or the RNA encoded by the DNA) encoding RNA regulatory sequences (*e. g.*, promoters, introns, 5' or 3' untranslated regions, and microRNAs, *trans*-acting siRNAs, natural anti-sense siRNAs, and other small RNAs with regulatory function) or encoding RNAs having structural or enzymatic function (*e. g.*, ribozymes, ribosomal RNAs, t-RNAs, aptamers, and riboswitches).

69) In various embodiments of the method for inducing systemic silencing of a target gene in a plant the target gene is (a) an endogenous gene of the plant, (b) an endogenous gene of a viral pathogen of the plant, (c) an endogenous gene of an invertebrate pest of the plant, (d) an endogenous gene of a symbiont of an invertebrate pest of the plant, or (e) an man-made gene inserted into a transgenic plant. In embodiments where the target gene is endogenous to a plant, the target gene (a) is an endogenous gene of the plant that is essential for maintaining the growth or life of the plant, (b) encodes a protein that provides herbicide resistance to the plant, or (c) transcribes to an RNA regulatory molecule. In embodiments of the method for inducing systemic silencing of a target gene in a plant, the conditioning includes application of a chemical agent, abrasion, wounding, enzymatic treatment, heating or chilling, treatment with positive or negative pressure, ultrasound treatment, or combinations thereof. In some embodiments, the conditioning includes application of a surfactant, such as organosilicone surfactants, *e. g.*, a silicone polyether copolymer such as a copolymer of polyalkylene oxide modified heptamethyl trisiloxane and allyloxypolypropylene glycol methylether (commercially available as Silwet® L-77 surfactant). In embodiments of the method, the conditioning includes application of (a) a surfactant, (b) an organic solvent or an aqueous solution or aqueous mixture of an organic solvent, (c) a polypropylene glycol or an aqueous solution or aqueous mixture of polypropylene glycol, (d) nanoparticles, (e) an oxidizing agent, (f) an acid or a base, or (g) an oil, or of a combination thereof. Embodiments of the method can optionally include an incubation step, a neutralization step (*e. g.*, to neutralize an acid, base, or oxidizing agent, or to inactivate an enzyme), a rinsing step, or combinations thereof.

70) The invention provides topical compositions for inducing systemic silencing of a target gene in a plant including (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides and (b) polynucleotide molecules with at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides essentially identical or complementary to the sequence of nucleotides of the target gene in either anti-sense or sense orientation. Such compositions can be used for the various methods disclosed herein including methods for investigating reverse genetics by

modulating an endogenous gene in a plant, and as herbicidal compositions for the disclosed methods of weed control and volunteer plant control. Another aspect of the invention provides a plant including exogenous DNA or RNA for suppressing an endogenous gene, wherein the exogenous DNA is not integrated into a chromosome of the plant and the exogenous RNA is not transcribed from DNA integrated into a chromosome of the plant, and wherein the endogenous gene is suppressed by topical application of a polynucleotide to the plant. Alternatively, the exogenous DNA or RNA can be designed for suppressing an endogenous plant gene involved in responding to a pest or pathogen to provide control of plant pests or diseases. Such plant can be grown from seed or produced by a cutting, cloning, or grafting process (*i. e.*, a plant not grown from a seed). Such plant is a row crop plant, a fruit, a vegetable, a tree, or an ornamental plant. For example, in embodiments of the inventions disclosed herein the plant is a row crop plant (*e. g.*, corn, soybean, cotton, canola, sugar beet, alfalfa, sugarcane, rice, and wheat), or is a vegetable (*e. g.*, tomato, sweet pepper, hot pepper, melon, watermelon, cucumber, eggplant, cauliflower, broccoli, lettuce, spinach, onion, peas, carrots, sweet corn, Chinese cabbage, leek, fennel, pumpkin, squash or gourd, radish, Brussels sprouts, tomatillo, garden beans, dry beans, or okra), or is an culinary plant (*e. g.*, basil, parsley, coffee, or tea,), or is a fruit (*e. g.*, apple, pear, cherry, peach, plum, apricot, banana, plantain, table grape, wine grape, citrus, avocado, mango, or berry), or is a tree grown for ornamental or commercial use (*e. g.*, a fruit or nut tree, or is an ornamental plant (*e. g.*, an ornamental flowering plant or shrub or turf grass). Embodiments of a plant produced by a cutting, cloning, or grafting process (*i. e.*, a plant not grown from a seed) include fruit trees and plants including citrus, apples, avocados, tomatoes, eggplant, cucumber, melons, watermelons, and grapes as well as various ornamental plants.

Methods for Investigating Reverse Genetics

71)In yet another aspect, the invention provides a method for investigating reverse genetics by regulating or modulating an endogenous target gene in a plant; such method includes applying onto tissue of a growing plant a composition for providing (directly or indirectly) single-stranded RNA of this invention for systemic regulation of genes in a plant cell. In embodiments of such a method, messenger RNA encoding a protein or regulatory RNA gene is targetted by a polynucleotide of the invention, effecting modulation of the gene during a period of at least 1 week during the life of the plant, *e. g.,* to identify traits that can be imparted by topical application of polynucleotides. The method can further include additional steps, *e. g.*, exposing the plant to an array of compounds to identify herbicide

interactions or exposing the plant to abiotic stress (*e. g.*, water deficit stress, nutrient deficit stress, heat stress, cold stress, salinity stress) or to biotic treatments (*e. g.*, challenge with an insect or nematode pest or with a viral, fungal, or bacterial pathogen or exposure to a chemical compound or biological treatment) to identify responses by the plant to the stress or treatment. In another aspect of the invention libraries of plants with a variety of transiently silenced genes are screened against libraries of compounds (*e. g.*, herbicides, phytohormones, endogenous or exogenous defense elicitors such as salicylic acid or harpins, deficiencies of molecules providing a plant nutrient such as nitrogen, phosphorous, potassium, sulfur, calcium, magnesium, iron, and zinc) to identify interactions with such compounds. Examples of plants useful in such screens include *Amaranthus palmeri* and *Nicotiana benthamiana.*

Methods for Transgene Silencing

72) In still yet another aspect of the invention, this method can be used to silence a transgene being expressed in a plant, thus providing a negative control that is an event-independent measurement of a transgene's contribution to plant performance or effect on a trait. Imparting a negative control effect may require multiple successive treatments with the polynucleotide molecules of this invention during the life cycle of a plant.

Specific Applications

73) In a related aspect the compositions and methods of the invention are also useful for transiently silencing one or more genes in a growing plant cell or whole plant to effect a desired phenotype in response to culture conditions, environmental or abiotic or biotic stress, or change in market demand during the growing season or in the post-harvest environment. For example, compositions and methods of the invention are useful for transiently suppressing a biosynthetic or catabolic gene in order to produce a plant or plant product with a desired phenotype, such as a desired nutritional composition of a crop plant product, *e. g.*, suppressing a FAD2 gene to effect a desired fatty acid profile in soybean or canola or other oilseed or suppressing a lignin biosynthetic genes such as COMT and CCOMT to provide more easily digestible forage plants. Similarly, compositions and methods of the invention are useful for transiently suppressing an RNA regulatory molecule such as a microRNA (miRNA) or an endogenous miRNA decoy such as an endogenous miRNA, miRNA precursor, or miRNA decoy as disclosed in US Patent Application Publication 2009/0070898 which is incorporated herein by reference. Embodiments of the invention are useful for suppressing an endogenous plant gene involved in responding to a pest or pathogen, thus

providing control of plant pests or diseases. The polynucleotides, compositions, and delivery methods disclosed herein are further useful in suppressing an endogenous target gene of an invertebrate pest of a plant, *e. g.*, lepidopteran or coleopteran pests which can ingest RNA from the plant, thus providing control of plant pests or pest-induced diseases, *e. g.*, by use of a topical spray for crop plants, vegetables, or fruit trees with DNA or RNA molecules targeting an invertebrate essential gene or a gene of a symbiont of the invertebrate pest. The polynucleotides, compositions, and delivery methods disclosed herein are further useful in providing control of a viral pathogen, *e. g.*, by use of a topical anti-viral spray for crop plants, vegetables, or fruit trees with DNA or RNA molecules targeting a viral gene.

Herbicidal Compositions and Methods

74)An aspect of the invention provides a liquid herbicidal composition comprising polynucleotide molecules as a plant lethal agent which provides at least one species of single-stranded RNA which can hybridize under physiological conditions in a plant cell to RNA transcribed from endogenous gene(s) in the plant cell. In some embodiments, the target gene encodes a protein that provides tolerance to an herbicide or encodes a gene essential for maintaining the growth or life of the plant. The liquid herbicidal composition can further include permeability-enhancing agents, non-nucleotide herbicides, or combinations thereof and can be used in a multi-step treatment with the non-nucleotide herbicide and/or the permeability-enhancing agents applied separately. An embodiment of the liquid herbicidal composition is a liquid including an organosilicone surfactant as permeability-enhancing agent and oligonucleotides or polynucleotides as plant lethal agent which provide to cells of the plant single-stranded RNA capable of hybridizing under physiological conditions in the plant cells to RNA transcribed from a target gene in the plant cell to effect silencing of the target gene. In one embodiment a liquid herbicidal composition effective against glyphosate-resistant plants includes an organosilicone surfactant such as Silwet® L-77 surfactant and polynucleotide molecules for providing single-stranded RNA capable of hybridizing under physiological conditions in the plant cells to the RNA transcript of an endogenous or transgenic EPSPS gene encoding an EPSPS protein that provides tolerance to glyphosate When the polynucleotide molecule is designed to hybridize under physiological conditions in a plant cell to mRNA encoding an endogenous, protein or non-protein coding RNA that essential for maintaining plant growth or life and to effect gene silencing and reduction of the essential protein, the polynucleotide molecule can function as a plant lethal agent, *i.e.,* a nucleotide herbicide. These herbicidal compositions including polynucleotide

molecules can be adapted for topical coating onto leaves of a growing plant or for application onto roots or cut stems, *e. g.,* of hydroponically grown or pot-grown plants.

75) An aspect of the invention provides a composition adapted for topical coating onto leaves or other surfaces of a living plant including a permeability-enhancing agent, *e.g.*, a surfactant such as an organosilicone surfactant, and oligonucleotides or polynucleotides that provide (directly or indirectly) single-stranded RNA that can hybridize under physiological conditions in a plant cell to RNA transcribed from an endogenous plant gene in the cell. In one embodiment the endogenous plant gene is an endogenous plant gene encoding a protein that provides herbicide tolerance to herbicides such as glyphosate, dicamba, or sulfonylurea. Examples of such proteins that provide herbicide tolerance are disclosed below in the section "Herbicide-Tolerance Proteins".

76) Another aspect of the invention provides a method for controlling herbicide-resistant volunteer plants growing in a field of herbicide-resistant crop plants including applying onto the leaves or other surface of the volunteer plants a composition that provides to, or allows the production in, cells of the volunteer plants a single-stranded RNA molecule that is capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the volunteer plants to RNA that is transcribed from an endogenous gene in the cells, wherein the endogenous gene (i) is an essential gene for maintaining the growth or life of the volunteer plant, (ii) encodes a protein that provides herbicide resistance to the volunteer plant, or (iii) transcribes to an RNA regulatory agent (*e. g.*, promoters, also miRNA precursors, miRNAs, *trans*-acting siRNAs, and other non-coding RNAs having a regulatory function such as aptamers and riboswitches). The composition that provides to, or allows the production in, cells of the volunteer plants a single-stranded RNA molecule that is capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the volunteer plants to RNA that is transcribed from an endogenous gene in the cells includes at least one polynucleotide molecule selected from the group consisting of (a) a single-stranded RNA molecule, (b) a single-stranded RNA molecule that self-hybridizes to form a double-stranded RNA molecule, (c) a double-stranded RNA molecule, (d) a single-stranded DNA molecule, (e) a single-stranded DNA molecule that self-hybridizes to form a double-stranded DNA molecule, and (f) a single-stranded DNA molecule including a modified Pol III gene that is transcribed to an RNA molecule, (g) a double-stranded DNA molecule, (h) a double-stranded DNA molecule including a modified Pol III gene that is transcribed to an RNA molecule, and (i) a double-stranded, hybridized RNA/DNA molecule; In embodiments for silencing or suppression of an endogenous gene of a volunteer plant that encodes a protein that provides herbicide resistance to the volunteer plant, the method can

include applying onto the volunteer plant a quantity of the herbicide for which the protein provides resistance. Compositions and methods of the invention are useful in controlling herbicide-tolerant (resistant) weeds or volunteer herbicide-tolerant (resistant) transgenic plants that may be growing in crop fields, *e. g.,* a field of herbicide-resistant crop plants such as corn, soybean, cotton, canola, sugar beet, alfalfa, sugarcane, rice, wheat, as well as fruit and vegetable crops. In some such embodiments the weed or the volunteer plant is pigweed (*e. g.*, Palmer amaranth) and other amaranth species, mare's tail (horseweed), waterhemp, giant ragweed, common ragweed, johnsongrass, goosegrass, ryegrass, hairy crabgrass, prickly lettuce, velvetleaf, alfalfa, corn, soybean, canola, cotton, sugar beet, sugarcane, rice, or wheat. In some such embodiments the endogenous gene encodes a protein that provides herbicide tolerance; examples of such proteins are disclosed herein in the section "Herbicide-Tolerance Proteins". In other such embodiments single-stranded RNA selectively suppresses a gene in a specific plant species but not in others, to permit selective control of that plant species. In still other such embodiments a non-selective, single-stranded RNA molecule suppresses a common gene in multiple plant species, permitting broader control across a group or taxon of plants. In more specific embodiments the method further includes applying onto the weed or volunteer plant a quantity of non-nucleotide herbicide (*e. g.*, glyphosate, dicamba, glufosinate or sulfonylurea) for which the protein targetted by an RNA molecule provides resistance allowing dual modes of action through reducing production of the target protein by action of the RNA molecule and inhibiting the function of protein that is produced by action of the non-nucleotide herbicide; the herbicide can be applied in a separate (earlier or later) step from, or together with, the nucleotide composition. Applying a polynucleotide composition concurrently with, or followed by, application of a conventional non-nucleotide herbicide in some cases provides weed or volunteer plant control with synergistic effect (*i. e.*, where the combined effect is greater than the sum of effects of the treatments made separately).

Herbicide-Tolerance Proteins

77)Natural (non-transgenic) and transgenic plants exhibiting herbicide tolerance (resistance) often have a gene that encodes a protein that is responsible for the herbicide tolerance, *e. g.,* a transgene that provides the tolerance, a mutated endogenous gene that provides the tolerance or multiple copies of an endogenous gene that is normally targetted by an herbicide. A strategy for control of such plants is to apply an agent that suppresses, or at least reduces the expression of, the gene encoding the protein that imparts herbicide tolerance. Examples of a protein that provides tolerance to an herbicide include *e. g.*, a 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), a glyphosate oxidoreductase (GOX), a glyphosate decarboxylase, a glyphosate-*N*-acetyl transferase (GAT), a dicamba monooxygenase, a phosphinothricin acetyltransferase, a 2,2- dichloropropionic acid dehalogenase, an acetohydroxyacid synthase, an acetolactate synthase, a haloarylnitrilase, an acetyl-coenzyme A carboxylase, a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase, a protoporphyrin IX oxygenase, a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, a *para*-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase, a cellulose synthase, a *beta*-tubulin, and a serine hydroxymethyltransferase.

78)Examples of nucleic acids encoding proteins conferring tolerance to herbicides include 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases (EPSPS; see, *e. g.*, U. S. Patent Numbers 5,627,061, 5,633,435 RE39247, 6,040,497, and 5,094,945, and PCT International Application Publications WO04074443 and WO04009761), glyphosate oxidoreductase (GOX; U. S. Patent Number 5,463,175), glyphosate decarboxylase (PCT International Application Publication WO05003362, U. S. Patent Number 7,405,347, and U. S. Patent Application Publication 2004/0177399), glyphosate-N-acetyl transferase (GAT; U. S. Patent Number 7,714,188) conferring tolerance to glyphosate; dicamba monooxygenase conferring tolerance to auxin-like herbicides such as dicamba (U. S. Patent Number 7,105,724); phosphinothricin acetyltransferase (pat or bar) conferring tolerance to phosphinothricin or glufosinate (U. S. Patent Number 5,646,024); 2,2- dichloropropionic acid dehalogenase conferring tolerance to 2,2-dichloropropionic acid (Dalapon) (PCT International Application Publication WO9927116); acetohydroxyacid synthase or acetolactate synthase conferring tolerance to acetolactate synthase inhibitors such as sulfonylurea, imidazolinone, triazolopyrimidine, pyrimidyloxybenzoates and phthalide (U. S. Patent Number 6,225,105); haloarylnitrilase (Bxn) for conferring tolerance to bromoxynil (U. S. Patent Number 4,810,648); modified acetyl-coenzyme A carboxylase for conferring tolerance to cyclohexanedione (sethoxydim) and aryloxyphenoxypropionate (haloxyfop) (U. S. Patent

Number 6,414,222); dihydropteroate synthase (sul I) for conferring tolerance to sulfonamide herbicides (U. S. Patent Number 5,719,046); 32 kDa photosystem II polypeptide (psbA) for conferring tolerance to triazine herbicides (Hirschberg *et al.*, 1983, Science, 222:1346-1349); anthranilate synthase for conferring tolerance to 5-methyltryptophan (U. S. Patent Number 4,581,847); dihydrodipicolinic acid synthase (dap A) for conferring to tolerance to aminoethyl cysteine (PCT International Application Publication WO8911789); phytoene desaturase (crtI) for conferring tolerance to pyridazinone herbicides such as norflurazon (Japan Patent JP06343473); hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, a 4-hydroxyphenylacetic acid oxidase and a 4-hydroxyphenylacetic 1-hydrolase (US Patent 7,304,209) for conferring tolerance to cyclopropylisoxazole herbicides such as isoxaflutole (U. S. Patent Number 6,268,549); modified protoporphyrinogen oxidase I (protox) for conferring tolerance to protoporphyrinogen oxidase inhibitors (U. S. Patent Number 5939602); aryloxyalkanoate dioxygenase (AAD-1) for conferring tolerance to an herbicide containing an aryloxyalkanoate moiety (WO05107437); a serine hydroxymethyltransferase (US Patent Application Publication 2008/0155716), a glufosinate-tolerant glutamine synthase (US Patent Application Publication 2009/0018016). Examples of such herbicides include phenoxy auxins (such as 2,4- D and dichlorprop), pyridyloxy auxins (such as fluroxypyr and triclopyr), aryloxyphenoxypropionates (AOPP) acetyl- coenzyme A carboxylase (ACCase) inhibitors (such as haloxyfop, quizalofop, and diclofop), and 5- substituted phenoxyacetate protoporphyrinogen oxidase IX inhibitors (such as pyraflufen and flumiclorac). The nucleotide sequences of the nucleic acids encoding herbicide-tolerance proteins and the sequences of the herbicide-tolerance proteins, as disclosed in the U. S. patent and patent application publications cited in this paragraph are incorporated herein by reference.

79) Aspects of this invention provide polynucleotides and methods that directly or indirectly provide to a plant cell RNAs that hybridize to RNA encoding such herbicide-tolerance proteins at a level to be lethal to the plant or at least at a level to reduce herbicide tolerance. Due to the sequence degeneracy of the DNA encoding herbicide-tolerance proteins it is possible to design a polynucleotide for use in this invention that is specifically effective in a particular plant. Due to conservation of domains of DNA among a multitude of plants it is possible to design a polynucleotide for use in this invention that is effective across a variety of plants.

80) In an embodiment the polynucleotide is admixed with the corresponding herbicide to potentiate the activity of the herbicide by providing improved herbicidal activity. In an embodiment the polynucleotide is utilized separately from the herbicide but in combination

with an application of the herbicide as a pre- or post- treatment. In embodiments the organosilicone surfactant is advantageously combined with the herbicide and the polynucleotide or is combined with one or the other when the compositions are applied in a sequential manner. Plants in a greenhouse setting can be treated using a track sprayer or laboratory sprayer with a 11001XR spray nozzle to deliver the sample solution at a determined rate (*e. g.*, 140 L/ha) at 0.25 MPa pressure. In the field the treatment solution can be applied with a CO_2 pressurized backpack sprayer calibrated to deliver the appropriate rate of the composition with a 11015 flat fan spray nozzle with a customized single nozzle assembly (to minimize waste) at a spray pressure of 0.25 MPa; the single nozzle sprayer provides an effective spray swath of 60 cm above the canopy of 3 to 12 inch tall growing plants.

81)The foregoing description and the examples presented in this disclosure describe the subject matter of this invention, which includes but is not limited to aspects and embodiments described in these Roman-numbered clauses: (**I**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene. (**II**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene in plant cells other than those topically coated. (**III**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target

endogenous gene systemically in at least one plant organ. (**IV**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the polynucleotide composition induces suppression of the target endogenous gene. (**V**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the polynucleotide composition effects a desired phenotype in the growing plant or plant organ. (**VI**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the polynucleotide composition suppresses expression of an enzyme, a structural protein or a plant regulatory protein in the growing plants or plant organs. (**VII**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the polynucleotide composition is a plant lethal agent. (**VIII**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in

either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the target endogenous gene encodes a protein that interacts with an herbicide. (**IX**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the target endogenous gene is selected from the group consisting of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a para-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a glufosinate-tolerant glutamine synthase, a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, and a serine hydroxymethyltransferase. (**X**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the target endogenous gene encodes a protein essential for maintaining the growth of the growing plants. (**XI**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the target endogenous gene is selected from the group consisting of RuBisCO, Translation Initiation Factor, and phytoene desaturase. (**XII**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants

or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the target endogenous gene encodes a protein that provides tolerance to an herbicide. (**XIII**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the target endogenous gene encodes a mutant acetolactate synthase enzyme that confers resistance to sulfonylurea and imidazolinone herbicides or a mutant ACCase that confers resistance to aryloxyphenoxy propionate herbicides. (**XIV**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the polynucleotide composition further includes a second polynucleotide, the second polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a second target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the second target endogenous gene. (**XV**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the polynucleotide composition further includes a second polynucleotide, the second polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a second target endogenous gene or messenger

RNA transcribed from the second target endogenous gene, wherein the at least one polynucleotide is essentially identical or essentially complementary to a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of an endogenous EPSPS gene in the growing plants or plant organs and the second polynucleotide is essentially identical or essentially complementary to a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of the endogenous Translation Initiation Factor gene in the growing plants or plant organs. (**XVI**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the target endogenous gene is non-coding sequence, coding sequence, or a combination of non-coding sequence and coding sequence. (**XVII**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the polynucleotide composition is coated onto an organ of the growing plants. (**XVIII**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the polynucleotide composition is coated onto a leaf, stem, seed, fruit, or flower of the growing plants. (**XIX**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the polynucleotide

composition further includes a second polynucleotide, the second polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a different segment of the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene than the at least one polynucleotide. (**XX**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the growing plants are in an open field or in a greenhouse. (**XXI**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the polynucleotides are not integrated into the chromosome of the growing plants. (**XXII**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and a salt. (**XXIII**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an organosilicone surfactant and a salt. (**XXIV**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating

onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and a salt. (**XXV**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and a salt, wherein the silicone polyether copolymer is a copolymer of polyalkylene oxide modified heptamethyl trisiloxane and allyloxypolypropylene glycol methylether. (**XXVI**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and salt, wherein the salt is an organic or an inorganic salt. (**XXVII**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant, an organic ammonium salt, and an inorganic ammonium salt. (**XXVIII**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having

sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and ammonium sulfate. (**XXIX**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and a salt and further includes a humectant or a chelating agent. (**XXX**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the polynucleotide composition is coated onto the growing plants or plant organs by a spray apparatus. (**XXXI**) A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs including topically coating onto the growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit the at least one polynucleotide to permeate the interior of the growing plants, whereby the at least one polynucleotide regulates the expression of the target endogenous gene, wherein the polynucleotide is selected from the group consisting of ssDNA, dsDNA, ssRNA, dsRNA and RNA/DNA hybrids. (**XXXII**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to

permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants. (**XXXIII**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the endogenous gene expresses a protein that is a herbicide target gene or an herbicide deactivation gene. (**XXXIV**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the endogenous gene expresses a protein that is a herbicide target gene or an herbicide deactivation gene selected from the group consisting of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a para-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a glufosinate-tolerant glutamine synthase, a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, and a serine hydroxymethyltransferase. (**XXXV**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous

gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the polynucleotide composition and the herbicide are applied separately or in the same solution. (**XXXVI**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the polynucleotide is selected from the group consisting of ssDNA, dsDNA, ssRNA, dsRNA and RNA/DNA hybrids. (**XXXVII**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the polynucleotide composition further includes a second polynucleotide, the second polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a different segment of the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene than the at least one polynucleotide. (**XXXVIII**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the

herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the polynucleotide composition further includes a plurality of polynucleotides, the plurality of polynucleotides each having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a different segment of the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene than the at least one polynucleotide. (**XXXIX**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and a salt. (**XL**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an organosilicone surfactant and a salt. (**XLI**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the

transferring agent is selected from the group consisting of a silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and a salt. (**XLII**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and a salt, wherein the silicone polyether copolymer is a copolymer of polyalkylene oxide modified heptamethyl trisiloxane and allyloxypolypropylene glycol methylether. (**XLIII**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and a salt, wherein the salt is an organic or an inorganic salt. (**XLIV**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant, an organic ammonium salt, and an inorganic ammonium salt. (**XLV**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants

a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and ammonium sulfate. (**XLVI**) A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants including (a) topically coating onto the surface of the growing plants a polynucleotide composition, included of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides of a essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of the plant, wherein the endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and an effective amount of a transferring agent to permit the polynucleotides to permeate the interior of the growing plants, and (b) applying the herbicide to the growing plants; whereby the at least one polynucleotide permeates the interior of the growing plants and induces suppression of the endogenous gene, thereby potentiating activity of the herbicide in the growing plants, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and a salt, wherein the transferring agent further includes a humectant or a chelating agent. (**XLVII**) In a liquid, herbicidal composition adapted for topical coating onto the exterior surface of growing plants including surfactant and at least one plant lethal agent, the improvement wherein the plant lethal agent includes polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to sequence of a plant gene or sequence of the plant gene's transcribed RNA, the polynucleotides effecting systemic production of small RNAs that hybridize to a probe for the plant gene. (**XLVIII**) In a liquid, herbicidal composition including a non-polynucleotide herbicide, the improvement wherein the composition further includes polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to sequence of a plant gene or sequence of the plant gene's transcribed RNA. (**XLIX**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant. (**L**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to

the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and a salt. (**LI**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an organosilicone surfactant and an inorganic salt. (**LII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and an inorganic salt. (**LIII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and an inorganic salt, wherein the silicone polyether copolymer is a copolymer of polyalkylene oxide modified heptamethyl trisiloxane and allyloxypolypropylene glycol methylether (available as Silwet® L-77 surfactant). (**LIV**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene;

wherein the double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, further including a non-polynucleotide herbicidal molecule. (**LV**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the plant gene encodes a protein that provides herbicide tolerance and is a 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a para-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a glufosinate-tolerant glutamine synthase, a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, or a serine hydroxymethyltransferase. (**LVI**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant. (**LVII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and a salt. (**LVIII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or

complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an organosilicone surfactant and an inorganic salt. (**LIX**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and an inorganic salt. (**LX**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and an inorganic salt, wherein the silicone polyether copolymer is a copolymer of polyalkylene oxide modified heptamethyl trisiloxane and allyloxypolypropylene glycol methylether (available as Silwet® L-77 surfactant). (**LXI**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, further including a non-polynucleotide herbicidal molecule. (**LXII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded

DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the plant gene encodes a protein that provides herbicide tolerance and is a 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a para-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a glufosinate-tolerant glutamine synthase, a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, or a serine hydroxymethyltransferase. (**LXIII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant. (**LXIV**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and a salt. (**LXV**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an organosilicone surfactant and an inorganic salt. (**LXVI**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a

sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and an inorganic salt. (**LXVII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and an inorganic salt, wherein the silicone polyether copolymer is a copolymer of polyalkylene oxide modified heptamethyl trisiloxane and allyloxypolypropylene glycol methylether (available as Silwet® L-77 surfactant). (**LXVIII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, further including a non-polynucleotide herbicidal molecule. (**LXIX**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the plant gene encodes a protein that provides herbicide tolerance and is a 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a

hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a para-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a glufosinate-tolerant glutamine synthase, a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, or a serine hydroxymethyltransferase. (**LXX**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant. (**LXXI**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and a salt. (**LXXII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an organosilicone surfactant and an inorganic salt. (**LXXIII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and an inorganic salt. (**LXXIV**) A composition consisting essentially of (a) a solution of

non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and an inorganic salt, wherein the silicone polyether copolymer is a copolymer of polyalkylene oxide modified heptamethyl trisiloxane and allyloxypolypropylene glycol methylether (available as Silwet® L-77 surfactant). (**LXXV**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, further including a non-polynucleotide herbicidal molecule. (**LXXVI**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the plant gene encodes a protein that provides herbicide tolerance and is a 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a para-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a glufosinate-tolerant glutamine synthase, a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, or a serine hydroxymethyltransferase. (**LXXVII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA/RNA hybrid

polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant. (**LXXVIII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and a salt. (**LXXIX**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an organosilicone surfactant and an inorganic salt. (**LXXX**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and an inorganic salt. (**LXXXI**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded

DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the transferring agent is selected from the group consisting of an silicone polyether copolymer organosilicone surfactant and an inorganic salt, wherein the silicone polyether copolymer is a copolymer of polyalkylene oxide modified heptamethyl trisiloxane and allyloxypolypropylene glycol methylether (available as Silwet® L-77 surfactant). (**LXXXII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, further including a non-polynucleotide herbicidal molecule. (**LXXXIII**) A composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant, wherein the plant gene encodes a protein that provides herbicide tolerance and is a 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a para-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a glufosinate-tolerant glutamine synthase, a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, or a serine hydroxymethyltransferase. (**LXXXIV**) A method for selectively controlling targeted herbicide-resistant volunteer plants growing in a field of herbicide-resistant crop plants including applying onto the leaves of the volunteer plants a composition including polynucleotide oligomers that provides in cells of the volunteer plants systemic, single-stranded RNA that is capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the volunteer plants to messenger RNA that is transcribed from an endogenous gene that (i) is an essential gene for maintaining the growth or life of the volunteer plant, (ii) encodes a protein that provides herbicide resistance to the volunteer plant, or (iii) transcribes to an RNA regulatory agent. (**LXXXV**) A method for selectively controlling targeted herbicide-resistant volunteer plants growing in a field of herbicide-resistant crop plants

including applying onto the leaves of the volunteer plants a composition including polynucleotide oligomers that provides in cells of the volunteer plants systemic, single-stranded RNA that is capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the volunteer plants to messenger RNA that is transcribed from an endogenous gene that (i) is an essential gene for maintaining the growth or life of the volunteer plant, (ii) encodes a protein that provides herbicide resistance to the volunteer plant, or (iii) transcribes to an RNA regulatory agent, wherein the composition includes a surfactant and oligomers selected from the group consisting of single-stranded RNA , double-stranded RNA, single-stranded DNA , double-stranded DNA, and double-stranded, hybridized RNA/DNA, wherein the oligomers having a sequence essentially identical or complementary to messenger RNA of the endogenous gene; and wherein the endogenous gene is a native gene or a recombinant transgene. (**LXXXVI**) A method for selectively controlling targeted herbicide-resistant volunteer plants growing in a field of herbicide-resistant crop plants including applying onto the leaves of the volunteer plants a composition including polynucleotide oligomers that provides in cells of the volunteer plants systemic, single-stranded RNA that is capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the volunteer plants to messenger RNA that is transcribed from an endogenous gene that (i) is an essential gene for maintaining the growth or life of the volunteer plant, (ii) encodes a protein that provides herbicide resistance to the volunteer plant, or (iii) transcribes to an RNA regulatory agent, wherein the volunteer plant is pigweed, velvetleaf, waterhemp, prickly lettuce, dandelion, alfalfa, corn, soybean, canola, cotton, sugar beet, sugarcane, wheat, rice, or a vegetable. (**LXXXVII**) A method for selectively controlling targeted herbicide-resistant volunteer plants growing in a field of herbicide-resistant crop plants including applying onto the leaves of the volunteer plants a composition including polynucleotide oligomers that provides in cells of the volunteer plants systemic, single-stranded RNA that is capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the volunteer plants to messenger RNA that is transcribed from an endogenous gene that (i) is an essential gene for maintaining the growth or life of the volunteer plant, (ii) encodes a protein that provides herbicide resistance to the volunteer plant, or (iii) transcribes to an RNA regulatory agent, wherein the crop plants are corn, soybean, cotton, canola, sugar beet, alfalfa, sugarcane, rice, wheat, or fruit or vegetable crops. (**LXXXVIII**) A method for selectively controlling targeted herbicide-resistant volunteer plants growing in a field of herbicide-resistant crop plants including applying onto the leaves of the volunteer plants a composition including polynucleotide oligomers that provides in cells of the volunteer plants systemic, single-stranded RNA that is capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the volunteer plants to messenger RNA that is transcribed from an endogenous gene that (i) is an essential gene for maintaining the growth or life of the volunteer plant, (ii) encodes a protein that provides herbicide resistance to the volunteer plant, or (iii) transcribes to an RNA regulatory agent, wherein the endogenous gene encodes a protein that provides herbicide resistance to the volunteer plant and the protein is a 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A

carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a para-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a glufosinate-tolerant glutamine synthase, a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, or a serine hydroxymethyltransferase. (**LXXXIX**) A method for selectively controlling targeted herbicide-resistant volunteer plants growing in a field of herbicide-resistant crop plants including applying onto the leaves of the volunteer plants a composition including polynucleotide oligomers that provides in cells of the volunteer plants systemic, single-stranded RNA that is capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the volunteer plants to messenger RNA that is transcribed from an endogenous gene that (i) is an essential gene for maintaining the growth or life of the volunteer plant, (ii) encodes a protein that provides herbicide resistance to the volunteer plant, or (iii) transcribes to an RNA regulatory agent, wherein the endogenous gene encodes a protein that provides herbicide resistance to the volunteer plant and the protein is a 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a para-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a glufosinate-tolerant glutamine synthase, a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, or a serine hydroxymethyltransferase, further including applying onto the volunteer plant a quantity of the herbicide for which the protein provides resistance. (**XC**) A method for investigating reverse genetics by modulating an endogenous target gene in a plant, the method including applying onto tissue of a growing plant: (1) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (2) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b)

transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (3) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (4) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (5) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant. (**XCI**) A method for investigating reverse genetics by modulating an endogenous target gene in a plant, the method including applying onto tissue of a growing plant: (1) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (2) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the

endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (3) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (4) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (5) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; wherein the composition effects modulation of the target gene during a period of at least 1 week during the life of the plant. (**XCII**) A method for investigating reverse genetics by modulating an endogenous target gene in a plant, the method including applying onto tissue of a growing plant: (1) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (2) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded DNA polynucleotides are

capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (3) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (4) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (5) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; wherein RNA transcribed in the cells is messenger RNA encoding a protein or regulatory RNA. (**XCIII**) A method for investigating reverse genetics by modulating an endogenous target gene in a plant, the method including applying onto tissue of a growing plant: (1) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (2) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of

RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (3) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (4) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (5) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; further including exposing the plant to an array of compounds to identify herbicide interactions. (**XCIV**) A method for investigating reverse genetics by modulating an endogenous gene in a plant, the method including topically applying onto tissue of a living plant: (1) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (2) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides

having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded DNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (3) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (4) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the single-stranded RNA polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant; or (5) a composition consisting essentially of (a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous gene; wherein the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of the plant to the endogenous gene or to the RNA transcribed from the endogenous gene to effect silencing of the endogenous gene; and (b) transferring agent effective for facilitating transfer of the double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of the plant into cells of the plant. (**XCV**) An herbicidal composition including an aqueous solution of (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotide oligomers, and (b) polynucleotide oligomers including at least one polynucleotide strand including at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides of an endogenous gene of the plant in either anti-sense or sense orientation, wherein the endogenous gene encodes a protein that provides to the plant resistance to a chemical herbicide or is an essential gene. (**XCVI**) An herbicidal composition including an aqueous solution of (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotide oligomers, and (b) polynucleotide oligomers including at least one polynucleotide strand including at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides of an endogenous gene of the plant in either anti-sense or sense orientation, wherein the endogenous gene encodes a protein that provides to the plant resistance to a

chemical herbicide or is an essential gene, further including a chemical herbicide. (**XCVII**) An herbicidal composition including an aqueous solution of (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotide oligomers, and (b) polynucleotide oligomers including at least one polynucleotide strand including at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides of an endogenous gene of the plant in either anti-sense or sense orientation, wherein the endogenous gene encodes a protein that provides to the plant resistance to a chemical herbicide or is an essential gene, further including a chemical herbicide, including a glyphosate, dicamba, phosphinothricin, bromoxynil, ioxynil, or chlorsulfuron herbicide compounds. (**XCVIII**) An herbicidal composition including an aqueous solution of (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotide oligomers, and (b) polynucleotide oligomers including at least one polynucleotide strand including at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides of an endogenous gene of the plant in either anti-sense or sense orientation, wherein the endogenous gene encodes a protein that provides to the plant resistance to a chemical herbicide or is an essential gene, further including a chemical herbicide, including a glyphosate compound, a silicone polyether copolymer surfactant and polynucleotide oligomers. (**XCIX**) A plant including exogenous DNA or RNA for suppressing an endogenous gene, wherein the exogenous DNA is not integrated into a chromosome of the plant and the exogenous RNA is not transcribed from DNA integrated into a chromosome of the plant, and wherein the endogenous gene is suppressed by topical application of a polynucleotide to the plant after the plant has emerged from a seed. (**C**) A method to deliver a polynucleotide to the interior of a plant cell by topical application of the polynucleotide to the exterior of the plant cell, the method including combining the polynucleotide with an organosilicone surfactant. (**CI**) A method to deliver a polynucleotide to the interior of a plant cell by topical application of the polynucleotide to the exterior of the plant cell, the method including combining the polynucleotide with an organosilicone surfactant, wherein the organosilicone surfactant is a silicone polyether copolymer. (**CII**) A method to deliver a polynucleotide to the interior of a plant cell by topical application of the polynucleotide to the exterior of the plant cell, the method including combining the polynucleotide with an organosilicone surfactant, wherein the organosilicone surfactant is a silicone polyether copolymer, wherein the silicone polyether copolymer is a copolymer of polyalkylene oxide modified heptamethyl trisiloxane and allyloxypolypropylene glycol methylether. (**CIII**) A method to deliver a polynucleotide to the interior of a plant cell by topical application of the polynucleotide to the exterior of the plant cell, the method including combining the polynucleotide with an organosilicone surfactant and an organic or an inorganic salt. (**CIV**) A method to deliver a polynucleotide to the interior of a plant cell by topical application of the polynucleotide to the exterior of the plant cell, the method including combining the polynucleotide with an organosilicone surfactant and an organic or an inorganic salt, wherein the salt is an ammonium salt. (**CV**) A method to deliver a polynucleotide to the interior of a plant cell by topical application of the polynucleotide to the exterior of the plant cell, the method including combining the polynucleotide with an organosilicone surfactant and an organic

or an inorganic salt, wherein the salt is an ammonium salt, wherein the ammonium salt is ammonium sulfate. (**CVI**) A method to deliver a polynucleotide to the interior of a plant cell by topical application of the polynucleotide to the exterior of the plant cell, the method including combining the polynucleotide with an organosilicone surfactant, wherein the polynucleotide composition is coated onto the growing plants or plant organs by a spray apparatus.

Example 1

82) This example illustrates the utility of the polynucleotide molecules of this invention in controlling herbicide resistant weeds. Genotypes of glyphosate-resistant Palmer amaranth were identified as having multiple copies, *e. g.,* from 4 to more than 100 copies, of the gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) which is targetted by the glyphosate compounds in herbicide treatments.

83) With reference to **SEQ ID NO:1** as shown in **Figure 1**, four oligonucleotide-size "short" dsRNA molecules were designed with an anti-sense strand that is capable of hybridizing to the mRNA transcribed from the Palmer amaranth EPSPS gene at positions 14-38 (short dsRNA-1), positions 153-177 (short dsRNA-2), 345-369 (short dsRNA-3), and 1105-1129 (short dsRNA-4), as indicated by underlined nucleotides in **Figure 1**. The four designed short dsRNAs were purchased from Integrated DNA Technologies (IDT); the dsRNAs had a two nucleotide overhang at the 3' end of the anti-sense strand, and had two deoxynucleotides as the terminal nucleotides at the 3' end of the sense strand.

84) With reference to **SEQ ID NO:1** and **Figure 1**, three "long" double-stranded RNA polynucleotides were designed with one strand that is capable of hybridizing to the mRNA transcribed from the Palmer amaranth EPSPS gene at positions 16-170 (long dsRNA-1), 451-722 (long dsRNA-2), and 1109-1328 (long dsRNA-3) as indicted by the bolded nucleotides in **Figure 1**. The three designed long dsRNAs were made using an Ambion MEGAscript® RNAi Kit, Cat. No. 1626.

85) Vegetative clones of glyphosate-resistant Palmer amaranth with 16 copies of the endogenous gene encoding EPSPS (Gaines, *et al.* (2010) Proceedings of the National Academy of Sciences 107(3): 1029-1034) were grown in 3.5 inch square pots with SunGro® Redi-earth seedling mix containing 3.5 kg/cubic meter Osmocote® 14-14-14 fertilizer in a greenhouse with 14-hour photoperiod and a daytime temperature of 30 degrees centigrade and night temperature of 20 degrees centigrade; the plants were watered with deionized water as necessary.

86)A pretreatment surfactant solution for leaf dip was prepared by diluting Silwet L-77 brand organosilicone surfactant with distilled water to 0.1% (v/v). A pretreatment 5% (w/v) carborundum solution was prepared by mixing 2 g carborundum (400 grit) in 40 ml distilled water. A treatment buffer solution was prepared with 10 mM sodium phosphate and 0.01 % (v/v) Silwet L-77 organosilicone surfactant in DEPC water (Omega Bio-Tek) and adjusted to pH 6.8. A short dsRNA solution was prepared with equimolar amounts of each of the four short dsRNAs (identified above) in treatment buffer solution at a concentration of

0.005 nanomoles of each short dsRNA per microliter. A long dsRNA solution was prepared with equimolar amounts of each of the three long dsRNAs in treatment buffer at a concentration of 0.0006 nanomoles of each of long dsRNA per microliter. A mixed (short/long) dsRNA solution was prepared with 0.005 nanomoles of each of the four short dsRNAs and 0.0006 nanomoles of each of the three long dsRNAs per microliter.

87) Vegetative clones of glyphosate-resistant Palmer amaranth with 16 copies of the endogenous gene encoding EPSPS were pre-treated with carborundum solution or surfactant solution to condition the leaves to transfer or permeation of dsRNA. For carborundum solution pre-treatment leaf abrasion was effected by gently rubbing 0.5 ml of the carborundum solution on the upper surface of a leaf, rinsing with water and blotting dry. For surfactant solution pre-treatment four, fully-expanded, mature source leaves were dipped in the surfactant solution and allowed to dry. After leaf pre-treatment by carborundum solution or surfactant solution, the conditioned leaves were treated with either buffer solution (as a control) or 40 microliters of a dsRNA solution (applying 10 microliters of dsRNA solution on each of 4 leaves per plant). Treatment with the short dsRNA solution applied about 0.8 nanomoles of short dsRNA molecules (0.2 nanomoles of each short dsRNA) to each treated plant. Treatment with the long dsRNA solution applied about 0.072 nanomoles of long dsRNA molecules (0.024 nanomoles of each long dsRNA) to each treated plant. Treatment with the mixed (short/long) dsRNA solution applied about 0.8 nanomoles of the short dsRNA molecules and about 0.072 nanomoles of the long dsRNA molecules to each treated plant. Except for controls, all plants were sprayed with a glyphosate herbicide solution (1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide) immediately, 48, or 72 hours after dsRNA treatment and evaluated at least after 7 days post-glyphosate treatment. Results:

88) Six surfactant-treated, control plants (no dsRNA molecule treatment) survived glyphosate treatment. See **Figure 3A** for a picture of the plants 7 days after the glyphosate treatment.

89) Two of four carborundum abrasive-treated, control plants (no dsRNA molecule treatment) were killed by glyphosate treatment.

90) Six surfactant-treated plants that were treated with glyphosate immediately after application of the mixed (short/long) dsRNA solution survived but were stunted.

91) Six surfactant-treated plants that were treated only with the mixed (short/long) dsRNA solution and no glyphosate survived. Five of six surfactant-treated plants that were

treated with the mixed (short/long) dsRNA solutions followed by glyphosate treatment were killed.

92)Five of six surfactant-treated plants that were treated with glyphosate 48 hours after application of the mixed (short/long) dsRNA solution were killed.

93)Three of four carborundum-treated plants that were treated with glyphosate 48 hours after application of the mixed (short/long) dsRNA solution were killed.

94)Five of six surfactant-treated plants, that were treated with the long dsRNA solution, followed by glyphosate treatment after 72 hours, were killed; see **Figure 3B**. Six of six surfactant-treated plants, that were treated with the short dsRNA solution, followed by glyphosate treatment after 72 hours, were killed; see **Figure 3C**.

Example 2

95)This example illustrates the utility of the polynucleotide molecules of this invention for improving the control of glyphosate herbicide-sensitive weeds. The mixed (short/long) dsRNA solutions prepared in Example 1 were applied to glyphosate-sensitive velvetleaf plants (a total of 40 microliters applied to two leaves) that had been pre-treated with the surfactant solution used in Example 1. Control plants were treated with buffer only following pre-treatment with the surfactant solution. 48 hours after dsRNA treatment the plants were treated with glyphosate herbicide solution (53 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand glyphosate herbicide). A two-fold increase in glyphosate activity as estimated by observing plant growth (measured as plant height) was observed in the plants treated with the polynucleotide composition and herbicide as compared to control plants treated with buffer and herbicide. The plants treated with the polynucleotide composition and herbicide survived with severe stunting; the control plants treated with buffer and herbicide survived and fully recovered. Similar results were obtained with other glyphosate herbicide-sensitive weeds, *i. e.*, glyphosate herbicide-sensitive waterhemp, redroot pigweed, giant ragweed, prickly lettuce, tobacco, and dandelion.

Example 3

96)This example illustrates the utility of the polynucleotide molecules of this invention for controlling weeds in transgenic glyphosate-resistant crops. Transgenic alfalfa, canola, corn, cotton, rice, soybean, sugarcane, sugar beet, and wheat plants having recombinant DNA for expressing a bacterial EPSPS (see US Patent RE39,247 for a description of glyphosate-resistant "class II" EPSPS genes) are treated with (a) the surfactant

solution used in **Example 1**, (b) the mixed (short/long) dsRNA solution prepared in **Example 1**, and (c) glyphosate herbicide solution (1682 g acid equivalence per hectare Roundup® WeatherMAX®) 48 hours after dsRNA treatment. After 30 days all transgenic glyphosate-resistant crop plants survive and exhibit no stunting.

Example 4

97)This example illustrates the utility of the polynucleotide molecules of the invention as herbicidal agents. Two dsRNA polynucleotide molecules were designed to target overlapping segments of mRNA encoding phytoene desaturase in tobacco (*Nicotiana benthamiana*). With reference to **SEQ ID NO:2** and **Figure 5**, a dsRNA targeting a 192 nt length (shown in bold in **Figure 5**) and a 685 nt length (shown in underline in **Figure 5**) of the mRNA were made using an Ambion® MEGAscript® kit. Separate dsRNA solutions were prepared. Tobacco plant leaves were pretreated with surfactant solution prepared as in **Example 1** and then treated with either one of the dsRNA solutions applying about 0.6 micromoles of dsRNA per plant. On day 9 after dsRNA treatment phytoene desaturase silencing was apparent from visible leaf bleaching on apical leaves; see **Figure 4**. At 15 days after treatment with dsRNA one half of the treated plants appeared to be dead and the other half of the plants had most of the above ground tissues bleached. Northern blot analysis indicates the presence of siRNAs corresponding to the dsRNAs used in treatment.

Example 5

98)This example further illustrates the utility of polynucleotide molecules of the invention as herbicidal agents. dsRNA oligonucleotide molecules are designed to target RNA encoding EPSPS for each of the following plants: ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*), giant ragweed (*Ambrosia trifida*), Johnsongrass (*Sorghum halepense*), hairy fleabane (*Conzya bonariensis*), sourgrass (*Digitaria insularis*), liverseedgrass (*Urochloa panicoides*), euphorbia (*Euphorbia heterophylla*), junglerice (*Echinochloa colona*), lambsquarters (*Chenopodium album*), green foxtail (*Setaria viridis*), foxtail millet (*Setaria italic*), barnyard grass (*Echinochloa crus-galli*), crabgrass (*Digitaria sanguinalis*), cocklebur (*Xanthium strumarium*), blackgrass (*Alopecurus myosuroides*), wild oat (*Avena fatua*), sicklepod (*Senna obtusifolia*), morning glories (*Ipomoea* sp.), field bindweed (*Convolvulus arvensis*), shattercane (*Sorghum bicolor*), dayflower (*Commelina*), Spiderwort (*Tradescantia* sp.), ryegrass (*Lolium* sp.), goosegrass (*Eleusine indica*), horseweed (*Conzya canadensis*), buckhorn plantain (*Plantago lanceolata*), pigweed (*Amaranthus palmeri*), rough-fruit

amaranth (*Amaranthus tuberculatus*), tumble pigweed (*Amaranthus albus*), smooth pigweed (*Amaranthus hybridus*), redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*), waterhemp (*Amaranthus rudis/tuberculatus*), slender amaranth (*Amaranthus viridis*), Thunberg's amaranth (*Amaranthus thumbergii*), spiny amaranth (*Amaranthus spinosis*), (*Amaranthus rubra*), (*Amaranthus lividus*), Mediterranean amaranth (*Amaranthus graecizans*), rough amaranth (*Amaranthus chlorostachys*), Powell amaranth (*Amaranthus powellii*), Mat amaranth (*Amaranthus blitoides*), Kochia (*Kochia scoparia*), Yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*), and Velvetleaf (*Abutilon theophrasti*). Plant leaves are pretreated with surfactant solution prepared as in **Example 1** and treated with dsRNA solutions at a treatment of about 1 nanomole per plant. After 15 days treated plants are dead, dying, or stunted.

Example 6

99)This example further illustrates the utility of polynucleotide molecules of the invention as herbicidal agents. dsRNA oligonucleotide molecules are designed to target RNA encoding acetolactate synthase and phytoene desaturase for each of the plants listed in **Example 5**. Plant leaves are pretreated with surfactant solution prepared as in **Example 1** and treated with dsRNA solutions at a treatment of about 1 nanomole per plant. After 15 days treated plants are dead, dying, or stunted.

Example 7

100)This example further illustrates the utility of the polynucleotide molecules of the invention as herbicidal agents. The method of **Example 4** is repeated to provide short dsRNA oligonucleotides that are designed to target RNA encoding each of the following proteins in Palmer amaranth: a 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetyl-coenzyme A carboxylase, a dihydropteroate synthase, a protoporphyrin IX oxygenase, a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, a glutamine synthase, D1 protein, a translation initiation factor (TIF), a ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase (RuBisCO), and a DNA-dependent ATPase (ddATPase). Leaves of separate glyphosate-resistant Palmer amaranth plants are treated with the surfactant solution prepared as in **Example 1** and separately each of the dsRNA oligonucleotide molecules in the manner of **Example 1** at a treatment of 1 nanomole of dsRNA per plant. After 30 days the treated plants are dead, dying, or stunted.

Example 8

101)This example illustrates the utility of employing a synthetic Pol III gene in compositions and methods of this invention. With reference to **SEQ ID NO:3** and **Figure 2**, a synthetic Pol III gene is created using elements from an *Arabidopsis thaliana* U6 snRNA gene to provide a dsDNA molecule with two copies of RGCCCR elements (bold and underlined), an upstream sequence element (USE) having the sequence "TCCCACATCG" (**SEQ ID NO:4**, bold and underlined), a TATA box (bold and underlined), a "G" nucleotide (bold and underlined), anti-sense DNA (italics) corresponding to a bacterial DNA encoding an EPSPS protein (see US Patent RE39,247) that imparts resistance to glyphosate herbicide when expressed in transgenic corn plants, an "AAGATTAGCACGG" element (**SEQ ID NO:5**, bold and underlined) embedded in the anti-sense DNA, an "ACGCATAAAAT" element (**SEQ ID NO:6**, bold and underlined) followed by sense DNA (lower case) and a "TTTTTT" terminator element (**SEQ ID NO:7**, bold and underlined). A solution of 0.1 wt% Silwet L-77 brand organosilicone surfactant and a solution of multiple copies of the dsDNA molecule are sprayed onto leaves of volunteer glyphosate-resistant corn plants growing in a field of glyphosate-resistant soybean plants, followed 7 days later by treatment with Roundup WeatherMAX® brand glyphosate herbicide. 15 days later the corn plants are dead and the soybean plants are thriving; control glyphosate-resistant corn plants treated only with surfactant and glyphosate herbicide are thriving.

Example 9

102)This example illustrates an aspect of the invention. In this example, polynucleotide molecules were applied to and permeated into plant tissue thereby inducing systemic regulation, *i. e.*, silencing, of a target gene (an endogenous EPSPS). More specifically, a composition including single-stranded DNA (ssDNA) oligonucleotides suppressed the expression of an endogenous EPSPS in glyphosate-tolerant Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*).

103)The anti-sense ssDNA oligonucleotides were designed using IDT SciTools software (available at idtdna.com/Scitools/Applications/Anti-sense/Anti-sense.aspx). The oligonucleotides included four ssDNA oligonucleotides anti-sense to *Amaranthus palmeri* EPSPS (**SEQ ID NOs:8**, **9**, **10**, and **11**), two chemically modified (phosphorothioate modified) ssDNA oligonucleotides anti-sense to *Amaranthus palmeri* EPSPS (**SEQ ID NOs:12** and **13**), a control ssDNA oligonucleotide anti-sense to a control gene, barley (*Hordeum vulgare*) seed protein, GenBank ID X97636 (**SEQ ID NO:14**), and a chemically

modified (5'-labelled with Alexa Fluor 488 from Invitrogen) ssDNA oligonucleotide anti-sense to *Amaranthus palmeri* EPSPS (**SEQ ID NO:15**), as indicated in **Table 1**.

Table 1: Anti-sense ssDNA oligonucleotides

Name	SEQ ID NO:	Sequence (5' to 3')	Note
Anti-sense_PO1	**8**	ACCCTCCACGACTGCCCTTT	
Anti-sense_PO2	**9**	GTTTCCTTCACTCTCCAGC	
Anti-sense_PO3	**10**	GTAGCTTGAGCCATTATTGT	
Anti-sense_PO4	**11**	GTTGATGGTAGTAGCTTGAG	
Anti-sense_PS1	**12**	ACCCTCCACGACTGCCCTTT	phosphorothioate modification of the three 5'-terminal and three 3'-terminal nucleotides
Anti-sense_PS2	**13**	GTTTCCTTCACTCTCCAGC	phosphorothioate modification of the three 5'-terminal and three 3'-terminal nucleotides
Anti-sense_ck	**14**	AAGCGGTTGAGCACTGAA	Control sequence, barley seed protein, GenBank ID X97636
Anti-sense_PO1_488	**15**	ACCCTCCACGACTGCCCTTT	5'-labelled with Alexa Fluor 488

104)Oligonucleotide uptake was demonstrated with the fluorescently labelled ssDNA oligonucleotides (**SEQ ID NO:15**) confirming that ssDNA oligonucleotides permeated the leaf tissue. Petioles of detached leaves of glyphosate-resistant Palmer amaranth were placed in 200 mM sucrose solution with fluorescently labelled ssDNA oligonucleotides (**SEQ ID NO:15**). Leaf images were taken by Bio-Rad PharosFX imager equipped with a 488 nm laser from 4 h up to 48 h after uptake through petiole. Leaves incubated with 200 mM sucrose alone served as control. A slightly time-dependent vascular uptake of the fluorescently labelled ssDNA oligonucleotides was observed (see **Figure 6**). Fluorescently labelled ssDNA oligonucleotides were released from vascular tissue into cells as early as 8 h after treatment and were observed to accumulate at the leaf edge at 24 h and 48 h, suggesting a transpiration effect.

105)EPSPS suppression was demonstrated with detached leaves of glyphosate-resistant Palmer amaranth using the petiole uptake technique. Petioles of detached leaves of glyphosate-resistant Palmer amaranth were placed in 200 mM sucrose solution with oligonucleotides according to the treatments listed in **Table 2**. Control leaves were permeated with the anti-sense control (**SEQ ID NO:14**), and additionally treated with or without 50 micrograms/mL glyphosate. EPSPS mRNA, EPSPS protein, and shikimate levels

were measured after 48 h incubation. To assess the effects of anti-sense ssDNA oligonucleotides on EPSPS mRNA, total leaf RNA was isolated and quantitative real-time RT-PCR was performed to compare EPSPS mRNA levels. To assess the effects of anti-sense ssDNA oligonucleotides on EPSPS protein, total leaf soluble protein was isolated, separated by SDS-PAGE, and EPSPS protein levels measured by Western blot using antibodies against maize EPSPS_TIPA. Effects of anti-sense ssDNA oligonucleotides on shikimate accumulation as an indication of suppression of EPSPS were assessed in two experiments: in experiment 1, the oligonucleotide-treated leaves were incubated with 50 microgram/mL glyphosate for an additional 48 h either by petiole uptake (control leaves were permeated with the anti-sense control (**SEQ ID NO:14**), and additionally treated with or without 50 micrograms/mL glyphosate); in experiment 2, leaf disc assays were performed on the oligonucleotide-treated leaves, and shikimate levels measured by HPLC (controls in this case were leaves that had not been treated with oligonucleotides but incubated with 50 microgram/mL glyphosate).

Table 2: List of treatments using anti-sense ssDNA oligonucleotides

Treatment	Anti-sense ssDNAs	Final concentration
#1	Anti-sense_PO1 (**SEQ ID NO:8**)	5 microM
#2	Anti-sense_PO2 (**SEQ ID NO:9**)	5 microM
#3	Anti-sense_PS1 (**SEQ ID NO:12**)	5 microM
#4	Anti-sense_PS2 (**SEQ ID NO:13**)	5 microM
#5	Anti-sense_PS1, PS2 (**SEQ ID NOs:12, 13**)	10 microM each (20 microM total)
#6	Anti-sense_PO1, PO2, PO3, PO4 (**SEQ ID NOs:8, 9, 10, 11**)	5 microM each (20 microM total)
Control	Anti-sense_ck (**SEQ ID NO:14**)	5 microM or 20 microM

106) Results for EPSPS mRNA expression, EPSPS protein levels, and shikimate levels are shown in **Figures 7**, **8**, and **9**, respectively. These results demonstrate that treatment with the anti-sense ssDNA oligonucleotides systematically regulated or suppressed the target gene by decreasing levels of the target gene transcript (EPSPS mRNA) or of the protein (EPSPS) encoded by the target gene in the plant tissue. In this particular experiment, treatments #1 and #6 appeared to be more efficacious in suppressing levels of EPSPS mRNA and protein and in increasing glyphosate efficacy as evidenced by the increased accumulation of shikimate. These results also indicate that glyphosate efficacy is improved by suppressing EPSPS mRNA and protein in glyphosate-resistant Palmer amaranth.

Example 10

107)This example illustrates an aspect of the invention. In this example, growing plants were treated with a topically applied composition for inducing systemic silencing of a target gene in a plant including (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides and (b) polynucleotides including at least one polynucleotide strand including at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides of the target gene in either anti-sense or sense orientation. More specifically, tobacco (*Nicotiana benthamiana*) plants were treated with (a) a topically applied surfactant solution for conditioning of the plant to permeation by polynucleotides and (b) a composition including topically applied DNA oligonucleotides or polynucleotides having at least one strand including at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides of the target gene in either anti-sense or sense orientation, whereby systemic regulation or suppression of the target gene (a phytoene desaturase, "PDS") was achieved.

108)The target gene used was a *Nicotiana benthamiana* phytoene desaturase (**SEQ ID NO:2**), shown in **Figure 10**; the segment consisting of nucleotides 421 – 1120 of **SEQ ID NO:2** (underlined text in **Figure 10**) was used to design a 700-mer dsRNA polynucleotide ("PDS 700-mer") and the segment consisting of nucleotides 914 – 1113 of **SEQ ID NO:2** (bolded underlined text in **Figure 10**) was used to design a 200-mer dsRNA polynucleotide ("PDS 200-mer"). Sequences of other polynucleotides or oligonucleotides used in the treatments are listed in **Table 3**. **Figure 11** schematically depicts the location of the sequences of these oligonucleotides and polynucleotides in relation to the phytoene synthase (**SEQ ID NO:2**) sequence. Non-plant sequences obtained from corn rootworm ("CRW"), **SEQ ID NOs:27**, **28**, **29**, and **30** were used as non-homologous controls. Some of the polynucleotides included a T7 promoter sequence (indicated by lower-case text in **Table 3**) that is a promoter recognized by a bacteriophage T7 RNA polymerase.

Table 3

Description	sense/ anti-sense	sequence	Number of nucleotides	SEQ ID NO:
oligo 1 with T7 promoter	S	taatacgactcactataggGCAAGAGATGTCCTAGGTGGG	40	**16**
oligo 2 with T7 promoter	S	taatacgactcactataggACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGG	44	**17**
oligo 1 w/o T7 promoter	S	GCAAGAGATGTCCTAGGTGGG	21	**18**
oligo 2 w/o T7 promoter	S	ACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGG	25	**19**

oligo 3 mix with T7 promoter	AS	taatacgactcactataggCATCTCCTTTAATTGTACTGCC (**SEQ ID NO:20**) and taatacgactcactataggTTTAATTGTACTGCCATTATTC (**SEQ ID NO:21**)	41 (**SEQ ID NO:20**), 41 (**SEQ ID NO:21**)	**20, 21**
oligo 3 mix w/o T7 promoter	AS	CATCTCCTTTAATTGTACTGCC (**SEQ ID NO:22**) and TTTAATTGTACTGCCATTATTC (**SEQ ID NO:23**)	22 (**SEQ ID NO:22**), 22 (**SEQ ID NO:23**)	**22, 23**
oligo 4 w/o T7 promoter	AS	CACTTCCATCCTCATTCAGCTCGAT	25	**24**
oligo 5 w/o T7 promoter	AS	ACACCTCATCTGTCACCCTATCAG	24	**25**
oligo 6 w/o T7 promoter	AS	CAGTCTCGTACCAATCTCCATCAT	24	**26**
CRW oligo mixture with T7 promoter	S and AS	taatacgactcactatagggATCCATGATATCGTGAACATC (**SEQ ID NO:27**) and taatacgactcactatagggGCAAAGAAAAATGCGTCG (**SEQ ID NO:28**)	41 (**SEQ ID NO:27**), 38 (**SEQ ID NO:28**)	**27, 28**
CRW oligo mixture w/o T7 promoter	S and AS	ATCCATGATATCGTGAACATC (**SEQ ID NO:29**) and GCAAAGAAAAATGCGTCG (**SEQ ID NO:29**)	21 (**SEQ ID NO:29**), 18 (**SEQ ID NO:30**)	**29, 30**

109) The following procedure was used for all assays described in this example. Four-week old *Nicotiana benthamiana* plants were used in all assays. Plants were treated with 0.1% Silwet L-77 solution freshly made with ddH2O. Two fully expanded leaves per plant (one cotyledon, one true leaf) were dipped into the Silwet L-77 solution for a few seconds, and allowed to dry for 15-30 minutes before application of the polynucleotide composition. Final concentration for each oligonucleotide or polynucleotide was 25 microM (in 0.01% Silwet L-77, 5 mM sodium phosphate buffer, pH 6.8) unless otherwise stated. 20 microliters of the solution was applied to the top surface of each of the two pre-treated leaves to provide a total of 40 microliters (1 nmol oligonucleotide or polynucleotide) for each plant. Leaf bleaching was observed 3 days post treatment.

110)Figure 12A illustrates results of an assay where a 200-mer dsRNA polynucleotide with an RNA sequence corresponding to the "PDS 200-mer" segment (nucleotides 914 – 1113 of **SEQ ID NO:2**) and a combination of single-stranded DNA oligonucleotides and polynucleotides (**SEQ ID NOs:16**, **17**, **20**, **21**, **24**, **25**, and **26**) were separately applied to tobacco plants. The 200-mer dsRNA polynucleotide was applied at a concentration of 0.6 microM. Bleaching of apical leaves was observed after topical treatment with the polynucleotides and oligonucleotides, indicating systemic regulation or suppression of the target phytoene desaturase gene.

111)Figure 12B illustrates results of northern blot analysis of RNA isolated from *Nicotiana benthamiana* plants treated with buffer (control), the 200-mer dsRNA polynucleotide, and the ssDNA oligonucleotides. Also shown is RNA isolated from plants

that had been stressed by being kept at 4 degrees Celsius and in the dark overnight prior to treatment with the 200-mer dsRNA polynucleotides.

112)Figure 13 illustrates phenotypes observed at day 12 after treatment in another assay of the effect from twelve combinations of polynucleotides or oligonucleotides (see **Table 4**). **Table 4** also lists observations of visible bleaching of the plants at day 5 after treatment and the results of chlorophyll measurements taken at days 7 and 12 after treatment. Chlorophyll measurements are an indication of suppression of the target gene phytoene desaturase, and measurements were taken at 6 spots on the apical area, focussing on visibly bleached leaves or (in plants without visible bleaching) on leaves in equivalent locations on the plants; lower chlorophyll measurement values indicate suppression of phytoene desaturase. These results show that the combinations of oligonucleotides and polynucleotides in treatments 2, 3, 4, 8, and 11 were effective in systematically regulating (suppressing) the target gene in the treated plants; treatment 1 also effected systematic regulation (suppression) of the target gene to a lesser extent. The 200-mer dsRNA polynucleotide was also effective in systematically regulating (suppressing) the target gene in the treated plants. Oligonucleotides from a non-homologous (corn rootworm) gene (treatments 5 and 6) did not suppress the target phytoene desaturase gene. These results demonstrate that both sense and anti-sense single-stranded DNA oligonucleotides and polynucleotides were effective in systematically regulating (suppressing) the target gene in the treated plants. In this particular example, sense oligonucleotides with the T7 promoter (treatment 1) effected a weak systematic suppression of the phytoene desaturase gene, whereas sense oligonucleotides without the T7 promoter (treatment 7) did not suppress the phytoene desaturase gene. In this particular example, anti-sense oligonucleotides with the T7 promoter (treatment 2) as well as anti-sense oligonucleotides without the T7 promoter (treatment 8) both provided strong bleaching, indicating strong systemic regulation of the target phytoene desaturase gene.

Table 4

Treatment	Description	SEQ ID NO:	Comment	Bleaching (day 5)	Chlorophyll (day 7)	Chlorophyll (day 12)
1	Oligos 1 and 2	**16**, **17**	Sense oligos with T7 promoter	weak	18.6	17.5
2	Oligo 3	**20**, **21**	Anti-sense oligos with T7 promoter	strong	12.7	1.6
3	Oligos 1, 2, and 3	**16**, **17**, **20**, **21**	Sense and anti-sense oligos with T7 promoter	strong	11.5	2.6

4	Oligos 1, 2, 3, 4, 5 and 6	**16**, **17**, **20**, **21**, **24**, **25**, **26**	Sense and anti-sense oligos with T7 promoter, plus anti-sense oligos without T7 promoter	strong	15.1	2.5
5	CRW oligo mixture with T7 promoter	**27**, **28**	Sense and anti-sense oligos with T7 promoter	not yet	30.8	37.3
6	CRW oligo mixture without T7 promoter	**29**, **30**	Sense and anti-sense oligos without T7 promoter	not yet	34.2	38.2
7	Oligos 1 and 2 without T7 promoter	**18**, **19**	Sense oligos without T7 promoter	not yet	32.0	41.1
8	Oligo 3 without T7 promoter	**22**, **23**	Anti-sense oligos without T7 promoter	strong	11.3	3.2
9	Oligos 1, 2, and 3 w/o T7 promoter and oligos 4, 5, & 6	**18**, **19**, **22**, **23**, **24**, **25**, **26**	Sense and anti-sense oligos without T7 promoter	not yet	30.2	34.4
10	200-mer dsRNA polynucleotide	RNA sequence corresponding to the "PDS 200-mer" segment consisting of nucleotides 914 – 1113 of **SEQ ID NO:2**	Sense and anti-sense dsRNA polynucleotide	strong	11.3	4.0
11	$1/10^{th}$ of Experiment 4 oligonucleotide mixture	**16**, **17**, **20**, **21**, **24**, **25**, **26**	Sense and anti-sense oligos with T7 promoter, plus anti-sense oligos without T7 promoter	strong	11.4	4.5
12	$1/100^{th}$ of Experiment 4 oligonucleotide mixture	**16**, **17**, **20**, **21**, **24**, **25**, **26**	Sense and anti-sense oligos with T7 promoter, plus anti-sense oligos without T7 promoter	not yet	31.0	38.0
13	Control	(none)	Buffer only	not yet	31.2	38.4

113)Table 5 shows six polynucleotides: a 40-mer segment ("PDS 40-mer sense ssDNA", **SEQ ID NO:31**) consisting of the 5'-most 40 nucleotides of the "PDS 700-mer" (nucleotides 1081 – 1120 of **SEQ ID NO:2**), and four anti-sense single-stranded DNA polynucleotides and one sense single-stranded DNA polynucleotide synthesized based on the

"PDS 40-mer sense ssDNA" sequence (**SEQ ID NO:31**). **Figure 14** illustrates results of topical treatment of tobacco plants with the polynucleotides and oligonucleotides. Strong bleaching of apical leaves indicating systemic regulation or suppression of the target gene phytoene desaturase was observed after topical treatment with the PDS 21-mer anti-sense ssDNA and PDS 33-mer anti-sense ssDNA, as well as after topical treatment with the PCR-amplified and column-purified 700-mer dsRNA polynucleotide ("PDS 700-mer dsRNA"), previously assayed PDS anti-sense 22-mer oligonucleotides with a T7 promoter (**SEQ ID NOs:20** and **21**) ("PDS T7 anti-sense"), or previously assayed PDS anti-sense 22-mer oligonucleotides without a T7 promoter (**SEQ ID NOs:22** and **23**) ("PDS anti-sense"). Little or no visible bleaching of apical leaves was observed after topical treatment with the buffer only ("Buffer"), or after topical treatment with heat-denatured (5 minutes at 95 degrees Celsius, then stored on ice) 700-mer dsRNA polynucleotide ("PDS 700-mer dsRNA heated"), the PDS 15-mer anti-sense ssDNA, or the PDS 18-mer anti-sense ssDNA.

Table 5

Description	Sequence	SEQ ID NO:
PDS 40-mer sense ssDNA	TGTTTTATACTGAATAATGGCAGTACAATTAAAGGAGATG	**31**
PDS 15-mer anti-sense ssDNA	CATCTCCTTTAATTG	**32**
PDS 18-mer anti-sense ssDNA	CATCTCCTTTAATTGTAC	**33**
PDS 21-mer anti-sense ssDNA	CATCTCCTTTAATTGTACTGC	**34**
PDS 33-mer anti-sense ssDNA	CATCTCCTTTAATTGTACTGCCATTATTCAGTA	**35**
PDS 21-mer sense ssDNA	GCAGTACAATTAAAGGAGATG	**36**

114)Results of another assay are shown in **Figure 15**, strong bleaching of apical leaves indicating systemic regulation or suppression of the target gene phytoene desaturase was observed after topical treatment with the PDS 21-mer anti-sense ssDNA (**SEQ ID NO:34**, "21nt PDS anti-sense") or with previously assayed PDS anti-sense 22-mer oligonucleotides without a T7 promoter (**SEQ ID NOs:22** and **23**) ("PDS anti-sense"). Little or no visible bleaching of apical leaves was observed after topical treatment with the buffer only ("control: buffer"), or after topical treatment with PDS 21-mer sense ssDNA (**SEQ ID NO:36**, "21nt PDS sense").

Example 11

115)This example illustrates treatment of growing plants with a topically applied composition for inducing systemic silencing of a target gene in a plant including (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides and (b) polynucleotides

including at least one polynucleotide strand including at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides of the target gene in either anti-sense or sense orientation. More specifically, this example demonstrates the target specificity (sequence specificity) of the polynucleotides.

116) Palmer amaranth phytoene desaturase (PDS) has the sequence

TCAATTTCATCTATTGGAAGTGATTTTTTGGGTCATTCTGTGAGAAATTTCAGTGTTAGTAAAGTTT
ATGGAGCAAAGCAAAGAAATGGGCACTGCCCTTTAAAGGTTGTTTGTATAGATTATCCTAGGCCA
GAGCTTGAAAGTACATCCAATTTCTTGGAAGCCGCCTACTTATCTTCTACTTTTCGGAATTCGCCTC
GTCCTCAGAAGCCATTAGAAGTTGTAATTGCTGGAGCAGGTTTGGCTGGTCTATCCACGGCAAAGT
ATTTAGCTGATGCAGGTCACAAACCCATATTGTTGGAAGCACGAGATGTTTTAGGAGGAAAGGTT
GCAGCGTGGAAGGATGAGGATGGTGACTGGTATGAGACTGGGCTACATATATTCTTTGGGGCATA
TCCAAATGTCCAAAATCTATTTGGAGAACTTGGTATAAATGACCGACTGCAATGGAAGGAGCACT
CTATGATTTTTGCAATGCCCAGCAAGCCCGGTGAATTCAGTCGCTTTGATTTTCCCGAAATCCTGCC
TGCACCATTAAATGGCATATGGGCAATCCTAAGAAATAATGAAATGCTAACCTGGCCAGAAAAAA
TCAAGTTTGCCATTGGCTTGTTGCCTGCTATGGCAGGCGGACAGTCATATGTTGAAGCACAAGATG
GTTTGAGTGTCCAAGAGTGGATGAGAAAACAAGGAGTACCCGATCGTGTAACTGATGATGTGTTT
ATTGCCATGTCAAAGGCACTGAACTTCATAAATCCCGATGAACTTTCAATGCAGTGCATCTTGATT
GCTCTGA*ACCGATTCCTGCAGGAGAAACATGGTTCTAAGATGGCCTTCCTAGACGGAAACCCTCCAGAG*
AGGCTGTGCATGCCTATTGTTAAACACATCGAGTCACTAGGTGGTGAAGTTAAACTTAACTCTCGTATACA
*AAAGATTCAGTTGGACCAGAGTGGAAGCGTGAAGAGTTTTTTGCTAAATAACGGGAGGGAAATAC*GAGGA
GATGCCTATGTTTTTGCCACCCCAGTTGACATCTTGAAGCTGTTACTACCTGATACTTGGAAGGAA
ATCTCATACTTCAAAAAACTTGAGAAATTAGTGGGCGTTCCTGTGATTAATGTTCACATATGGTTT
GACAGAAAATTAAAGAATACATATGACCATCTACTCTTCAGCAGGAGTCCTCTTTTGAGTGTCTAT
GCTGATATGTCGGAGACATGCAAGGAATATAAGGATCCAAATAGATCCATGCTGGAATTGGTTTTT
GCACCCGCGGAGGAATGGATTTCACGAAGCGACACTGATATTATAGAGGCAACAATGAAAGAGCT
TGCCAAGCTTTTCCCGGATGAAATCGCTGCCGATGGAAGCAAGGCCAAGATCCTCAAATATCATGT
CGTCAAAACTCCAAGGTCGGTTTATAAGACTGTACCGGATTGTGAACCTTGTCGGCCGCTGCAAAG
ATCACCAATAGAGGGTTTCTATTTAGCTGGTGATTACACAAAACAAAAATATTTGGCTTCTATGGA
AGGTGCTGTCTTATCTGGGAAGCTTTGTGCACAGGCTATCGTACAGGATTATGATCTGCTGAGTTC
TCGAGCACAAAGAGAATTGGCG (**SEQ ID NO:37**). A 678 base pair dsRNA polynucleotide with an anti-sense strand capable of hybridizing to the RNA encoded by the nucleotides at positions 317 – 994 (shown as underlined text) in **SEQ ID NO:37** and a 198 base pair dsRNA polynucleotide with an anti-sense strand capable of hybridizing to the RNA encoded by the nucleotides at positions 797 – 994 (shown as italicized and underlined text) in **SEQ ID NO:37** were synthesized.

117)*Nicotiana benthamiana* phytoene desaturase has the sequence

ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAATTCAGCTTATCTTTGGA
GCTCGAGGTCTTCGTTGGGAACTGAAAGTCAAGATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTG

GTAGTAGCGACTCCATGGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTG
ACAAAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCAGAGCTAGACAATACA
GTTAACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATCGTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCAT
TGGAGATTGTTATTGCTGGTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTG
GTCACAAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGCTGCATGGAAAGAT
GATGATGGAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAAC
CTGTTTGGAGAACTAGGGATTGATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATG
CCTAACAAGCCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGCCATTAAATGGA
ATTTTGGCCATACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGGCCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGA
CTCTTGCCAGCAATGCTTGGAGGGCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGAC
TGGATGAGAAAGCAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATGTCAAAGGC
ACTTAACTTCATAAACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCATTTTGATTGCTTTGA*ACAGATTTCTTC*
AGGAGAAACATGGTTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTG
GAACATATTGAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAAGATCGAGCTGAATGAGG
*ATGGAAGTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATGGCAGTA*CAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCA
CTCCAGTGGATATCTTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAAGT
TGGAGAAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTGACAGAAAACTGAAGAAC
ACATCTGATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCGTTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACAT
GTAAGGAATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGA
TAAATCGTAGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCGAAGCTTTTCCCTGATG
AAATTTCGGCAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCT
GTTTATAAAACTGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTT
TATTTAGCTGGTGACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGCTGTCTTATCAGGA
AAGCTTTGTGCACAAGCTATTGTACAGGATTACGAGTTACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTG
GCAGAAGCAAGCGTAGTTAGCATAGTGAACTAA (**SEQ ID NO:38**). A 685 base pair dsRNA polynucleotide with an anti-sense strand capable of hybridizing to the RNA encoded by the nucleotides at positions 421 – 1105 (shown as underlined text) in **SEQ ID NO:38** and a 192 base pair dsRNA polynucleotide with an anti-sense strand capable of hybridizing to the RNA encoded by the nucleotides at positions 914 – 1105 (shown as italicized and underlined text) in **SEQ ID NO:38** were synthesized.

118) An alignment of the Palmer amaranth and *Nicotiana benthamiana* PDS DNA sequences was performed using a global pairwise alignment (stretcher) and is illustrated in **Figure 16**; with this method the two sequences showed about 71% identity (1252/1762).

119) Palmer amaranth plants having 16 copies of EPSPS and 5 – 8 inches high were treated with 0.1% Silwet L-77 solution freshly made with ddH2O. Four fully expanded leaves per plant were dipped into the Silwet L-77 solution for a few seconds, and allowed to dry for 30 minutes to 1 hour before application of the polynucleotide composition. Individual polynucleotide solutions were made for each of the 678 bp Palmer PDS dsRNA, 198 bp

Palmer PDS dsRNA, the 685 bp *Nicotiana benthamiana* PDS dsRNA, and the 192 bp *Nicotiana benthamiana* PDS dsRNA (0.6 micromolar polynucleotide in 0.01% Silwet L-77, 5 mM sodium phosphate buffer, pH 6.8). 10 microliters of polynucleotide solution (or buffer as a control) was applied to the top surface of each of the four pre-treated leaves per plant to provide a total of 40 microliters for each plant. Plants were kept in a growth chamber, and leaf bleaching was observed 3 days post treatment. Plants topically treated with either 678 bp Palmer PDS dsRNA or 198 bp Palmer PDS dsRNA, showed bleaching of leaves (indicating silencing of the endogenous phytoene desaturase) but Palmer amaranth plants topically treated with either 685 bp *Nicotiana benthamiana* PDS dsRNA or 192 bp *Nicotiana benthamiana* PDS dsRNA did not show bleaching of leaves. This sequence specificity demonstrates that the polynucleotide compositions and methods of the invention are useful in selective control of a given species or taxon having a specific target gene sequence, *e. g.*, in controlling herbicide-resistant volunteer plants growing in a field of crop plants resistant to the same herbicide.

120) In a separate assay, Palmer amaranth plants topically treated with 678 bp Palmer PDS dsRNA (labelled "700 nt dsRNA PDS") or 198 bp Palmer PDS dsRNA (labelled "200 nt dsRNA PDS") showed bleaching of leaves (indicating silencing of the endogenous phytoene desaturase) but Palmer amaranth plants topically treated with a 260 base pair dsRNA of an invertebrate gene (labelled "260 nt dsRNA DV49", from corn root worm *Diabrotica virgifera*) did not result in a bleaching phenotype, indicating no silencing of the endogenous phytoene desaturase (**Figure 17**). This sequence specificity demonstrates that the polynucleotide compositions and methods of the invention are useful in selective control of a given species or taxon.

Example 12

121) This example describes use of a topically applied composition including at least one polynucleotide strand including at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides of a target gene in either anti-sense or sense orientation to induce systemic silencing of a target gene in a plant. More specifically this example demonstrates using a single treatment with a phytoene desaturase (PDS) oligonucleotide to induce systemic silencing in different plant organs including leaves, stems, and flowers.

122) Four-week old tobacco (*Nicotiana benthamiana*) plants were used in all treatments. Two fully expanded leaves (one cotyledon, one true leaf) were conditioned by dipping into freshly made surfactant solution (0.1% Silwet L-77 in double-distilled water) for

a few seconds and allowed to dry for 15 – 30 minutes. Twenty microliters of a single-stranded DNA (ssDNA) 22-mer oligonucleotide with the sequence GGCAGTACAATTAAAGGAGATG (**SEQ ID NO:39**), corresponding to the nucleotides at positions 1099 – 1120 of *Nicotiana benthamiana* phytoene desaturase (**SEQ ID NO:2**) was applied as a 25 micromolar solution in 0.01% Silwet L-77 in 5 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8 to the top surface of each conditioned leaf for a total of 40 microliters (1 nanomole oligonucleotide) per plant. Control plants were treated with the Silwet solution without the DNA oligonucleotide. Plants were observed for bleaching 3 days post-treatment. Apical leaves, stems, and flowers of plants treated with the ssDNA oligonucleotide all displayed bleaching indicating systemic silencing of PDS (**Figure 18A**).

123) Flowers of both control and ssDNA-treated plants were allowed to set seed. Seeds were collected from mature fruits, weighed, and allowed to germinate. Seed weights were identical (about 11 mg per 100 seeds) and seed morphology appeared similar between the ssDNA-treated and the control plants. A reduced amount of seed produced per fruit and a reduction in germination rate (4 out of 100 seeds germinated) was observed in seeds from the ssDNA-treated plants, compared to the amount of seed per fruit and germination rate (95 out of 100 seeds germinated) of seeds from control plants.

124) In a separate assay using a similar procedure, tobacco plants were conditioned by dipping in 0.1% Silwet L-77 in double-distilled water, allowed to dry for 15 – 30 minutes, and treated with the PDS ssDNA 22-mer (**SEQ ID NO:39**) applied as a 25 micromolar solution in 0.01% Silwet L-77 in 5 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8 to the top surface of each conditioned leaf for a total of 40 microliters (1 nanomole oligonucleotide) per plant. Other plants were not conditioned with a surfactant treatment, but were treated only with 1 nanomole of the PDS ssDNA 22-mer (**SEQ ID NO:39**) applied either by infiltration with a needleless syringe (shown in Figure **18B**) or by hand application of drops to the leaf surface (not shown in Figure **18B**), and either as a 25 micromolar solution in 0.01% Silwet L-77 in 5 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8 or as a 25 micromolar solution in 5 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8 (without surfactant). Negative control plants were treated with the Silwet buffer solution without the DNA oligonucleotide. Results are depicted in **Figure 18B**. All plants treated only with direct application of the PDS ssDNA (without conditioning by Silwet L-77 surfactant treatment), whether applied by infiltration or by hand application of drops, displayed bleaching of apical leaves, stems, and flowers, indicating systemic silencing of PDS.

Example 13

125) This example illustrates methods and topically applied compositions for inducing systemic silencing including the use of agents for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides. More specifically, this example describes use of polynucleotides of the invention to control herbicide-resistant Palmer amaranth.

126) Palmer amaranth plants having lower (fewer than 30) copy numbers of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) are susceptible to treatment with dsRNA designed to silence EPSPS followed by treatment with glyphosate (see details in **Example 1**). However, Palmer amaranth plants having high copy numbers of EPSPS (*i. e.*, 30 or more copies of EPSPS) are resistant to glyphosate treatment and are a challenge for weed resistance management. For example, in one assay (results not shown) on glyphosate resistant high-copy Palmer amaranth using treatments similar to those described in **Example 1** but where either dose of dsRNA was increased up to ten-fold (*i. e.*, 8 nanomoles of short dsRNAs described in **Example 1** per plant) or where a proprietary glyphosate formulation ("Roundup® WeatherMAX® brand herbicide") combined with a tallowamine surfactant was used, glyphosate activity was improved (estimated by observing plant growth measured as plant height) but the resistant plants were not killed.

127) Three different glyphosate resistant high-copy Palmer amaranth lines (3 plants per replicate) were treated with dsRNA using the treatment conditions listed in **Table 6**, where the dsRNA delivery vehicle, permeabilization or conditioning agent, and order of steps were varied. Results are depicted in **Figure 19**. Treatment with "4X" glyphosate (*i. e.*, treatment with 3360 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide which is four-fold the standard rate of application of 840 g acid equivalent per hectare) alone did not kill 35-copy (experiment 3) or 57-copy (experiment 6) Palmer amaranth.

128) In one set of experiments (1 – 3, **Table 6**), including 2% ammonium sulfate in an aqueous dsRNA delivery vehicle comprising 0.1% tallowamine surfactant and 10% glycerol (experiment 2) improved the efficacy of a 10-fold dose of dsRNA followed by a 4X glyphosate application. Improved efficacy of a 10-fold dose of dsRNA followed by glyphosate application was also observed when ammonium sulfate was included in a dsRNA delivery vehicle without a tallowamine surfactant (experiment 8).

129) In another set of experiments (4 – 6, **Table 6**), applying the Silwet L-77 surfactant prior to applying the dsRNA in a delivery vehicle containing ammonium sulfate was effective, whereas combining the Silwet L-77 surfactant with the dsRNA in the dsRNA delivery vehicle containing ammonium sulfate was not effective. Applying glyphosate

("Roundup® WeatherMAX® brand herbicide") at 72 hours (experiment 7) was less effective than applying glyphosate at 48 hours (experiment 2) after treatment with dsRNA.

Table 6

Palmer amaranth line	EPSPS Copy number	Experiment number	Step 1		Step 2	Step 3*
			EPSPS dsRNA relative concentration	dsRNA delivery vehicle		
R31	35	1	10X	0.1% tallowamine surfactant + 10% glycerol	1% Silwet L-77	4x WeatherMAX (48 h)
		2	10X	2% ammonium sulfate + 0.1% tallowamine surfactant + 10% glycerol	1% Silwet L-77	4x WeatherMAX (48 h)
		3	Buffer only (control)	2% ammonium sulfate + 0.1% tallowamine surfactant + 10% glycerol	1% Silwet L-77	4x WeatherMAX (48 h)
Palmer amaranth line	**EPSPS Copy number**	**Experiment number**	**Step 1**	**Step 2**		**Step 3***
				EPSPS dsRNA relative concentration	**dsRNA delivery vehicle**	
R34	57	4	--	10X	1% Silwet L-77 + 2% ammonium sulfate	4x WeatherMAX (48 h)
		5	1% Silwet L-77	10X	2% ammonium sulfate	4x WeatherMAX (48 h)
		6	1% Silwet L-77	Buffer only (control)	2% ammonium sulfate	4x WeatherMAX (48 h)
Palmer amaranth line	**EPSPS Copy number**	**Experiment number**	**Step 1**		**Step 2**	**Step 3***
			EPSPS dsRNA relative concentration	**dsRNA delivery vehicle**		
R28	87	7	10X	2% ammonium sulfate + 0.1% tallowamine surfactant + 10% glycerol	1% Silwet L-77	4x WeatherMAX (72 h)
Palmer amaranth line	**EPSPS Copy number**	**Experiment number**	**Step 1**	**Step 2**		**Step 3***
				EPSPS dsRNA relative concentration	**dsRNA delivery vehicle**	
R28	87	8	1% Silwet L-77	10X	2% ammonium sulfate	4x WeatherMAX (72 h)
		9	1% Silwet L-77	Buffer only (control)	2% ammonium sulfate	4x WeatherMAX (72 h)

*glyphosate (as the commercial formulation "Roundup® WeatherMAX® brand herbicide", which contains 660 g/L glyphosate K+ salt in a carrier including the MON56151 tallowamine surfactant blend of tallowamine (16-18C) and cocoamine (12-14C) in the ratio of 55:45) is listed at the amount used (where 1X = 840 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide, 4X = 3360 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide) and hours after application of dsRNA

Example 14

130)This example illustrates methods and topically applied compositions for inducing systemic silencing including the use of agents for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides.

131)Two small RNAs identified through small RNA sequencing were found to be abundant in and unique to Palmer amaranth plants that had been treated with four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules as described in **Example 1**. These two small RNAs were respectively mapped to nucleotide positions 743 – 764 and 566 – 585 of the full-length EPSPS having the sequence shown in **Figure 20** (**SEQ ID NO:40**). Two 25 nucleotide long oligonucleotide-size "short" dsRNA molecules were designed with an anti-sense strand that is capable of hybridizing to the mRNA transcribed from the Palmer amaranth EPSPS gene at nucleotide positions 743 – 767 ("short dsRNA-5") and 564 – 588 ("short dsRNA-6"), as indicated by the italicized underlined nucleotides in **SEQ ID NO:40** shown in **Figure 20**, which also shows the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules (underlined, non-italicized text) and the three "long" double-stranded RNA polynucleotides (bolded text as described in **Example 1**.

132)Application of a mixture of the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules (described in **Example 1**) followed by application of glyphosate replicating the treatment procedure described in **Example 1** resulted in 4 out of 4 Palmer amaranth plants with 16 copies of EPSPS being killed. Using the same treatment procedure but applying short dsRNA-5 and short dsRNA-6 together resulted in 0 out of 4 Palmer amaranth plants being killed. Adding either or both short dsRNA-5 and short dsRNA-6 to the mixture of the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules (described in **Example 1**) resulted in 4 out of 4 Palmer amaranth plants being killed, *i. e.*, no antagonistic effect of short dsRNA-5 and short dsRNA-6 was observed.

Example 15

133)This example illustrates methods and topically applied compositions for inducing systemic silencing including the use of agents for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides. More specifically, this example describes use of salicylic acid and polynucleotides.

134)Salicylic acid (SA) induces virus resistance in tobacco; see, *e. g.*, Chivasa *et al.* (1997) *Plant Cell,* 19:547 – 557. Glyphosate-resistant Palmer amaranth plants having 49 or

63 copies EPSPS were pretreated with 15 millimolar SA. A solution of the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules (described in **Example 1**) was applied by hand at 1, 5, or 24 hours after treatment with SA, followed 72 hours later by spraying with glyphosate (1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide). No improvement of the effects of the dsRNAs and glyphosate activity (estimated by observing plant growth measured as plant height) was observed for any of the SA treatments at 7 days after glyphosate treatment.

Example 16

135)This example illustrates methods and topically applied compositions for inducing systemic silencing including the use of agents for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides. More specifically, this example describes variations in the order and timing of application of polynucleotides and surfactant solution.

136)These assays were conducted on Palmer amaranth plants with high copy numbers (56, 63, or 100 copies) of EPSPS, using a protocol including the following steps: (1) application of dsRNA (a solution of the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules described in **Example 1**) in a solution containing tallowamine surfactant and glycerol; (2) application of 1% Silwet L-77 silicone surfactant; and (3) application of glyphosate (1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide). Spacing of the timing of the application of the polynucleotides and application of Silwet was assessed, with the Silwet spray applied at 30 minutes, 1 hour, or 2 hours after application of the dsRNA solution. In this set of assays, the three different times of the Silwet solution application all produced similar results, *i. e.*, stunting of growth of most of the high copy plants that were treated with the dsRNA solution, as compared to control high copy plants which were treated with a control solution containing only tallowamine surfactant and glycerol.

Example 17

137)This example illustrates methods and topically applied compositions for inducing systemic silencing including the use of agents for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides. More specifically, this example describes application of polynucleotides of the invention by low-volume spray and the use of a silicone surfactant and ammonium sulfate.

138)A solution of dsRNA (a solution of the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules described in **Example 1**) in a solution containing 2% ammonium sulfate was applied by low-volume spray to Palmer amaranth having 16 copies of EPSPS, followed by spraying with glyphosate (1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide), resulting in the Palmer amaranth plants being killed.

139) Six Palmer amaranth plants per treatment were treated with a three-step procedure using low-volume spray: (1) spraying 1% Silwet L-77; (2) spraying 2 milliliters of a dsRNA solution containing equal amounts of the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules described in **Example 1** at one of 3 doses (1X or 0.8 nanomoles per plant, 2X or 1.6 nanomoles per plant, or 4X or 3.2 nanomoles per plant); and (3) spraying glyphosate (1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide) at a rate of 159 liters/acre. Nine days after the glyphosate spray, all six plants sprayed with 4X (3.2 nanomoles per plant) dsRNA were killed, and the plants sprayed with 2X (1.6 nanomoles per plant) dsRNA or 1X (0.8 nanomoles per plant) dsRNA were stunted (**Figure 21A**).

140) Several assays were carried out on glyphosate-resistant Palmer amaranth grown from field-collected seeds. Plants were treated with various protocols described below, with some plants being treated topically with a dsRNA solution and control plants being treated with the buffer (dsRNA vehicle); application was by low-volume spray. Unless otherwise noted, the dsRNA solution contained equal amounts of the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules described in **Example 1** in buffer at a "4X" dose (3.2 nanomoles per plant); the buffer consisted of 10 millimolar sodium phosphate and 0.01 % (v/v) Silwet L-77 organosilicone surfactant in diethylpyrocarbonate (DEPC) water (Omega Bio-Tek) and adjusted to pH 6.8; and herbicide was a glyphosate herbicide applied at 840 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre. Results are provided in **Table 7**.

141) Assays 1 and 2: These assays were carried out on glyphosate-resistant Palmer amaranth grown from seeds obtained from a soil sample from a farm location with known glyphosate-resistant Palmer amaranth stands. For assay 1, ten plants per treatment were treated as follows: (1) spraying 1% Silwet L-77; (2) spraying 2 milliliters of the dsRNA solution; and (3) spraying glyphosate. For assay 2, eighteen plants per treatment were treated using the same procedure as in assay 1.

142) Assay 3: This assay compared treatments applied at different developmental stages and used seedlings grown from Palmer amaranth seeds from a Macon County, GA site

and selected for glyphosate resistance. The buffer included 2% ammonium sulfate. Twelve small (3-leaf stage) or twelve large (5-leaf stage) seedlings per treatment were treated as follows: (1) spraying 1% Silwet L-77; (2) spraying 2 milliliters of the dsRNA solution; and (3) spraying glyphosate. This treatment provided better control (killed more plants) on small seedlings as compared to the larger seedlings. The dsRNA treatment killed or stunted more glyphosate-resistant plants than treatment with buffer and herbicide achieved, although at 16 days after treatment not all dsRNA-treated plants were killed.

143) Assays 4 and 5: These assays used Palmer amaranth plants grown from seeds in soil from a Pemiscot, MO farm. The buffer included 2% ammonium sulfate. Eleven small (3-leaf stage) seedlings per treatment were treated as follows: (1) spraying 1% Silwet L-77; (2) spraying 2 milliliters of the dsRNA solution; and (3) spraying glyphosate. For assay 5, twelve plants per treatment were treated using the same procedure as in assay 4.

144) Assay 6: This assay used Palmer amaranth plants grown from seeds in soil from the "Ivy2" farm. The buffer included 2% ammonium sulfate. Eighteen small (3-leaf stage) seedlings per treatment were treated as follows: (1) spraying 1% Silwet L-77; (2) applying 2 milliliters of the dsRNA solution, either by hand or by spraying; and (3) spraying glyphosate. In this assay the method of application (hand drop or spraying) provided similar results.

145) Assay 7: This assay used 3- to 4-leaf stage Palmer amaranth seedlings grown from F3 seeds selected for glyphosate resistance and more resistant to glyphosate than plants in assays 1 - 6. The buffer included 2% ammonium sulfate. Eighteen plants per treatment were treated as follows: (1) spraying 1% Silwet L-77; (2) spraying 2 milliliters of the dsRNA solution; and (3) spraying glyphosate.

Table 7

Assay Number	killed plants/total plants		Comments
	dsRNA-treated	control	
1	2/10	0/10	dsRNA-treated survivors stunted compared to controls (**Figure 21B**)
2	7/18	4/18	dsRNA-treated survivors stunted at 8 and 30 days after treatment, compared to controls
3 (large seedlings)	5/12	3/12	dsRNA/ammonium sulfate-treated survivors more stunted after treatment, compared to controls
3 (small seedlings)	9/12	6/12	

4	7/11	2/11	dsRNA/ammonium sulfate-treated survivors more stunted after treatment, compared to controls
5	8/12	3/12	
6 (hand drop)	14/18	--	
6 (spray)	13/18	9/18	
7	8/18	2/18	

Example 18

146) This example illustrates methods and topically applied compositions for inducing systemic silencing including the use of agents for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides.

147) In these assays, the dsRNA solution contained equal amounts of the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules described in **Example 1** at a "10X" dose (8 nanomoles per plant) in a solution containing either 0.2% tallowamine surfactant and 2% ammonium sulfate (identified in **Figure 22** as "tallowamine/AMS"), or one of the following transfection reagents: (a) a polyamine (JetPRIME™, Polyplus-transfection SA, Illkirch, France), (b) a magnetic nanoparticle (SilenceMag, OZ Biosciences, Marseille, France), (c) a peptide (N-TER™ Nanoparticle, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), (d) a lipid (siPORT™ *NeoFX*™, Ambion, Foster City, CA), or (e) a cationic lipid/polymer (TransIT®, Mirus Bio, Madison, WI). Plants were treated as follows: (1) hand-applying dsRNA solution; (2) spraying 1% Silwet L-77; and (3) spraying with glyphosate applied at 840 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre. This protocol when used with dsRNA in the tallowamine surfactant/ammonium sulfate solution kills glyphosate-resistant Palmer amaranth having 35 copies EPSPS. Results are depicted in **Figure 22**. Stunting or death of the plants was observed for plants treated with dsRNA in solutions containing polyamine (JetPRIME™), peptide (N-TER™ Nanoparticle), cationic lipid/polymer (TransIT®), or tallowamine surfactant/ammonium sulfate.

Example 19

148) This example illustrates methods using compositions including topically applied polynucleotides for inducing systemic silencing in a plant. More specifically, this example describes use of different types of polynucleotides for inducing systemic silencing.

149) Sense single-stranded DNAs (ssDNAs) and anti-sense single-stranded RNAs (ssRNAs) corresponding to the Palmer amaranth EPSPS gene at positions 14-38, positions 153-177, 345-369, and 1105-1129 (indicated by underlined nucleotides in **Figure 1**) were

purchased from Integrated DNA Technologies. The sense ssDNAs and anti-sense ssRNAs were annealed by heating equal moles of mixed ssDNAs and ssRNAs at 95 degrees Celsius for 5 minutes and slowly cooled over 1.5 – 2 hours to room temperature to yield the DNA/RNA hybrids.

150)16-copy glyphosate-resistant Palmer amaranth plants were used in the assays which used this procedure: (1) spraying 1% Silwet L-77; (2) hand-applying on four mature leaves of each plant a total of 0.8 nanomoles of either the Palmer EPSPS dsRNAs (as described in **Example 1**) or of the Palmer EPSPS DNA/RNA hybrids; and (3) spraying with glyphosate applied at 840 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre.

151) Results are depicted in **Figure 23**. Seven days after the herbicide spraying, 4 out of 6 dsRNA-treated plants were dead and the remaining 2 were dying, whereas plants sprayed with the DNA/RNA hybrid were stunted in growth (glyphosate injury) compared to the control.

Example 20

152) This example illustrates methods using compositions including topically applied polynucleotides for inducing systemic silencing in a plant. More specifically, this example describes use of different types of polynucleotides for inducing systemic silencing.

153) Six glyphosate-resistant Palmer amaranth plants having 16 copies of EPSPS were used per treatment in this assay. A 0.8 nanomoles ("1X") per plant treatment of dsRNA, a ten-fold greater amount (8 nanomoles per plant treatment, "10X") of ssDNA polynucleotides (described in **Example 19**) and buffer alone as a control, were applied to separate plants by hand in buffer containing 2% ammonium sulfate, followed 48 hours later by spraying with glyphosate applied at 840 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre. **Figure 24** depicts the results. Both polynucleotide treatments gave better control of the Palmer amaranth compared to plants treated only with buffer and herbicide. Of the plants treated with the 10X ssDNA treatment, two of six were killed, and the remaining four were stunted in growth by 30%. Of the plants treated with the 1X dsRNA treatment, all six plants were killed by 8 days after WM spray or 10-day after dsRNA treatment.

Example 21

154)This example illustrates methods using compositions including topically applied polynucleotides for inducing systemic silencing in a plant. More specifically, this example describes selection of a polynucleotide sequence for inducing systemic silencing in a plant.

155)Twelve dsRNAs of approximately 250 bp each and having one strand of the dsRNA corresponding to the EPSPS tiled DNA sequences of **SEQ ID NOS:41-52** (**Table 8**) were designed to cover in a tiling fashion the full coding sequence and part of the 5' and 3' untranslated regions of the Palmer amaranth EPSPS gene, as depicted in **Figure 25A**.

Table 8

Tiling segment number (see Figure 25A)	Sequence	SEQ ID NO.
1	CGCCAGGGCTGCAGACGCGTTACGTANTCGGATCCAGAATTCGTGATTAAC GTCACAGCATGTCATGTAAAACACGCGAATCAGACCGGTCCACTCTTGTTT TAATTTGAGACAATTTTGATGTTGAGTCATCCCACACCAACCCCAAAAAAT TCAACAACAAACTCTTATAATGATTCCCTCTACTCTACTAGAGTCTACACC AACCCACTTTCTCTTTGCCCACCAAAACTTTGGTTTGGTAAGAACT	41
2	CACCAACCCACTTTCTCTTTGCCCACCAAAACTTTGGTTTGGTAAGAACTA AGCCCTCTTCTTTCCCTTCTCTCTCTTAAAAGCCTAAAATCCACCTAACTTT TTCAGCCAACAAACAACGCCAAATTCAGAGGAAGAATAATGATGGCTCAA GCTACTACCATCAACAATGGTGTCCATACTGGTCAATTGCACCATACTTTA CCCAAAACCCAGTTACCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATT	42
3	CCATACTTTACCCAAAACCCAGTTACCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATTTT GGATCAAACTTGAGAATTTCTCCAAAGTTCATGTCTTTAACCAATAAAAGA GTTGGTGGGCAATCATCAATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTTGCTGCT GCAGCTGAGAAACCTTCATCTGTCCCAGAAATTGTGTTACAACCCATCAAA GAGATCTCTGGTACTGTTCAATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCC	43
4	TCAAAGAGATCTCTGGTACTGTTCAATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCCA ATCGAATCCTTCTTTTAGCTGCTTTGTCTGAGGGCACAACAGTGGTCGACA ACTTGCTGTATAGTGATGATATTCTTTATATGTTGGACGCTCTCAGAACTCT TGGTTTAAAAGTGGAGGATGATAGTACAGCCAAAAGGGCAGTCGTAGAGG GTTGTGGTGGTCTGTTTCCTGTTGGTAAAGATGGAAAGGAAGAGAT	44
5	GAGGGTTGTGGTGGTCTGTTTCCTGTTGGTAAAGATGGAAAGGAAGAGATT CAACTTTTCCTTGGTAATGCAGGAACAGCGATGCGCCCATTGACAGCTGCG GTTGCCGTTGCTGGAGGAAATTCAAGTTATGTGCTTGATGGAGTACCAAGA ATGAGGGAGCGCCCCATTGGGGATCTGGTAGCAGGTCTAAAGCAACTTGG TTCAGATGTAGATTGTTTTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGTTCGGG	45
6	TGGTTCAGATGTAGATTGTTTTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGTTCGGGTC AATGCTAAAGGAGGCCTTCCAGGGGGCAAGGTCAAGCTCTCTGGATCGGT TAGTAGCCAATATTTAACTGCACTTCTCATGGCTACTCCTTTGGGTCTTGGA GACGTGGAGATTGAGATAGTTGATAAATTGATTTCTGTACCGTATGTTGAA ATGACAATAAAGTTGATGGAACGCTTTGGAGTATCCGTAGAACAT	46
7	TTGAAATGACAATAAAGTTGATGGAACGCTTTGGAGTATCCGTAGAACAT AGTGATAGTTGGGACAGGTTCTACATTCGAGGTGGTCAGAAATACAAATCT CCTGGAAAGGCATATGTTGAGGGTGATGCTTCAAGTGCTAGCTACTTCCTA GCCGGAGCCGCCGTCACTGGTGGGACTGTCACTGTCAAGGGTTGTGGAAC AAGCAGTTTACAGGGTGATGTAAAATTTGCCGAAGTTCTTGAGAAGAT	47

8	ACAAGCAGTTTACAGGGTGATGTAAAATTTGCCGAAGTTCTTGAGAAGAT GGGTTGCAAGGTCACCTGGACAGAGAATAGTGTAACTGTTACTGGACCAC CCAGGGATTCATCTGGAAAGAAACATCTGCGTGCTATCGACGTCAACATG AACAAAATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGCCTTGTATGCA GATGGGCCCACCGCCATCAGAGATGTGGCTAGCTGGAGAGTGAAGGAAA	**48**
9	AGATGGGCCCACCGCCATCAGAGATGTGGCTAGCTGGAGAGTGAAGGAAA CCGAACGGATGATTGCCATTTGCACAGAACTGAGAAAGCTTGGGGCAACA GTTGAGGAAGGATCTGATTACTGTGTGATCACTCCGCCTGAAAAGCTAAAC CCCACCGCCATTGAAACTTATGACGATCACCGAATGGCCATGGCATTCTCT CTTGCTGCCTGTGCAGATGTTCCCGTCACTATCCTTGATCCGGGATGC	**49**
10	CTCTTGCTGCCTGTGCAGATGTTCCCGTCACTATCCTTGATCCGGGATGCAC CCGTAAAACCTTCCCGGACTACTTTGATGTTTTAGAAAAGTTCGCCAAGCA TTGATGAGTAGCTATATACGAGATCCTTAAATTGTACGCCGAAGGTTTTGA TTTGAGTCTAATAGTAGATAAAAGGCTATAAATAAACTGGCTTTCTGCTTG AGTAATTATGAAATTCTTTGTATTATGTTTGTGAGATTTGAAGTAGCTTATA	**50**
11	TAATTATGAAATTCTTTGTATTATGTTTGTGAGATTTGAAGTAGCTTATAAA TTACAATGTACTAAAGTCTAGAAATAAGTTATGTATCTTTTAAATCAATGA GAAATGCATACTTGAAAGGCTTGACCTTGTATTTGTGACCTAAAGAGTACT AACTTTGGAGTTTCCAACTCATTTGTTTATCTCATTTTTTTTTAATTTTTGAT TTAAATTGTTTATTTTTATGAGTAATCATGTATCTTTCTTATTCTAACCAAA TGTAATACTCCTTC	**51**
12	TATGAGTAATCATGTATCTTTCTTATTCTAACCAAATGTAATACTCCTTCCA ACTCTCTTTAAACGTCCACACTCTGGGCACAGAGTGTAATAGTGTGGTGGT TGGAGTCTTTTAAGTGATTATAATAATTGTAAATGTGGTAGTTAGAATATT TTAAGTAATGTAGGTGGGGTATTATGGTCTTGTTGAACATAGGATATTTAG GTAAAAAATCTATGCAAAAAAAGGAAAGTAAGCAAATAAAGCGAATTGA CCTGAAAAGAAAAGTGGACATGTATAGTGAGTTGGAGGAAGTATTTT	**52**

156)The four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules as described in **Example 1** and **Figure 1** are located in the tiling segments 2, 3, 4, and 8 respectively, and are shown as light grey bars within those segments. The polynucleotides were synthesized *in vitro* transcription using a pBR322 vector with the EPSPS polynucleotides inserted at EcoRI and BamHI cloning sites; plasmid DNA was isolated with Qiagen Maxi prep kits and digested with EcoRI and BamHI restriction enzymes. The digested DNA solution was used in the treatment of the plants without further purification.

157)Glyphosate-resistant Palmer amaranth plants having 16 copies of EPSPS were treated as follows: spraying with 1% Silwet L-77; (2) hand application of a dsRNA solution (containing polynucleotides selected from the twelve tiling segments or the four "short" dsRNA molecules described in **Example 1** at the rate of 0.01 nanomole DNA/plant) or buffer as a control; and (3) 48 hours later spraying with glyphosate applied at 840 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre. Above-ground height of the treated plants was observed 11 days after herbicide treatment; plants that were dead or dying were assigned a height of zero. Results are depicted in **Figures 25B** and **25C**. The dsRNA polynucleotides combinations showing the greatest efficacy in this assay

included the four "short" dsRNA molecules described in **Example 1**, the combination of tiling segments 2, 5, 8, and 11, and the combination of tiling segments 7, 8, and 9.

Example 22

158) This example illustrates methods using compositions including topically applied polynucleotides for inducing systemic silencing in a plant. More specifically, this example describes topical application of polynucleotides following application of herbicide to a plant.

159) In one assay, glyphosate-resistant Palmer amaranth plants having 16 copies of EPSPS were sprayed with glyphosate applied at 840 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre. Two or 24 hours after herbicide application, the plants were treated by spraying with 1% Silwet L-77. Fifteen to 20 minutes after Silwet treatment, the plants were treated by hand application of either 0.8 nanomoles ("1X") per plant of the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules as described in **Example 1** in buffer containing 2% ammonium sulfate or buffer containing 2% ammonium sulfate. In this assay, untreated ("UT") control plants were treated only with the 1% Silwet L-77 spray but not with herbicide or dsRNA. Results are depicted in **Figure 26**. In this assay, application of 1% Silwet resulted in improved glyphosate activity by 60% when applied 2 hours after herbicide spraying and by 20% when applied 24 hours after herbicide spraying. In this assay, application of 1% Silwet followed by EPSPS dsRNA resulted in improved glyphosate activity by at least 80% when applied 2 hours after herbicide spraying and by 20% when applied 24 hours after herbicide spraying.

160) In another assay, Palmer amaranth plants grown from seeds in soil from a farm site in Macon, GA were sprayed with glyphosate applied at 840 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre. Three days after herbicide treatment, 9 of 40 plants were killed and 3 were severely stunted. Surviving plants were sprayed with 1% Silwet L-77, followed by topical application by hand of either 8 nanomoles ("10X") per plant of the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules as described in **Example 1** or buffer as a control. Three days later, 3 more plants in the dsRNA-treated group were dead and 2 more plants in the buffer-treated group were dead. At this point (6 days after the original herbicide treatment and 3 days after the Silwet/dsRNA or buffer treatment), half of the surviving plants in each group were sprayed with a second application of glyphosate (applied at the same dose as in the first application). Two weeks after this second herbicide treatment, the remaining dsRNA-treated plants showed 80% injury and the remaining buffer-treated plants showed 40% injury.

Example 23

161) This example illustrates methods using compositions including topically applied polynucleotides for inducing systemic silencing in a plant. More specifically, this example describes a single-step topical application of a single composition including polynucleotides, surfactant, and herbicide for controlling herbicide-resistant weeds.

162) This assay was carried out on a field population of glyphosate-resistant Palmer amaranth plants that were known to have very high copy numbers of EPSPS (plants from this study site have been reported to have from 5 to more than 160 copies of EPSPS by Gaines *et al.* (2010) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107:1029-1034). The polynucleotides used in this assay were an equimolar mixture of the four oligonucleotide-size "short" EPSPS dsRNA molecules as described in **Example 1**.

163) Four to six inch tall plants in a treatment area of 1 foot by 5 feet were sprayed in a single treatment with either 264 micrograms ("100X") or 52.8 micrograms ("20X") of the EPSPS dsRNAs in a solution that also contained 1% Silwet L-77 surfactant, 2% ammonium sulfate, and glyphosate (applied at 1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre). For comparison, other plants in treatment areas of 1 foot by 5 feet were sprayed with glyphosate (in a solution that also contained 1% Silwet L-77 surfactant and 2% ammonium sulfate) applied at the same rate.

164) Results are depicted in **Figure 27**. Treating the plants with only glyphosate (applied at 1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre) in a solution that also contained Silwet L-77 and ammonium sulfate resulted in about 70% control (death of plants). The one-step treatment using a composition containing the 20X EPSPS dsRNA polynucleotides, surfactant, ammonium sulfate, and herbicide resulted in about 80 – 85% control of the glyphosate-resistant Palmer amaranth, which is the approximate control rate obtained by spraying with glyphosate applied at 6720 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre (*i. e.*, at 8 times the standard application rate of about 840 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre). The one-step treatment using a composition containing the 100X EPSPS dsRNA polynucleotides, surfactant, ammonium sulfate, and herbicide resulted in about 90 – 95% control of the glyphosate-resistant Palmer amaranth, which is the approximate control rate obtained by spraying with glyphosate applied at 13440 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre (*i. e.*, at 16 times the standard

application rate of about 840 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide at a rate of 159 liters/acre).

Example 24

165) This example illustrates a method for inducing systemic regulation of a target gene in a vegetable plant by topical application to the vegetable of a polynucleotide molecule including a segment with a nucleotide sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target gene or RNA transcribed from the target gene, whereby the molecule permeates the interior of the vegetable plant and induces systemic regulation of the target gene. In this example, growing vegetable plants were treated with a topically applied composition for inducing systemic silencing of a target gene in a vegetable or fruit crop plant including (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides and (b) polynucleotides including at least one polynucleotide strand including at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides of the target gene in either anti-sense or sense orientation. More specifically, this example demonstrates the use of topically applied polynucleotides to induce systemic silencing of a phytoene desaturase (PDS) gene in a vegetable crop plant, *i. e.*, lettuce (*Lactuca sativa*).

166) Lettuce PDS has the sequence

ATGTCTCTGTTTGGAAATGTTTCTGCCATTAACTCAAGTGGAAAGTGTATAGTAATGAATCTTTCAA
GCACACAAATCACTTCAAGAGATTGTTTCAAGATTACCTCAGGGCAAAAAGATGTTTTGTCATTTG
GATGCTGTGATGCTATGGGTAACAGATTGCAATTCCCAAGTGCTCGTTCTTTTACACCAAGATCAA
AGAAGAATGTCTCCCCTCTAAAGGTAGTTTGTGTTGATTATCCAAGACCAGATCTTGATAACACAT
CTAATTTCTTGGAAGCTGCTCACTTGTCTTCAACCTTCAGAACTTCCCCACGCCCATCTAAGCCATT
GAAGATTGTAATTGCTGGTGCAGGTTTAGCTGGTTTATCAACTGCTAAGTATTTAGCTGATGCAGG
TCACAAGCCAATTTTACTAGAAGCAAGAGATGTTCTTGGTGGAAAGGTGGCAGCTTGGAAAGATG
ATGATGGAGATTGGTATGAGACAGGTTTACACATATTCTTTGGAGCTTACCCAAATGTACAAAATT
TATTTGGAGAGCTAGGAATTAATGATAGATTACAGTGGAAGGAGCATTCTATGATATTTGCAATGC
CAAATAAGCCTGGAGAATTTAGTAGGTTTGACTTCCCAGATGTTTTACCTGCACCATTGAATGGAA
TTTTTGCTATATTGAGGAACAATGAAATGCTGACGTGGCCTGAGAAAGTGAAGTTTGCAATTGGGC
TGTTGCCTGCAATGTTAGGTGGACAGGCTTATGTTGAGGCCCAAGATGGGCTTAGTGTTCAGGACT
GGATGAGAAAGCAAGGTATACCTGATCGAGTTACTACTGAAGTGTTTATTGCAATGTCAAAAGCA
TTAAACTTTATAAATCCAGATGAACTTTCAATGCAATGTATTCTCATTGCTCTAAACCGTTTTCTTC
AGGAAAAGCATGGTTCCAAGATGGCATTTTTAGATGGGAGCCCACCAGAAAGACTTTGCAAGCCA
ATTGTTGACCACATCGAGTCACTCGGTGGCCAAGTCAGAGTCAACTCACGAATACAAAAAATTGA
GTTAAACAAAGACGGAACTGTCCGGAACTTTCTATTGAGTGATGGGAATGTTCTAGAAGCTGATGC

TTATGTTTTCGCTACCCCTGTTGACATTCTCAAGCTTCTTTTACCCGAAGAATGGAAACCAATTCCA
TATTTCAAAAAATTAGAGAAGTTAGTCGGTGTTCCTGTTATAAACGTTCATATATGGTTTGACAGA
AAGCTGAAAAACACATATGATCACTTACTTTTCAGTAGGTCACCTCTGCTGAGTGTGTATGCTGAC
ATGTCAGTGACATGTAAGGAATATTATGATCCGAATAAGTCAATGTTGGAGTTGGTTCTTGCTCCA
GCTGAGGAATGGATTTCAAGAAGTGACACTGATATTATTGATGCAACAATGAGTGAACTTTCAAG
GCTTTTTCCTGATGAAATTGCAGCTGATCAAAGTAAAGCAAAAATCTTGAAATATAAAGTTGTTAA
AACACCAAGGTCTGTTTATAAAACTGTTCCAGATTGTGAACCATGTCGACCCCTACAAAGATCTCC
AATTCAAGGATTTTATTTATCTGGTGATTATACTAAACAAAAGTATTTGGCTTCAATGGGGGGTGC
TGTTTTATCTGGAAAAATTTGTGCACAAGCTATTTTACAAGATTATGAGATGCTTGCTACA (**SEQ ID NO:53**). Polynucleotide single-stranded DNAs of 21 – 45 nucleotides in length with the following sequences were synthesized: taatacgactcactatagggtttggagcttacccaaATGtac ("HL286", sense orientation, **SEQ ID NO:54**), taatacgactcactatagggaggccacgtcagcatttcattgttc ("HL287", anti-sense orientation, **SEQ ID NO:55**), ccattcaATGgtgcaggtaaaac ("HL288", anti-sense orientation, **SEQ ID NO:56**), catagaATGctccttccactg ("HL289", anti-sense orientation, **SEQ ID NO:57**), and caaataaattttgtacatttgggtaagctccaa ("HL290", anti-sense orientation, **SEQ ID NO:58**). An ssDNA solution was made with an equal mixture of all five polynucleotides in 0.01% Silwet L-77 in 5 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8.

167) Lettuce variety LS49 "Green Tower" was used in the assays. Two fully expanded leaves of each plant were dipped into a freshly made 0.1% Silwet L-77 in double-distilled water solution for a few seconds. The leaves were allowed to dry for 15-30 minutes. Each plant was then treated by applying 20 microliters ssDNA solution to the top surface of two Silwet-treated leaves (total 40 microliters per plant). **Table 9** lists the assay conditions used and the observed bleaching of plants topically treated with ssDNA polynucleotides. **Figure 28** depicts the progression of bleaching and death of the lettuce plants treated with 1 nanomole ssDNA per plant at (from top to bottom) 37, 46, and 60 days after treatment.

Table 9

Developmental stage	Amount of each ssDNA applied (nanomoles/plant)	Earliest observation of bleaching
4 weeks post-germination, plants have 2 fully expanded leaves	1	3 weeks post-treatment
5 weeks post-germination, plants have 4 fully expanded leaves	4	4 days post-treatment

168)The assays were repeated with 2 or 4 nanomoles ssDNA applied per plant. **Figure 29A** depicts the systemic silencing evidenced by bleaching observed at 4 or 12 days after topical treatment with the polynucleotides.

169)The assays were repeated using each individual anti-sense ssDNAs ("HL287", **SEQ ID NO:55**; "HL288", **SEQ ID NO:56**; "HL289", **SEQ ID NO:57**; and "HL290", **SEQ ID NO:58**) with 8 nanomoles polynucleotide applied per plant; positive control plants were treated with a mixture of the four individual anti-sense ssDNAs at 2 nanomoles each (for a total of 8 nanomoles polynucleotide applied per plant) and negative control plants were treated only with buffer. **Figure 29B** depicts the systemic silencing evidenced by bleaching observed at 4 after topical treatment with the anti-sense ssDNAs.

Example 25

170)This example illustrates an aspect of the invention. In this example, growing plants were treated with a topically applied composition for inducing systemic silencing of a target gene in a plant including (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotides and (b) polynucleotides including at least one polynucleotide strand including at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides of the target gene in either anti-sense or sense orientation. More specifically, this example demonstrates the use of topically applied polynucleotides to induce systemic silencing of a phytoene desaturase (PDS) gene in a vegetable crop, *i. e.*, tomato (*Solanum lycopersicum*).

171)Tomato PDS has the sequence

GGGTTTATCTCGCAAGTGTGGCTATGGTGGGACGTGTCAAATTTTGGATTGTAGCCAAACATGAGA
TTTGATTTAAAGGGAATTGGCCAAATCACCGAAAGCAGGCATCTTCATCATAAATTAGTTTGTTTA
TTTATACAGAATTATACGCTTTTACTAGTTATAGCATTCGGTATCTTTTTCTGGGTAACTGCCAAAC
CACCACAAATTTCAAGTTTCCATTTAACTCTTCAACTTCAACCCAACCAAATTTATTTGCTTAATTG
TGCAGAACCACTCCCTATATCTTCTAGGTGCTTTCATTCGTTCCGAGTAAAATGCCTCAAATTGGAC
TTGTTTCTGCTGTTAACTTGAGAGTCCAAGGTAGTTCAGCTTATCTTTGGAGCTCGAGGTCGTCTTC
TTTGGGAACTGAAAGTCGAGATGGTTGCTTGCAAAGGAATTCGTTATGTTTTGCTGGTAGCGAATC
AATGGGTCATAAGTTAAAGATTCGTACTCCCCATGCCACGACCAGAAGATTGGTTAAGGACTTGG
GGCCTTTAAAGGTCGTATGCATTGATTATCCAAGACCAGAGCTGGACAATACAGTTAACTATTTGG
AGGCTGCATTTTTATCATCAACGTTCCGTGCTTCTCCGCGCCCAACTAAACCATTGGAGATTGTTAT
TGCTGGTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATTTGGCAGATGCTGGTCACAAACCGAT
ACTGCTGGAGGCAAGGGATGTTCTAGGTGGAAAGGTAGCTGCATGGAAAGATGATGATGGAGATT
GGTACGAGACTGGTTTGCATATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATATTCAGAACCTGTTTGGAGAAT
TAGGGATTAACGATCGATTGCAATGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCAATGCCAAGCAAGCCA
GGAGAATTCAGCCGCTTTGATTTCTCCGAAGCTTTACCCGCTCCTTTAAATGGAATTTTAGCCATCT

TAAAGAATAACGAAATGCTTACATGGCCAGAGAAAGTCAAATTTGCAATTGGACTCTTGCCAGCA
ATGCTTGGAGGGCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGATGGGATAAGTGTTAAGGACTGGATGAGAAA
GCAAGGTGTGCCGGACAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCTATGTCAAAGGCACTCAACTTTAT
AAACCCTGACGAACTTTCAATGCAGTGCATTTTGATCGCATTGAACAGGTTTCTTCAGGAGAAACA
TGGTTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAATCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTTGAACA
CATTGAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTGAACTCACGAATAAAAAAGATTGAGCTGAATGAGG
ATGGAAGTGTCAAGAGTTTTATACTGAGTGACGGTAGTGCAATCGAGGGAGATGCTTTTGTGTTTG
CCGCTCCAGTGGATATTTTCAAGCTTCTATTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATTCCATATTTCCAAA
AGTTGGAGAAGTTAGTCGGAGTACCTGTGATAAATGTACATATATGGTTTGACAGAAAACTGAAG
AACACATATGATCATTTGCTCTTCAGCAGAAGCTCACTGCTCAGTGTGTATGCTGACATGTCTGTTA
CATGTAAGGAATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTTTTTGCACCTGCAGAAGAGT
GGATATCTCGCAGCGACTCAGAAATTATTGATGCAACGATGAAGGAACTAGCAACGCTTTTTCCTG
ATGAAATTTCAGCAGATCAAAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTACCATGTTGTCAAAACTCCGAGG
TCTGTTTATAAAACTGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCTTTACAAAGATCCCCAATAGAGGGG
TTTTATTTAGCCGGTGACTACACGAAACAGAAATACTTGGCTTCAATGGAAGGCGCTGTCTTATCA
GGAAAGCTTTGTGCTCAAGCTATTGTACAGGATTATGAGTTACTTGTTGGACGTAGCCAAAAGAAG
TTGTCGGAAGCAAGCGTAGTTTAGCTTTGTGGTTATTATTTAGCTTCTGTACACTAAATTTATGATG
CAAGAAGCGTTGTACACAACATATAGAAGAAGAGTGCGAGGTGAAGCAAGTAGGAGAAATGTTA
GGAAAGCTCCTATACAAAAGGATGGCATGTTGAAGATTAGCATCTTTTTAATCCCAAGTTTAAATA
TAAAGCATATTTTATGTACCACTTTCTTTATCTGGGGTTTGTAATCCCTTTATATCTTTATGCAATCT
TTACGTTAGTTAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACTCGA (**SEQ ID NO:59**).

172)A 201 nucleotide dsRNA polynucleotide with an anti-sense strand capable of hybridizing to the RNA encoded by the sequence
TCGCAGCGACTCAGAAATTATTGATGCAACGATGAAGGAACTAGCAACGCTTTTTCCTGATGAAAT
TTCAGCAGATCAAAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTACCATGTTGTCAAAACTCCGAGGTCTGTTTA
TAAAACTGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCTTTACAAAGATCCCCAATAGAGGGGTTTTATTT
AG (**SEQ ID NO:60**) which correspond to the nucleotides at positions 1724 – 1923 of the mRNA transcribed from the tomato PDS gene sequence (**SEQ ID NO:59**) was synthesized by RT PCR using oligonucleotide primers with the sequences
TAATACGACTCACTATAGGGTCGCAGCGACTCAGAAATTATTG (**SEQ ID NO:61**, sense primer) and TAATACGACTCACTATAGGGGTAAAGGCCGACAGGGTTCACAACC (**SEQ ID NO:62**, anti-sense primer). A 2.5 micromolar dsRNA solution was made with the 201 nucleotide dsRNA polynucleotide (**SEQ ID NO:60**) in 0.01% Silwet L-77 in 5 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8.

173) Three-week old tomato seedlings were treated as follows. Two fully expanded leaves were dipped into a freshly made 0.1% Silwet L-77 solution in double-distilled water for a few seconds. The leaves were allowed to dry for 30 minutes to 1 hour. Each plant was

then treated by applying 20 microliters dsRNA solution to the top surface of two Silwet-treated leaves (total 40 microliters per plant). Control plants were treated with buffer. The plants were kept in a growth chamber for observation. **Figure 30** depicts the systemic silencing of the target gene PDS as evidenced by bleaching of the dsRNA-treated plants 30 days after topical treatment. The dsRNA-treated plants were severely stunted, compared to control plants.

Example 26

174) This example illustrates an improvement to herbicidal compositions adapted for topical coating onto the exterior surface of a growing plant where the plant lethal agent includes polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to sequences of one or more plant genes or sequence of transcribed DNA from the plant genes. The polynucleotides effect systemic suppression of the plant gene in plant organs or tissues other than those that received the topical polynucleotide application. More specifically this example illustrates an herbicidal composition adapted for topical coating onto the exterior surface of a growing plant comprising surfactant and at least one plant lethal agent including combinations of polynucleotides having sequence targeting the 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) gene, a transcription initiation factor (TIF), and DNA-dependent ATPase (ddATPase) in Palmer amaranth.

175) The herbicidal composition includes at least one of the following 21-base-pair double-stranded RNA polynucleotides:

(1) nDsRNA1: sense strand CUACCAUCAACAAUGGUGUCC (**SEQ ID NO: 63**) and anti-sense strand GGACACCAUUGUUGAUGGUAG (**SEQ ID NO: 64**)

(2) nDsRNA3: sense strand GUCGACAACUUGCUGUAUAGU (**SEQ ID NO: 65**) and anti-sense strand ACUAUACAGCAAGUUGUCGAC (**SEQ ID NO: 66**)

(3) nDsRNA4: sense strand GGUCACCUGGACAGAGAAUAG (**SEQ ID NO: 67**) and anti-sense strand CUAUUCUCUGUCCAGGUGACC (**SEQ ID NO: 68**)

(4) nDsNA5: sense strand AAUGCCAGAUGUUGCUAUGAC (**SEQ ID NO: 69**) and anti-sense strand GUCAUAGCAACAUCUGGCAUU (**SEQ ID NO: 70**)

176)A mixture of multiple polynucleotides is advantageous for preventing selection of resistance in the treated plants. In an embodiment, the herbicidal composition includes a mixture of all four of the above dsRNA polynucleotides having **SEQ ID NOS: 63-70**. In another embodiment, the herbicidal composition includes single-stranded DNA polynucleotides with deoxyribonucleotide sequences corresponding to one or more of the dsRNA sequences **SEQ ID NOS: 63-70**. In another embodiment, the herbicidal composition includes RNA/DNA hybrids with nucleotide sequences corresponding to one or more of the dsRNA sequences **SEQ ID NOS: 63-70**. In another embodiment, the herbicidal composition includes dsRNA polynucleotides where the 2' hydroxyls are methylated for stability.

177) The herbicidal composition includes a surfactant such as Silwet L-77 (or other effective surfactants such as those provided in **Example 36**). Optionally, the herbicidal composition can include one or more additives such as a salt, chelating agent, or a humectant (such as those provided in **Example 35**) to improve herbicidal performance, *e. g.*, by enhancing transfer of the polynucleotide into the interior of the plant, enhancing efficacy of the polynucleotides, or potentiating the herbicidal activity of the non-polynucleotide herbicide.

178) Optionally the herbicidal composition includes polynucleotides designed to regulate multiple genes in the plant. In an embodiment, the herbicidal composition includes polynucleotides having sequence essentially identical or complementary to the sequence of a second gene or to the sequence of RNA transcribed from the second gene, wherein the regulation of the second gene provides a synergistic enhancement of the herbicidal activity of the composition.

179) In an embodiment, the herbicidal composition includes polynucleotides having sequence essentially identical or complementary to the sequence of the endogenous Palmer amaranth 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) gene or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous EPSPS gene as well as polynucleotides having sequence essentially identical or complementary to the sequence of the endogenous Palmer translation initiation factor (TIF) gene or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous TIF gene. Translation initiation factor (TIF) is a nuclear-encoded chloroplast protein that is essential for initiating protein synthesis and is expressed throughout a plant. *Arabidopsis thaliana* has an orthologue named AT1G17220.1 (described on the publicly available database The Arabidopsis Information Resource found online at www.arabidopsis.org/servlets/TairObject?type=locus&name=AT1G17220) and assigned GenBank accession number GI:186478573, which has been identified as a chloroplast

localized protein with similarity to bacterial translation initiation factor 2; see also Miura *et al.* (2007) *Plant Cell,* 19:1313–1328 for a description of this gene. TIF sequences were identified from Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*); one TIF gene was identified to have the sequence of **SEQ ID NO:71**. Examples of polynucleotides for suppression of this TIF gene in *Amaranthus palmeri* are listed in **Table 10**.

Table 10

Poly-nucleotide	Position in TIF sequence	Sequence	SEQ ID NO.
Palmer amaranth TIF	Entire sequence of **SEQ ID NO:71**	ATGGCAACAATGGCTTCCCTAGTGAGTTTGGGAAGCTCTGGAG CAACTTGCTCAGGGCAATTGGAGGTTTCCTTTTCATTGGTTAAG AAAATTACATTGCCTAGAAGAAATTGTAGTTGCAATTTTAGGCA ATTAGGAGGGGGGAGGAGATGGCGTTACGTTTCGGTGTGTAGA CTTTCTGTCACTACTGATTATGTTTCTGAGCAAGGAAATGCTGT TTCTCTTGAAAATGCATATAGTGAGAGTAAAGAAGAGGGTCTC ATCTTGAAGCCTTCTCCTAAGCCGGTTTTGAAATCCGGGTCTGA TGGAAATCGGAAATTTGGGGAGAGTTCGGTGGCGTTTTCGAGT AATGGGAAATTGGATAATGTAGAGGAGAGGAAGAAGGTTATTG ATTCATTGGATGAGGTATTAGAAAAGGCCGAGAGATTAGAAAC GGCGAACTTACAAGCAGATAATAGAAAGGATAGCACAAATGTA AATAAACCGTCTCCGAGTGTAAGTAGTTCAACCAATGGTAAAC CTGTAAATAATTTGAACAAAGGGAAGCCTAAAGCTGCGAAGAG CGTTTGGAGAAAGGGAAATCCAGTTTCTACTGTGCAAAAAGTA GTGCAAGAATCTCCGAAGATTGAAAAGGTTGAGAGAGTGGAAG CTCGAACGACCAGCCAATCGTCTGAAACGATAAGACCCCCAGT GCCACTACAGAGGCCTGAGATTAAGTTGCAGGCAAAGCCTTCT ACTGCTCCTCCACCCATGCCTAAGAAGCCGGTTTTGAAGGATGT GGGGATGTCCTCCAGAGCTGATGGGAAGGACCAGTCTGTGAAA TCTAAAGAGAGGAAGCCTATTCTAGTGGACAAATTTGCCACCA AGAAGGCATCAGTTGATCCGTCGATTGCTCAAGCAGTAATTGC CCCACCAAAACCTGCTAAATTTCCTTCTGGAAAGTTTAAAGATG ATTATCGGAAGAAGGGTCTTGCAGCTGGTGGGCCGAAGAGGCG TATGGTCAATGATGATGATATTGAAATGCATGAAGACACTTCA GAGCTCGGTCTTTCTATTCCTGGTGCTGCTACGGCTCGGAAAGG CAGGAAATGGAGTAAGGCAAGTCGCAAGGCTGCCAGACGCCA AGCAGCTAGAGATGCCGCTCCTGTTAAAGTGGAAATCTTAGAG GTTGAAGAAAAGGGCATGTCGACCGAAGAATTAGCATACAACT TGGCTATTAGCGAAGGTGAAATTCTTGGGTACCTGTATTCTAAG GGGATAAAACCAGATGGTGTGCAAACTCTTGACAAGGCAATGG TAAAGATGATATGTGAAAGATATGACGTGGAGGTTTTGGACGC ACTTTCTGAACAAATGGAAGAAATGGCTCGAAAGAAGGAAATT TTCGACGAAGATGACCTTGACAAGCTTGAAGATAGGCCTCCTG TGCTTACTATAATGGGTCATGTAGATCATGGCAAGACGACCCTT CTGGATTATATACGGAAGAGCAAGGTTGCTGCTTCTGAAGCTG GTGGGATTACACAAGGTATTGGTGCTTATAAAGTGGAAGTACC GGTTGATGGCAAGTTGCTGCCTTGTGTCTTTCTTGACACTCCCG GACACGAGGCGTTCGGGGCAATGAGGGCTCGTGGAGCAAGAGT GACAGATATTGCTATTATAGTTGTAGCTGCTGACGATGGGATCC GTCCTCAAACAAATGAAGCCATAGCACATGCAAAAGCAGCTGG TGTACCTATTGTGGTTGCAATTAATAAGATTGACAAGGATGGG GCTAATCCGGACCGTGTGATGCAAGAGCTTTCATCAATTGGTCT AATGCCAGAGGATTGGGGTGGTGATACCCCAATGGTCAAGATA AGTGCTCTAAAAGGTGAAAATGTGGACGAGTTACTCGAGACAG CCATGCTTGTCGCCGAGTTGCAAGAGTTAAAGGCTAATCCTCAG AGGAACGCTAAGGGCACTGTAATTGAGGCTGGTCTTCATAAAT	**71**

		CAAAAGGACCCATTGCCACTTTTATTGTGCAGAATGGTACCCTC AAACAAGGGGATACTGTAGTTTGTGGGGAAGCATTTGGGAAGG TTCGTGCCCTATTTGATCACGGAGGGAATCGCGTTGATGAAGCT GGTCCATCTATTCCCGTGCAGGTTATTGGATTGAATAATGTTCC TTTTGCCGGTGATGAGTTCGAGGTAGTGAGTTCCCTTGATATAG CTCGTGAAAAGGCAGAGGTCCGTGCAGAGTCTTTACGAAATGA GCGTATAGCTGCTAAGGCCGGAGACGGAAAGGTTACGCTGTCA TCCTTGGCATCGGCTGTTTCTTCAGGGAAGATGGCTGGTTTGGA TTTGCACCAGTTAAATATCATTTTGAAGGTTGATGTTCAGGGAT CAATCGAGGCATTGAGGCAAGCTCTAGAAGTTCTTCCTCAAGA TAACGTCACTTTGAAGTTTCTCTTACAAGCGACCGGAGATGTTA CTACAAGTGATGTTGATCTTGCAGTTGCTAGTAAAGCTATTATC TTGGGGTTCAATGTGAAGGCACCAGGTTCTGTCGAAAAATTAG CAGATAACAAAGGTGTTGAAATTCGGCTTTATAAAGTCATTTAT GATCTAATTGACGACATGCGGAGTGCAATGGAAGGAATGCTAG ATCCCGTTGAGGAACAAGTTGCAATTGGTTCAGCCGAAGTGCG GGCTACATTCAGTAGTGGTAGTGGCCGTGTCGCTGGATGCATG GTGACCGAGGGAAAGATTACCAAAGGCTGTGGGATTCGAGTGA TACGGAAGGGAAAAACTGTCCACGTTGGAGTTCTTGATTCGTTG CGTCGAGTAA	
200 bp DNA	341-541	TTTCGAGTAATGGGAAATTGGATAATGTAGAGGAGAGGAAGAA GGTTATTGATTCATTGGATGAGGTATTAGAAAAGGCCGAGAGA TTAGAAACGGCGAACTTACAAGCAGATAATAGAAAGGATAGCA CAAATGTAAATAAACCGTCTCCGAGTGTAAGTAGTTCAACCAA TGGTAAACCTGTAAATAATTTGAACAAA	**72**
160 bp dsRNA	342-501	Sense: UUCGAGUAAUGGGAAAUUGGAUAAUGUAGAGGAGAGGAAGA AGGUUAUUGAUUCAUUGGAUGAGGUAUUAGAAAAGGCCGAG AGAUUAGAAACGGCGAACUUACAAGCAGAUAAUAGAAAGGA UAGCACAAAUGUAAAUAAACCGUCUCCGAGUGUAAGU	**73**
		Anti-sense: ACUUACACUCGGAGACGGUUUAUUUACAUUUGUGCUAUCCUU UCUAUUAUCUGCUUGUAAGUUCGCCGUUUCUAAUCUCUCGGC CUUUUCUAAUACCUCAUCCAAUGAAUCAAUAACCUUCUUCCU CUCCUCUACAUUAUCCAAUUUCCCAUUACUCGAA	**74**
anti-sense DNA TIF_AS1	555-576	ATTTCTCCAAACGCTCTTCGCA	**75**
anti-sense DNA TIF_AS2	342-363	ATCCAATTTCCCATTACTCGAA	**76**
anti-sense DNA TIF_AS3	412-433	GTTTCTAATCTCTCGGCCTTTT	**77**
anti-sense DNA TIF_AS4	488-509	TTGAACTACTTACACTCGGAG	**78**
anti-sense DNA TIF_AS5	368-389	TAACCTTCTTCCTCTCCTCTA	**79**
anti-sense DNA TIF_AS6	790-811	GTCCTTCCCATCAGCTCTGGA	**80**
anti-sense DNA TIF_AS7	1052-1073	CGTAGCAGCACCAGGAATAG	**81**
anti-sense DNA TIF_AS8	1655-1676	CAGCAGCTACAACTATAATAG	**82**

180) In an embodiment, the herbicidal composition includes a mixture of at least two of the above EPSPS dsRNA polynucleotides having **SEQ ID NOS: 63-70** and also at least one polynucleotide having sequence essentially identical or complementary to the sequence of the endogenous Palmer translation initiation factor (TIF) gene or to the sequence of RNA transcribed from the endogenous TIF gene, such as those provided in **Table 10**. In a specific embodiment, the herbicidal composition includes a mixture of the four EPSPS dsRNA polynucleotides having **SEQ ID NOS: 63-70** and a 160 base-pair TIF double-stranded RNA polynucleotide having the sense sequence of UUCGAGUAAUGGGAAAUUGGAUAAUGUAGAGGAGAGGAAGAAGGUUAUUGAU UCAUUGGAUGAGGUAUUAGAAAAGGCCGAGAGAUUAGAAACGGCGAACUUAC AAGCAGAUAAUAGAAAGGAUAGCACAAAUGUAAAUAAACCGUCUCCGAGUGU AAGU (**SEQ ID NO. 73**) and the anti-sense sequence of ACUUACACUCGGAGACGGUUUAUUUACAUUUGUGCUAUCCUUUCUAUUAUCU GCUUGUAAGUUCGCCGUUUCUAAUCUCUCGGCCUUUUCUAAUACCUCAUCCAA UGAAUCAAUAACCUUCUUCCUCUCCUCUACAUUAUCCAAUUUCCCAUUACUCG AA (**SEQ ID NO. 74**).

181) In some embodiments, the polynucleotides are designed to regulate multiple target genes, resulting in a synergistic effect on herbicide activity. For example, a synergistic effect on herbicide activity was obtained by treatment of a plant with polynucleotides designed to suppress a translation initiation factor (TIF) and 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) followed by treatment with the non-polynucleotide herbicide glyphosate.

182) The polynucleotides listed in **Table 11** were produced by synthesis or by *in vitro* transcription.

Table 11

Name	Comments	Nucleotide sequences
IDT [1]	Palmer/EPSPS dsRNA with two 2-deoxyribonucleotides (in **bold underlined** text) at 3' end of sense strand (25-mer) and a 2-nucleotide	Sense: CUACCAUCAACAAUGGUGUCCAU**AC** (**SEQ ID NO. 83**) Anti-sense: GUAUGGACACCAUUGUUGAUGGUAGUA (**SEQ ID NO. 84**)
IDT [2]		Sense: AGUUGGUGGGCAAUCAUCAAUUG**TT** (**SEQ ID NO. 85**) Anti-sense: AACAAUUGAUGAUUGCCCACCAACUCU (**SEQ ID NO. 86**)
IDT [3]		Sense: GGUCGACAACUUGCUGUAUAGUG**AT** (**SEQ ID NO. 87**) Anti-sense: AUCACUAUACAGCAAGUUGUCGACCUC (**SEQ ID NO. 88**)

IDT [4]	overhang at 3' end of anti-sense strand (27-mer); chemically synthesized by IDT	Sense: UGCAAGGUCACCUGGACAGAGAA**TA** (**SEQ ID NO. 89**) Anti-sense: UAUUCUCUGUCCAGGUGACCUUGCAAC (**SEQ ID NO. 90**)
IDT [5]	Palmer/EPSPS dsRNA (21-mer) with blunt ends; chemically synthesized by IDT	Sense: AACAUGAACAAAAUGCCAGAU (**SEQ ID NO. 91**) Anti-sense: AUCUGGCAUUUUGUUCAUGUU (**SEQ ID NO. 92**)
IDT blunt[1]	Palmer/EPSPS dsRNA (27-mer) with **blunt ends**; synthesized via in vitro T7 transcription	1S-Anti-sense GUAUGGACACCAUUGUUGAUGGUAGUA (**SEQ ID NO. 93**) 1S-Sense UACUACCAUCAACAAUGGUGUCCAUAC (**SEQ ID NO. 94**)
IDT blunt [2]		2S-Anti-sense AAUAAUUGAUGAUUGCCCACCAACUCU (**SEQ ID NO. 95**) 2S-Sense AGAGUUGGUGGGCAAUCAUCAAUUAUU (**SEQ ID NO. 96**)
IDT blunt [3]		3S-Anti-sense AUCACUAUACAGCAAGUUGUCGACCAC (**SEQ ID NO. 97**) 3S-Sense GUGGUCGACAACUUGCUGUAUAGUGAU (**SEQ ID NO. 98**)
IDT blunt [4]		4S-Anti-sense UAUUCUCUGUCCAGGUGACCUUGCAAC (**SEQ ID NO. 99**) 4S-Sense GUUGCAAGGUCACCUGGACAGAGAAUA (**SEQ ID NO. 100**)
3OH [1]	Palmer/EPSPS dsRNA (27-mer) with **3'-overhangs**; synthesized via in vitro T7 transcription	1S-Anti-sense gGUAUGGACACCAUUGUUGAUGGUAGUAC (**SEQ ID NO. 101**) 1S-Sense GCUACCAUCAACAAUGGUGUCCAUACCAC (**SEQ ID NO. 102**)
3OH [2]		2S-Anti-sense gAAGAAUUGAUGAUUGCCCACCAACUCAC (**SEQ ID NO. 03**) 2S-Sense GAGUUGGUGGGCAAUCAUCAAUUAUUCAC (**SEQ ID NO. 104**)
3OH [3]		3S- Anti-sense gAUCACUAUACAGCAAGUUGUCGACAC (**SEQ ID NO. 105**) 3S- Sense GUCGACAACUUGCUGUAUAGUGAUCAC (**SEQ ID NO. 106**)
3OH [4]		4S-Anti-sense gUAUUCUCUGUCCAGGUGACCUUGCACAC (**SEQ ID NO. 107**) 4S- Sense GUGCAAGGUCACCUGGACAGAGAAUACAC (**SEQ ID NO. 108**)
IDT HP [1]	Palmer/EPSPS single strand of RNA designed to self-hybridize into a **hairpin**, containing anti-sense sequence on the 5' arm and anti-sense sequence on the 3' arm, with an intermediate GAAA tetranucleotide loop; chemically synthesized by IDT	1S– GUAUGGACACCAUUGUUGAUGGUAGUAGAAAUACUACCAUCAACAA UGGUGUCCAUAC (**SEQ ID NO. 109**)
IDT HP [2]		2S- AUAAUUGAUGAUUGCCCACCAACUCUGAAAAGAGUUGGUGGGCAAUC UCAAUUAUU (**SEQ ID NO. 110**)
IDT HP [3]		3S- AUCACUAUACAGCAAGUUGUCGACCACGAAAGUGGUCGACAACUUG CUGUAUAGUGAU (**SEQ ID NO. 111**)
IDT HP [4]		4S- UAUUCUCUGUCCAGGUGACCUUGCAACGAAAGUUGCAAGGUCACC UGGACAGAGAAUA (**SEQ ID NO. 112**)
[TIF]	Palmer/translation	Sense:

	initiation factor (TIF) dsRNA (160-mer) synthesized via in vitro T7 transcription	UUCGAGUAAUGGGAAAUUGGAUAAUGUAGAGGAGAGGAAGAAGGUU AUUGAUUCAUUGGAUGAGGUAUUAGAAAAGGCCGAGAGAUUAGAAA CGGCGAACUUACAAGCAGAUAAUAGAAAGGAUAGCACAAAUGUAAAU AAACCGUCUCCGAGUGUAAGU (**SEQ ID NO. 73**) Anti-sense: ACUUACACUCGGAGACGGUUUAUUUACAUUUGUGCUAUCCUUUCUAU UAUCUGCUUGUAAGUUCGCCGUUUCUAAUCUCUCGGCCUUUUCUAAU ACCUCAUCCAAUGAAUCAAUAACCUUCUUCCUCUCCUCUACAUUAUC CAAUUUCCCAUUACUCGAA (**SEQ ID NO. 74**)
[ddATPase]	Palmer/DNA-dependent ATPase (ddATPase) dsRNA (168-mer) synthesized via in vitro T7 transcription	Sense: GAUCACAAAUUUGCCGGUUUAUGAUCAAAUACGGAACAUAAGACAGA UACACUUGAACACCAUGAUUCGCAUUGGGGGUGUGGUUACUCGUCGU UCUGGAGUAUUCCCUCAGUUGAUGCAGGUGAAGUAUGACUGCAAUAA AUGUGGGGCUAUCCUGGGUCCCUUUUU (**SEQ ID NO. 113**) Anti-sense: AAAAAGGGACCCAGGAUAGCCCCACAUUUAUUGCAGUCAUACUUCAC CUGCAUCAACUGAGGGAAUACUCCAGAACGACGAGUAACCACACCCC CAAUGCGAAUCAUGGUGUUCAAGUGUAUCUGUCUUAUGUUCCGUAUU UGAUCAUAAACCGGCAAAUUUGUGAUC (**SEQ ID NO. 114**)

183) Solutions of the polynucleotides were prepared and applied to the leaves of Palmer amaranth using the protocols described in **Table 12**.

Table 12

Protocol number (description)	Protocol
1 **(1-step hand)**	1. Apply mixture of polynucleotides in 1% Silwet L-77, 2% ammonium sulfate in 10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8 (or control buffer solution of 1% Silwet L-77, 2% ammonium sulfate in 10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8) by hand pipetting 2. 48 or 72 hours later, spray glyphosate ("2X Wmax" or 1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide) by regular sprayer (10 gallons/acre)
2 **(1-step sprayer)**	1. Spray mixture of polynucleotides in 1% Silwet L-77, 2% ammonium sulfate in 10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8 (or control buffer solution of 1% Silwet L-77, 2% ammonium sulfate in 10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8) by Milli sprayer 2. 48 or 72 hours later, spray glyphosate ("2X Wmax" or 1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide) by regular sprayer (10 gallons/acre)
3 **(2-step hand)**	1. Spray 1% Silwet as 1st step by regular sprayer or Milli sprayer; 2. Apply mixture of polynucleotides in 1% Silwet L-77, 2% ammonium sulfate in 10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8 (or control buffer solution of 1% Silwet L-77, 2% ammonium sulfate in 10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8) by hand pipetting 3. 48 or 72 hours later, spray glyphosate ("2X Wmax" or 1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide) by regular sprayer (10 gallons/acre)
4 **(2-step sprayer)**	1. Spray 1% Silwet as 1st step by regular sprayer or Milli sprayer; 2. Spray mixture of polynucleotides in 1% Silwet L-77, 2% ammonium sulfate in 10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8 (or control buffer solution of 1% Silwet L-77, 2% ammonium sulfate in 10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8) by Milli sprayer 3. 48 or 72 hours later, spray glyphosate ("2X Wmax" or 1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide) by regular sprayer (10 gallons/acre)

5 **(tank mix)**	Spray mixture of polynucleotides in 1% Silwet L-77, 2% ammonium sulfate in 10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8 containing glyphosate at 1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide (or control buffer solution of 1% Silwet L-77, 2% ammonium sulfate in 10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8 containing glyphosate at 1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide) by Milli sprayer.

184) Combinations of polynucleotides were tested as indicated in **Table 13**.

Table 13

Polynucleotides applied in combination	**SEQ ID NO.**	**Protocol**	**Amount applied of each polynucleotide (g/acre)**	**Total polynucleotide applied (g/acre)**	**EPSPS copy number***	**Results****
IDT [1] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **87,88** **89,90**	1	0.29 0.29 0.29	0.87	112	75% killed (27 DAT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4] [TIF]	**83,84,** **87,88** **89,90** **73,74**	1	0.29 0.29 0.29 0.50	1.4	112	100% killed (27 DAT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4] [ddATPase]	**83,84,** **87,88** **89,90** **113,114**	1	0.29 0.29 0.29 0.50	1.37	112	11.2% stunted (27 DAT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4] [TIF] [ddATPase]	**83,84,** **87,88** **89,90** **73,74** **114,114**	1	0.29 0.29 0.29 0.50 0.50	1.87	112	100% killed (27 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90**	1	0.29 0.29 0.29 0.29	1.2	112, 36	0% control (11 DAT); 0% control (31 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90**	1	1.4 1.4 1.4 1.4	5.8	112, 36	0% control (11 DAT); 15% stunted (31 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90**	1	2.9 2.9 2.9 2.9	12	112, 36	0% control (11 DAT); 35% stunted (31 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90**	1	5.8 5.8 5.8 5.8	23	112, 36	51% stunted (11 DAT); 100% stunted (31 DAT)

IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90**	2	0.29 0.29 0.29 0.29	1.2	33, 54	9% stunted (6 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90**	2	5.8 5.8 5.8 5.8	23	33, 54	100% killed (6 DAT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **87,88** **89,90**	2	0.29 0.29 0.29	0.87	33, 54	20% stunted (6 DAT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **87,88** **89,90**	2	5.8 5.8 5.8	17	33, 54	100% killed (6 DAT)
IDT [5]	**91,92**	1	0.29	0.29	34, 36, 54	14.1% stunted (22 DAT)
IDT [5]	**91,92**	1	2.9	2.9	34, 36, 54	100% kill (22 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90**	1	2.9 2.9 2.9 2.9	12	34, 36, 54	100% killed (22 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4] IDT [5]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90** **91,92**	1	2.9 2.9 2.9 2.9 2.9	14	34, 36, 54	100% killed (22 DAT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **87,88** **89,90**	1	2.9 2.9 2.9	8.7	34, 36, 54	100% killed (22 DAT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4] IDT [5]	**83,84,** **87,88** **89,90** **91,92**	1	2.9 2.9 2.9 2.9	12	34, 36, 54	100% killed (22 DAT)
IDT [5]	**91,92**	1	0.29	0.29	33, 54, 55	71% stunted (18 DAT)
IDT [5]	**91,92**	1	2.9	2.9	33, 54, 55	100% killed (18 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4] IDT [5]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90** **91,92**	1	0.29 0.29 0.29 0.29 0.29	1.4	33, 54, 55	100% killed (18 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90**	1	0.29 0.29 0.29 0.29	1.2	33, 54, 55	100% killed (18 DAT)
IDT HP [1] IDT HP [2] IDT HP [3] IDT HP [4]	**109** **110** **111** **112**	3	0.29 0.29 0.29 0.29	1.2	16, 33	100% killed (18 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90**	3	0.29 0.29 0.29 0.29	1.2	16, 33	100% killed (18 DAT)

IDT [1] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **87,88** **89,90**	3	0.29 0.29 0.29	0.87	16, 36	100% killed (18 DAT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **87,88** **89,90**	3	5.8 5.8 5.8	17	16, 36	100% killed (18 DAT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **87,88** **89,90**	3	29 29 29	87	16, 36	100% killed (18 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90**	3	0.29 0.29 0.29 0.29	1.1	16, 36	100% killed (18 DAT)
3'-OH [1] 3'-OH [2] 3'-OH [3] 3'-OH [4]	**101,102** **103,104** **105,106** **107,108**	3	Not applicable	22-26 microliters (by volume)	16	100% killed (10 DAT)
IDT Blunt [1] IDT Blunt [2] IDT Blunt [3] IDT Blunt [4]	**93,94** **95,96** **97,98** **99,100**	3	0.29 0.29 0.29 0.29	1.1	16	75% killed (10 DAT)
IDT Blunt [1] IDT Blunt [2] IDT Blunt [3] IDT Blunt [4]	**93,94** **95,96** **97,98** **99,100**	3	5.8 5.8 5.8 5.8	23	16	100% killed (10 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3]	**83,84,** **85,86** **87,88**	3	29 29 29	87	16	34% stunted (14 DAT)
IDT [2] IDT [3] IDT [4]	**85,86** **87,88** **89,90**	3	29 29 29	87	16	48% stunted (14 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [4]	**83,84,** **85,86** **89,90**	3	29 29 29	87	16	25% stunted (14 DAT)
IDT [1] IDT [4]	**83,84,** **89,90**	3	29 29	58	16	44% stunted (14 DAT)
IDT [3] IDT [4]	**87,88** **89,90**	3	29 29	58	16	41% stunted (14 DAT)
IDT [2] IDT [4]	**85,86** **89,90**	3	29 29	58	16	40% stunted (14 DAT)
IDT [1]	**83,84**	3	29	29	16	51% stunted (13 DAT)
IDT [2]	**85,86**	3	29	29	16	0% control (13 DAT)
IDT [3]	**87,88**	3	29	29	16	51% stunted (13 DAT)
IDT [4]	**89,90**	3	29	29	16	51% stunted (13 DAT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	**83,84,** **85,86** **87,88** **89,90**	3	29 29 29 29	116	16	75% killed (13 DAT)

*where more than one copy number is listed, the treated plants were a mixture of copy numbers

**DAT = days after treatment; "0% control" means no difference between treated and control plants was observed; stunting % is calculated as [100 - (average height of the test plants/average height of control plants)*100]

185) Double-stranded 25-mer RNA polynucleotide sequences for suppression of the TIF gene in *Amaranthus palmeri* were designed as listed in **Table 14**.

Table 14

Name	Sequence	SEQ ID NO:
TIF_dsRNA1	antisense: 5'-UUUUCUAAUACCUCAUCCAAUGAAU-3‘	**115**
	sense: 5'-AUUCAUUGGAUGAGGUAUUAGAAAA-3’	**116**
TIF_dsRNA2	antisense: 5'-UAUCUGCUUGUAAGUUCGCCGUUUC-3‘	**117**
	sense: 5'-GAAACGGCGAACUUACAAGCAGAUA-3'	**118**
TIF_dsRNA3	antisense: 5'-GGAGACGGUUUAUUUACAUUUGUGC-3'	**119**
	sense: 5'-GCACAAAUGUAAAUAAACCGUCUCC-3'	**120**
TIF_dsRNA4	antisense: 5'-UAUUUACAGGUUUACCAUUGGUUGA-3‘	**121**
	sense: 5'-UCAACCAAUGGUAAACCUGUAAAUA-3'	**122**

186) The TIF 25-mer dsRNA polynucleotides were tested on both high (112) copy and low (16) copy EPSPS glyphosate-resistant Palmer amaranth.

187) High-copy plants were treated with a mixture of 4 short EPSPS dsRNAs (short dsRNA-1, short dsRNA-3, short dsRNA-4, as described in **Example 1** and IDT [5] (**SEQ ID NOS:91-92** as described in **Table 11**) at 11.5 grams/acre and one individual TIF dsRNA at 5.8 grams/acre, or with each individual TIF 25-mer dsRNA at 5.8 grams/acre; polynucleotide solutions were formulated in 10 millimolar sodium phosphate buffer (pH 6.8) containing 2% ammonium sulfate and 1% Silwet L-77. Thirty minutes after polynucleotide treatment, plants were either sprayed with glyphosate (1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide) or not.

188) Low-copy plants were treated with a mixture of 4 short EPSPS dsRNAs (short dsRNA-1, short dsRNA-3, short dsRNA-4, as described in **Example 1**, and IDT [5] (**SEQ ID NOS:91-92** as described in **Table 11**)) at 0.23 grams/acre and one individual TIF dsRNA at 5.8 grams/acre, or with each individual TIF 25-mer dsRNA at 5.8 grams/acre; polynucleotide solutions were formulated in 10 millimolar sodium phosphate buffer (pH 6.8) containing 2% ammonium sulfate and 1% Silwet L-77. Thirty minutes after polynucleotide treatment, plants

were either sprayed with glyphosate (1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide) or not.

189) Results are depicted in **Figures 31** and **32** and show that the TIF polynucleotides enhance the activity of the EPSPS polynucleotides and that the TIF polynucleotides have herbicidal activity on their own.

Example 27

190) Aspects of the invention include polynucleotide compositions and methods of use for potentiating the activity of a non-polynucleotide herbicide in a plant. For example, a polynucleotide composition designed to regulate an herbicide target gene, or an herbicide deactivation gene, or a stress response gene, or a combination of such target genes, is applied to a weed or to a volunteer plant, concurrently or followed or preceded by application of a non-polynucleotide herbicide (typically a conventional chemical herbicide), resulting in potentiation of the activity of the non-polynucleotide herbicide. The combination of a polynucleotide composition with a non-polynucleotide herbicide (*e. g.*, a conventional chemical herbicide) provides a synergistic effect, *i. e.*, the herbicidal effect of the combination is greater than the sum of the herbicidal effect of the polynucleotide composition and the herbicidal effect of the non-polynucleotide herbicide.

191) Examples of conventional chemical herbicides and their corresponding herbicide target genes are provided in **Table 15**.

Table 15

Herbicide examples	Target gene (herbicide target gene)
glyphosate	5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS)
Lactofen, flumioxazin, etc	protoporphyrinogen oxidase (PPO)
Mesotrione, isoxaflutole	4-hydroxyphenyl-pyruvate-dioxygenase (HPPD)
Quizalofop, clethodim	acetyl coenzyme A carboxylase (ACCase)
Norflurazone, clomazone	phytoene desaturase (PDS)
glufosinate	glutamine synthase (GS)
Rimsulfuron, chlorsulfuron	acetolactate synthase (ALS)
Atrazine, diuron, bromoxynil, metribuzin	D1 protein of photosystem II (PSII)
Dinitroaniline, pendimethalin	tubulin
Dichlobenil, isoxaben	Cellulose synthase

192) Examples of conventional chemical herbicides and their corresponding herbicide deactivation genes are provided in **Table 16**.

Table 16

Herbicide examples	Target gene (herbicide deactivation gene)
Acetochlor, metolachlor	glutathione S-transferase (GST)
Many including SU herbicides	Mono-oxygenases including cytochromes P450 (see, *e. g.*, a cytochrome P450 for conferring resistance to HPPD inhibitors, benzothiadiazinones, sulfonylureas, and other classes of herbicides, described in US Patent Application Publication 2009/0011936)
Thiazopyr	esterases (e. g., esterases involved in apoptosis or senescence)
2,4-D, metribuzin,	glucosyl transferases; malonyl transferases
Glyphosate, paraquat	Cellular compartmentation and sequestration genes (e. g., ABC transporters)

Example 28

193) This example illustrates a method for inducing systemic regulation of a target endogenous gene in a growing plant including topically coating onto leaves of the growing plant polynucleotides having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either the target endogenous gene or messenger RNA transcribed from the target endogenous gene, whereby the polynucleotides permeate the interior of the growing plant and induce systemic regulation of the target endogenous gene.

194) Double-stranded RNA or anti-sense ssDNA polynucleotides were designed for the herbicide targetted genes 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), phytoene desaturase (PDS), protoporphyrin IX oxygenase (PPO), phenylalanine ammonia lyase (PAL), hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), acetolactate synthase (ALS), and glutamine synthase (GS). For each herbicide targetted gene, a solution containing a mixture of 8 anti-sense ssDNA polynucleotides in 2% ammonium sulfate in10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8, was applied at a rate of 2.32 g/acre following application of 0.5% Silwet L-77 spray (10 gallons/acre). The tested polynucleotides and resulting phenotype observations are listed in **Table 17**.

Table 17

Gene	Name	Size (nt)	Sequence	SEQ ID NO:	Phenotype
EPSPS			(See sequences provided in working **Examples 1, 9, 13, 14, 21, 26**)	--	Topical dsRNA followed by glyphosate killed glyphosate-resistant Palmer (up to 60 copies of EPSPS) within 7-10 days
PDS	PDS sense	185	GACGGAAACCCUCCAGAGAGGCUGU GCAUGCCUAUUGUUAAACACAUCGA GUCACUAGGUGGUGAAGUUAAACUU AACUCUCGUAUACAAAAGAUUCAGU UGGACCAGAGUGGAAGCGUGAAGAG UUUUUUGCUAAAUAACGGGAGGGAA AUACGAGGAGAUGCCUAUGUUUUUG CCACCCCAGU	**123**	Topical dsRNA caused bleaching and stunting phenotype, and is systemic.
	PDS anti-sense	185	ACUGGGGUGGCAAAAACAUAGGCAU CUCCUCGUAUUUCCCUCCCGUUAUUU AGCAAAAAACUCUUCACGCUUCCAC UCUGGUCCAACUGAAUCUUUUGUAU ACGAGAGUUAAGUUUAACUUCACCA CCUAGUGACUCGAUGUGUUUAACAA UAGGCAUGCACAGCCUCUCUGGAGG GUUUCCGUC	**124**	
PPO	PPO_OLIGO1	21	GTGATATTACCTCCAACACGAT	**125**	Topical anti-sense DNAs caused stunting of plant growth.
	PPO_OLIGO2	21	ATAGTAAGCACAGGATCGGAG	**126**	
	PPO_OLIGO3	21	CTTTCAATCCACTGTCAACCG	**127**	
	PPO_OLIGO4	21	ATCAAGCGTTCGAAGACCTCAT	**128**	
	PPO_OLIGO5	21	CAGCAATGGCGGTAGGTAACA	**129**	
	PPO_OLIGO6	21	GCAATTGCCCGAATCCTTTTA	**130**	
	PPO_OLIGO7	21	TAGCTCAATATCAAGGTCCTA	**131**	
	PPO_OLIGO8	21	TCATAAGCACCCTCTATACAC	**132**	
PAL	PAL_OLIGO1	21	TTCTTAACCTCGTCGAGATG	**133**	Topical anti-sense DNAs caused stunting of plant growth.
	PAL_OLIGO2	21	ATACCCGAGTATCCTTGCAAA	**134**	
	PAL_OLIGO3	21	TAGGGCCCACGGCCTTGGAGT	**135**	
	PAL_OLIGO4	21	AGCGGATATAACCTCAGCTAG	**136**	
	PAL_OLIGO5	21	CTTCGTGGCCCAACGAATGAC	**137**	
	PAL_OLIGO6	21	CAAGCTCGGGTCCCTGCTTGC	**138**	
	PAL_OLIGO7	21	GGAAGGTAGATGACATGAGTT	**139**	
	PAL_OLIGO8	21	GATGGCATAGTTACCACTGTC	**140**	
HPPD	HPPD_OLIGO1	21	TCCGTAGCTTACATACCGAAG	**141**	Topical anti-sense DNAs caused stunting of plant growth.
	HPPD_OLIGO2	21	TCCAAGTGAATAGGAGAAACA	**142**	
	HPPD_OLIGO3	21	AGCAGCTTCTGCGTCTTCTAC	**143**	
	HPPD_OLIGO4	21	ACAGCACGCACGCCAAGACCG	**144**	
	HPPD_OLIGO5	21	CGATGTAAGGAATTTGGTAAA	**145**	
	HPPD_OLIGO6	21	CGAGGGGATTGCAGCAGAAGA	**146**	
	HPPD_OLIGO7	21	GTAGGAGAATACGGTGAAGTA	**147**	
	HPPD_OLIGO8	21	GACCCCAAGAAAATCGTCTGC	**148**	

ACCase	ACCA_OLIGO1	20	GTCTTACAAGGGTTCTCAA	**149**	Topical anti-sense DNA caused stunting of plant growth.
	ACCA_OLIGO2	21	ATCTATGTTCACCTCCCTGTG	**150**	
	ACCA_OLIGO3	21	ATAAACCATTAGCTTTCCCGG	**151**	
	ACCA_OLIGO4	21	TTTATTGGAACAAGCGGAGTT	**152**	
	ACCA_OLIGO5	21	TATAGCACCACTTCCCGATAG	**153**	
	ACCA_OLIGO6	21	GCACCACGAGGATCACAAGAA	**154**	
	ACCA_OLIGO7	21	CCACCCGAGAAACCTCTCCAA	**155**	
	ACCA_OLIGO8	21	CAGTCTTGACGAGTGATTCCT	**156**	
ALS	ALS-OLIGO1	22	GTTCTTCAGGGCTAAATCGGGA	**157**	No significant phenotype
	ALS-OLIGO2	22	GTTCAAGAGCTTCAACGAGAAC	**158**	
	ALS-OLIGO3	22	ATACAAACTCCAACGCGTCCAG	**159**	
	ALS-OLIGO4	22	CTCTTGGAAAGCATCAGTACCA	**160**	
	ALS-OLIGO5	22	CTAGAAAGATACCCACCCAATT	**161**	
	ALS-OLIGO6	22	ACTAGAATTCAAACACCCACCC	**162**	
	ALS-OLIGO7	22	TTTCTGCTCATTCAACTCCTCC	**163**	
	ALS-OLIGO8	22	TATGTATGTGCCCGGTTAGCTT	**164**	
GS (glutamine synthase)	GS_OLIGO1	21	TCATATCCAAGCCAGATCCTC	**165**	No significant phenotype
	GS_OLIGO2	21	TGCATCACACATCACCAAGAT	**166**	
	GS_OLIGO3	21	GTACTCCTGTTCAATGCCATA	**167**	
	GS_OLIGO4	21	ATTGATACCAGCATAGAGACA	**168**	
	GS_OLIGO5	21	AGCAATTCTCTCTAGAATGTA	**169**	
	GS_OLIGO6	21	CATCATTCCTCATCGACTTAG	**170**	
	GS_OLIGO7	21	CTCTCGTTGCCCTCTCCATAA	**171**	
	GS_OLIGO8	21	CAACGCCCCAGGAGAAAGTTC	**172**	

195)The herbicidal activity of ssDNA polynucleotides that target the enzymes 4-hydroxyphenylpyruvate (HPPD) and protoporphyrinogen oxidase (PPO), and a transcription initiation factor (TIF), and their effect on the herbicide activity when used in combination with the herbicides mesotrione, fomesafen, and atrazine in Palmer amaranth was investigated. The polynucleotides used in this experiment were 8 HPPD anti-sense ssDNA oligonucleotides (SEQ ID NOS:**141-148**), 8 PPO anti-sense oligonucleotides (SEQ ID NOS:**125-132**), and 8 TIF anti-sense ssDNA oligonucleotides (SEQ ID NOS:**75-82**, see **Example 26**).

196)Glyphosate-sensitive Palmer amaranth (*Amaranthus palmeri*) plants were grown in 4-inch square pots with Sun Gro® Redi-Earth seedling mix containing 3.5 kg/cubic meter Osmocote® 14-14-14 fertilizer in a greenhouse with 14 h photoperiod and a daytime temperature of 30 degrees Celsius and night temperature of 20 degrees Celsius. The plants were sub-irrigated as necessary.

197)Plants at 10 to 15 cm height were pre-treated manually with 40 microliters (4 fully expanded mature leaves were treated with 10 microliters of solution per leaf on each plant) of a buffer-surfactant solution (as a control; 0.5% Silwet L-77 and 2% ammonium sulfate), or a buffer-surfactant-ssDNA polynucleotide mixture of the anti-sense oligonucleotides targetting HPPD, PPO, or TIF. Some plants were left untreated and were

used as controls. Twenty-four hours later, untreated plants, buffer-surfactant treated plants, and buffer-surfactant-ssDNA treated plants were treated using a track-sprayer equipped with a 9501E nozzle and calibrated to deliver 93 liters of solution per hectare with a HPPD inhibitor, mesotrione (4 pounds active ingredient per gallon;), or with a PPO inhibitor, fomesafen (2 pounds active ingredient per gallon), or with a Photosystem II inhibitor, atrazine (90% active ingredient) as indicated in **Table 18**. Crop oil concentrate (COC) at 1% was added to all herbicide treatments. A low rate of each herbicide (mesotrione: 13 g per acre, equivalent to1/8X of the recommended field rate; fomesafen: 16 g per acre, equivalent to1/22X of the recommended field rate; and atrazine: 170 g per acre, equivalent to1/8X of the recommended field rate,) was used to be able to detect any improvement of herbicide activity by the oligonucleotide mixture.

Table 18

Treatment number	Pre-treatment	Active Ingredient	Rate (grams per hectare of active ingredient)
0	Buffer-surfactant	--	
1	Untreated	Mesotrione	13
2	Buffer-surfactant	Mesotrione	13
3	Buffer-surfactant-ssDNA-HPPD		
4	Buffer-surfactant-ssDNA-HPPD	Mesotrione	13
5	Untreated	Fomesafen	16
6	Buffer-surfactant	Fomesafen	16
7	Buffer-surfactant-ssDNA-PPO		
8	Buffer-surfactant-ssDNA-PPO	Fomesafen	16
9	Untreated	Atrazine	170
10	Buffer-surfactant-ssDNA-TIF		
11	Buffer-surfactant-ssDNA-TIF	Atrazine	170

198) Plant height was determined at four days after herbicide treatment. Data were collected from one experiment with four replications per treatment. Results (expressed as Palmer amaranth plant height as affected by the buffer-surfactant solution, ssDNA, and herbicide treatment combinations) are presented in **Table 19** and **Figure 33**. Plants treated with HPPD anti-sense ssDNA oligonucleotides, PPO anti-sense ssDNA oligonucleotides, and TIF anti-sense ssDNA oligonucleotides showed growth stunting, measuring 125, 153, and 115 mm, respectively, while the plants treated with buffer-surfactant (control) measured 185 mm (**Figure 33**). Treatment with HPPD anti-sense ssDNA oligonucleotides, PPO anti-sense

ssDNA oligonucleotides, and TIF anti-sense ssDNA oligonucleotides respectively caused a 32%, 18%, and 38% growth reduction relative to the buffer-surfactant control.

199) No major differences in plant height were observed between plants treated with buffer-surfactant followed by herbicide, and plants treated with herbicide only. The plants treated with HPPD anti-sense ssDNA oligonucleotides followed by mesotrione showed the greatest reduction in plant growth, measuring 100 mm, a 46% reduction compared to the buffer-surfactant treated plants. The plants treated with PPO anti-sense ssDNA oligonucleotides followed by fomesafen measured 126 mm, a 32% reduction compared to the buffer-surfactant treated plants. The plants treated with TIF anti-sense ssDNA oligonucleotides followed by atrazine measured 121 mm, a 34% reduction compared to the buffer-surfactant treated plants.

Table 19

Treatment number	Pre-treatment	Active Ingredient	Rate (grams per hectare of active ingredient)	Plant height (mm)	Standard Error
0	Buffer	--	--	185	15
1	Untreated	Mesotrione	13	180	18
2	Buffer	Mesotrione	13	179	18
3	ssDNA-HPPD			125	19
4	ssDNA-HPPD	Mesotrione	13	100	7
5	Untreated	Fomesafen	23	158	12
6	Buffer	Fomesafen	23	139	10
7	ssDNA-PPO			153	20
8	ssDNA-PPO	Fomesafen	23	126	6
9	Untreated	Atrazine	170	146	19
10	ssDNA-TIF			115	17
11	ssDNA-TIF	Atrazine	170	121	16

Example 29

200) This example illustrates tested sequences of double-stranded RNA polynucleotides designed for different essential genes to ascertain the effect of the tested sequence on observable phenotype. For each essential gene, a solution containing the dsRNA polynucleotide in 2% ammonium sulfate in10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8, was applied to Palmer amaranth at a rate of 240 picomole per plant following application of

0.5% Silwet L-77 spray (10 gallons/acre). The tested polynucleotides and resulting phenotype observations are listed in **Table 20**.

Table 20

Gene	Name	Size (nt)	Sequence	SEQ ID NO:	Phenotype
Translation initiation factor (TIF)	sense	160	UUCGAGUAAUGGGAAAUUGGAUAAUGUA GAGGAGAGGAAGAAGGUUAUUGAUUCAU UGGAUGAGGUAUUAGAAAAGGCCGAGAG AUUAGAAACGGCGAACUUACAAGCAGAU AAUAGAAAGGAUAGCACAAAUGUAAAUA AACCGUCUCCGAGUGUAAGU	**73**	Topical dsRNA caused stunting of plant growth.
	anti-sense	160	ACUUACACUCGGAGACGGUUUAUUUACA UUUGUGCUAUCCUUUCUAUUAUCUGCUU GUAAGUUCGCCGUUUCUAAUCUCUCGGCC UUUUCUAAUACCUCAUCCAAUGAAUCAA UAACCUUCUUCCUCUCCUCUACAUUAUCC AAUUUCCCAUUACUCGAA	**74**	
DNA-dependent ATPase (ddATPase)	sense	168	GAUCACAAAUUUGCCGGUUUAUGAUCAA AUACGGAACAUAAGACAGAUACACUUGA ACACCAUGAUUCGCAUUGGGGGUGUGGU UACUCGUCGUUCUGGAGUAUUCCCUCAGU UGAUGCAGGUGAAGUAUGACUGCAAUAA AUGUGGGGCUAUCCUGGGUCCCUUUUU	**113**	Topical dsRNA caused stunting of plant growth.
	anti-sense	168	AAAAAGGGACCCAGGAUAGCCCCACAUUU AUUGCAGUCAUACUUCACCUGCAUCAACU GAGGGAAUACUCCAGAACGACGAGUAAC CACACCCCCAAUGCGAAUCAUGGUGUUCA AGUGUAUCUGUCUUAUGUUCCGUAUUUG AUCAUAAACCGGCAAAUUUGUGAUC	**114**	
Hydroxy-3-Methylbut-2-enyl diphophate synthase (HMEDS)	sense	200	CUGAAGCUGGUGAAGGUGAAGAUGGACG AAUGAAAUCUGCGAUUGGAAUUGGGACC CUUCUUCAGGAUGGCUUGGGAGAUACGA UCAGGGUGUCUCUAACAGAACCACCAGAA GAGGAGAUAGACCCUUGCAGAAGGUUGG CAAAUCUUGGAACAAAAGCAGCUGAAAU UCAGCAAGGAGUGGCACCAUUUGAAG	**173**	No significant phenotype.
	anti-sense	200	CUUCAAAUGGUGCCACUCCUUGCUGAAUU UCAGCUGCUUUUGUUCCAAGAUUUGCCA ACCUUCUGCAAGGGUCUAUCUCCUCUUCU GGUGGUUCUGUUAGAGACACCCUGAUCG UAUCUCCCAAGCCAUCCUGAAGAAGGGUC CCAAUUCCAAUCGCAGAUUUCAUUCGUCC AUCUUCACCUUCACCAGCUUCAG	**174**	

Fertilization independent endosperm / TF (FIE)	sense	183	UCCCAUCAAAGUUCCCUACAAAAUAUGUG CAGUUUCCUAUCUUCCUUGCCGCCAUUCA UACAAACUAUGUUGAUUGUACAAGGUGG CUUGGUGAUUUUGUUCUUUCUAAGAGUG UUGACAAUGAGAUUGUACUGUGGGAGCC AAUUAUGAAGGAGCAAUCUCCUGGAGAG GGUUCAGUUGACA	**175**	No significant phenotype.
	anti-sense	183	UGUCAACUGAACCCUCUCCAGGAGAUUGC UCCUUCAUAAUUGGCUCCCACAGUACAAU CUCAUUGUCAACACUCUUAGAAAGAACA AAAUCACCAAGCCACCUUGUACAAUCAAC AUAGUUUGUAUGAAUGGCGGCAAGGAAG AUAGGAAACUGCACAUAUUUUGUAGGGA ACUUUGAUGGGA	**176**	
26S proteasome ATPase subunit RPT5B (RPTB)	sense	143	UUGUGCUUAAAACAUCGACCAGACAGAC AAUAUUUCUUCCUGUUGUUGGACUAGUU GAUCCUGAUACGCUGAAACCUGGUGAUU UAGUUGGUGUCAACAAAGAUAGUUAUCU UAUCCUGGACACUCUGCCGUCGGAAUAUG AU	**177**	No significant phenotype.
	anti-sense	143	AUCAUAUUCCGACGGCAGAGUGUCCAGG AUAAGAUAACUAUCUUUGUUGACACCAA CUAAAUCACCAGGUUUCAGCGUAUCAGG AUCAACUAGUCCAACAACAGGAAGAAAU AUUGUCUGUCUGGUCGAUGUUUUAAGCA CAA	**178**	
ligase 1 (LIG1)	sense	159	CGCUGCAGUUGGUGAAGUAGAUCCCGGC AAGGGGAUUUCACUCCGGUUUCCACGUCU GGUUCGUAUCCGAGAGGAUAAAUCUCCA GAGGACGCCACAUCAUCUGAGCAGGUGGC GGAUAUGUACAGAUCUCAAGCAAACAAU CCACACCGCAAAAAGAG	**179**	No significant phenotype.
	anti-sense	159	CUCUUUUUGCGGUGUGGAUUGUUUGCUU GAGAUCUGUACAUAUCCGCCACCUGCUCA GAUGAUGUGGCGUCCUCUGGAGAUUUAU CCUCUCGGAUACGAACCAGACGUGGAAAC CGGAGUGAAAUCCCCUUGCCGGGAUCUAC UUCACCAACUGCAGCG	**180**	
tRNA synthetase (tS)	sense	159	UAAAGAUGGCGGAAAAAUCGACUAUGAU AAAUUGAUUGACAAAUUCGGCUGUCAGC GACUUGAUUUAUCGCUCAUUCAGAGAAU UGAGCGCAUCACUGCUCGUCCUGCUCAUG UAUUUCUUCGCCGCAACGUUUUCUUCGCU CACCGUGAUUUGAAUGA	**181**	No significant phenotype.
	anti-sense	159	UCAUUCAAAUCACGGUGAGCGAAGAAAA CGUUGCGGCGAAGAAAUACAUGAGCAGG ACGAGCAGUGAUGCGCUCAAUUCUCUGA AUGAGCGAUAAAUCAAGUCGCUGACAGC CGAAUUUGUCAAUCAAUUUAUCAUAGUC GAUUUUUCCGCCAUCUUUA	**182**	

Ubiquitin specific protease 14 (UBP)	sense	150	UGAAGCUGAUGCUGAAGGAAAGGAUAUU GAUGCUAGUGAAGUAGUUCGCCCAAGGG UGCCAUUAGAAGCUUGCCUAGCUAGCUAC UCAGCUCCGGAGGAGGUGAUGGACUUCU ACAGCACUGCAUUGAAGGCAAAGGCAAC UGCUACAAA	**183**	No significant phenotype.
	anti-sense	150	UUUGUAGCAGUUGCCUUUGCCUUCAAUG CAGUGCUGUAGAAGUCCAUCACCUCCUCC GGAGCUGAGUAGCUAGCUAGGCAAGCUU CUAAUGGCACCCUUGGGCGAACUACUUCA CUAGCAUCAAUAUCCUUUCCUUCAGCAUC AGCUUCA	**184**	
Serine hydroxymet hiy transferase 2 (SHMT)	sense	155	ACACCUGCCCUAACAUCUCGGGGUUUUCU CGAAGAAGAUUUUGUUAAAGUGGCCGAG UAUUUUGAUGCUGCUGUUAAGCUGGCUC UAAAAAUCAAGGCUGACACAAAAGGAAC AAAGUUGAAGGACUUCGUUGCCACCUUG CAGUCUGGUGUUUU	**185**	No significant phenotype.
	anti-sense	155	AAAACACCAGACUGCAAGGUGGCAACGA AGUCCUUCAACUUUGUUCCUUUUGUGUC AGCCUUGAUUUUUAGAGCCAGCUUAACA GCAGCAUCAAAAUACUCGGCCACUUUAAC AAAAUCUUCUUCGAGAAAACCCCGAGAU GUUAGGGCAGGUGU	**186**	
Methionine-tRNA ligase/syntha se (MtS)	sense	159	UGAACUACGAAGCAGGCAAAUUCUCCAA AAGUAAAGGCAUUGGAGUUUUUGGGAAU GACGCCAAGAAUUCUAAUAUACCUGUAG AAGUGUGGAGAUACUAUCUGCUAACAAA CAGGCCUGAGGUAUCAGACACAUUGUUC ACUUGGGCGGAUCUUCAAG	**187**	No significant phenotype.
	anti-sense	159	CUUGAAGAUCCGCCCAAGUGAACAAUGU GUCUGAUACCUCAGGCCUGUUUGUUAGC AGAUAGUAUCUCCACACUUCUACAGGUA UAUUAGAAUUCUUGGCGUCAUUCCCAAA AACUCCAAUGCCUUUACUUUUGGAGAAU UUGCCUGCUUCGUAGUUCA	**188**	

Example 30

201)This example illustrates polynucleotides which are designed to target a particular low sequence homology region and are useful *e. g.*, for selecting a specific allele of a target gene or a gene of a specific species. Polynucleotides designed to target non-coding sequence are useful in regulating non-coding RNAs that are involved in gene regulations, *e. g.*, regulating non-coding RNAs that are processed to siRNAs in an RNAi-regulated pathway. **Figure 34** depicts an alignment of the *Nicotiana benthamiana* PDS locus 1 promoter (**SEQ ID NO:319**) and PDS locus 2 promoter (**SEQ ID NO:320**); in the case of locus 1 which contains multiple transcription start sites, the promoter sequence used in this alignment is the one with the most 5' transcription start site. The *Nicotiana benthamiana* PDS1 and PDS2 genes were found to have low sequence homology in the promoter region but high sequence homology in the coding region.

202) Polynucleotides designed to target different parts of the PDS1 and PDS2 promoters are listed in **Table 21**.

Table 21

Mix	Poly-nucleo-tide	promoter target	Sequence	SEQ ID NO.	position/ dir
2	HL419	PDS promoter 1 motif target	TCCCATCTCCCACATGGGTTACTG	**189**	590-567
2	HL420	PDS promoter 1 motif target	CAGTAACCCATGTGGGAGATGGGA	**190**	567-590
2	HL421	PDS promoter 1 motif target	GGCTGATGAAATTCAAGTGCTA	**191**	557-536
2	HL422	PDS promoter 1 motif target	AAACTGAGCTTGGAAATAATC	**192**	517-497
2	HL423	PDS promoter 1 motif target	GAACCCAAAATTGTCACTTTTT	**193**	448-427
3	HL424	PDS promoter 1 motif target	ATGCACTTGTTTATACTCTTGTCA	**194**	403-438
3	HL425	PDS promoter 1 motif target	ATTTATTAGTGTTCTAAAGAA	**195**	357-337
3	HL426	PDS promoter 1 motif target	TGTAGTAGCTTATAAGATTAGCTT	**196**	287-264
3	HL427	PDS promoter 1 motif target	GTTGTCCCTTTTATGGGTCTTT	**197**	240-183
3	HL428	PDS promoter 1 motif target	CCCGTGCAATTTCTGGGAAGC	**198**	86-66
5	HL429	PDS promoter 2motif target	ATTAGTTTTTTATACACGAAAGAT	**199**	1313-1336
5	HL430	PDS promoter 2motif target	ATCTTTCGTGTATAAAAAACTAAT	**200**	1336-1313
5	HL431	PDS promoter 2motif target	TTGGTGGTTTGGCCACTTCCGT	**201**	1291-1270
5	HL432	PDS promoter 2motif target	TTTGTTTGCTATTTAGCTGGA	**202**	1256-1236
5	HL433	PDS promoter 2motif target	CAATTTGCAGCAACTCGCACTGGA	**203**	1205-1182
6	HL434	PDS promoter 2motif target	TCCCACCATTGGCTATTCCGAC	**204**	1156-1135
6	HL435	PDS promoter 2motif target	CTGTCTCTCTTTTTAATTTCT	**205**	1105-1085
6	HL436	PDS promoter 2motif target	CCACTTTGCACACATCTCCCACTT	**206**	1056-1033
6	HL437	PDS promoter 2motif target	GAGGATCCACGTATAGTAGTAG	**207**	1016-995
6	HL438	PDS promoter 2motif target	TTTAAATAAAGAAATTATTTA	**208**	889-869
1	HL439	PDS promoter1	TAATACGACTCACTATAGGGCTTGAGTT TATAACGAAGCT	**209**	
1	HL440	PDS promoter1	TAATACGACTCACTATAGGGCTTCTAAT TTTCAAGGACG	**210**	
1	HL441	PDS promoter1	AGCTTCTAATTTTCAAGGACGATA	**211**	Anti-sense
1	HL442	PDS promoter1	GTCATGTGACTCCACTTTGATTTTG	**212**	Anti-sense
1	HL443	PDS promoter1	CTCAATTCCGATAAATTTAAGAAAT	**213**	Anti-sense
1	HL444	PDS promoter1	CGAAGCTATTGGACCGACCTAATTTC	**214**	Sense

1	HL445	PDS promoter1	GGAATTGAGGGCTTCCCAGAAATTGC	**215**	Sense
1	HL446	PDS promoter1	ATGACTTTTTGATTGGTGAAACTAA	**216**	Sense
4	HL447	PDS promoter2	TAATACGACTCACTATAGGTGGAACTCC AACACACAAAAAATTTC	**217**	Sense
4	HL448	PDS promoter2	TAATACGACTCACTATAGGTTGAAAAAT AATCATAATTTTA	**218**	Anti-sense
4	HL449	PDS promoter2	GCATAATATATTGATCCGGTAT	**219**	Anti-sense
4	HL450	PDS promoter2	CTGAAAGTTCATACATAGGTACTC	**220**	Anti-sense
4	HL451	PDS promoter2	GGTACTCCAATTTTCAGTATAT	**221**	Anti-sense
4	HL452	PDS promoter2	CTGAAAATTGGAGTACCTATGTAT	**222**	Sense
4	HL453	PDS promoter2	ATGTATGAACTTTCAGAATATTATACC	**223**	Sense
4	HL454	PDS promoter2	TACCGGATCAATATATTATGCT	**224**	Sense

203)Six different combinations of polynucleotides (1 nanomole/plant of each applied polynucleotide) as listed in **Table 21** and illustrated in **Figure 35** were tested on 4-week-old *Nicotiana benthamiana* plants using a procedure similar to that described in **Example 12**. Polynucleotide solutions were prepared in 0.01% (v/v) Silwet L-77 and 2% (w/v) ammonium sulfate in 5 millimolar sodium phosphate, pH 6.8. Two fully expanded leaves per plant were dipped into 0.1% Silwet L-77 solution freshly made with ddH2O for a few seconds, and allowed to dry. About 30 minutes later, 20 microliters of polynucleotide solution was applied to each of the two pre-treated leaves. Positive control plants were similarly treated with a DNA oligonucleotide targetting a conserved segment of the coding region of PDS1 and PDS2; negative control plants were similarly treated with a DNA oligonucleotide designed to silence green fluorescent protein (GFP). All six combinations of polynucleotides designed to target the PDS1 or PDS2 promoter regions induced systemic silencing in the treated plants as evidenced by bleaching. Treatment with either dsRNA or dsDNA polynucleotides of approximately 200 bp and targetting the PDS1 or PDS2 promoter regions also induced systemic silencing in the treated plants as evidenced by bleaching.

204)The following additional genomic sequences (including promoter and transcribed intron and exon sequence) listed in **Table 22** were identified for *Amaranthus palmeri* genes for use in designing polynucleotides for topical application:

Table 22

Gene Name	Sequence	SEQ ID NO.
ACC1	TTCAAAATGAATTTAAAATTATATAAAAATCAATATGGACACAAGACCGGAT ATCAATCCGACCCGAAATAGTTGACTTGAAATCAACCTGATGACCCGAATGA ACACCTCTAGTTATCACTAACAAGGGTCAGATTGCGTACATCAAACCCCTCA AATCCTGCTTAGGTGGGAGCTTGTCAATGGCTTAGGGGTAACGGGAATGTGT GTGCTATGTACATTGTGCATCTATTCTTATGCTTATTTATGTTGAGTTAGTTTT TTTTTTGGATCAAATATAAAGAGCTTAACTTTTGTATTTTCTTGATGTGGTGT	**225**

	AGTGGTGATGAAGATCAGGCTGAGAGAATCTAAATTGGCCAAAATTCTGAG AGAACAAGAAGTGAGTTCAGCCCTTCGTGCTGCTGGTGTTGGTGTGATTAGT TGCATCATACAGAGAGATGAAGGGCGAACTCCGATGAGGCATTCATTCTATT GGTCAGCAGAAAAACAATATTATAGTGAGGAGCCTTTACTACGTCATTTGGA ACCCCCTCTATCTATGTATCTCGAGCTGGTACTAGTCTCTGAACCGATTGCCT TTCTTCTGCTTTGTTATTTTGTGTGATATTTCGACTTAAGTCTAATTTACATCG TTTTGTACATTTGTTATC	
ACC3	TTTTGCTTTTTTACTATTATTTCCTTCTTTTCAAGGATTTGAGTTGTTTATTGCT GACTGCTTCCTATGTATTACCCATATGTCTCTGTATAGGCATTACGGGAGCTG TACCTACATCTAACTCCTATACAACGTGTGAATATTGCCCGGCATCCTAATCG CCCCACTTTTCTTGACCACGTATTCAGCATCACAGAAAAGGTTTCTGATTTAT TATAATTTTTGTCATTTGTATTCACTCTTCAATAAAGTACATCCATTATCAAT CTTTACGGAGGTTGTTCACACAACTTCTTGTTTCATTTTGCATAATTAGTTTGT GGAACTACATGGAGATCGTGCTGGTTATGATGACCCTGCTATAGTTACTGGC CTTGGTACGATAGATGGTAGGCGTTATATGTTCATTGGTCATCAAAAGGGAA GAAATACGAAGGAAAATATTGCACGGAATTTCGGGATGCCTACTCCTCATGG GTAAATGCTTTACTATAATGTTTTACTTTAATTTAATTACCTATGTTATTTAGG ATGAAAATGAATACTTTTCTTATTACTATTACTTAGGTTCCTAATGCACAAAA ACCGTAATTATTAATGTACCCTAATGGAATTAACACATGGTAATTAAGCTCT CCGCTTTGTGTAATTAATCCAATTTTTTAGAGAGTCAAATAGTTCAGGTTAAA CTAGAGCTTTTCATACCCAAATAATAAAACCAAGGGTAAATTTCCAAAA	**226**
ACC4	ATGTGATCAATTAAAGAAAAAGTCTAATTATATGAGCCCGTCTCACAGTGAC GGAGCTATCATAGAGCCCATGGGGTCACGTGCCCTTCGGGGTTTTTAGAAAA AATTCAAAGTATACTTTTCTATTAATAAGAGTAAAAATGTAAAATTAATATT AAACTCTTTTGATAATAAATACTCTCTCACTTTAGTAATTTTGTCTTATTTATT TATTTTATCTCATGTGTTTAATAAGGTCAGTTGACTTATTTTGTTCCATTTTCT TTTATGGTATGCCGTATTTAAAATTTTAGCAAGTAAAGATAAAATAGTTGTT AATCTTACAAATAAAACTCTATCGAAATTTCATCCATTAGTTAATGTCCCCAA AAAGTCCGAACTACAAATCGACCACTGTCATCACATGGTGAGATAGTCTCAT ATAAAACGAGTTCAGTTATTAAAGGAAAATAGGAAACACGAAACAGTTAAT TTAGGCGGGGCCTATGTATTATCCAAATGTGATACTCCAGTCCACATTACTC AGTCCTTCCAATTGAACAGTTGGCTTAATCTACCAAGCGCGTGGCCATAAAT GCCTCTAACACTTTTCAATCTCTCAGATAACTCTCACACCACTTATCATCACA ATTCACAATTACTCTAATTCTTTTTATTCCTTTCCATGTCGCTAATTTTCTACT GATTCAGGTTTTATTCTCAGCTTTTATCAATTTTATTTCATGCTTTTTATGTCA ATTTCTTGTTTCGCATTTTGTCTTCCACTTGCTGTCTGTTTTATTAATCAATTTT GTATGATTGTTGGAATAATTGTATGTATTTTTCATGATTTTCCTCTTATGGAG GTTCATAATGTATTGCTAGATTTGTTTACTTTCAC	**227**
ACC5	AATTTGAGCGGGAAAATTTTAATATCATTAAATAGTCTTTGCTTTAGTATATA GAATAGTTAAAATTAATAGTCAAACTTATTGTAATAGCATGCACTAATCTAT AATAATCTTATCCTGAAAGCTATAATAAAATTATAAAAAAATATATGTGAAA AACTAATTTGAGCGGGAAAATTTTAACCAAGGGCTAACACGTATCATTAAAT AGTCTTTACTTTAGTATATAGAATGATAATTAACGATCATAAAACAAAATTG TCACTTTCAGTAGCAAACTTACAAAATGAGCAGAGTACCTCATATCATAAAA TTGCTTCTTTCTCATTTGTTGTGTTGCTCTCATTTTAGGAGTTCATCGTTTATA TCGTCGTCTTACCACTCAATCACTTTTAGATTTATTAGTAGCACTTCCTCAAT CTACAGCAGCAATTTCTACAGTTCAACAACCTC	**228**
ACC6	GGAAAATTTACCTAGAATAATCCAATTTATTCGTGATTTTTCTACAAATTCCA ACTTCAAGGGGTATTTGCCTAAAGTAATTAAACTTGGATACCCCGATGACCT GCTATAGTAGATAATTTACCAGAAAATTAAAAATGAAAATTAATTTAAAATT AGAGAAAAATTTTGAAATTTCATATAAAAAATTTTAAATAATAAAAAAAATA TAAATTTTTTTGAACATTTTATTTTAATCTATCTTTTTTGAAAAAATAAAACTT AGTTATAGCAAGTGATCTGGTCACCGGGTTTACTCTAGGAAAATATCCCTCA AAGTTGAGATTATTCATGGTTAATAAATAGGTGAGATTATTATAGAAAAATT ACGAATAAATTGGATTATTGTTGGTAATTTTTTTTTCAAAACTATCCCTAGGA AGGACCTTATTAGTGATTCTCCCTCTACTTTGGAGGAGTATATTGTGGACTTC CCATCTTCCTTAATTGTATTGTAACTTTTAACTATTGATTCTTTAAAAAAAAG AACTTATAAAATTGTAGGGTTAATAAAATCTAAGATTTTATCTAATTTCACTT TGATTATTCCGATTTTGTATTCACATTATTTTAAATGACATTCGTCAAATAAA AAAAAATAGTTTCATTGCATTCCAATTTTGTTGACTAGGGGGATTAAAGAAA	**229**

	GAATAGTATCAATAATCGTAATGTAGCAAGTAGTACAAAAGAAGTATATTTC AATATGTCAAACTTTGATCTCGTTGTAACTTGTAATTTGTACGATGCGGTGTG AATGACATACTTCACCTTTTTCATTATTTTATACTGGTAGTGACATGGGATTA TTATTGCGATATTTGCAGTAATGAAAATTTTTTTGGTTGTTGCTTTTACAAAC AAAAATTCTACCGAATTTTTTATTAATTTAATTCAACACGTTGGTGTTACCCA TGATTTATAGGTCTGGGTCCGCCACTGCTAGCTAACATTAAACAATTTAACA AACTCAATACACCAACCTAAAAATAAAATTTTTTTGGCCATAATTTTTAGAA TTTTAGTTTTTAAACATTATATTTGGGAATTTTTTTTCCTTTTATATATATAAA ATAAAAAAAAAATCCAAAAAAGGGGACACACATTAATACACACTTGAAAGCA TCGATGATATCGAAGAAAAACCAGATGGGGTGCCCAATTATCTTCGTCTCCT TCGATATTATCGAATTCATTAACAACATTATATCAAAAACCAACCAAATTAC CAACTTTCGAAACCAATATTCGCCGTATTTTTCTCTATTCAACAATCCCTACA ATGGCGGCATTGCCAGCTTCTTCTTCTCCTGCAATTTCGGAATCACCCACTTG CAATTTTCTTCCTATTCAAAAAATCACTACCACTCGCTTTCTAAGGTTTCATT CGGTTTTACTCCCAAGCCTAAATTTGGCCTTTTCTCCAAGGTTTATTTTCTATC TCTTTTTTAATTGGTTAATCAATTGGATTGTTGAATTTTTCAGGGTTTAACGG TATAATATTTGTGGGTTTTTTCGAGTACATTCTGGGTTTGTAGTATTGGATTT GGCATTGCTTTTAATTTTTGAGATTGGGTTTTTTGGGTTTTATTTGGTTCTTGT GATTCAAGGTTATTGATTTGCTGCATTAAACTGTATTTATGGAATGATGTCAA TTAACTGTTACATTACATTGCTTTATGGTTTTCATCATGCTGATTAGTGATTA CTGTGTTTGAATCTCTTGCTTCTCTATGTACTATTTAATCTGATACAACAAGT ACAACCTAGAAAACAGGTTAAAGGGAAATCTATAAGCTTAGTAAATTAACA CTTGAAAGAAGCTAATGACGGAGAGAGGGGTCTTTTTGGAGAAGGCAGTTTT CATATTATTGCTCAGTTCTCTAGTGCAGCTTTACTTCACTTAGACACTCTTAA GTAGAGGTCATAGGTGTTCAGAATAGATCCAAAGACCCGATATTTACCGGAC TTTGTAAACAACTTAACCCGACTTCAAAATGAATTTACAATCATATAAAAGC AATATGGACTTAAACCGATTTTGAACCGACCTTGACCGGTTGATCCGAATGA ATGCCTCTACTCTTAAGCATGTCAACTGTAATATGAAATAGAATTATAATAT AAACTAAGTTCATGTTTTCTTCAACTACAAATGAAATTTTATGACCCAAATA ATGTGTGAATACCCCCAGCAATAGGTTGAATGGCATTTAGTTCAGTTGATTTT AGCAGACCACATCTGCCCTCATATTCCATTGTTCAGTTTAGTTGTTAGTAGCT GTACATAATAGACTAATTAAGTTGTCATTTTGATCCATGTTATGGTTGTCTGG GATAAACGGATTGGAATTGTATAATAAAAGTTTGGGTTAGTTTATTTTGCTCT AGGAGGGGTTATGTCATATGTGCACTCTGTTGGCAACCCGACAATGCAAAAC ATTTTCATACTTGGTACGTTGTTGCGTGTTTTGTGCCCTTCGTATTTTGTAACT GTTGATGAATGTGTAAAAATATACTACATGATCATATGCTAGTAGGTCTTCTT CACCTAGTAAAGAAATTTTTCTAACACGAGAAGTTCAAAACATATTCCCATT ACCATTATCCAACATCAGTACCCGAGTCCAAGTAACATAGGGTGTCCCTTTA TGATAGTATAAGAATTGGTGCATGAAAAACGCGTGATTGTAGCGAGGATAG TAGGCGGGAGAGGTACAGGATTTGAAAATTTTGAATTGCTAAAACGCTATCA GGATCTTGTTTTTCTTACTTTGATGTTGCTTTTTTGAAATTTGATCCAAATTGT TAAATTATTGAGACTAATTCCTGTTGATCCTGTCGTGAACTTTGTAGAATCTT TCAGGCCGCATTCTCACAGTGAAGGCTCAATTAAACAAGGTGAGTCTTTTTT TGTCTTAACTCTTATGCAGTTCATTATCTCTTCTACTGATGAGAAAACCACTA TTTGGCCTAATTCTAATTTCCTTCTAGGTTGCTTTGGATGGTTCAAATCATGC TCCATCACCTTCGCACGAAAAATCTGGGCTACCAGCCCAAGAAAAGAAGAA CGATGAGCCGTCTAGTGAATCTTCTCCTGCAGCATCAGTGTCTGAAGAACGA GTCTCCGAATTCTTGAGCCAAGTTGCCGGTCTTGTCAAGTATGTAACATTCTT TATTTTCATTCTTCCACACACTCGCAATTTGGATAACGAGATGTCTTTAGAGA CGTCTGGGGAACAAGGGAGAAATGAGTCTAGAGGTTGCTAGAGAGAACGAG ATAAATACTAATATATATGAATATTTCATAATCCACATTAAAAAAATACAAT TGAATTTGCATTATGGTGAACTACCAAAGAATCGAATATTTTTTAATACTCCA TGTTTTGTGGTCTAGACTTGTGGATTCTAGAGACATTGTAGAGTTGCAATTAA AACAACTGGACTGTGAGATATTGATCCGCAAGCAGGAAGCTATTCCTCAACC ACAAATTCCTAATCCTACACATGTCGTTGCAATGCAACCACCACCACCTGCT GTAGCGTCTGCCCCAGCTCCCGTCTCTTCACCAGCCACTCCTCGTCCTGCGTT ACCTGCCCCAGCGCCTGCTGCCACGTCAGCTAAGCCATCACTTCCACCTCTC AAGAGCCCTATGTCAGGCACATTCTACCGTAGTCCAGCTCCTGGCGAGCCGC CTTTCGTGAAGGTAAGTGTATACCCCTTTTTTAGTGTTGTATTTCTGTGTTATA TCAATTTTTGCATTTTGTGAAGCTGAAAATAAATCTTTCATTTTCCATAGGTT	

	GGAGATAAAGTTAAGAAAGGACAAGTCATATGCATTATCGAGGCTATGAAG TTGATGAATGAAATCGAGGTACGTATGTTATTGCTTTAAACTTCATGCCTTAG GCCGTGAAGTT	
ALS1	ACAAAAAGCACAAATTCAATAATATACTCTTTAAGTTTGTTTATCTTCTAATT AGTTCGGTTAAAACGGTTCCCCACTTTCTTCTCCGACTCTCACAATTATCTTC CCCTATTCATTTTTCTTCCACCCTCTCTAATGGCGGCTGTTTCCTTCAATATCA ATGGTGGAAAGATTGGAACTTTATGTTCAAGACACGAATTCGTTTGTGGGTT TGTAAGAAAATTTCATTTTAGAACTCATACTTCTATATTTGAAAAACATATGC CAAAAACTTCAAGGTTTAAAGCAATGGAAGTTTCTGCAAATGCAACAGTAA ATATAGTTCCTGTTTCAGCTCATTCTAGGTAATTTTATTTCTCGAAAATTTCC GATTTACAATTAAATTAATCTTGTTTTGTAGGTAATGAATTGCAGAAGAAAT AGATGGATTCTTATTTGTTTATTGGTATTTGTTTATAAATTTTTGTTTATATTA GTTTCTGAATTGTGATTATTCTGATTGTATGTCAAGGTTTAGGTTGTTATTAA TAAATGTAAATTGGATTGATTGAAGTTGCAATAAGGTGATGGCGTGATGCTG ATTGTTGTAAATTTT	**230**
ALS2	CAACAATGAGAATTTAGAATCCATATCAATCTTGATATTCAAGGGTATTTAA GTAATTAAAGAACAACCATTGTTAAGCGCCTCCACTATCTTCTTCCTTCTCAT TCTCCATTCTCGCTTAGCTTTCCTCTCGCACTAATTACCTCCATTTGCAACCTT TCAAGCTTTCAACAATGGCGTCCACTTCTTCAAACCCACCATTTTCCTCTTTT ACTAAACCTAACAAAATCCCTAATCTGCAATCATCCATTTACGCTATCCCTTT GTCCAATTCTCTTAAACCCACTTCTTCTTCTTCAATCCTCCGCCGCCCCCTTCA AATCTCATCATCTTCTTCTCAATCACCTAAACCTAAACCTCCTTCCGCTACTA TAACTCAATCACCTTCATCTCTCACCGATGATAAACCCTCTTCTTTTGTTTCCC GATTTAGCCCTGAAGAACCCAGAAAAGGTTGCGATGTTCTCGTTGAAGCTCT TGAACGTGAAGGTGTTACCGATGTTTTTGCTTACCCTGGTGGAGCATCCATG GAAATCCATCAAGCTCTTACTCGTTCTAATATCATTAGAAATGTTCTTCCTCG ACATGAACAAGGTGGGGTTTTCGCTGCTGAAGGCTACGCTCGTGCTACTGGA CGCGTTGGAGTTTGTATTGCCACTTCTGGTCC	**231**
EPSPS1	ATTTGGATAACTTTTTCCTTTGATTCGAATCGGATTATTTTTAATACAGTATT ATGAACTGATTTAATGAAAGTGGAGGAAGTTTCAATTTTTAAAGTTGTAGGT GTAATGTTTTCTCATTTTGGATATGAAAGTGGAGGAAGTTTCAATTTCGAATC ATGTTTGCCAGTTGATTCAATGAATGCTCTTGGAAATGACCAAGAGTTCAAG GCTTCTTGTTATAAAACATTTCAATTTTGATCTAAGAATGAACTATTTAGAAC TTAAAGTAATTAAATTATTAGTTATAACTTATAAAAAAATTCAATTTTAACCT TAAATTTATAAATTATGACCTTAAAAAGATCAAGTATTGAACGCATATTTAG AAAAATTATAATTCGGCTTATCAGTCTCATATTGAGACGGTCTCGTCCAAGA CAAGTTGTATCATTTATATAATCAAATATAATTATGAGTGTATTCATGTAGGT TTCAACTTTAAAGCCTAGGTGAAAGATATGTTGTAGCATCTTTGTGAAAGTC AGCCTATAACTTGGTTCTAAAATTTTGAAGCATAACCATATAGTCCCTCGAA TTCATTCAAGTTGTCCAATTTACTTTTTTATACTTGCCGAGACAACATTTAAA CCCTTAATATTTCTAATTAATCTTAATTAAAAATTATGAAAATTTGATATTAA TAATCTTTGTATTGAAACGAATTTAACAAGATCTCACATGACTATGTTTTAAC TTATAGATTAAAAAAAAATACAAATTAAGAGTGATAAGTGAATAGTGCCCC AAAACAAATGGGACAACTTAGATGAATTGGAGGTAATATTAGGTAGCAAGT GATCACTTTAACATCAAAATTGATCACTTATAGGTTCAAATTGAAACTTTTAC TTTAATTGATATGTTTAAATACTACTTTAAATTGAAATTGATATTTTTAAGGT CAAAATTGAAACCTTTAAGATTATAATTGAAAATTGGCAGAAGAAAAACAA AGAGAAAGAATATAAGACACGCAAATTGTACCGATCTACTCTTATTTCAATT TGAGACGGTCTCGCCCAAGACTAGATGTTCGGTCATCCTACACCAACCCCAA AAAATTCAACAACAAAGTCTTATAATGATTCCCTCTAATCTACTACAGTCTA CACCAACCCACTTTCTCTTTGCCCACCAAAACTTTGGTTTGGTAAGAACTAAG CCCTCTTCTTTCCCTTCTCTCTCTCTTAAAAGCCTGAAAAATCCACCTAACTTT TTTTTAAGCCAACAAACAACGCCAAATTCAGAGAAAGAATAATGGCTCAAG CTACTACCATCAACAATGGTGTCCAAACTGGTCAATTGCACCATACTTTACC CAAATCCCAGTTACCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATTTTGGATCAAACTTG AGAATTTCTCCAAAGTTCATGTCTTTAACCAATAAAAAAGAGTTGGTGGGCA ATCATTCAATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTTGCTGCTGCAGCTGAGAAA CCTTCATCTGTCCCAGAAATTGTGTTACAACCCATCAAAGAGATCTCTGGTA CTGTTCAATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTTCTTTTAGCT GCTTTGTCTGAGGTATTTATTTCTCAACTGCGAAAACAATCTCTATTTGATAT	**232**

	TGGAATTTATATTACATACTCCATCTTGTTGTAATTGCATTAGTAGATACTTA TGTTTTGACCTTTGTTCATTTGTTTGTTGAATTGGTAGTGTTGAGAATTTGAAT GTAATTATTTGTTTTTCCATGTGAATTTAATCTGATTAAATCCACTTCTTATTT ATGTTAAGTTGCAATGATGTTTGCCAAATGGTTATCATTGAAGGATAAGTTT GCCTACTTTTGACCCTCCCAACTTCGCGGTGGTAGAGCCATTTTATGTTATTG GGGGAAATTAGAAAGATTTATTTGTTTTGCCTTTCGAAATAGTAGCGTTCGT GATTCTGATTTGGGTGTCTTTATAGATATGATATATGGGTTATTCATGTAATG TGTAGGTTTATGCATTATGTTGGATGCATGTCTGGTGTTATTGCTGTAAATGG ATGAATGTTGTTATTTGGAGACATTTTTTCATTCATTTTTTCCCTTTTTAATTG GAACTGGAAGAGGGAAAGTTATTGGGAGTAATTAAAAGGTTGTGAGTTCGA TACACTGCATCAAAGACGAAGAACTTGACATAGATGTTGAAGGCTAATCCTT ATCACTGCTTGAATTCAATATGTATCTGAAAATTTTACCCCTCTATATGCATC TGTTTTTGCTAATAAAGTGTTTTTGGACTATCATGTTTTGTGATGCTTAAGAG GGTGATATTACTGAGATAAATGGAAATATCAAAATAACATCTATTGTGAAGT	
EPSPS2	CAAGCTTCAATTATCGTTTTCAAAATAAGTATTTCAAAGTCTATAAAGATATT GTATAAGTTTTAGTTCAAATTTAATAAGTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT TGAAAATCCAAATTGAATAAGTTAATARTTAAATTATGACATATAATTATGA CATATAATTTGACCATGATATTTTACAATCTAACTTAATTTTGAACTTATTAT TTCTAATATTCAATTATCGTTCTAAAAATAAGTATTTAAATTGTATAGATATA TTGTATAACATTTAGTTCAAATTTAATTATTGATAGTTTTATTGACTATTTATT TGGKGTTTGAAATTCATCCATAGAATGATAGAATAACACCATTTTTTATATA ACTTCGTTCTAAAATTTTGAAGCATAACCATATACTCCCTCCAATTCATCCAA GTTGTCCAATTTACTTTTTCATACTTGCCGAGGCAACATTTAAACCCTTAATA TTTCTAATTAATGTTAATTAAAAATTATGAAAATTTGATATTAATAATCCTTG TATTGAAACAAATCTAACAAGATCCCACATGACTATGTTTTAACTTATAGAT TAAGAATAAAATACAAATTAAGAGTAATAAGTGAATAGTGTCCCAAAACAA ATAGGACAACTTGGATGAATTGGAGGTAGTATTAGGTAGCAAGTGATCACTT TAACATCAAAATTGATCAGTTACAGGTTCAAATTGAAACTTTTACTTTAATTG ATATGTTTAAATACTACTTTAAATTGAAATTGATATTCTTAAGGTCAAAATTG AAAACTTTAAGATTATAATTGAAAAATGCCCAGAAGATGAAAAAACAGAGA GAAAGCATGTAAGACACGCAAATTGAACCAGTCTACTCTTGTTTCAATTTGA GACGGTCTCGCCCAAGACCAGATGTTCAGTCATCCTACACCAACCCCAAAAA ATTCAACAACAAACTCTTATAATGATTCCCTCTAATCTACTAGAGTCTACACC AACCCACTTTCTCTTTGCCCACCAAAACTTTGGTTTGGTGAGAACTAAGCCCT CTTCTTTCCCTTCTCTCTCTTAAAAGCCTAAAACCCACCAACTTTTTCAGCCA AGAAACAACGCGAAATTCAGAGGAAGAATAATGGCTCAAGCTACTACCATC AACAATGGTGTCCATACTGGTCAATTGCACCATACTTTACCCAAAACCCAGT TACCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATTTTGGATCAAACTTGAGAATTTCTCCA AAGTTCATGTCTTTAACCAATAAAAGAGTTGGTGGGCAATCATCAATTGTTC CCAAGATTCAAGCTTCTGTTGCTGCTGCAGCTGAGAAACCTTCATCTGTCCCA GAAATTGTGTTACAACCCATCAAAGAGATCTCTGGTACTGTTCAATTGCCTG GGTCAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTTCTTTTAGCTGCTTTGTCTGAGGGC ACAACAGTGGTCGACAACTTGCTGTATAGTGATGATATTCTTTATATGTTGG ACGCTCTCAGAACTCTTGGTTTAAAAGTGGAGGATGATAGTACAGCCAAAAG GGCAGTCGTAGAGGGTTGTGGTGGTCTGTTTCCTGTTGGTAAAGATGGAAAG GAAGAGATTCAACTTTTCCTTGGTAATGCAGGAACAGCGATGCGCCCATTGA CAGCTGCGGTTGCCGTTGCTGGAGGAAATTCAAGTTATGTGCTTGATGGAGT ACCAAGAATGAGGGAGCGCCCCATTGGGGATCTGGTAGCAGGTCTAAAGCA ACTTGGTTCAGATGTAGATTGTTTTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGTTCGGG TCAATGCTAAAGGAGGCCTTCCAGGGGGCAAGGTCAAGCTCTCTGGATCGGT TAGTAGCCAATATTTAACTGCACTTCTCATGGCTACTCCTTTGGGTCTTGGAG ACGTGGAGATTGAGATAGTTGATAAATTGATTTCTGTACCGTATGTTGAAAT GACAATAAAGTTGATGGAACGCTTTGGAGTATCCGTAGAACATAGTGATAGT TGGGACAGGTTCTACATTCGAGGTGGTCAGAAATACAAATCTCCTGGAAAGG CATATGTTGAGGGTGATGCTTCAAGTGCTAGCTACTTCCTAGCCGGAGCCGC CGTCACTGGTGGGACTGTCACTGTCAAGGGTTGTGGAACAAGCAGTTTACAG GTATAATGTTAACCCTTACCCTTCACATTGTTCTGCTAAATTCTAGAGGACCC TTTCAATTCTGGGTGGGATAAGCACGGCAATTTGACCGCAAAAAAATTGCAA AATTATTCTGCTGATAGAACATCTCGAGATGAGATCATATTGAGTTTTGGCG TCAACATAAACCTAATCAAATAATGAAAAATACAAACATCATATGGTTTCTT	233

	TTGTCTTTATGACTAGACACTCTCTATTATTCCTTGATTGGGATCTTATTTGAA ATTGCTGTGTAGCCTACACCTCATGTTCAGATTTTGTTCGTATACCAGACTTT TCTTGATTGGGATCTTATTTGTCCCCTGGATTTTGCATAGGGTGATGTAAAAT TTGCCGAAGTTCTTGAGAAGATGGGTTGCAAGGTCACCTGGACAGAGAATA GTGTAACTGTTACTGGACCACCCAGGGATTCATCTGGAAAGAAACATCTGCG TGCTATCGACGTCAACATGAACAAAATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCA GTTGTTGCCTTGTATGCAGATGGGCCCACCGCCATCAGAGATGTGGCTAGCT GGAGAGTGAAGGAAACCGAACGGATGATTGCCATTTGCACAGAACTGAGAA AGCTTGGGGCAACAGTTGAGGAAGGATCTGATTACTGTGTGATCACTCCGCC TGAAAAGCTAAACCCCACCGCCATTGAAACTTATGACGATCACCGAATGGCC ATGGCATTCTCTCTTGCTGCCTGTGCAGATGTTCCCGTCACTATCCTTGATCC GGGATGCACCCGTAAAACCTTCCCGGACTACTTTGATGTTTTAGAAAAGTTC GCCAAGCATTGA	
GS3	TCTTAATTTGTATTTTATTATTAATCTATAAGTTAAAACATAGTCAAGTGAGA TCTTGTTTGATTCGTCTCTATGCAAGGATTTTCATATCAACTTTTCATAATTTT TGATTATACACAATTACAAATATTAACGAACGAATAAGTGCATTAAAAAGA GTGCAAAAAGCAAATGGGACACTTGTGTTGAATAGGAGGGAGTATACATTA AGATGAATCTAACGAGATCTCACATGGATATAATTTGTCTTCTATATATGTCT AAAAAATCTTGATCAAATTTCTCTTTCCAAAATAGAATATTCTAAATGGGAA GAACATTAAGAAACGGAGGGAGTACTTATAAGTTAAGATAGTTGGGGGTAT TTAGGTAAAAAAATCTATGCCAAAAGTAGAAAGTGGACAATTAGAGTGACT TTACTAAATAAGGAAAGTGGACATTTAAAATGAATCGGAGGGAGCATATTA ACTTTATTTTCAAAGTGTGAAACATAATCATATTTAGGTAAAAAAATTATCA ATTTAACGTCAAAATTGATCACAAATAGGTTAAAATTGAAATTTTTTATGTTA ATTGATCTATTGTTCACTTTAAATTGAAATTGATATCCTTTAAGGTTAAAATT AATACCTCTAAAATTAAAATTATTAAAGGCCCAGAAAATAAAAAAAAAAAGA AGACAGGCTATTAGTAAAATTATTAAGTATGTAAGGTTGATACACGCGCGAA TTGAGCCGGCCCACTTTTAGTTTCAATTTGAAACAGTCTCAATCAAGACCAA TTATTTATTATTTTATTATTTTATTGTTTTAAGCTCAATGGGTTGGACTTGATA AATTATATTTTGAGGAGACGGGCTATTAGTAAAATTAATAGTTGGAATCTTT TTTGATATACTATAAAAAGAGGTATCTGGTGGAGCCTTAAATCTGCGCAATT GAAGTCCTCAATACACATCTCGCTCTTCTTATTCTCTTTCATCTATTTCCTCCT TTGATCAAACTACGCCATGTCTCTCTTAAATGATCTCGTTAACCTTAATCTCT CTGAAACTACCGATAAGATTATCGCTGAATACATATGGTAATACAACAATCC TTCCTCTTTTTCATTT	**234**
GS5	AAAAAACCGTCTTATTTGTAGAAAATAAAAAACTAAAAAGTAGTATCAACTT TTAGACTAGTCATAAGTGAGTGGCATCAAACTTGTTCTATAAAAAGGGAAGA GTTCCTCAACTTGAGATTCATATTTTTTGTGATTTCTAAATAGAAGAACATAC TCATCTTCCACTTCTCTTATTCATCAAATTTTATTTGTTCCCCAAAAAAACAT GTCTCTTCTTACAGATCTCATCAATCTTAATCTTTCTGACTCCACTGAGAAGA TCATTGCTGAATACATATGGTCAGTTTTCATCCCTTTTTTTTACCTTTAATCCC ACTTTTTGTTTTTACCCACCATTTTTTTCATCTATTTTCTCTTAAAGATTTTAA CTTTTTACTTTTTTGTGTATATAACATTCATTTTTTCAATTGGGTAGGTTAGAA AATTTCTATAAATAAATAAATAAATNNNNNNNNNTACCTTAATCCCACTTTT TGTTTCTACCCACCATTTTTTTTCATCAATTTTTCTTAAAGATTTTAACTTTTTTT AACTTTTTCTTGGTTTTTGTGTATATACCAATCATTTATTTTCACTAGTGTAGG TTAAAAAATATCTAAAAATAAATAAAATAGAATAAAAATGTAATCACTAGA TTAACCCATGAATTATTTCCCTTGTTTTTACTCAAACTTTTTACCCTTGTTAAA AAAATAATGATATAAATAAATTTTTGAGGGTTTGTTAAACCCATATGTAATC TATATCGAAAAAATTAGATAGCGGGTTTTGTTGTGGACAAACTAAATAACAA ATTTAGGAATAAACTTTTGAGGGTTTATTGAAAAAATAACCCATATTTAATC TATATCGAAAAAATGATAGCGAGCTTTGTATAGAT	**235**
HPPD	CGTCGAAGTAGAAGACGCGGAAGCTGCTTTTAACATCAGCGTTTCGCATGGG GCTATTCCCTGTGTTTCTCCTATTCAATTGGAAAACGGTGTCGTTTTATCTGA GGTTCATTTATATGGGGATGTTGTGCTTCGGTATGTAAGCTACGGAAATGAA TGTGGGGATGTGTTTTTTCTTCCTGGGTTTGAGGAAATGCCGGAGGAATCAT CGTTTAGAGGACTTGATTTTGGCATTCGAAGGTTGGATCATGCTGTAGGGAA TGTCCCTGAGTTGGCTCCTGCAATTGCTTATTTGAAGAAGTTTACTGGGTTTC ATGAGTTTGCTGAGTTTACAGCTGAAGATGTTGGGACGAGTGAAAGTGGATT	**236**

	GAATTCAGCCGTATTGGCAAACAATGATGAAATGGTGTTGTTTCCGATGAAT GAACCTGTGTATGGGACAAAAAGGAAGAGCCAAATTCAAACTTATTTGGAG CATAATGAAGGGGCTGGTGTACAGCATTTGGCTTTGATGAGTGAAGACATAT TTTGGACTTTAAGGGAGATGAGGAAGAGAAGTGTTCTTGGTGGGTTTGAGTT TATGCCGTCGCCGCCTCCGACTTATTACCGGAATTTGAGGAACAGAGCTGCT GATGTATTGAGTGAGGAGCAGATGAAGGAGTGTGAAGAGTTGGGGATTTTG GTGGATAAAGATGATCAGGGCACTTTGCTTCAAATCTTCACCAAACCTATTG GAGACAGGTAAATTTTAATCTTGCTTTCAATTGCTTTTGCTTGATGGATTGAC TAGCAAATTTGATCGCATTTTGTTGCTTATATGACTTGATGATACTTCCTCTG TTTCGAAATACTCGCTACATTCGCTACATTTTGTTTTGTGCACTATTCATCGTT CAAGCTTATTTTACATATTGCGACTAATGTGTAACTAAAAATATAGTCAAGT GGGATCTTGTTTGAATCGTCTAATGGCATACTTTCATCATATTAAATTTTTAT AATTTTTAGATTAGTGTAGTTTAAGATATTAATGCTCAAAATTGTGCATTGGA TTGCGTAAAAAAGTGAAATGTAGCAAGTATTATGAAA	
PDS	AAAACCAAAGGAAATAAGTTATAGGTAGGAAAAATTGTTATTGAAGTTAAT GTAGTAAACTAGTAACTTAAACTGTGATACCCCGGATTTAGCTTAAAAAGAG ATTGATAGACTACTCATATCAACAAGGTGCATCTTCTTTTCTAGGGAGCCCAT TTGCTAAGAACTCTACAGTTAAGCGTGCTTGGTGGGGAGCAATCTTAGGATG GGTGACCTCCTGGGAAGTTTTCCTGGGTGCGCACGGGTGAGGCCAAAGTGCG TTAAAAAGACTTGTGTTGGTCTGTGGGGCTTGTCTACAGTCTCCATGAGTAGT CACCGGCGGTACGAGAGGCCGGGGTGTTACATAAACAGACTCAAAGGCGCT AAGCCAAGTAGCCAATAGCAACATGTGTGGCCTGCGGACAGTCACAAAAAC ACACAATTTCTTATTTTTACTCTCTTTTATCTCTTTTAGGCTTTAGCCATCAAC AATAAAACAACATGATAAAGCAATTCATTTACTGCTAAATTCCAACAATTTG GTCCCTTTTTCCTGTTCTTTCAGTTTCACATACCCTCTTATCAATCTATATCCA AAACTATTTCATTTTCCAAACTCTTTTAAACCCAAAAATCAAAACTTTTGATT GAAGAACAAACTTTGGGGGTTTTGGAAAATGAGTCATTTTGGATATGCTTGT GCTACTCAATCCACATCAAGATATGTTCTTTTAGGAAATTCAAATAACCCCA CTTCAATTTCATCTATTGGAAGTGATTTTTTGGGTCATTCTGTGAGAAATTTC AGT	237
PPOX	TGGTACCTACCCTGTTTACATTTTCAATTTCCCCCTTTTTTCTCTACTACTCCT ACTTTATTGATTCTTATCCATGTGTGTTCTATGGGAATTGACATTAATTGTTC AGGTGTGTATGCTGGTGATCCTTCTAAGTTGAGTATGAAAGCTGCATTTGGA AAGGTCTGGACCTTAGAGCAAAAGGGTGGTAGTATCATTGCCGGTACACTCA AAACTATTCAGGAAAGGAAGAATAATCCTCCACCGCCTCGAGACCCGTCCGT AATCACCATTACTCATTGCTTTCCTTCACCTTGTATCTTACCTTAATATACATG TATTTAATTGATAATGTCACATTGCCTCATTTGCAGCCGCCTTCCTAAACCTA AGGGCCAGACTGTTGGATCCTTTAGGAAAGGGCTCATTATGTTACCTACCGC CATTGCTGCTAGGTATCTTTTGACTCTCAAATCTTAAATATTTCTCATCTTCTC CTTCTGCTAATACTAGTATGTTTACCATCTTTTTATTTTTTTAGGCTTGGCAGT AAAGTCAAACTATCGTGGACACTTTCTAATATTGATAAGTCGCTCAATGGTG AATACAATCTCACTTATCAAACACCCGATGGACCGGTTTCTGTTAGGACCAA AGCGGTTGTCATGACTGTCCCTTCATACATTGCAAGTAGCCTGCTTCGTCCGC TCTCAGTGAGTATCATTCTTTCCTTCATTTCTTTTCGTTTATTGTTGTCCAATG TCTTGTTAAACACCAGTTTGGCCTTGTGCTCGTGAATTATGGCTACAATGTTA ACTGATTCAGGCACTGTGGGAGATGCCTAAGTTTCTAAAACCTCTGCGCATA ATGTTTGTTTGGATGTTAGGAATTGCATTGAAAAATTGCTTTTGTGATGTTGA TGTTAATACCAATTACAAGTGTGTTCTTCAACTTCTGCAATACCTTGTTCGAG TGAGCTTGAGGGGGTTTAGATTAGTGTCCAATGTGAAACTAGCAAATGAACT CCAAGCGCTGGGATAGGTCCTTGGGATGGAGCCCCTGATACCCAAGACAGT ATTCAAACCCTCTAAGTAGAGTGAGAGATCAAGGAAAGAAACTGGGTGGTT CCTCAAATCGTAAAAAATGAATACAGTGTCATGATTGCTAATCTTATCACAA ATCGTAAAAAATGAATTATGGTCGATTTTGGACTATTTTTGGGTCATTTTGAG TGAATCTCGAACTTAAAAAGCGAGTCTTCTAGCAGTTCTTGTTACAGCGGGG CATACATAGGTAGGAATTTGGTTTTTTACTATTTGAGCCTTTTGACTGTTGTG GCCGGTAATATGGAATAGTCTAGCACTTCTGCGTGTGTACAACTAGTATTTA TTGTAATTATGTGATCGCACTTAACTCTCAGATAAAACCTTAAGCACTAACA TTTTGTTTTGGTTGAAGGAATCAGGAGGAAAGAAAATTGAGGGATTTGTTGG TATATAGATTCCTTTGTTTGGATAACAAAATTGGAGTGGAGAGATTTGGAAG GAAGAATTTTATAGGGATTAGTTCCCATTACACTTATGTTGATTACAAAATTT	238

	CTCCAAAAGTGGAAAGATTTTGAGTGAAAATGTTTTTTATTTCTCTTCCTCTC CCTTTCTTTCCCTCTTAAACAAACAAGGAAAGTTAATCTTATCATTCCGTACC TTCCCCTTCTGTTCTTTTTTTTCTCTCCAAAATTCTTATCCTAACGTAGTGTTA TTGTCACTGTCTTATGAACGAGAATTCTTTTCTTCCTAATACTGCTTGTGTTGC ACAGTCAATGATTTAGCTAGATCATCTTTGGTTAGCTACTCAAAATATTTACA TAAAATACTTGTAGAAATAAATACCAATAGGTCTTGTCAAGAAGTAGTTTCA ATGCTATAAGTTTTAACCAATCCTCAAAATTTACACCATGGAGATATCTGCG GATAAGAACTAGTAACTGTAGCAGCTGTAACTGTTGCAATCAGTTTTATGGT TTGCCTTGCAAATCAAACTTTGGATGTTGTTTGCCTTACAATTTGTTACTATT ACGTGAAGTTTAGTGTTCGCCCTTCACATTGTACTTTGGTTTTTGTTTTCCTTG CAATTTGCTCTTTGAAGTATAAAGTGCTGAGTGCTGAGTGCTGAGTGCTGAC CTTTCCTGCTCAGGATGTTGCTGCAGATTCTCTTTCTCAATTTTACTATCCACC AGTCGCAGCAGTGTCCCTTTCTTATCCCAAAGAAGCAATTAGACCAGAATGC TTGATCGATGGAGAACTAAAAGGATTCGGGCAATTGCATCCTCGCAGCCAGG GTGTGGAAACCTTGGGTATATGCTCCCATTCAACTATATCTCAATTTTTATGA GTATTTTTCTTTCTCTGAATTATTCAATTTGGTGACGTTAAATTTTGATTGTAC TCGACAGGAACAATTTATAGTTCATCTCTTTTCCCTGGTCGAGCACCACCTGG TAGGACCTTGATCTTGAGCTACATTGGAGGTGCTACAAATGTTGGCATATTA CAAAAGGCAAGTCATTTATACAATTATATCTGTTGTATCCTCAAATAAGTGG GTATCAATCCTGACGACATGCTTGCTTGTATCGATGCAGAGTGAAGATGA	

Example 31

205)This example illustrates a polynucleotide sequence that regulates gene expression in more than one plant species. Two highly conserved regions in EPSPS sequences from different weed species were identified and shown as the "Region 1" and "Region 2" sequences in **Table 23**.

Table 23

Species/gene or consensus sequence	Region 1	SEQ ID NO:	Region 2	SEQ ID NO:
Euphorbia_heterophylla_1Contig1	AGTTTACAGGGAGATG TAAAGTT	**239**	TCGATGTGAACATGAACAAAA TGCCAGATGTCGCTATGACATT GGCTGTGGTTG	**251**
Euphorbia_heterophylla_2Contig1	AGTTTGCAGGGAGATG TGAAATT	**240**	TCGATGTGAATATGAACAAAAT GCCAGATGTTGCTATGACATTA GCTGTGGTTGC	**252**
Ambrosia_trifida_1Contig1	AGTTTACAGGGGGATG TAAAGTT	**241**	TCGATGTTAACATGAACAAAAT GCCAGATGTTGCCATGACGCTT GCAGTCGTTGC	**253**
velvetleaf_1Contig1	AGTTTGCAGGGTGATG TAAAATT	**242**	TTGATGTCAACATGAACAAAAT GCCAGATGTTGCCATGACTCTC GCTGTTGTTGC	**254**
Xanthium_strumarium_2Contig1	AGTTTGCAGGGTGATG TGAAATT	**243**	TTGATGTCAACATGAACAAAAT GCCTGATGTCGCAATGACTCTT GCTGTGGTTGC	**255**
Ipomoea_hederacea_1Contig1	AGTTTACAGGGGGATG TTAAGTT	**244**	TTGATGTCAACATGAACAAAAT GCCAGATGTTGCCATGACTCTT GCTGTAGTTGC	**256**
Chenopodium_album_1Contig1	AGTTTACAGGGTGATG TAAAATT	**245**	TTGATGTCAACATGAACAAAAT GCCAGATGTCGCAATGACTCTT GCTGTTGTTGC	**257**

Digitaria_sanguinalis_1Contig1	AGTTTGCAGGGTGATGTGAAATT	**246**	TTGACGTCAACATGAACAAAATGCCTGATGTCGCAATGACTCTTGCTGTGGTTGC	**258**
Senna_obtusifolia_1Contig3	AGTTTACAGGGAGATGTAAAATT	**247**	TTGATGTCAACATGAACAAGATGCCAGATGTTGCCATGACGCTTGCTGTAGTTGC	**259**
Waterhemp_EPSPS	AGTTTACAGGGTGATGTAAAATT	**248**	TCGACGTCAACATGAATAAAATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGC	**260**
Palmer_EPSPS	AGTTTACAGGGTGATGTAAAATT	**249**	TCGACGTCAACATGAACAAAATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGC	**261**
palmer_1Contig1	AGTTTACAGGGTGATGTAAAATT	**250**	TCGACGTCAACATGAACAAAATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGC	**262**

206)Table 24 lists 21-, 22-, 24-, 35-, 45-, and 55-mer dsRNA polynucleotide sequences designed based on the EPSPS consensus sequence for region 2, TNGANGTcAAcATGAAcAAaATGCCaGATGTNGCNATGACNcTtGCNGTNGTTGC (**SEQ ID NO:263**).

Table 24

Name	Sequence	SEQ ID NO:
Consensus_21mer dsRNA	Sense: AACAUGAACAAAAUGCCAGAU Anti-sense: AUCUGGCAUUUUGUUCAUGUU	**264** **265**
Consensus_22mer dsRNA	Sense: AACAUGAACAAAAUGCCAGAUG Anti-sense: CAUCUGGCAUUUUGUUCAUGUU	**266** **267**
Consensus_24mer dsRNA	Sense: CAACAUGAACAAAAUGCCAGAUGU Anti-sense: ACAUCUGGCAUUUUGUUCAUGUUG	**268** **269**
Consensus_35mer dsRNA	Sense: UCGACGUCAACAUGAACAAAAUGCCAGAUGUUGCU Anti-sense: AGCAACAUCUGGCAUUUUGUUCAUGUUGACGUCGA	**270** **271**
Consensus_45mer dsRNA	Sense: UCGACGUCAACAUGAACAAAAUGCCAGAUGUUGCUAUGACUCUUG Anti-sense: CAAGAGUCAUAGCAACAUCUGGCAUUUUGUUCAUGUUGACGUCGA	 **272** **273**
Consensus_55mer dsRNA	Sense: UCGACGUCAACAUGAACAAAAUGCCAGAUGUUGCUAUGACUCUUGCAGUUGUUGC Anti-sense: GCAACAACUGCAAGAGUCAUAGCAACAUCUGGCAUUUUGUUCAUGUUGACGUCGA	 **274** **275**

207) The EPSPS consensus dsRNA polynucleotides were synthesized by *in vitro* transcription and topically applied as crude RNA preparations. Glyphosate-resistant weeds (16-copy Palmer amaranth and horseweed) were treated with the six individual (21-, 22-, 24-, 35-, 45-, 55-mer) consensus dsRNAs; non-glyphosate-resistant weeds (waterhemp, sicklepod, crabgrass, morning glory, lambsquarter, Euphorbia) were treated with the three individual

shorter (21-, 22-, 24-mer) consensus dsRNAs. Following polynucleotide treatment glyphosate-resistant plants were treated with glyphosate (1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide) and non-glyphosate-resistant plants were treated with glyphosate (105 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide). At 7 days after treatment all six EPSPS region 2 consensus dsRNA polynucleotides were found to give 100% control (killed plants) of glyphosate-resistant Palmer amaranth; control Palmer amaranth plants treated with glyphosate alone were not killed. At 7 days after treatment, the three shorter (21-, 22-, 24-mer) EPSPS region 2 consensus dsRNA polynucleotides tested individually were found to give 95%, 80% and 65% control (combining killed and injured plants), respectively, of waterhemp; waterhemp plants treated with glyphosate alone gave about 40% control (combining killed and injured plants); and a mixture of all three shorter (21-, 22-, 24-mer) consensus dsRNA polynucleotides gave about the same control as glyphosate alone. The EPSPS region 2 consensus dsRNA polynucleotides did not cause an observable effect on the other weed species (horseweed, sicklepod, crabgrass, morning glory, lambsquarter, euphorbia) tested.

Example 32

208) This example illustrates use of a topical polynucleotide treatment for transiently silencing a gene in a plant to effect a desired phenotype. Silencing polyphenol oxidase in plant tissues inhibits browning of cut or damaged plant tissues, a valuable trait for fruits and vegetables where resistance to browning is a desirable trait.

209) Anti-sense DNA oligonucleotides with the sequences shown in **Table 25** were designed to target three polyphenol oxidase genes (PPO1, PPO2, and PPO3) from lettuce; the underlined text indicates T7 sequence that was included in the anti-sense polynucleotides.

Table 25

Anti-sense oligo-nucleotide	Sequence (5'-3')	SEQ ID NO.	Length
HH07	TAATACGACTCACTATAGGGCTTTATTGAATTTAGCTATGTAATC	**276**	45
HH09	TAATACGACTCACTATAGGGTTTATCAACCAAATGTGCAGC	**277**	41
HH11	TAATACGACTCACTATAGGGTTGTCTGTACATAATTGTGAGATTTGTGG	**278**	49

210) Three-week old lettuce plants (variety SVR3603 L4) were treated as follows. Two source leaves (leaves that are older and are ~60% of their mature size) on each plant were pre-treated with 0.1% (v/v) Silwet-L-77 and allowed to dry (~15 minutes). To each leaf

20 microliters of a mixture of the polyphenol oxidase anti-sense polynucleotides in a solution of 0.01% (v/v) Silwet L-77 and 2% (w/v) ammonium sulfate in 5 millimolar sodium phosphate, pH 6.8, were applied as small droplets; each plant was treated with 6.7 nanomoles of each of the three polynucleotides HH07, HH09, and HH11 (for a total of 20 nanomoles per plant). Control plants were treated either with an unrelated polynucleotide HH02-05 (anti-sense to phytoene desaturase) or with buffer (0.01% (v/v) Silwet L-77 and 2% (w/v) ammonium sulfate in 5 millimolar sodium phosphate, pH 6.8) alone.

211) Approximately 3 weeks after the topical polynucleotide treatment, "untreated" lettuce leaves (*i. e.*, not those treated with the topical polynucleotides) were cut from the lettuce head under water and incubated in a cup with 1.33 millimolar methyl jasmonate in 5% ethanol. Leaves were inspected for central rib browning and photographed every 24 hours. Samples were taken from the remaining plants and frozen for small RNA and mRNA analysis

212) Plants treated with the polyphenol oxidase anti-sense polynucleotides HH07, HH09, and HH11 showed significant reduction in central rib browning after treatment with methyl jasmonate. Plants treated with HH02-05 (anti-sense to phytoene desaturase) as a control showed a small reduction in central rib browning compared to the buffer-treated control.

Example 33

213) This example illustrates an herbicidal composition adapted for topical coating onto the exterior surface of a growing plant comprising surfactant and at least one plant lethal agent, the improvement wherein the plant lethal agent includes polynucleotides having a sequence essentially identical or complementary to sequence of a plant gene or sequence of the plant gene's transcribed RNA, the polynucleotides effecting systemic suppression of the plant gene. More specifically this example illustrates an herbicidal composition adapted for topical coating onto the exterior surface of a growing plant comprising surfactant and at least one plant lethal agent, the improvement wherein the plant lethal agent includes polynucleotides effecting suppression of the endogenous phytoene desaturase (PDS), 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), or ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase (RuBisCO) genes from *Nicotiana benthamiana.* This example also illustrates the use of topically applied polynucleotides to suppress a very highly expressed gene (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase) in a plant.

214) An anti-sense polynucleotide with the sequence CATCTCCTTTAATTGTACTGC (**SEQ ID NO:34**) was designed for the endogenous

Nicotiana benthamiana phytoene desaturase (PDS) gene, which has the cDNA sequence fragments

ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAATTCAGCTTATCTTTGGA
GCTCGAGGTCTTCGTTGGGAACTGAAAGTCAAGATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTG
GTAGTAGCGACTCCATGGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTG
ACAAAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCAGAGCTAGACAATACA
GTTAACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATCGTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCAT
TGGAGATTGTTATTGCTGGTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTG
GTCACAAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGCTGCATGGAAAGAT
GATGATGGAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAAC
CTGTTTGGAGAACTAGGGATTGATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATG
CCTAACAAGCCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGCCATTAAATGGA
ATTTTGGCCATACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGGCCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGA
CTCTTGCCAGCAATGCTTGGAGGGCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGAC
TGGATGAGAAAGCAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATGTCAAAGGC
ACTTAACTTCATAAACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCATTTTGATTGCTTTGAACAGATTTCTT
CAGGAGAAACATGGTTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCG
ATTGTGGAACATATTGAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAAGATCGA
GCTGAATGAGGATGGAAGTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATGGCAGTACAATTAAAGGAGATG
CTTTTGTGTTTGCCACTCCAGTGGATATCTTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCC
ATATTTCCAAAAGTTGGAGAAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTGACAG
AAAACTGAAGAACACATCTGATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCGTTGCTCAGTGTGTACGCTGA
CATGTCTGTTACATGTAAGGAATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACC
CGCAGAAGAGTGGATAAATCGTAGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCGA
AGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGGCAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTATCATGTTGTCA
AAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAACTGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCC
CTATAGAGGGTTTTTATTTAGCTGGTGACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTG
CTGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCACAAGCTATTGTACAGGATTACGAGTTACTTCTTGGCCGGA
GCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGTAGTTAGCATAGTGAACTAA (**SEQ ID NO:38**). Anti-sense polynucleotides with the sequences CTGTGATCATCATATGTATCA (**SEQ ID NO:279**), CCTTAACTCTCCAGCTAGCAA (**SEQ ID NO:280**), CAGCCCGCAAATGTTTCATTC (**SEQ ID NO:281**), GCCGTCAATGGCCGCATTGCT (**SEQ ID NO:282**), TCCTTCCCTCAGAAAGGGCAG (**SEQ ID NO:283**), and TTGCCTCATGCTGCTAATCTG (**SEQ ID NO:284**) were designed for the endogenous *Nicotiana benthamiana* 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) gene, based on the *Nicotiana benthamiana* EPSPS cDNA sequence

CTTATATGTGCTTAAGCCTAACGTGCACCCGGCCCCTTAACCCCAGCAGTTTTCAATCTACCTACCG
TCTCTACCATTTTCTTCTAGTTGGTGAAAATTTCTAACTTTGAGAAAACAAGCCAAAGTTTTTGTTT
CTAAGAACGCAAAATGAGTGAAATTTTTTGCAGCAATGGCACAGATTAGCAGCATGAGGCAAGGG

ATACAGACCCCTAATCTTAATTCCTATTTTCCTAAAACCCAAAAGGTTCCTCTTTTTTCGCATTCTA
TCTTCTTTGGATCAAAGAAAATAACCCAAAATTCAGCAAAATCTTTGTGGGTGTGTAAGAAAGATT
CAGTTTTGAGGGTGGCAAAGTCACCTTTTAGGATTTGTGCATCAGTGGCCACTGCACAGAAGCCCA
ACGAGATTGTGCTGCAACCCATCAAAGATATATCAGGCACTGTTAAATTGCCTGGTTCTAAATCCC
TTTCCAACCGTATTCTCCTTCTTGCTGCCCTTTCTGAGGGAAGGACTGTTGTTGACAATTTACTGAG
TAGTGATGACATTCATTACATGCTTGGTGCGTTGAAAACACTTGGACTTCATGTAGAAGATGACAA
TGAAAACCAACGAGCAATTGTGGAAGGTTGTGGTGGGCAGTTTCCTGTCGGCGAGAAGTCTGAGG
AAGAAATCCAACTATTCCTTGGAAATGCAGGAACAGCAATGCGGCCATTGACGGCAGCAGTTACT
GTAGCTGGAGGACATTCAAGATATGTACTTGATGGAGTTCCTAGGATGAGAGAGAGACCGAT
(**SEQ ID NO:285**),

CACTGACGTTGGATTAGAGGTAGGCTCCTTATATGTGCTTAAGCCTAACGTGCAGCCGGCCCCCAA
CCCCAGCAGTTTTCAATCTACCTACCGTCTCTACCATTTTCTTATAGTAGTTGAAAATTTCTAACTTT
GAGAAAACAAGCCAAAGTTTTGTTTCTAAGAACACAAAGGGAGTGAAATTTTTTGCAGCAATGGC
ACAGATTAGCAGCATGAGGCAAGGGATACAGACCCCTAATCTTAATTCCTATTTTCCTAAAACCCA
AAAGGTTCCTCTTTTTTCGCATTCTATCTTCATTGGATCAAAGAAAATAACCCAAAATTCAGCAAA
ATCTTTGTGGGTGTGTAAGAAAGATTCAGTTTTGAGGGTGGCAAAGTCACCTTTTAGGATTTGTGC
ATCAGTGGCCACTGCACAGAAGCCTAACGAGATTGTGCTGCAACCTATCAAAGATATATCAGGCA
CTGTTAAATTACCTGGTTCTAAATCCCTTTCCAATCGTATTCTCCTTCTTGCTGCCCTTTCTGAGGGA
AGGACTGTTGTTGACAATTTACTGAGTAGTGATGACATTCATTACATGCTTGGTGCATTGAAAACA
CTTGGACTTCATGTAGAAGATGACAATGAAAACCAACGAGCAATCGTAGAAGGTTGTGGTGGGCA
GTTTCCTGTCGGCAAGAAGTCTGAGGAAGAAATCCAACTATTCCTTGGAAATGCAGGAACAGCAA
TGCGGCCATTGACGGCAGCAGTTACTGTAGCTGGTGGACATTCTAGATATGTACTTGATGGAGTTC
CTAGGAT (**SEQ ID NO:286**), and

AAATTCTTGGTTCGAGGAGGTCAGAAGTACAAGTCTCCTGGAAAAGCATATGTTGAAGGAGATGC
CTCAAGTGCTAGCTACTTTTTGGCGGGTGCAGCTGTCACAGGTGGAACTGTCACTGTTGAAGGTTG
TGGAACAAGCAGTTTACAGGGGGATGTTAAGTTTGCTGAGGTCCTCGAAAAGATGGGGGCAGAAG
TTACATGGACAGAGAACAGTGTCACGGTTAAAGGACCTCCAAGGAACTCTTCTGGAATGAAACAT
TTGCGGGCTGTTGACGTTAACATGAACAAAATGCCAGATGTTGCCATGACTCTTGCTGTAGTTGCA
CTTTTTGCTGATAGTCCTACTGCCATAAGAGATGTTGCTAGCTGGAGAGTTAAGGAAACTGAGCGG
ATGATTGCCATATGCACAGAACTTAGGAAGTTGGGTGCAACAGTTGTAGAAGGGCCAGACTACTG
CATAATCACTCCACCTGAAAAGTTAAAAGTAGCGGAAATTGATACATATGATGATCACAGAATGG
CCATGGCTTTCTCTCTTGCGGCTTGTGCTGATGTTCCAGTCACCATTAAGGACCCCGGTTGTACTCG
CAAAACCTTCCCCAACTACTTTGACGTTCTCCAGCAGTATTCCAAGCATTAAACCACTTTCCATTAA
GAATTTTGAAAAAGAGAGACTTTGACAACAATGGTGTCATACCGGAAGAGAAAAGCTTTGATCCA
AGCTTTCAACTCCTTTTCATTTGTCATGTGATGATCATTGTATTTGTTGAAGTTGAGCTGCTTTTCTT
TTGTCCAGAAGACATGTATGGATACTATTACTATATAGTTAAGGTGAACTCAGCA (**SEQ ID NO:287**). Anti-sense polynucleotides with the sequences CCACATGGTCCAGTATCTGCC (AK195, RBCS_1-2-3-4, **SEQ ID NO:288**), CAAGCAAGGAACCCATCCATT (AK196, RBCS_1-2-3-4, **SEQ ID NO:289**), GGCCACACCTGCATGCATTGC (AK197, RBCS_1-2-3-4,

SEQ ID NO:290), GTGTTCACGGTAGACAAATCC (AK198, RBCS_1-2, **SEQ ID NO:291**), TGCACTGCACTTGACGCACGT (AK199, RBCS_1-2, **SEQ ID NO:292**), AACTGATGCATTGCACTTGAC (AK200, RBCS_3-4, **SEQ ID NO:293**), CAAATCAGGAAGGTATGAGAG (AK201, RBCS_3-4, **SEQ ID NO:294**), and TGTCAAGGTTTTGTTTCCTGG (AK202, RBCS_3-4, **SEQ ID NO:295**) were designed for the endogenous *Nicotiana benthamiana* ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase oxygenase (RuBisCO) gene, based on the *Nicotiana benthamiana* chloroplastic RuBisCO small chain 2A cDNA sequence fragments

GCAATGGCTTCCTCAGTTCTTTCCTCAGCAGCAGTTGCCACCCGCAGCAATGTTGCTCAAGCTAAC
ATGGTTGCACCTTTCACAGGTCTTAAGTCTGCTGCCTCATTCCCTGTTTCAAGAAAGCAAAACCTTG
ACATCACTTCCATTGCCAGCAACGGCGGAAGAGTGCAATGCATGCAGGTGTGGCCACCAATTAAC
ATGAAGAAGTATGAGACTCTCTCATACCTTCCCGATTTGAGCCAGGAGCAATTGCTCTCCGAAATT
GAGTACCTTTTGAAGAATGGATGGGTTCCTTGCTTGGAATTCGAGACTGAGAAAGGATTTGTCTAC
CGTGAACACCACAAGTCACCAGGATACTATGATGGCAGATACTGGACCATGTGGAAGCTACCTAT
GTTCGGATGCACTGATGCCACCCAAGTGTTGGCTGAGGTGGGAGAGGCGAAGAAGGAATACCCAC
AGGCCTGGGTCCGTATCATTGGATTTGACAACGTGCGTCAAGTGCAGTGCATCAGTTTCATTGCCT
CCAAGCCTGACGGCTAC (**SEQ ID NO:296**),

ACAATGGCTTCCTCAGTTCTTTCCTCAGCAGCAGTTGCCACCCGCAGCAATGTTGCTCAAGCTAAC
ATGGTTGCACCTTTCACTGGTCTTAAGTCAGCTGCCTTTTTCCCTGTTTCAAGGAAGCAAAACCTTG
ACATCACTTCCATTGCCAGCAACGGCGGAAGAGTGCAATGCATGCAGGTGTGGCCACCAATTAAC
AAGAAGAAGTACGAGACTCTCTCATACCTTCCTGATCTGAGCGTGGAGCAATTGCTTAGCGAAATT
GAGTACCTCTTGAAAAATGGATGGGTTCCTTGCTTGGAATTCGAGACTGAGCGCGGATTTGTCTAC
CGTGAACACCACAAGTCACCGGGATACTATGACGGCAGATACTGGACCATGTGGAAGTTGCCTAT
GTTCGGATGCACTGATGCCACCCAAGTGTTGGCCGAGGTGGAAGAGGCGAAGAAGGCATACCCAC
AGGCCTGGATCCGTATTATTGGATTCGACAACGTGCGTCAAGTGCAGTGCATCAGTTTCATTGCCT
ACAAGCCAGAAGGCTAC (**SEQ ID NO:297**),

CAAGCCAACATGGTTGCACCCTTCACTGGCCTCAAGTCCGCCTCCTCCTTCCCTGTTACCAGGAAA
CAAAACCTTGACATTACCTCCATTGCTAGCAATGGTGGAAGAGTTCAATGCATGCAGGTGTGGCCA
CCAATTAACATGAAGAAGTACGAGACACTCTCATACCTTCCTGATTTGAGCCAGGAGCAATTGCTT
AGTGAAGTTGAGTACCTTTTGAAAAATGGATGGGTTCCTTGCTTGGAATTCGAGACTGAGCGTGGA
TTCGTCTACCGTGAACACCACAACTCACCAGGATACTACGATGGCAGATACTGGACCATGTGGAA
GTTGCCCATGTTCGGGTGCACTGATGCCACTCAGGTGTTGGCTGAGGTCGAGGAGGCAAAGAAGG
CTTACCCACAAGCCTGGGTTAGAATCATTGGATTCGACAACGTCCGTCAAGTGCAATGCATCAGTT
TTATCGCCTCCAAGCCAGAAGGCTAC (**SEQ ID NO:298**), and

GGCTCAGTTATGTCCTCAGCTGCCGCTGTTTCCACCGGCGCCAATGCTGTTCAAGCCAGCATGGTC
GCACCCTTCACTGGCCTCAAGGCCGCCTCCTCCTTCCCGGTTTCCAGGAAACAAAACCTTGACATT
ACTTCCATTGCTAGAAATGGTGGAAGAGTCCAATGCATGCAGGTGTGGCCGCCAATTAACAAGAA
GAAGTACGAGACACTCTCATACCTTCCTGATTTGAGCGTGGAGCAATTGCTTAGCGAAATTGAGTA

CCTTTTGAAAAATGGATGGGTTCCTTGCTTGGAATTCGAGACTGAGCATGGATTCGTCTACCGTGA ACACCACCACTCACCAGGATACTACGATGGCAGATACTGGACGATGTGGAAGTTGCCCATGTTCG GGTGCACCGATGCCACTCAGGTCTTGGCTGAGGTAGAGGAGGCCAAGAAGGCTTACCCACAAGCC TGGGTCAGAATCATTGGATTCGACAACGTCCGTCAAGTGCAATGCATCAGTTTCATCGCCTACAAG CCCGAAGGCTAT (**SEQ ID NO:299**).

215)*Nicotiana benthamiana* plants were treated using a procedure similar to that described in **Example 12**. Polynucleotide solution (or mixed polynucleotides in the case of EPSPS and RuBisCO) were prepared in 0.01% (v/v) Silwet L-77 and 2% (w/v) ammonium sulfate in 5 millimolar sodium phosphate, pH 6.8. Two fully expanded leaves per plant were dipped into 0.1% Silwet L-77 solution freshly made with ddH2O for a few seconds, and allowed to dry. About 30 minutes later, 20 microliters of polynucleotide solution, was applied to each of the two pre-treated leaves. For PDS, each of 5 plants received 25 nanomoles of the PDS anti-sense polynucleotide (**SEQ ID NO:34**); for EPSPS, each of 5 plants received 50 nanomoles of each EPSPS anti-sense polynucleotide (**SEQ ID NOS:279-284**); and for RuBisCO, each of 5 plants received 50 nanomoles of each RuBisCO anti-sense polynucleotide (**SEQ ID NOS:288-295**). Paired control plants were treated with buffer (0.01% (v/v) Silwet L-77 and 2% (w/v) ammonium sulfate in 5 millimolar sodium phosphate, pH 6.8). The results measured as plant height at 12 days (PDS and EPSPS) or 10 days (RuBisCO) after treatment, are shown in **Figures 36A – 36B**. Plants treated with the PDS anti-sense polynucleotide displayed severe stunting (**Figure 36A**) and bleaching. Plants treated with the EPSPS anti-sense polynucleotides displayed severe stunting (**Figure 36B**) and severe damage to the meristem and stem tissues. Plants treated with the RuBisCO anti-sense polynucleotides displayed severe stunting (**Figure 36C**) and malformed apical tissues.

216)A second set of experiments was designed to investigate the effects of silencing a component of the endogenous RNAi silencing pathway in a plant. Argonaute (AGO) proteins are components of the RNA-induced silencing complex (RISC) which binds small RNAs in the RNAi silencing process. Suppression of Argonaute would be expected to reduce the observed phenotypic effect caused by an RNAi silencing process. AGO1 anti-sense polynucleotides with the sequences GGAGGCAAAATACGAGCCTCA (HL510, **SEQ ID NO:300**), CACTAATCTTAATACCAAACT (HL511, **SEQ ID NO:301**), TATGGGTCATTAGCATAGGCATTAT (HL512, **SEQ ID NO:302**), TCTCAAGAATATCACGCTCCC (HL513, **SEQ ID NO:303**), CCCTTGGGGACGCTGGCAGGTCAC (HL514, **SEQ ID NO:304**), TAATACGACTCACTATAGGGGGAGAGAGCTAGATCTTTTG (HL515, **SEQ ID NO:305**), TAATACGACTCACTATAGGCACAGTATTTCTTCCTCCAACC (HL516, **SEQ ID NO:306**),

TTGCTCATCTTAAATACATGT (HL517, **SEQ ID NO:307**), TCATCTTAAATACATGTTTTGTCA (HL518, **SEQ ID NO:308**), TTATCTTCAGGGATACATTAGC (HL519, **SEQ ID NO:309**), AATACTGCTTGCTCATCTTAAATA (HL520, **SEQ ID NO:310**), GACAATTCCAAGTTCAGTTTC (HL521, **SEQ ID NO:311**), CCGTTTTAGATCACCATAAAGAGA (HL522, **SEQ ID NO:312**), TTGTCTGGTAATATCACAATC (HL523, **SEQ ID NO:313**) were designed for the endogenous *Nicotiana benthamiana* Argonaute-1 (AGO1) gene, based on two *Nicotiana benthamiana* AGO1-2 partial cDNA sequences,

ATGGTGAGGAAGAGGAGAACTGAGTTACCTGGTTCTGGTGAGAGCTCTGGGTCTCAAGAAACTGG
CGGACAGGGTCGTGGCCAGCATCCACAGCAGCTGCACCAAGCTACCTCCCAGACTCCATATCAAA
CTGCAATGACTACTCAGCCAATACCTTATGCAAGACCAACTGAAACATCCTCCGAAGCTGGTTCCT
CATCTCAGCCACCTGAGCAGGCAGCTCTACAAGTGACACAACAGTTCCAGCAACTTGCTTTGCAAC
AAGAAGCGGCTACAACGCAAGCAGTTCCACCTGCATCAAGCAAATTACTAAGGTTTCCCCTGCGTC
CAGGGAAGGGGAGCAATGGTATGAGATGCATAGTCAAAGCCAATCACTTCTTCGCAGAGCTGCCT
GACAAAGACTTGCACCAGTATGATGTCACAATTTCTCCAGAGGTGTCATCACGTGGCGTCAACCGT
GCTGTCATGGCGCAACTGGTGAAGCTGTACCAAGAATCTCATCTTGGGAAGAGACTTCCAGCATAT
GATGGAAGGAAAAGTCTATACACTGCAGGGCCCCTTCCATTTGTTCAAAAAGACTTCAAAATAACT
CTTATTGATGATGAGGATGGGCCTGGTGGTGCTAGAAGGGAAAGGGAATTTAAAGTTGTGATCAA
ATTGGCTGCCCGTGCTGATCTTCATCACTTGGGAATGTTTTTAGAAGGGAAACAGGCTGATGCACC
TCAAGAGGCGCTTCAAGTTCTGGATATTGTTCTGCGTGAGTTGCCAACATCTAGGTTTTGTCCTGTG
GGTCGTTCTTTCTATTCCCGTGATTTAGGGCGAAAGCAACCATTGGGTGAAGGTTTAGAAAGTTGG
CGTGGGTTCTATCAAAGCATTCGCCCCACACAAATGGGCTTATCACTGAACATCGATATGTCTTCC
ACTGCATTCATTGAGCCACTGCCAGTCATTGATTTTGTGACACAGCTTCTGAACCGAGATGTGCCA
TCTAGACCACTGTCTGATGCTGGCCGTGTAAAGATAAAAAAAGCTCTGAGAGGTGTGAAGGTGGA
GGTTACTCATCGTGGAAATATGCGGAGGAAGTACCGCATTTCGGGTTTAACATCTCAAGCAACAA
GAGAGTTGACCTTCCCTGTTGATGAAAATGGTACAGTGAAATCTGTAATTGAGTATTTTCGAGAAA
CATATGGGTTTGTAATTCAGCATACTCAGTGGCCTTGTCTACAAGTTGGAAATCAGCAGAGACCTA
ATTACTTGCCAATGGAAGTCTGCAAGATTGTGGAGGGACAAAGGTACTCAAAGCGCTTGAATGAG
AGACAGATTACTGCACTTCTGAAAGTGACCTGCCAGCGTCCCCAAGGGAGGGAGCGTGATATTCTT
GAGACCGTACATCATAATGCCTATGCTAATGACCCATATGCCAAGGAGTTTGGTATTAAGATTAGT
GACAAGTTGGCACAAGTTGAGGCTCGTATTTTGCCTCCACCTCGGCTTAAATATCATGATAACGGT
CGAGAAAAGGACTGCCTGCCACAAGTTGGCCAATGGAATATGATGAATAAGAAAATGGTAAATGG
AGGGACGGTGAACAATTGGATCTGCATAAACTTCTCTCGCAATGTGCAAGATAGTGTTGCTCATGG
GTTTTGCTCTGAGCTTGCACAAATGTGCCAGATATCTGGCATGAATTTCAATCCAAATCCTGTTCTG
CCACCTTCGAGTGCACGCCCTGATCAGGTCGAAAGAGTATTGAAAACTCGATTTCATGATGCTATG
ACTAAGTTGCAGCTGCATGGGAGAGAGCTTGATTTGCTAGTTGTCATCTTGCCAGACAATAATGGA
TCTCTTTATGGTGATCTGAAGCGCATTTGTGAGACTGAACTAGGAGTCGTCTCACAGTGCTGTTTG
ACAAAACATGTATTTAAGATGAGCAAACAGTATCTAGCCAATGTAGCGCTGAAAATCAATGTGAA
GGTGGGAGGGAGAAACACTGTGCTTGTTGATGCAATATCGAGGCGAATTCCTCTTGTCAGCGACC
GGCCTACCATCATTTTTGGTGCAGATGTCACCCACCCTCACCCTGGGGAGGACTCTAGCCCATCCA

TTGCCGCGGTGGTTGCTTCTCAAGATTGGCCTGAGATTACAAAGTATGCTGGTCTAGTTTCTGCTCA
AGCCCATAGGCAAGAGCTTATTCAGGATCTGTACACGACTAGGCAAGATCCTGTTAAGGGGACAG
TTGCTGGTGGAATGATTAAGGACTTACTTATATCCTTCCGAAGAGCTACTGGACAAAAGCCCCAGA
GAATAATTTTCTATAGGGATGGTGTTAGTGAAGGACAATTTTATCAAGTGCTTCTGTTCGAACTTG
ATGCGATCCGCAAAGCATGTGCGTCTTTGGAGCCAAATTATCAGCCCCCAGTCACATTTGTTGTGG
TTCAGAAACGACATCACACAAGGCTTTTTGCCAATAACCACCGTGACAGAAATGCAGTTGACAGG
AGCGGGAACATTATACCTGGTACTGTTGTAGATTCAAAGATATGCCACCCGACAGAGTTTGATTTC
TATCTTTGTAGCCATGCCGGCATACAGGGTACGAGCCGTCCAGCTCACTACCATGTTCTATGGGAC
GAGAACAAATTCACAGCCGATGCGCTGCAGTCTTTGACCAACAACCTCTGCTATACATATGCAAGG
TGCACGCGTTCCGTCTCCATCGTTCCCCCTGCATATTATGCACATTTGGCAGCTTTCCGTGCTCGAT
TTTATATGGAGCCGGAGACATCTGACGGTGGTTCAGTAACAAGTGGGGCTGCTGGTGGCAGAGGG
GGTGGTGCAGGAGCTGCTGGAAGGAACACCCGAGCCCCAAGTGCTGGTGCTGCTGTTAGACCTCT
TCCTGCGCTCAAGGATAATGTGAAGAGGGTTATGTTCTACTGC (**SEQ ID NO:314**) and
CACCTATCACTCTCTTTCTCTCTCTACAAACATATCGTGCCGTTTCTCTCTCGGCCTCTCTTCGTGTT
TTAGGGCACCGTGGTGGTTGGTATCCAGGCGGCGGTTTTGAGTTATTACCATGGTGCGGAAGAAGA
GGACTGATGTTCCTGGTGGTGCTGAGAGTTTTGAGTCCCATGAAACTGGAGGGGCACGAGGTGGT
GCCCAACGCCCATCACAGCAGCAGCAACATCAGCATCAGCAAGGCGGAGGAAGAGGCTGGGCAC
CTCAGCATGGAGGACATGGTGGCCGTGGTGGTGGGGGGAGCTCCACGTGGTGGAATGGCCCCTCAA
CAATCCTATGGTGGACCTCCTGAATACTACCAACAGGGCAGGGGAACTCAACAGTATCAACGAGG
TGGAGGACAACCCCAGCGCCGTGGTGGCATGGGGGGCCGTGGGGCACGGCCACCAGTACCCGAGC
TGCACCAAGCAACCCAGACTCCACATCAGCCTGTACCATATGGAAGACCATCAGAAACATACTCA
GAGGCTGGTTCCTCGTCTCAGCCACCTGAACCAACGACACAGCAAGTGACTCAGCAATTCCAGCA
ACTTGTTGTGCAGCCAGAAGCAGCTGCAACCCAAGCAATACAACCAGCATCGAGCAAGTCGATGA
GGTTTCCACTCCGGCCAGGAAAGGGTAGTACTGGTATTAGATGCATAGTTAAGGCCAATCACTTCT
TTGCCGAGTTACCTGACAAAGATCTGCACCAGTATGATGTTTCAATTACTCCTGAGGTCGCCTCTC
GGGGTGTCAACCGGGCCGTCATGGAGCAGCTGGTGAAGCTTTATAGAGAATCCCATCTTGGGAAG
AGGCTTCCAGCCTATGACGGAAGAAAAAGTCTATACACAGCAGGGCCCCTCCCTTTTGTTCAAAAG
GATTTTAAAATCACTCTAATTGATGATGATGATGGACCTGGTGGTGCTAGGAGGGAAAGAGAGTTT
AAAGTTGTGATCAAGCTGGCGGCTCGTGCTGATCTTCATCACTTGGGGATGTTCTTACAAGGGAGA
CAGGCTGATGCACCGCAAGAAGCACTTCAGGTGCTGGATATTGTGCTACGTGAGTTGCCAACATCT
AGGTATTGTCCTGTGGGCCGCTCTTTCTATTCCCCTCATTTAGGACGAAGACAACCACTGGGTGAA
GGTTTAGAGAGCTGGCGTGGCTTCTATCAAAGTATTCGTCCTACACAGATGGGATTATCCCTGAAT
ATTGATATGTCTTCCACGGCTTTCATTGAGCCACTGCCGATTATTGACTTCGTGAGCCAGCTTCTGA
ATCGGGATATCTCTTCTAGACCACTGTCTGATGCTGACCGCGTTAAGATAAAGAAGGCACTGAGAG
GTGTAAAGGTGGGGGTCACTCATCGTGGAAATATGCGGAGGAAGTATCGCATTTCTGGCTTGACGT
CTCAAGCAACAAGAGAGTTGACTTTTCCTGTCGATGAAAGGGGTACGATGAAAGCTGTTGTGGAA
TATTTTCGGGAAACCTATGGTTTTGTCATTCGGCATACCCAGTGGCCTTGTCTTCAAGTTGGAAATA
CGCAGAGGCCAAATTACTTGCCAATGGAAGTATGTAAGATTGTAGAGGGACAGAGATACTCAAAG
CGCTTGAATGAGAGGCAGATAACAGCACTTCTAAAAGTGACCTGCCAACGTCCTCAAGAGAGAGA
ACGTGATATTCTTCAGACTGTTCATCACAATGCTTATGCTGATGACCCATATGCGAAGGAGTTTGG

TATTAAGATCAGTGAGGAGCTTGCTCAAGTTGAGGCTCGCGTTTTGCCTGCACCTTGGCTTAAATA
CCATGATACAGGTCGAGAGAAAGACTGTCTGCCACAAGTGGGCCAGTGGAATATGATGAATAAGA
AAATGGTTAATGGAGGAACAGTGAACAACTGGATCTGTGTAAACTTTTCTCGCAATGTGCAAGAC
ACAGTTGCACGTGGATTTTGTTCCGAGCTTGCACAAATGTGCATGATATCCGGAATGAACTTCAAT
CCCAATCCTGTTCTACCACCAGTGAGTGCTCGCCCTGATCAAGTTGAGAGAGTCTTGAAAACTCGA
TTTCACGATGCTATGACAAAGTTGCAGCCAAATGGGAGAGAGCTAGATCTTTTGATTGTGATATTA
CCAGACAATAACGGCTCTCTTTATGGTGATCTAAAACGGATTTGTGAAACTGAACTTGGAATTGTC
TCACAATGCTGCTTGACAAAACATGTATTTAAGATGAGCAAGCAGTATTTAGCTAATGTATCCCTG
AAGATAAATGTGAAGGTTGGAGGAAGAAATACTGTGCTGGTTGATGCGCTCTCTAGACGAATTCC
CCTTGTCAGCGACCGCCCAACTATCATTTTTGGTGCAGATGTCACCCATCCCCACCCTGGGGAGGA
TTCTAGCCCGTCAATTGCTGCGGTGGTTGCTTCTCAAGATTGGCCTGAAATTACAAAGTATGCTGG
TTTGGTTTCTGCTCAAGCGCATAGGCAAGAGCTTATACAAGATCTGTACAAGACTTGGCAAGATCC
AGTTAGAGGACCTGTGACTGGTGGCATGATAAAGGAATTACTTATTTCCTTCCGTCGAGCAACTGG
ACAGAAGCCGCAGAGAATTATATTCTACAGAGATGGTGTTAGTGAAGGACAATTTTACCAAGTTCT
TCTTTTTGAACTTGATGCAATCCGCAAGGCATGTGCATCTTTAGAACCCAACTATCAGCCCCCGGTT
ACGTTTGTTGTGGTCCAGAAACGGCATCATACTAGGTTGTTTGCCAATAACCACCACGACAGAAAT
GCAGTTGATCGGAGTGGGAACATTTTGCCTGGTACCGTTGTAGATTCAAAGATATGCCACCCTACT
GAATTTGATTTCTATCTCTGTAGCCATGCCGGCATACAGGGTACTAGCCGCCCAGCTCATTATCAT
GTTCTGTGGGATGAGAACAATTTTACTGCTGACGCCCTGCAGTCTTTGACTAACAATCTTTGCTATA
CATATGCTAGGTGTACTCGTTCTGTCTCCATTGTTCCACCAGCATATTATGCACATTTGGCAGCTTT
CCGTGCTCGGTTTTACATGGAGCCAGAGACATCTGATAATGGATCAGTCACAAGCGCAGCTGCTTC
AAACAGAGGAGGTTTAGGAGCTATGGGAAGGAGCACGCGAGCACCAGGTGCTGGTGCTGCTGTAA
GGCCCCTTCCTGCTCTCAAGGAGAATGTTAAGAGGGTTATGTTTTATTGT (**SEQ ID NO:315**).

217)*Nicotiana benthamiana* plants were treated using a procedure similar to that described in **Example 12**. Polynucleotide solution (or mixed polynucleotides in the case of AGO1) were prepared in 0.01% (v/v) Silwet L-77 and 2% (w/v) ammonium sulfate in 5 millimolar sodium phosphate, pH 6.8. Two fully expanded leaves per plant were dipped into 0.1% Silwet L-77 solution freshly made with ddH2O for a few seconds, and allowed to dry. About 30 minutes later, 20 microliters of polynucleotide solution was applied to each of the two pre-treated leaves. For PDS, each of 5 plants received 25 nanomoles of the PDS anti-sense polynucleotide (**SEQ ID NO:34**); for AGO1, each of 5 plants received 50 nanomoles of each of the 14 AGO1 anti-sense polynucleotides (**SEQ ID NOS:300-313**); for PDS and AGO combined treatments, each of 5 plants received 25 nanomoles of the PDS anti-sense polynucleotide (**SEQ ID NO:34**) and 50 nanomoles of each of the 14 AGO1 anti-sense polynucleotides (**SEQ ID NOS:300-313**) applied on separate leaves. Paired control plants were treated with buffer (0.01% (v/v) Silwet L-77 and 2% (w/v) ammonium sulfate in 5 millimolar sodium phosphate, pH 6.8). No difference was observed between plants treated

with the AGO1 anti-sense polynucleotides and the plants treated with buffer alone. Plants treated with the PDS anti-sense polynucleotide displayed systemic bleaching. Plants treated with both the PDS anti-sense polynucleotide and the separately applied AGO1 anti-sense polynucleotides did not display systemic bleaching, indicating that suppression of AGO1 blocked the systemic spread of the silencing signal.

Example 34

218) This example illustrates a method for inducing systemic regulation of a target endogenous gene in a growing plant comprising topically coating onto leaves of said growing plant polynucleotides having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either said target endogenous gene or messenger RNA transcribed from said target endogenous gene, whereby said polynucleotides permeate the interior of said growing plant and induce systemic regulation of said target endogenous gene. More specifically this example illustrates use of a composition comprising surfactant and polynucleotides to at least transiently induce systemic regulation of the endogenous *Zea mays* 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) gene.

219)A genomic sequence of the endogenous *Zea mays* 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS) gene was identified as

ACCTACTTCCCCCTCGCCCCTCTCATGGTCTCTCTCGCGCCCAGATCTGCTACTAGACGGCACCGCT
GCAGCGCGTCGTGTCGCGGGGGTTGGTGGCAGGCAGCGAGAGCTTGCCGTTCCTCTCTCTCAGTTG
TCAGGTCCTAGGCTCACCTCACCGGCTCCCAGCCCGCTTCTATTTCTTCCTCCCCGACCCCGTGCAG
GTGGCAGTCCAGTCCACGCCACCAACCGCGAGGCGAACCAAACCAACCCACTCTCCCCAACCCCG
CGCGCCCAGGCCGCCCGCCCTACCAACCATCGGCGTCGGCAATGGCGGCCATGGCGACCAAGGCC
GCCGCGGGCACCGTGTCGCTGGACCTCGCCGCGCCGCCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCGGTGCA
GGCGGGTGCCGAGGAGATCGTGCTGCAGCCCATCAAGGAGATCTCCGGCACCGTCAAGCTGCCGG
GGTCCAAGTCGCTTTCCAACCGGATCCTCCTGCTCGCCGCCCTGTCCGAGGTGAGCGATTTTGGTG
CTTGCTGCGCTGCCCTGTCTCACTGCTACCTAAATGTTTTGCCTGTCGAATACCATGGATTCTCGGT
GTAATCCATCTCACGATCAGATGCACCGCATGTCGCATGCCTAGCTCTCTCTAATTTGTCTAGTAGT
TTGTATACGGATTAATATTGATAAATCGGTACCGCAAAAGCTAGGTGTAAATAAACACTAGAAAA
TTGGATGTTCCCCTATCGGCCTGTACTCGGCTACTCGTTCTTGTGATGGCATGCTGTCTCTTCTTGGT
GTTTGGTGAACAACCTTATGAAATTTGGGCGCAAAGAACTCGCCCTCAAGGGTTGATCTTATGCCA
TCGTCATGATAAACAGTGGAGCACGGACGATCCTTTACGTTGTTTTTAACAAACTTTGTCAGAAAA
CTAGCATCATTAACTTCTTAATGACGATTTCACAACAAAAAAAGGTAACCTCGCTACTAACATAAC
AAAATACTTGTTGCTTATTAATTATATGTTTTTTAATCTTTGATCAGGGGACAACAGTGGTTGATAA
CCTGTTGAACAGTGAGGATGTCCACTACATGCTCGGGGCCTTGAGGACTCTTGGTCTCTCTGTCGA
AGCGGACAAAGCTGCCAAAAGAGCTGTAGTTGTTGGCTGTGGTGGAAAGTTCCCAGTTGAGGATT

CTAAAGAGGAAGTGCAGCTCTTCTTGGGGAATGCTGGAACTGCAATGCGGCCATTGACAGCAGCT
GTTACTGCTGCTGGTGGAAATGCAACGTATGTTTCCTCTCTTTCTCTCTACAATACTTGCTGGAGTT
AGTATGAAACCCATGGGTATGTCTAGTGGCTTATGGTGTATTGGTTTTTGAACTTCAGTTACGTGCT
TGATGGAGTACCAAGAATGAGGGAGAGACCCATTGGCGACTTGGTTGTCGGATTGAAGCAGCTTG
GTGCAGATGTTGATTGTTTCCTTGGCACTGACTGCCCACCTGTTCGTGTCAATGGAATCGGAGGGC
TACCTGGTGGCAAGGTTAGCTACTAAGGGCCACATGTTACATTCTTCTGTAAATGGTACAACTATT
GTCGAGCTTTTGCATTTGTAAGGAAAGCATTGATTGATCTGAATTTGATGCTACACCACAAAATAT
CCTACAAATGGTCATCCCTAACTAGCAAACAATGAAGTAATACTTGGCATGTGTTTATCAAATTAA
TTTCCATCTTCTGGGGCATTGCCTGTTTTCTAGTCTAATAGCATTTGTTTTTAGCATTAATTAGCTCT
TACAATTGTTATGTTCTACAGGTCAAGCTGTCTGGCTCCATCAGCAGTCAGTACTTGAGTGCCTTGC
TGATGGCTGCTCCTTTGGCTCTTGGGGATGTGGAGATTGAAATCATTGATAAATTAATCTCCATTCC
CTACGTCGAAATGACATTGAGATTGATGGAGCGTTTTGGTGTGAAAGCAGAGCATTCTGATAGCTG
GGACAGATTCTACATTAAGGGAGGTCAAAAATACAAGTAAGCTCTGTAATGTATTTCACTACTTTG
ATGCCAATGTTTCAGTTTTCAGTTTTCCAAACAGTCGCATCAATATTTGAATAGATGCACTGTAGA
AAAAAAATCATTGCAGGGAAAAACTAGTACTGAGTATTTTGACTGTAAATTATTTTACCAGTCGGA
ATATAGTCAGTCTATTGGAGTCAAGAGCGTGAACCGAAATAGCCAGTTAATTATCCCATTATACAG
AGGACAACCATGTATACTATTGAAACTTGGTTTATAAGAGAATCTAGGTAGCTGGACTCGTAGCTG
CTTGGCATGGATACCTTCTTATCTTTAGGAAAAGACACTTGATTTTTTTTTTCTGTGGCCCTCTATG
ATGTGTGAACCTGCTTCTCTATTGCTTTAGAAGGATATATCTATGTCGTTATGCAACATGCTTCCCT
TAGCCATTTGTACTGAAATCAGTTTCATAAGTTCGTTAGTGGTTCCCTAAACGAAACCTTGTTTTTC
TTTGCAATCAACAGGTCCCCTAAAAATGCCTATGTTGAAGGTGATGCCTCAAGCGCAAGCTATTTC
TTGGCTGGTGCTGCAATTACTGGAGGGACTGTGACTGTGGAAGGTTGTGGCACCACCAGTTTGCAG
GTAAAGATTTCTTGGCTGGTGCTACAATAACTGCTTTTGTCTTTTTGGTTTCAGCATTGTTCTCAGA
GTCACTAAATAACATTATCATCTGCAAATGTCAAATAGACATACTTAGGTGAATTCATGTAACCGT
TTCCTTACAAATTTGCTGAAACCTCAGGGTGATGTGAAGTTTGCTGAGGTACTGGAGATGATGGGA
GCGAAGGTTACATGGACCGAGACTAGCGTAACTGTTACTGGCCCACCGCGGGAGCCATTTGGGAG
GAAACACCTCAAGGCGATTGATGTCAACATGAACAAGATGCCTGATGTCGCCATGACTCTTGCTGT
GGTTGCCCTCTTTGCCGATGGCCCGACAGCCATCAGAGACGGTAAAACATTCTCAGCCCTACAACC
ATGCCTCTTCTACATCACTACTTGACAAGACTAAAAACTATTGGCTCGTTGGCAGTGGCTTCCTGG
AGAGTAAAGGAGACCGAGAGGATGGTTGCGATCCGGACGGAGCTAACCAAGGTAAGGCTACATA
CTTCACATGTCTCACGTCGTCTTTCCATAGCTCGCTGCCTCTTAGCGGCTTGCCTGCGGTCGCTCCA
TCCTCGGTTGCTGTCTGTGTTTTCCACAGCTGGGAGCATCTGTTGAGGAAGGGCCGGACTACTGCA
TCATCACGCCGCCGGAGAAGCTGAACGTGACGGCGATCGACACGTACGACGACCACAGGATGGCC
ATGGCCTTCTCCCTTGCCGCCTGTGCCGAGGTCCCCGTGACCATCCGGGACCCTGGGTGCACCCGG
AAGACCTTCCCCGACTACTTCGATGTGCTGAGCACTTTCGTCAAGAATTAATAAAGCGTGCGATAC
TACCACGCAGCTTGATTGAAGTGATAGGCTTGTGCTGAGGAAATACATTTCTTTTGTTCTGTTTTTT
CTCTTTCACGGGATTAAGTTTTGAGTCTGTAACGTTAGTTGTTTGTAGCAAGTTTCTATTTCGGATC
TTAAGTTTGTGCACTGTAAGCCAAATTTCATTTCAAGAGTGGTTCGTTGGAATAATAAGAATAATA
AATTACGTTTCAGTGGCTGTCAAGCCTGCTGCTACGTTTTAGGAGATGGCATTAGACATTCATCAT
CAACAACAATAAAACCTTTTAGCCTCAAACAATAATAGTGAAGTTATTTTTTAGTCCTAAACAAGT

TGCATTAGGATATAGTTAAAACACAAAAGAAGCTAAAGTTAGGGTTTAGACATGTGGATATTGTTT
TCCAT (**SEQ ID NO:316**), with a 5' untranslated region located at nucleotide positions 1 – 306 and a 3' untranslated region located at nucleotide positions 3490 – 3907. A EPSPS cDNA sequence was identified as

ACCTACTTCCCCCTCGCCCCTCTCATGGTCTCTCTCGCGCCCAGATCTGCTACTAGACGGCACCGCT
GCAGCGCGTCGTGTCGCGGGGGTTGGTGGCAGGCAGCGAGAGCTTGCCGTTCCTCTCTCTCAGTTG
TCAGGTCCTAGGCTCACCTCACCGGCTCCCAGCCCGCTTCTATTTCTTCCTCCCCGACCCCGTGCAG
GTGGCAGTCCAGTCCACGCCACCAACCGCGAGGCGAACCAAACCAACCCACTCTCCCCAACCCCG
CGCGCCCAGGCCGCCCGCCCTACCAACCATCGGCGTCGGCAATGGCGGCCATGGCGACCAAGGCC
GCCGCGGGCACCGTGTCGCTGGACCTCGCCGCGCCGCCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCGGTGCA
GGCGGGTGCCGAGGAGATCGTGCTGCAGCCCATCAAGGAGATCTCCGGCACCGTCAAGCTGCCGG
GGTCCAAGTCGCTTTCCAACCGGATCCTCCTGCTCGCCGCCCTGTCCGAGGGGACAACAGTGGTTG
ATAACCTGTTGAACAGTGAGGATGTCCACTACATGCTCGGGGCCTTGAGGACTCTTGGTCTCTCTG
TCGAAGCGGACAAAGCTGCCAAAAGAGCTGTAGTTGTTGGCTGTGGTGGAAAGTTCCCAGTTGAG
GATTCTAAAGAGGAAGTGCAGCTCTTCTTGGGGAATGCTGGAACTGCAATGCGGCCATTGACAGC
AGCTGTTACTGCTGCTGGTGGAAATGCAACTTACGTGCTTGATGGAGTACCAAGAATGAGGGAGA
GACCCATTGGCGACTTGGTTGTCGGATTGAAGCAGCTTGGTGCAGATGTTGATTGTTTCCTTGGCA
CTGACTGCCCACCTGTTCGTGTCAATGGAATCGGAGGGCTACCTGGTGGCAAGGTCAAGCTGTCTG
GCTCCATCAGCAGTCAGTACTTGAGTGCCTTGCTGATGGCTGCTCCTTTGGCTCTTGGGGATGTGG
AGATTGAAATCATTGATAAATTAATCTCCATTCCCTACGTCGAAATGACATTGAGATTGATGGAGC
GTTTTGGTGTGAAAGCAGAGCATTCTGATAGCTGGGACAGATTCTACATTAAGGGAGGTCAAAAA
TACAAGTCCCCTAAAAATGCCTATGTTGAAGGTGATGCCTCAAGCGCAAGCTATTTCTTGGCTGGT
GCTGCAATTACTGGAGGGACTGTGACTGTGGAAGGTTGTGGCACCACCAGTTTGCAGGGTGATGT
GAAGTTTGCTGAGGTACTGGAGATGATGGGAGCGAAGGTTACATGGACCGAGACTAGCGTAACTG
TTACTGGCCCACCGCGGGAGCCATTTGGGAGGAAACACCTCAAGGCGATTGATGTCAACATGAAC
AAGATGCCTGATGTCGCCATGACTCTTGCTGTGGTTGCCCTCTTTGCCGATGGCCCGACAGCCATC
AGAGACGTGGCTTCCTGGAGAGTAAAGGAGACCGAGAGGATGGTTGCGATCCGGACGGAGCTAA
CCAAGCTGGGAGCATCTGTTGAGGAAGGGCCGGACTACTGCATCATCACGCCGCCGGAGAAGCTG
AACGTGACGGCGATCGACACGTACGACGACCACAGGATGGCCATGGCCTTCTCCCTTGCCGCCTGT
GCCGAGGTCCCCGTGACCATCCGGGACCCTGGGTGCACCCGGAAGACCTTCCCCGACTACTTCGAT
GTGCTGAGCACTTTCGTCAAGAATTAATAAAGCGTGCGATACTACCACGCAGCTTGATTGAAGTGA
TAGGCTTGTGCTGAGGAAATACATTTCTTTTGTTCTGTTTTTTCTCTTTCACGGGATTAAGTTTTGAG
TCTGTAACGTTAGTTGTTTGTAGCAAGTTTCTATTTCGGATCTTAAGTTTGTGCACTGTAAGCCAAA
TTTCATTTCAAGAGTGGTTCGTTGGAATAATAAGAATAATAAATTACGTTTCAGTGGCTGTCAAGC
CTGCTGCTACGTTTTAGGAGATGGCATTAGACATTCATCATCAACAACAATAAAACCTTTTAGCCT
CAAACAATAATAGTGAAGTTATTTTTTAGTCCTAAACAAGTTGCATTAGGATATAGTTAAAACACA
AAAGAAGCTAAAGTTAGGGTTTAGACATGTGGATATTGTTTTCCAT (**SEQ ID NO:317**). A 240 base pair double-stranded RNA polynucleotide was designed with one strand corresponding to the DNA sequence

TACTTGAGTGCCTTGCTGATGGCTGCTCCTTTGGCTCTTGGGGATGTGGAGATTGAAATCATTGATA
AATTAATCTCCATTCCGTACGTCGAAATGACATTGAGATTGATGGAGCGTTTTGGTGTGAAAGCAG
AGCATTCTGATAGCTGGGACAGATTCTACATTAAGGGAGGTCAAAAATACAAGTCCCCTAAAAAT
GCCTATGTTGAAGGTGATGCCTCAAGCGCAAGCTATTTCTTG (**SEQ ID NO:318**) which corresponds to a 240 nucleotide segment located at nucleotide positions 937 – 1176 of the EPSPS cDNA sequence.

220)*Zea mays* (Gaspe) seeds were germinated on germination paper. Seedlings were transferred to 4 inch pots and plants were grown in a growth chamber. Three 17-day-old plants were topically treated with polynucleotides and three plants were used as controls. Two lower leaves of each plant were marked and then pre-treated by dipping in a solution of 0.1% Silwet L-77. About 30 minutes after the surfactant pre-treatment, 20 microliters of treatment solution was applied to the upper side of each of the two pre-treated leaves. Treatment solution consisted of a mixture of 100 microliters of 2X buffer solution, 90 microliters water, 10 microliters of a 4.6 micrograms/microliter solution of the EPSPS dsRNA (with one strand corresponding to **SEQ ID NO:318**); the 2X buffer solution was a mixture of 200 microliters of 0.1% Silwet L-77, 200 microliters 50 millimolar sodium phosphate, 146 microliters 34% ammonium phosphate, and 454 microliters water. At 8 days after treatment, two of the three polynucleotide-treated plants were stunted with damaged or dead apical leaves (similar to the phenotype observed in similarly EPSPS polynucleotide-treated *Nicotiana benthamiana* plants), whereas all three of the control plants had normal growth and morphology (**Figure 37**).

Example 35

221)The efficacy of different substances (including salts, a chelating agent, a humectant, and polyamines) as polynucleotide transferring agents or as enhancers of a known polynucleotide transferring agent was investigated. Ammonium sulfate had previously been shown to enhance permeability of plants to polynucleotides (see, *e. g.*, **Example 13**). **Table 26** lists the effect on herbicidal activity (presented as percent of weed control/kill, and as plant height) of ammonium sulfate and EDTA as additives to 1% Silwet L-77 spray solutions of topically applied polynucleotides (RNA) on glyphosate-resistant Palmer amaranth plants. In this particular experiment, ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) at 0.004% was found to act similarly to 2% ammonium sulfate in the spray solution, enhancing the efficacy of the polynucleotides and potentiating the herbicidal activity of glyphosate.

Table 26

Treatment	Palmer control (%)	Palmer height (cm)
No addition	0	7.5
+ 2% ammonium sulfate	43	1.8
+ 0.004% EDTA	45	1.0

222)Table 27 lists the effect on herbicidal activity (presented as percent of weed control/kill, and as plant height) of various salts including inorganic salts (sodium chloride, sodium sulfate, ammonium sulfate, ammonium chloride) and organic salts (tetramethylammonium chloride, tetraethylammonium chloride, tetrapropylammonium bromide, and tetrabutylphosphonium bromide) as additives to 1% Silwet L-77 spray solutions of topically applied polynucleotides (RNA) on glyphosate-resistant Palmer amaranth plants. In this particular experiment, ammonium chloride and tetrabutylphosphonium bromide were found to act similarly to ammonium sulfate in the spray solution, enhancing the efficacy of the polynucleotides and potentiating the herbicidal activity of glyphosate.

Table 27

Treatment	Palmer control (%)	Palmer height (cm)
No addition	0	16.0
+ 2% sodium chloride	15	15.0
+ 2% sodium sulfate	7	17.0
+ 2% ammonium sulfate	54	9.3
+ 2% ammonium chloride	52	10.3
+ 2% tetramethylammonium chloride	19	15.0
+ 2% tetraethylammonium chloride	27	12.0
+ 2% tetrapropylammonium bromide	34	11.0
+ 2% tetrabutylphosphonium bromide	19	13.3
+ 2% tetrabutylphosphonium bromide	55	5.3

223)Table 28 lists the effect of the humectant glycerin on herbicidal activity (presented as percent of weed control/kill, and as plant height) of topically applied polynucleotides (RNA) on glyphosate-resistant Palmer amaranth plants. Glycerin was found to enhance the efficacy of the polynucleotides, potentiating the herbicidal activity of glyphosate.

Table 28

Treatment	Palmer control (%)	Palmer height (cm)
No addition	0	16.0

Silwet L-77/AMS (no glycerin)	54	9.3
Silwet L-77/AMS + 0.5% glycerin	57	6.3

224)Figure 38 depicts the effect of varying glyphosate counter-ions on herbicidal activity (presented as percent of weed control/kill, and as plant height) of topically applied polynucleotides (RNA) on glyphosate-resistant Palmer amaranth plants. A mixture of EPSPS polynucleotides (IDT [1] (**SEQ ID NO:83-84**), IDT [2] (**SEQ ID NO:85-86**), IDT [3] (**SEQ ID NO:87-88**), and IDT [4] (**SEQ ID NO:89-90**)) in 0.5% Silwet L-77, 2% ammonium sulfate in 10 millimolar sodium phosphate buffer, pH 6.8 with 0.2% Roundup® WeatherMax® carrier (MON56151 tallowamine surfactant blend of tallowamine (16-18C) and cocoamine (12-14C) in the ratio of 55:45) and 1682 g acid equivalent per hectare of one of the glyphosate salts; K+ glyphosate, isopropylammonium+ glyphosate or monoethanolammonium+ glyphosate at 215 liters/acre by Milli spray on 3 replicates of 4-6 inch glyphosate-resistant Palmer amaranth containing 16 copies of EPSPS. Plant height was scored at 21 days after glyphosate treatment. Results (presented as percent of weed control/kill, and as plant height) are given in **Table 29**. The isopropylammonium and monoethanolammonium salts of glyphosate provided better herbicidal activity compared to the potassium salt.

Table 29

Treatment	Palmer control (%)	Palmer height (cm)
No addition	0	16
K+ glyphosate	23	12.3
K+ glyphosate + EPSPS polynucleotides	32	10.8
IPA+ glyphosate	9	14.5
IPA+ glyphosate + EPSPS polynucleotides	66	5.5
MEA+glyphosate	9	14.5
MEA+ glyphosate + EPSPS polynucleotides	66	5.5

225) The effect of the polyamine cations spermine (*N*,*N*'-*bis*(3-aminopropyl)butane-1,4-diamine) and spermidine (*N*-(3-aminopropyl)butane-1,4-diamine) on herbicidal activity

of topically applied polynucleotides (RNA) on glyphosate-resistant Palmer amaranth plants was investigated. Polynucleotide solutions were prepared using a mixture of equal amounts of the four oligonucleotide-size "short" dsRNA molecules described in **Example 1**, which have an anti-sense strand designed to hybridize to the mRNA transcribed from the Palmer amaranth EPSPS gene (**SEQ ID NO:1**) at positions 14-38 (short dsRNA-1), positions 153-177 (short dsRNA-2), 345-369 (short dsRNA-3), and 1105-1129 (short dsRNA-4), as indicated by underlined nucleotides in **Figure 1**; the dsRNAs had a two nucleotide overhang at the 3' end of the anti-sense strand, and had two deoxynucleotides as the terminal nucleotides at the 3' end of the sense strand. The dsRNA polynucleotide solutions were prepared with either 1 or 10 millimolar spermine or spermidine or 2% ammonium sulfate, in a 10 millimolar sodium phosphate (pH 6.8) buffer. Control solutions (without polynucleotides) were prepared with either 1 or 10 millimolar spermine or spermidine or 2% ammonium sulfate, in a 10 millimolar sodium phosphate (pH 6.8) buffer. Glyphosate-resistant Palmer amaranth plants (33, 36, or 57 copies EPSPS) were pre-sprayed with 1% Silwet L-77. The dsRNA polynucleotide solutions (11.6 grams/acre) or buffer solutions were applied as drops on four lower fully expanded leaves of glyphosate resistant Palmer amaranth by pipetting. Two days following polynucleotide treatment the plants were sprayed with glyphosate (3360 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide). Plants were photographed at 14 days after glyphosate treatment; results are shown in **Figure 39**. Treatment with dsRNA and 10 millimolar spermine followed by glyphosate treatment killed glyphosate-resistant Palmer amaranth with 33-copy EPSPS and severely injured and stunted glyphosate-resistant Palmer amaranth with 36-copy EPSPS. Treatment with 10 mM spermidine alone stunted 33-copy glyphosate-resistant Palmer amaranth. In this particular experiment, neither spermine nor spermidine at 1 or 10 millimolar performed as well as 2% ammonium sulfate.

Example 36

226)The efficacy of different surfactants as polynucleotide transferring agents was tested in polynucleotide spray solutions applied to glyphosate-resistant Palmer amaranth. Break-Thru surfactants were obtained from Evonik Industries; Silwet surfactants were obtained from Momentive. Spray solutions were prepared the same day as spraying. A mixture of EPSPS polynucleotides (IDT [1] (**SEQ ID NO:83-84**), IDT [3] (**SEQ ID NO:87-**

88), and IDT [4] (**SEQ ID NO:89-90**)) was added to spray solutions 15 to 50 minutes before spraying and 1- to 2-milliliters applied using a custom low-dead-volume ("milli") sprayer to one-to-four inch glyphosate-resistant (R-22) Palmer amaranth plants grown from cuttings. Between 10 and 225 micrograms total polynucleotides were applied to each plant, depending on the experiment; typically 23 micrograms total polynucleotides were applied per plant. Treated plants were placed in a greenhouse set for either a 26.7/21.1 degrees Celsius or 29.4/21.1 degrees Celsius 14/10 hour temperature and supplemental light schedule. After 2 to 3 days, the plants were sprayed with glyphosate ("2X Wmax" or 1682 g acid equivalent per hectare of Roundup® WeatherMAX® brand herbicide) by regular sprayer (10 gallons/acre) and returned to the greenhouse. The amount of control (visual injury) relative to unsprayed treatments, plant height and pictures of Palmer amaranth were collected at different time intervals up to 21 days after glyphosate treatment. Fresh weight of above-soil plant material was collected at the last time point. An overall plant injury score between 0 and 3 was given each treatment based on the combined analysis of Control, Height, Fresh Weight and Visual Plant Phenotype, where "3 "is strong herbicidal activity, "2" is moderate activity, "1" is mild activity and "0" is no activity observed after correction for any observed injury caused by treatment with glyphosate alone; results are shown in **Table 30**.

227)Physical properties of the different surfactants were also investigated and listed in **Table 30**. Seventy milliliters of surfactant solution (0.5% surfactant in aqueous solution containing 2% ammonium sulfate, buffer (20 millimolar potassium phosphate, pH 6.8), with or without an EPSPS polynucleotide (IDT [2] (**SEQ ID NO:85-86**), 0.09 milligrams/milliliter) added, were prepared on the same day as measurement. Dynamic surface tension was measured at ambient room temperature (22 to 23 degrees Celsius) on a Kruss BP100 tensiometer using the maximum bubble pressure method plotting surface tension versus surface age. The instrument was set to automatically detect the surface and immerse the capillary to a depth of 10 mm. Surface tension measurements for three surface ages (approximately 20, 500 and 1250 ms) were recorded. Surface tension in dynes per cm was reported at the 1250 ms interval as an approximation of static surface tension and the change between 20 and 500 ms was reported as an estimate of the dynamic surface tension. Hydrophile-lipophile balance (HLP) values for the surfactants were obtained from surfactant references and product information.

Table 30

Surfactant name	CAS number	Chemistry	Surfactant Type	Surfactant Class	Palmer injury score	Surface tension			HLB
						literature	1250 ms	delta 20 - 500 ms	
Break-Thru S 321	na	polyether-modified polysiloxane	organosilicone	nonionic	3	na	22.7	27.1	40.0
Break-Thru S 200	67674-67-3	polyether-modified polysiloxane	organosilicone	nonionic	3	22	26.9	23.0	
Break-Thru OE 441	68937-55-3	polyether-modified polysiloxane	organosilicone	nonionic	1	na	43.8	2.9	40.0
Break-Thru S 278	27306-78-1	polyether-modified polysiloxane	organosilicone	nonionic	2	21	24.2	23.4	
Break-Thru S 243	na	polyether-modified polysiloxane	organosilicone	nonionic	2	47	50.3	7.7	16.7
Silwet L-77	27306-78-1	trisiloxane; polyalkylene oxide-modified polymethylsiloxane	organosilicone	nonionic	3	20.5	26.4	23.4	13.5
Silwet HS 429	na	hydrolytically stable silicone	organosilicone	nonionic	3	32-40	40.1	12.1	
Silwet HS 312	na	silicone	organosilicone	nonionic	3	26.7	29.5	11.3	
Break-Thru S 233	134180-76-0	trisiloxane	organosilicone	nonionic	3	23	26.1	10.0	

What is claimed is:

1. A method for regulating expression of a target endogenous gene in growing plants or plant organs comprising topically coating onto said growing plants or plant organs a polynucleotide composition comprised of at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in either said target endogenous gene or messenger RNA transcribed from said target endogenous gene and an effective amount of a transferring agent to permit said at least one polynucleotide to permeate the interior of said growing plants or plant organs, whereby said at least one polynucleotide regulates the expression of said target endogenous gene.

2. A method for potentiating activity of an herbicide in growing plants comprising:
   (a) topically coating onto the surface of said growing plants a polynucleotide composition comprised of:
      (i) at least one polynucleotide having sequence essentially identical to, or essentially complementary to, a sequence of 18 or more contiguous nucleotides in an endogenous gene of said growing plants, wherein said endogenous gene expresses a protein that interacts with an herbicide, and
      (ii) an effective amount of a transferring agent to permit said polynucleotides to permeate the interior of said growing plants, and
   (b) applying said herbicide to said growing plants;
   whereby said at least one polynucleotide permeates the interior of said growing plants and induces suppression of said endogenous gene, thereby potentiating activity of said herbicide in said growing plants.

3. In a liquid, herbicidal composition adapted for topical coating onto the exterior surface of growing plants comprising surfactant and at least one plant lethal agent, the improvement wherein said plant lethal agent comprises polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to sequence of a plant gene or sequence of said plant gene's transcribed RNA, said polynucleotides effecting systemic production of small RNAs that hybridize to a probe for said plant gene.

4. In a liquid, herbicidal composition comprising a non-polynucleotide herbicide, the improvement wherein said composition further comprises polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to sequence of a plant gene or sequence of said plant gene's transcribed RNA.

5. A composition consisting essentially of

(a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from said endogenous gene; wherein said double-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of said plant to said endogenous gene or to said RNA transcribed from said endogenous gene to effect silencing of said endogenous gene; and

(b) transferring agent effective for facilitating transfer of said double-stranded DNA polynucleotides from the surface of said plant into cells of said plant.

6. A composition consisting essentially of

(a) a solution of non-transcribable single-stranded DNA polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from said endogenous gene; wherein said single-stranded DNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of said plant to said endogenous gene or to said RNA transcribed from said endogenous gene to effect silencing of said endogenous gene; and

(b) transferring agent effective for facilitating transfer of said single-stranded DNA polynucleotides from the surface of said plant into cells of said plant.

7. A composition consisting essentially of

(a) a solution of non-transcribable double-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from said endogenous gene; wherein said double-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of said plant to said endogenous gene or to said RNA transcribed from said endogenous gene to effect silencing of said endogenous gene; and

(b) transferring agent effective for facilitating transfer of said double-stranded RNA polynucleotides from the surface of said plant into cells of said plant.

8. A composition consisting essentially of

(a) a solution of non-transcribable single-stranded RNA polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from said

endogenous gene; wherein said single-stranded RNA polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of said plant to said endogenous gene or to said RNA transcribed from said endogenous gene to effect silencing of said endogenous gene; and

(b) transferring agent effective for facilitating transfer of said single-stranded RNA polynucleotides from the surface of said plant into cells of said plant.

9. A composition consisting essentially of

(a) a solution of non-transcribable double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides having a sequence essentially identical or essentially complementary to the sequence of an endogenous gene of a plant or to the sequence of RNA transcribed from said endogenous gene; wherein said double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides are capable of hybridizing under physiological conditions in cells of said plant to said endogenous gene or to said RNA transcribed from said endogenous gene to effect silencing of said endogenous gene; and

(b) transferring agent effective for facilitating transfer of said double-stranded DNA/RNA hybrid polynucleotides from the surface of said plant into cells of said plant.

10. A method for selectively controlling targetted herbicide-resistant volunteer plants growing in a field of herbicide-resistant crop plants comprising applying onto the leaves of said volunteer plants a composition comprising polynucleotide oligomers that provides in cells of said volunteer plants systemic, single-stranded RNA that is capable of hybridizing under physiological conditions in cells of said volunteer plants to messenger RNA that is transcribed from an endogenous gene that (i) is an essential gene for maintaining the growth or life of said volunteer plant, (ii) encodes a protein that provides herbicide resistance to said volunteer plant, or (iii) transcribes to an RNA regulatory agent.

11. A method for investigating reverse genetics by modulating an endogenous gene in a plant, said method comprising topically applying onto tissue of a living plant a composition according to claim 1.

12. An herbicidal composition comprising an aqueous solution of (a) an agent for conditioning of a plant to permeation by polynucleotide oligomers, and (b) polynucleotide oligomers comprising at least one polynucleotide strand comprising at least one segment of 18 or more contiguous nucleotides of an endogenous gene of said plant in either anti-sense or sense orientation, wherein said endogenous gene encodes a

protein that provides to said plant resistance to a chemical herbicide or is an essential gene..

13. A plant comprising exogenous DNA or RNA for suppressing an endogenous gene, wherein said exogenous DNA is not integrated into a chromosome of said plant and said exogenous RNA is not transcribed from DNA integrated into a chromosome of said plant, and wherein said endogenous gene is suppressed by topical application of a polynucleotide to said plant after said plant has emerged from a seed.

14. A method to deliver a polynucleotide to the interior of a plant cell by topical application of said polynucleotide to the exterior of said plant cell, said method comprising combining said polynucleotide with an organosilicone surfactant.

15. A method of any of claims 1, 2, 10, 11 or 14

wherein said expression of said target endogenous gene is regulated in plant cells other than those topically coated;

wherein said target endogenous gene is regulated systemically in at least one plant organ;

wherein said endogenous target gene encodes a protein selected from the group consisting of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a *para*-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, a RUBISCO, a translation initiation factor, a phytoene desaturase and a double-stranded DNA adenosine tripolyphosphatase (ddATP);

wherein polynucleotides target different segments of an endogenous gene or different endogenous genes;

wherein permeation of said polynucleotides from the surface of a plant into cells uses a transferring agent comprising an organosilicone;

wherein permeation of said polynucleotides from the surface of a plant into cells uses a transferring agent comprising an ammonium salt;

wherein said plants are growing in a open field;

wherein said plants are growing in a greenhouse;

wherein said plants are also sprayed with a non-polynucleotide herbicide;

or a combination of one or more thereof.

16. A composition of any of claims 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, or 12

wherein said transferring agent is selected from the group consisting of a surfactant and a salt;

wherein said surfactant is an organosilicone surfactant;

wherein said organosilicone surfactant is a silicone polyether copolymer;

wherein said silicone polyether copolymer is a copolymer of polyalkylene oxide modified heptamethyl trisiloxane and allyloxypolypropylene glycol methylether (available as Silwet® L-77 surfactant);

further comprising a non-polynucleotide herbicidal molecule;

wherein said plant gene encodes a protein that provides herbicide tolerance and is a 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase (EPSPS), an acetohydroxyacid synthase or an acetolactate synthase (ALS), an acetyl-coenzyme A carboxylase (ACCase), a dihydropteroate synthase, a phytoene desaturase (PDS), a protoporphyrin IX oxygenase (PPO), a hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD), a *para*-aminobenzoate synthase, a glutamine synthase (GS), a 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate (DOXP) synthase, a dihydropteroate (DHP) synthase, a phenylalanine ammonia lyase (PAL), a glutathione S-transferase (GST), a D1 protein of photosystem II, a mono-oxygenase, a cytochrome P450, a cellulose synthase, a beta-tubulin, a RUBISCO, a translation initiation factor, a phytoene desaturase and a double-stranded DNA adenosine tripolyphosphatase (ddATP);

or a combination thereof.

Figure 1

ATGGCTCAAGCTACT**ACCATCAACAATGGTGTCCATACTGGTCAATTGCACCATACTTTACCCAAAA**
CCCAGTTACCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATTTTGGATCAAACTTGAGAATTTCTCCAAAGTTCAT
GTCTTTAACCAATAAAAGAGTTGGTGGGCAATCATCAATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTTGCT
GCTGCAGCTGAGAAACCTTCATCTGTCCCAGAAATTGTGTTACAACCCATCAAAGAGATCTCTGGTA
CTGTTCAATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTTCTTTTAGCTGCTTTGTCTGAGGG
CACAACAGT**GGTCGACAACTTGCTGTATAGTGAT**GATATTCTTTATATGTTGGACGCTCTCAGAACT
CTTGGTTTAAAAGTGGAGGATGATAGTACAGCCAAAAGGGCAGTCGTA**GAGGGTTGTGGTGGTCTGT**
TTCCTGTTGGTAAAGATGGAAAGGAAGAGATTCAACTTTTCCTTGGTAATGCAGGAACAGCGATGCG
CCCATTGACAGCTGCGGTTGCCGTTGCTGGAGGAAATTCAAGTTATGTGCTTGATGGAGTACCAAGA
ATGAGGGAGCGCCCCATTGGGGATCTGGTAGCAGGTCTAAAGCAACTTGGTTCAGATGTAGATTGTT
TTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGTTCGGGTCAATGCTAAAGGAGGCCTTCCAGGGGGCAAGGTCAA
GCTCTCTGGATCGGTTAGTAGCCAATATTTAACTGCACTTCTCATGGCTACTCCTTTGGGTCTTGGA
GACGTGGAGATTGAGATAGTTGATAAATTGATTTCTGTACCGTATGTTGAAATGACAATAAAGTTGA
TGGAACGCTTTGGAGTATCCGTAGAACATAGTGATAGTTGGGACAGGTTCTACATTCGAGGTGGTCA
GAAATACAAATCTCCTGGAAAGGCATATGTTGAGGGTGATGCTTCAAGTGCTAGCTACTTCCTAGCC
GGAGCCGCCGTCACTGGTGGGACTGTCACTGTCAAGGGTTGTGGAACAAGCAGTTTACAGGGTGATG
TAAAATTTGCCGAAGTTCTTGAGAAGATGGGTTGCA**AGGTCACCTGGACAGAGAATAGTGTAACTGT**
TACTGGACCACCCAGGGATTCATCTGGAAAGAAACATCTGCGTGCTATCGACGTCAACATGAACAAA
ATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGCCTTGTATGCAGATGGGCCCACCGCCATCAGAG
ATGTGGCTAGCTGGAGAGTGAAGGAAACCGAACGGATGATTGCCATTTGCACAGAACTGAGAAAGCT
TGGGGCAACAGTTGAGGAAGGATCTGATTACTGTGTGATCACTCCGCCTGAAAAGCTAAACCCCACC
GCCATTGAAACTTATGACGATCACCGAATGGCCATGGCATTCTCTCTTGCTGCCTGTGCAGATGTTC
CCGTCACTATCCTTGATCCGGGATGCACCCGTAAAACCTTCCCGGACTACTTTGATGTTTTAGAAAA
GTTCGCCAAGCATTGA

SEQ ID NO:1

Figure 2

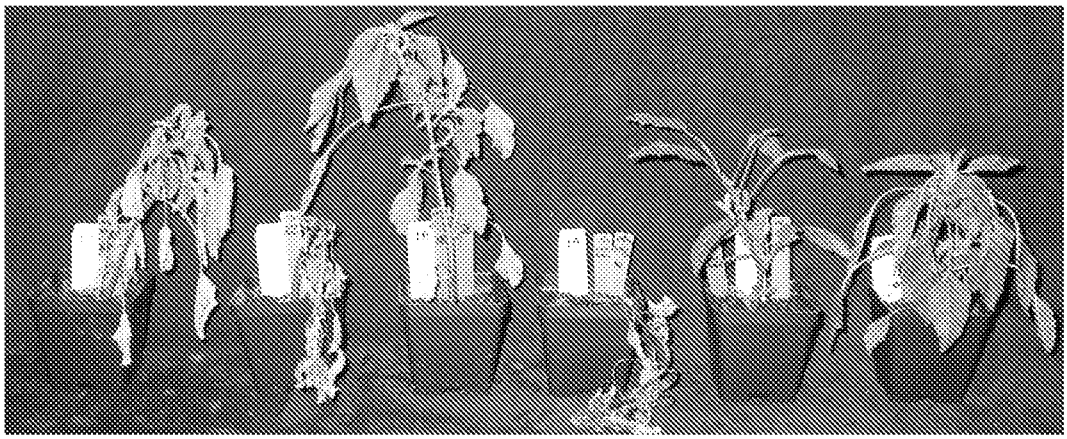
G**GCCC**ATAGGCCTTTTTCTAAAATAG**GCCC**ATTTAAGCTATTAACAATCTTCAAAAG**TACCACATCG**
CTTAGGTAAAGAAAGCAGCTGAG**TTTATATA**TGGTTAGAGACGAAGTAGTGATT**G***CGACGAGCGACG*
TCTCGCCCTCATCGCAATCCACGCCATTGAGCTTGAGGCCATTGGCGACGGCCGAGAGGCGGTCGCT
*T***AAGATTAGCATG***TCCTTGACGCGGAGTTCTTCCAGACCGTTCATCACGGTCGCCCCTTCCGCGAAG*
*GCGGCGGCGACAGCGAGAATCGGATATTCGTCGATCATCGAAGGCGCGCGGTCTTCCGGCACCGTG***A**
CGCATAAAcacggtgccggaagaccgcgcgccttcgatgatcgacgaatatccgattctcgctgtcg
ccgccgccttcgcggaaggggcgaccgtgatgaacggtctggaagaactccgcgtcaaggaaagcga
ccgcctctcggccgtcgccaatggcctcaagctcaatggcgtggattgcgatgagggcgagacgtcg
ctcgtcg**TTTTTTTT**GGCAAAAA

SEQ ID NO:3

Figure 3



3A



3B



3C

Figure 4

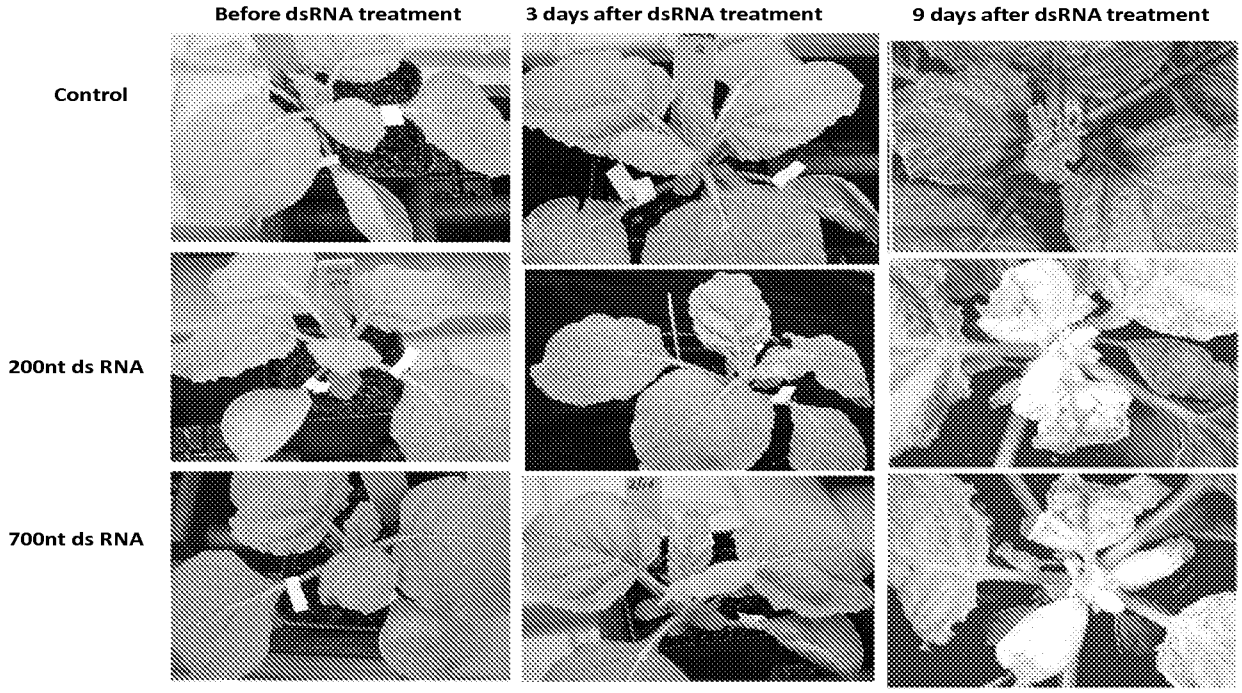

Before dsRNA treatment
3 days after dsRNA treatment
9 days after dsRNA treatment
Control
200nt ds RNA
700nt ds RNA

Figure 5

ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAATTCAGCTTATCTTTGGA
GCTCGAGGTCTTCGTTGGGAACTGAAAGTCAAGATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTGG
TAGTAGCGACTCCATGGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGACA
AAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCAGAGCTAGACAATACAGTTA
ACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATCGTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGA
GATTGTTATTGCTGGTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGTCAC
AAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGCTGCATGGAAAGATGATGATG
GAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAACCTGTTTGG
AGAACTAGGGATTGATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATGCCTAACAAG
CCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGCCATTAAATGGAATTTTGGCCA
TACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGGCCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGC
AATGCTTGGAGGGCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGAGAAAG
CAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATGTCAAAGGCACTTAACTTCATAA
ACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCATTTTGATTGCTT**T**GA**ACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGG**
TTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTGGAACATATT
GAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAAGATCGAGCTGAATGAGGATGGAA
GTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATGGCAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCC
AGTGGATATCTTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAAGTTGGAG
AAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTGACAGAAAACTGAAGAACACATCTG
ATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCGTTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGA
ATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGATAAATCGT
AGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCGAAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGG
CAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAAC
TGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTATTTAGCTGGT
GACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGCTGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCAC
AAGCTATTGTACAGGATTACGAGTTACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGT
AGTTAGCATAGTGAACTAA

SEQ ID NO:2

Figure 6

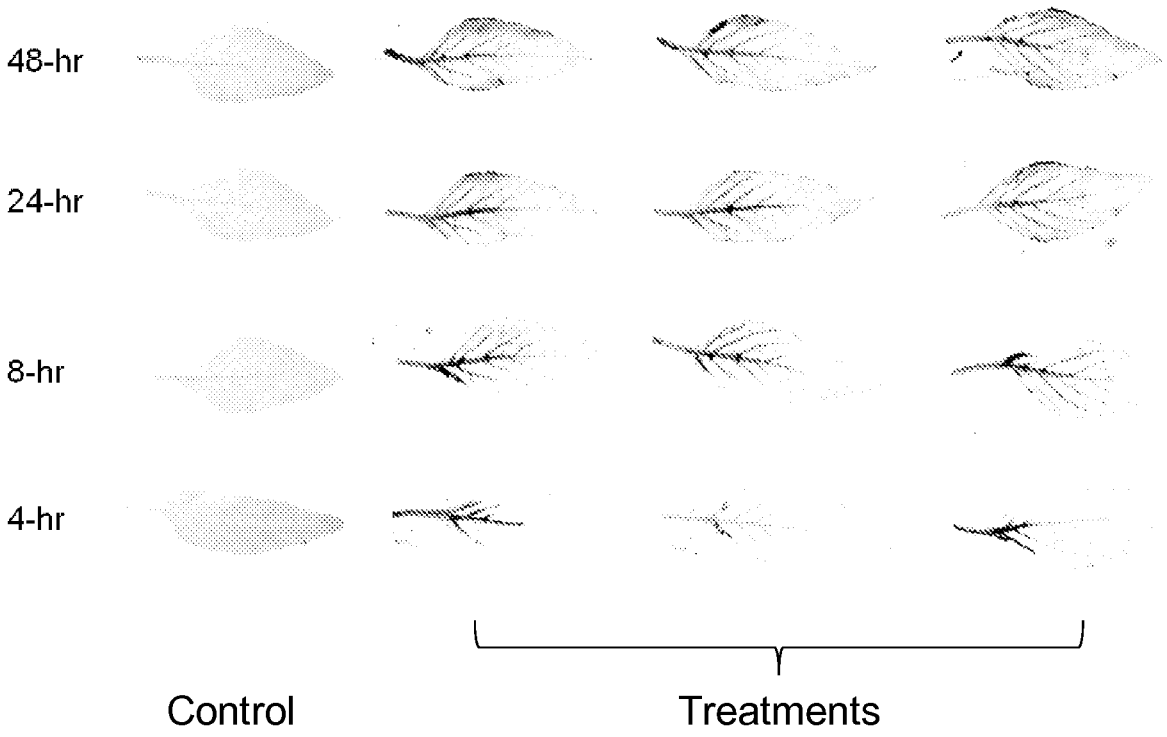


Figure 7

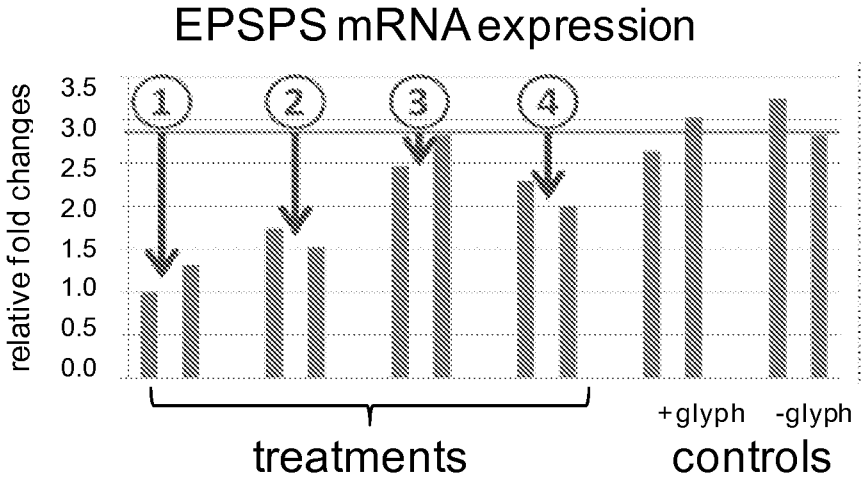

EPSPS mRNA expression
relative fold changes
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
1
2
3
4
+glyph
-glyph
treatments
controls

Figure 8

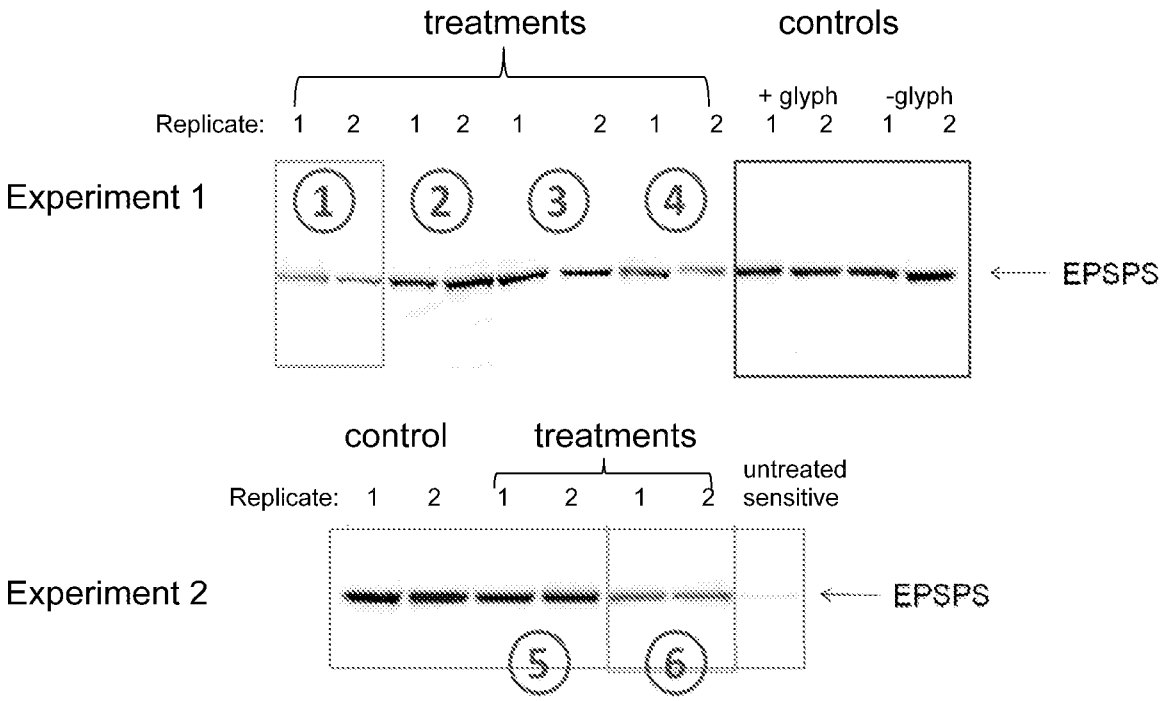

treatments
controls
+ glyph
-glyph
Replicate: 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2 1 2
Experiment 1
1
2
3
4
EPSPS
control
treatments
untreated sensitive
Replicate: 1 2 1 2 1 2
Experiment 2
EPSPS
5
6

Figure 9

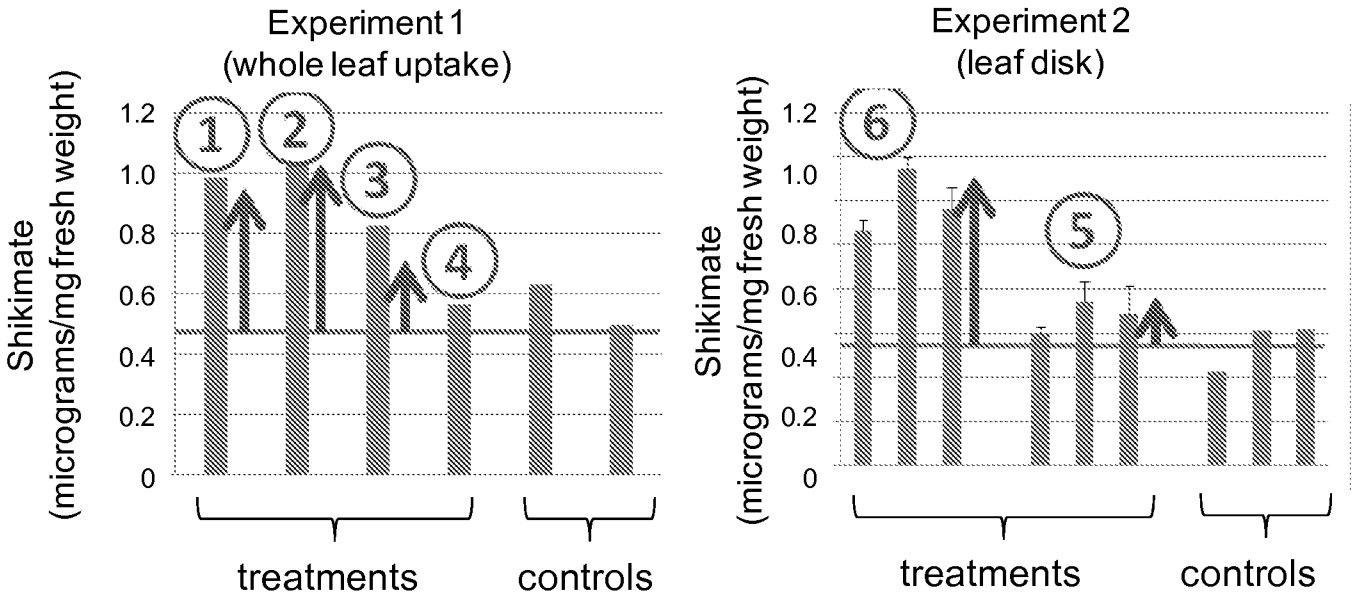

Experiment 1
(whole leaf uptake)
Shikimate
(micrograms/mg fresh weight)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
1
2
3
4
treatments
controls
Experiment 2
(leaf disk)
Shikimate
(micrograms/mg fresh weight)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
6
5
treatments
controls

Figure 10

>gi|93117609|gb|DQ469932.1| Nicotiana benthamiana phytoene desaturase mRNA, complete cds

ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAATTCAGCTTATCTTTGGA
GCTCGAGGTCTTCGTTGGGAACTGAAAGTCAAGATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTGG
TAGTAGCGACTCCATGGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGACA
AAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCAGAGCTAGACAATACAGTTA
ACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATCGTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGA
GATTGTTATTGCTGGTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGTCAC
AAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGCTGCATGGAAAGATGATGATG
GAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAACCTGTTTGG
AGAACTAGGGATTGATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATGCCTAACAAG
CCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGCCATTAAATGGAATTTTGGCCA
TACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGGCCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGC
AATGCTTGGAGGGCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGAGAAAG
CAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATGTCAAAGGCACTTAACTTCATAA
ACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCATTTTGATTGCTTTGA**ACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGG**
TTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTGGAACATATT
GAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAAGATCGAGCTGAATGAGGATGGAA
GTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATGGCAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCC
AGTGGATATCTTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAAGTTGGAG
AAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTGACAGAAAACTGAAGAACACATCTG
ATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCGTTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGA
ATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGATAAATCGT
AGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCGAAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGG
CAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAAC
TGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTATTTAGCTGGT
GACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGCTGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCAC
AAGCTATTGTACAGGATTACGAGTTACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGT
AGTTAGCATAGTGAACTAA

SEQ ID NO:2

Figure 11

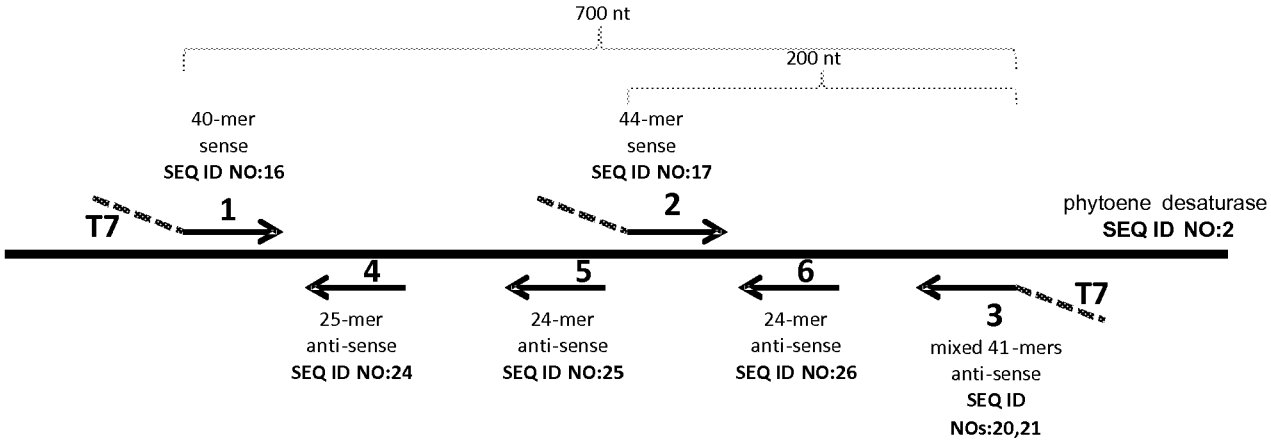
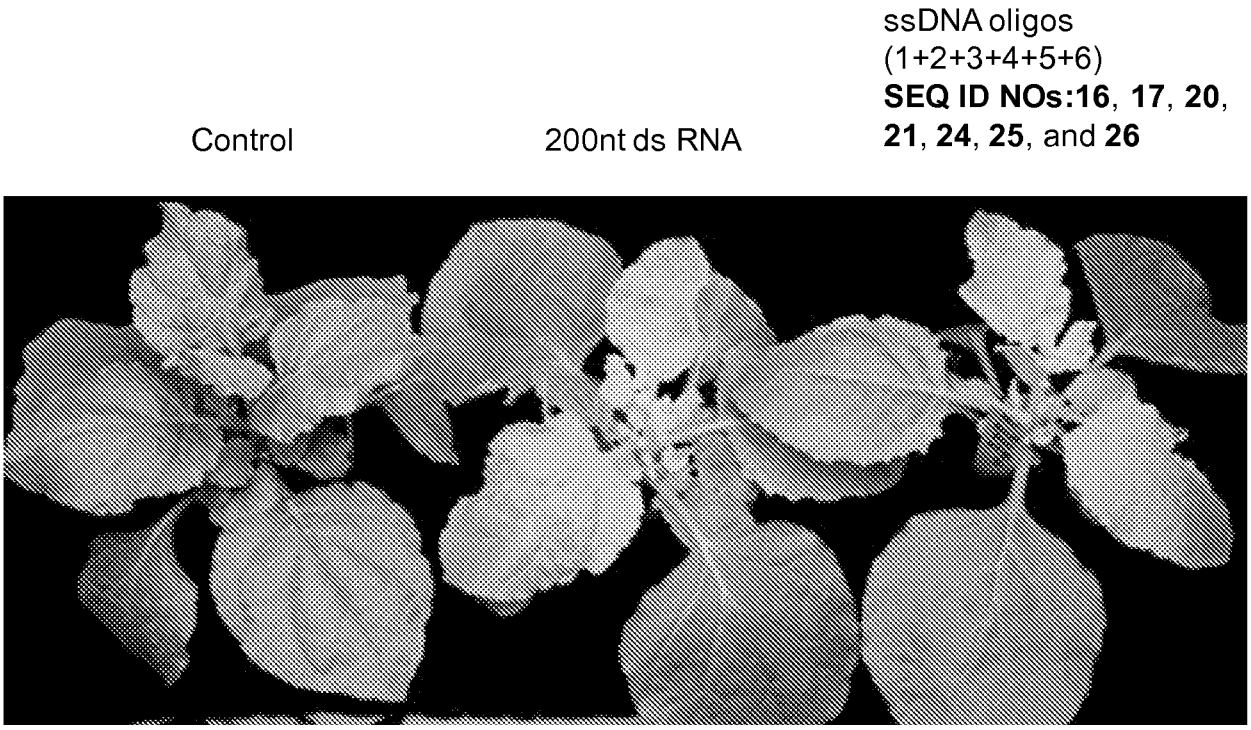
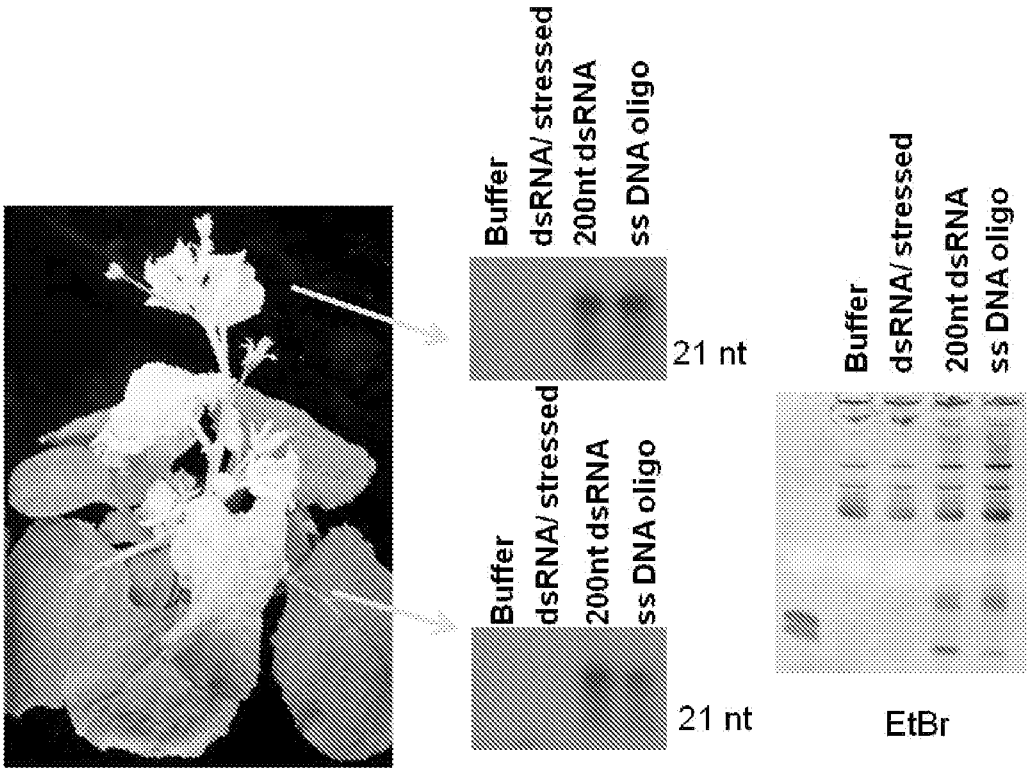

700 nt
200 nt
40-mer
sense
SEQ ID NO:16
44-mer
sense
SEQ ID NO:17
T7
1
2
phytoene desaturase
SEQ ID NO:2
4
5
6
3
T7
25-mer
anti-sense
SEQ ID NO:24
24-mer
anti-sense
SEQ ID NO:25
24-mer
anti-sense
SEQ ID NO:26
mixed 41-mers
anti-sense
SEQ ID
NOs:20,21

Figure 12


Control
200nt ds RNA
ssDNA oligos
(1+2+3+4+5+6)
SEQ ID NOs:16, 17, 20,
21, 24, 25, and 26

A


Buffer
dsRNA/ stressed
200nt dsRNA
ss DNA oligo
21 nt
Buffer
dsRNA/ stressed
200nt dsRNA
ss DNA oligo
21 nt
Buffer
dsRNA/ stressed
200nt dsRNA
ss DNA oligo
EtBr

B

Figure 13

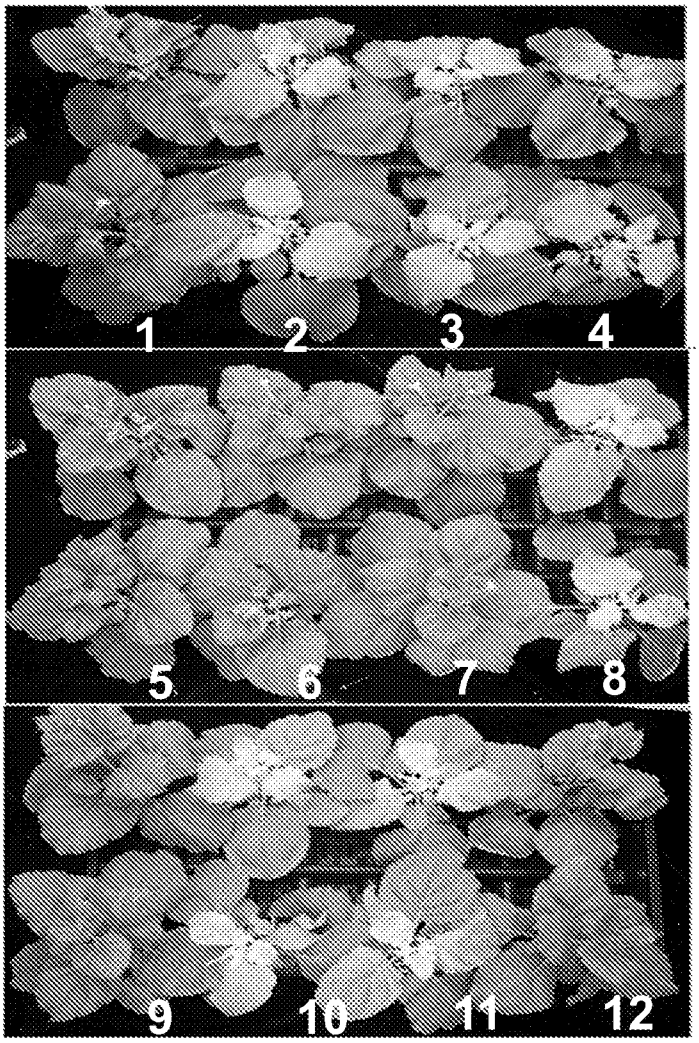


Figure 14

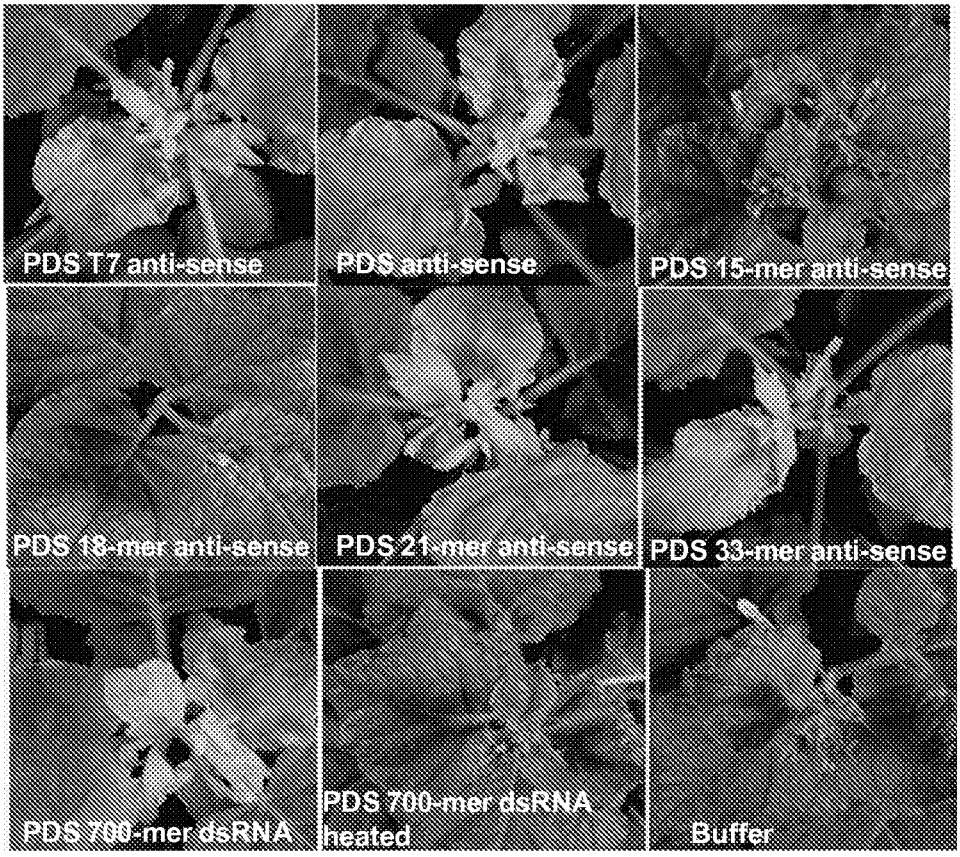

PDS T7 anti-sense
PDS anti-sense
PDS 15-mer anti-sense
PDS 18-mer anti-sense
PDS 21-mer anti-sense
PDS 33-mer anti-sense
PDS 700-mer dsRNA
PDS 700-mer dsRNA heated
Buffer

Figure 15

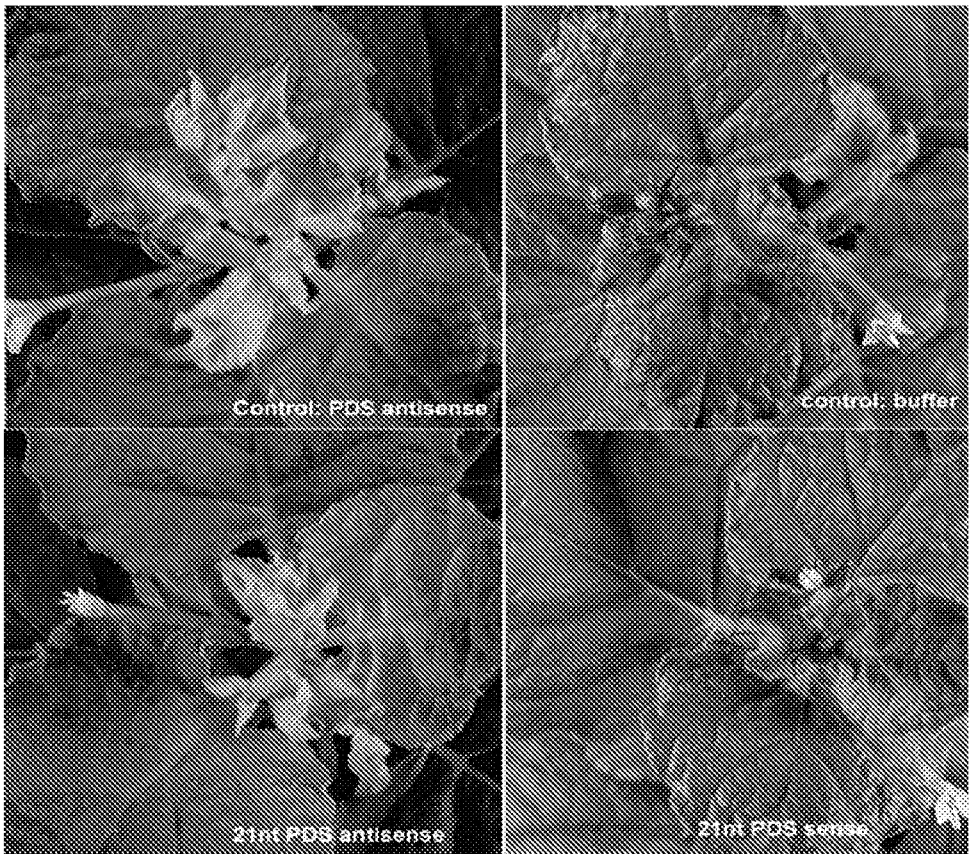

Control: PDS antisense
control: buffer
21nt PDS antisense
21nt PDS sense

Figure 16

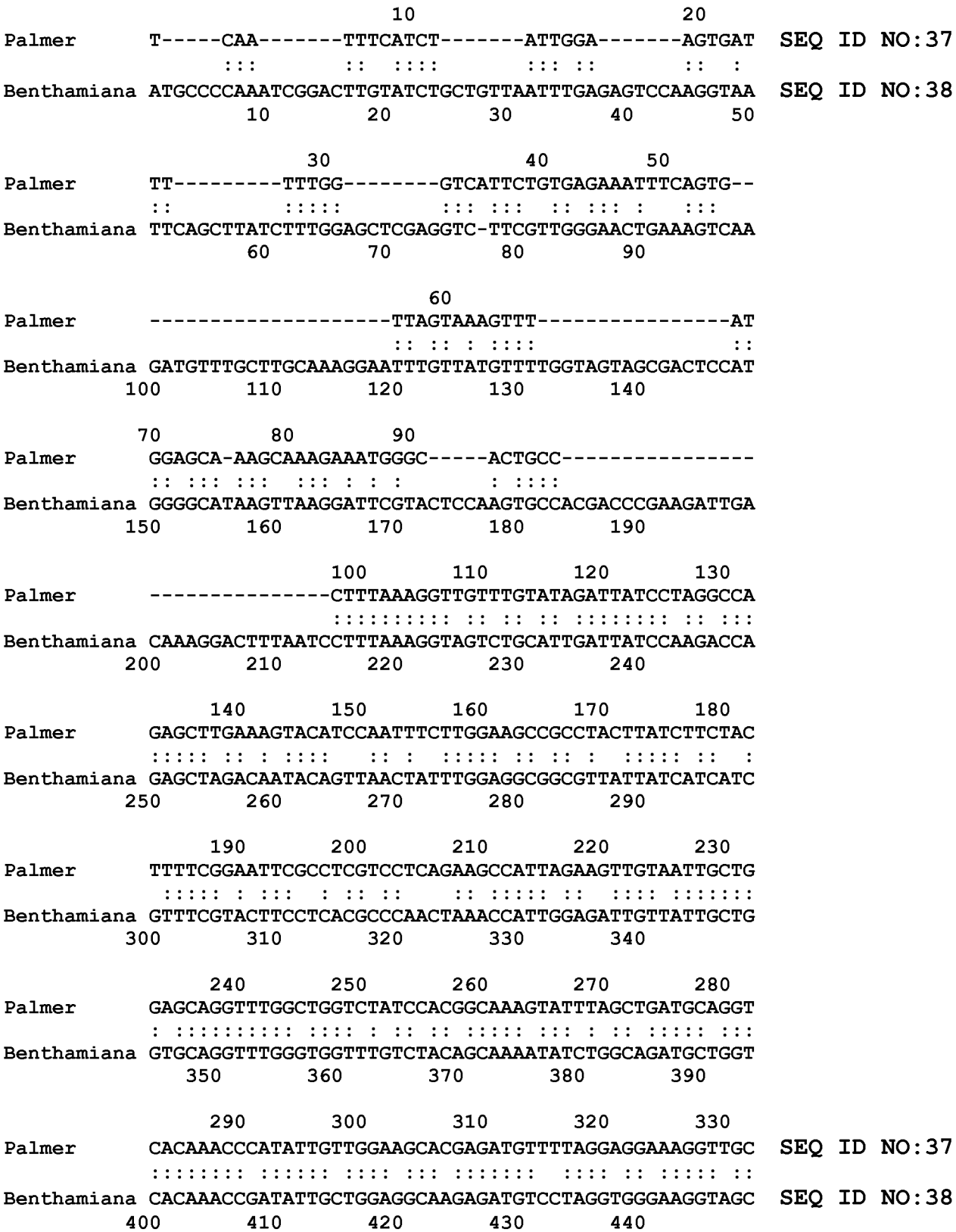

Palmer T-----CAA-------TTTCATCT-------ATTGGA-------AGTGAT SEQ ID NO:37
Benthamiana ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAA SEQ ID NO:38
Palmer TT---------TTTGG--------GTCATTCTGTGAGAAATTTCAGTG--
Benthamiana TTCAGCTTATCTTTGGAGCTCGAGGTC-TTCGTTGGGAACTGAAAGTCAA
Palmer ----------TTAGTAAAGTTT----------AT
Benthamiana GATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTGGTAGTAGCGACTCCAT
Palmer GGAGCA-AAGCAAAGAAATGGGC-----ACTGCC----------
Benthamiana GGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGA
Palmer ----------CTTTAAAGGTTGTTTGTATAGATTATCCTAGGCCA
Benthamiana CAAAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCA
Palmer GAGCTTGAAAGTACATCCAATTTCTTGGAAGCCGCCTACTTATCTTCTAC
Benthamiana GAGCTAGACAATACAGTTAACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATC
Palmer TTTTCGGAATTCGCCTCGTCCTCAGAAGCCATTAGAAGTTGTAATTGCTG
Benthamiana GTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGAGATTGTTATTGCTG
Palmer GAGCAGGTTTGGCTGGTCTATCCACGGCAAAGTATTTAGCTGATGCAGGT
Benthamiana GTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGT
Palmer CACAAACCCATATTGTTGGAAGCACGAGATGTTTTAGGAGGAAAGGTTGC SEQ ID NO:37
Benthamiana CACAAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGC SEQ ID NO:38

Figure 16 (continued)

```
                340       350       360       370       380
Palmer      AGCGTGGAAGGATGAGGATGGTGACTGGTATGAGACTGGGCTACATATAT  SEQ ID NO:37
             :: ::::: ::::: ::::: :: ::::: ::::::::: : :: ::::
Benthamiana TGCATGGAAAGATGATGATGGAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATAT  SEQ ID NO:38
          450       460       470       480       490

                390       400       410       420       430
Palmer      TCTTTGGGGCATATCCAAATGTCCAAAATCTATTTGGAGAACTTGGTATA
             :::::::::: :: :::::: : :: :: :: :::::::::: :: ::
Benthamiana TCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAACCTGTTTGGAGAACTAGGGATT
          500       510       520       530       540

                440       450       460       470       480
Palmer      AATGACCGACTGCAATGGAAGGAGCACTCTATGATTTTTGCAATGCCCAG
             :::: ::  :::: :::::::: :: :: ::::: ::::: ::::: :
Benthamiana GATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATGCCTAA
         550       560       570       580       590

                490       500       510       520       530
Palmer      CAAGCCCGGTGAATTCAGTCGCTTTGATTTTCCCGAAATCCTGCCTGCAC
             :::::: :: :: ::::: :::::::::::::: :::   :: ::::: :
Benthamiana CAAGCCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGC
          600       610       620       630       640

                540       550       560       570       580
Palmer      CATTAAATGGCATATGGGCAATCCTAAGAAATAATGAAATGCTAACCTGG
             :::::::::: :: : ::: :: ::::  :: :: :::::::: :: :::
Benthamiana CATTAAATGGAATTTTGGCCATACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGG
          650       660       670       680       690

                590       600       610       620       630
Palmer      CCAGAAAAAAATCAAGTTTGCCATTGGCTTGTTGCCTGCTATGGCAGGCGG
             :: :: ::: :::: ::::: :::::  : ::::: :: :::   :: ::
Benthamiana CCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGCAATGCTTGGAGG
          700       710       720       730       740

                640       650       660       670       680
Palmer      ACAGTCATATGTTGAAGCACAAGATGGTTTGAGTGTCCAAGAGTGGATGA
             :: :: :::::::::::: ::::: ::::: :::::  : :: :::::::
Benthamiana GCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGA
          750       760       770       780       790

                690       700       710       720       730
Palmer      GAAAACAAGGAGTACCCGATCGTGTAACTGATGATGTGTTTATTGCCATG
             :::: ::::: :: :: ::: : :: :: ::::: ::::: :::::::::
Benthamiana GAAAGCAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATG
          800       810       820       830       840

                740       750       760       770       780
Palmer      TCAAAGGCACTGAACTTCATAAATCCCGATGAACTTTCAATGCAGTGCAT  SEQ ID NO:37
             :::::::::: :::::::::: :: :: :: ::::: ::::::::::
Benthamiana TCAAAGGCACTTAACTTCATAAACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCAT  SEQ ID NO:38
          850       860       870       880       890
```

Figure 16 (continued)

```
                790       800       810       820       830
Palmer      CTTGATTGCTCTGAACCGATTCCTGCAGGAGAAACATGGTTCTAAGATGG  SEQ ID NO:37
             ::::::::: ::::: :::: :: ::::::::::::::::: :: ::::
Benthamiana TTTGATTGCTTTGAACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGGTTCAAAAATGG  SEQ ID NO:38
          900       910       920       930       940

                840       850       860       870       880
Palmer      CCTTCCTAGACGGAAACCCTCCAGAGAGGCTGTGCATGCCTATTGTTAAA
            ::::  :::: :: :::::::: ::::: :: :::::::: :::::  ::
Benthamiana CCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTGGAA
          950       960       970       980       990

                890       900       910       920       930
Palmer      CACATCGAGTCACTAGGTGGTGAAGTTAAACTTAACTCTCGTATACAAAA
            :: :: ::::::  ::::::  :::: : ::: ::::: :: ::: ::::
Benthamiana CATATTGAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAA
         1000      1010      1020      1030      1040

                940       950       960       970       980
Palmer      GATTCAGTTGGACCAGAGTGGAAGCGTGAAGAGTTTTTTGCTAAATAACG
            :::  :: :: :  ::  :::::: :: ::  ::::: : :: ::::: :
Benthamiana GATCGAGCTGAATGAGGATGGAAGTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATG
         1050      1060      1070      1080      1090

                990      1000      1010      1020      1030
Palmer      GGAGGGAAATACGAGGAGATGCCTATGTTTTTGCCACCCCAGTTGACATC
            : ::   :::   ::::::::: : ::: :::::::: ::::: :: :::
Benthamiana GCAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCCAGTGGATATC
         1100      1110      1120      1130      1140

               1040      1050      1060      1070      1080
Palmer      TTGAAGCTGTTACTACCTGATACTTGGAAGGAAATCTCATACTTCAAAAA
            ::::::::  :  : :::::    ::::: :: ::: :::: ::: ::::
Benthamiana TTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAA
         1150      1160      1170      1180      1190

               1090      1100      1110      1120      1130
Palmer      ACTTGAGAAATTAGTGGGCGTTCCTGTGATTAATGTTCACATATGGTTTG
              : :::::  ::::::: :::::::::::: ::::: :: ::::::::::
Benthamiana GTTGGAGAAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTG
         1200      1210      1220      1230      1240

               1140      1150      1160      1170      1180
Palmer      ACAGAAAATTAAAGAATACATATGACCATCTACTCTTCAGCAGGAGTCCT
            :::::::: : ::::: :::: :::  :::: :::::::::: :: ::
Benthamiana ACAGAAAACTGAAGAACACATCTGATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCG
         1250      1260      1270      1280      1290

               1190      1200      1210      1220      1230
Palmer      CTTTTGAGTGTCTATGCTGATATGTCGGAGACATGCAAGGAATATAAGGA  SEQ ID NO:37
             :  : ::::: :: ::::: ::::: :  ::::: ::::::::: :  :
Benthamiana TTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGAATATTACAA  SEQ ID NO:38
         1300      1310      1320      1330      1340
```

Figure 16 (continued)

```
                1240      1250      1260      1270      1280
Palmer      TCCAAATAGATCCATGCTGGAATTGGTTTTTGCACCCGCGGAGGAATGGA  SEQ ID NO:37
             :: :::   :: ::: :::::::::: :::::::::: :: :: ::::
Benthamiana CCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGA  SEQ ID NO:38
         1350      1360      1370      1380      1390

                1290      1300      1310      1320      1330
Palmer      TTTCACGAAGCGACACTGATATTATAGAGGCAACAATGAAAGAGCTTGCC
            :    :: :: ::: : :: ::::: :: :: :::::::: :: :: ::
Benthamiana TAAATCGTAGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCG
         1400      1410      1420      1430      1440

                1340      1350      1360      1370      1380
Palmer      AAGCTTTTCCCGGATGAAATCGCTGCCGATGGAAGCAAGGCCAAGATCCT
            :::::::::: :::::::  : :: :::   ::::: :: :: ::  :
Benthamiana AAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGGCAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATT
         1450      1460      1470      1480      1490

                1390      1400      1410      1420      1430
Palmer      CAAATATCATGTCGTCAAAACTCCAAGGTCGGTTTATAAGACTGTACCGG
             :: :::::::: :::::::: :::::::: :::::::: ::::: :: :
Benthamiana GAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAACTGTGCCAG
         1500      1510      1520      1530      1540

                1440      1450      1460      1470      1480
Palmer      ATTGTGAACCTTGTCGGCCGCTGCAAAGATCACCAATAGAGGGTTTCTAT
             ::::::::: ::::::::  :::::::::: :: :::::::::: :::
Benthamiana GTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTAT
         1550      1560      1570      1580      1590

           1490      1500      1510      1520      1530
Palmer      TTAGCTGGTGATTACACAAAACAAAAATATTTGGCTTCTATGGAAGGTGC
       :::::::::: ::::: ::::: :: :: :::::::: ::::::::::
Benthamiana TTAGCTGGTGACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGC
    1600      1610      1620      1630      1640

           1540      1550      1560      1570      1580
Palmer      TGTCTTATCTGGGAAGCTTTGTGCACAGGCTATCGTACAGGATTATGA--
       ::::::::: :: :::::::::::::: ::::: :::::::::: ::
Benthamiana TGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCACAAGCTATTGTACAGGATTACGAGT
    1650      1660      1670      1680      1690

                          1590        1600       1610
Palmer      ----TCT--GCTG--------AGTTCTCG--AGCACAAAGAGAA-TTGGC
           :::  :: :         :: : : :  :: :  ::: : : :: ::
Benthamiana TACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGTAGTTAGC
    1700      1710      1720      1730      1740


Palmer      G----------  SEQ ID NO:37

Benthamiana ATAGTGAACTAA  SEQ ID NO:38
    1750      1760
```

Figure 17

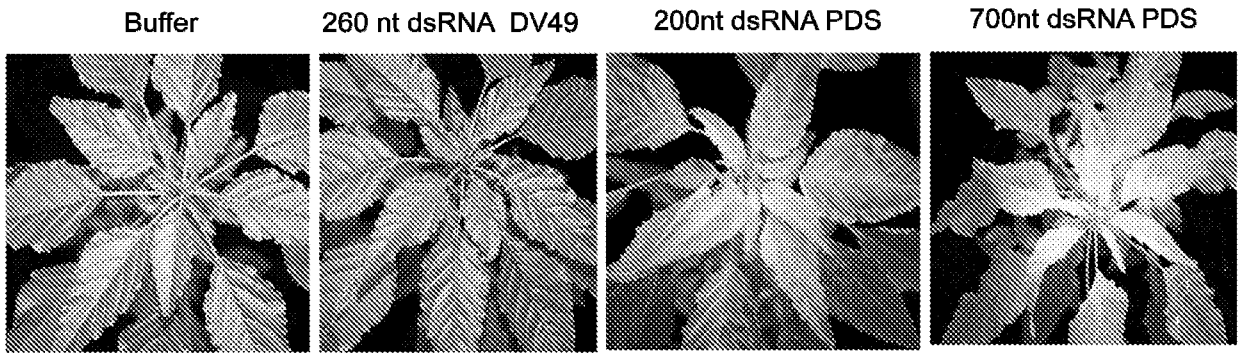
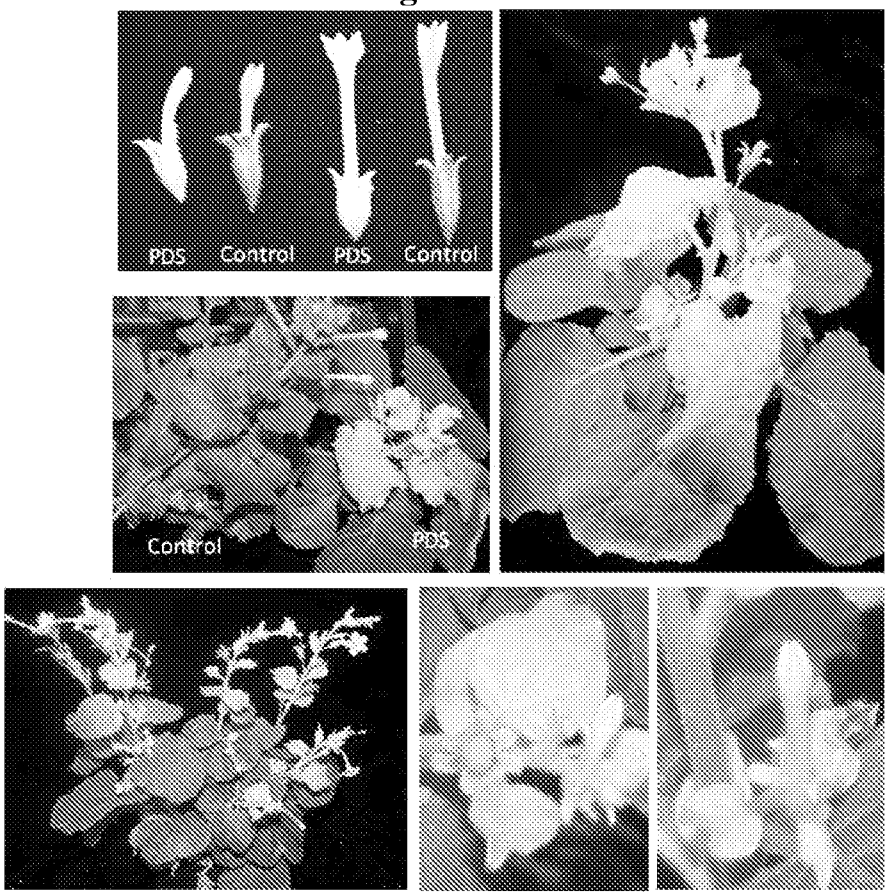
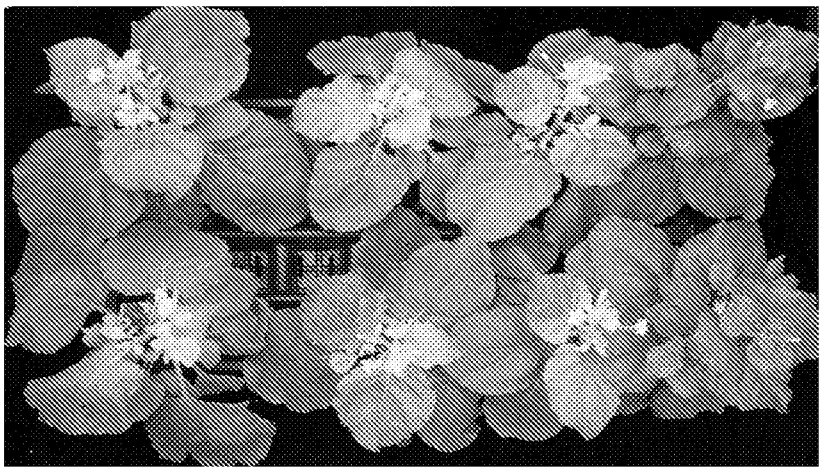


Figure 18



A



0.1% Silwet conditioning followed by 1 nanomole PDS ssDNA + 0.01% Silwet

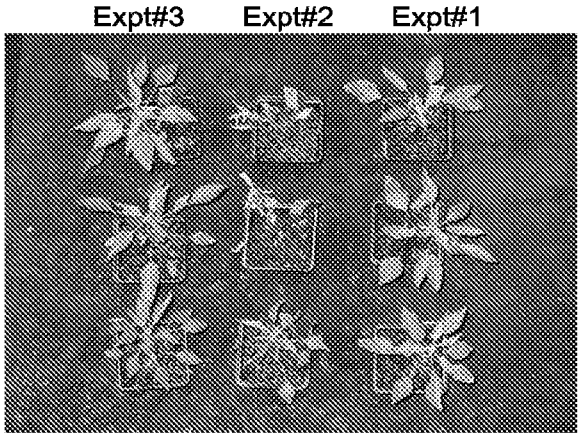
No Silwet conditioning; Infiltrate 1 nanomole PDS ssDNA + 0.01% Silwet

No Silwet conditioning; Infiltrate 1 nanomole PDS ssDNA (no Silwet)

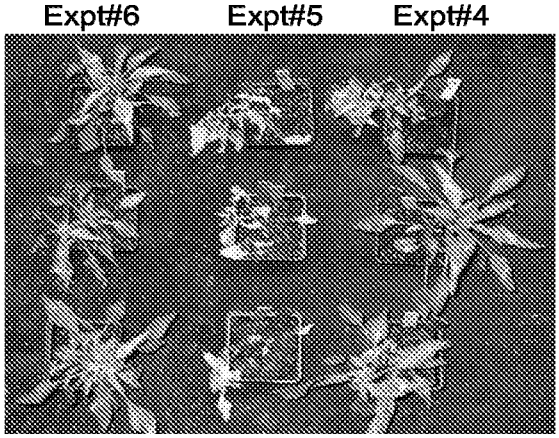
buffer

B

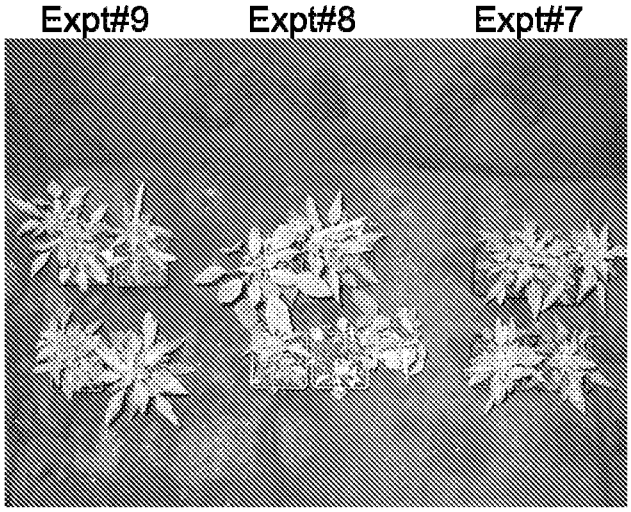
Figure 19



R31 (35 copies EPSPS)



R34 (57 copies EPSPS)



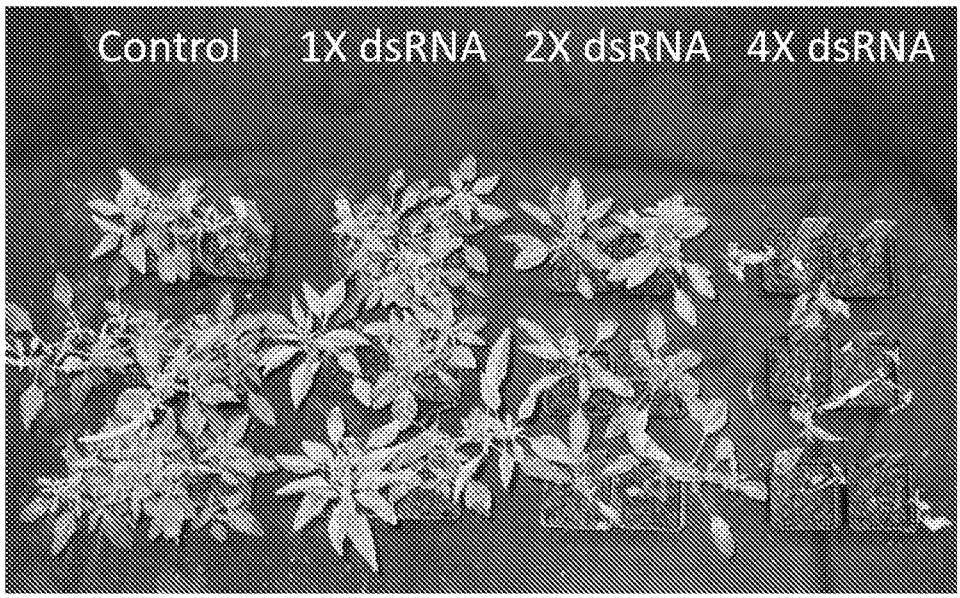
R28 (87 copies EPSPS)

Figure 20

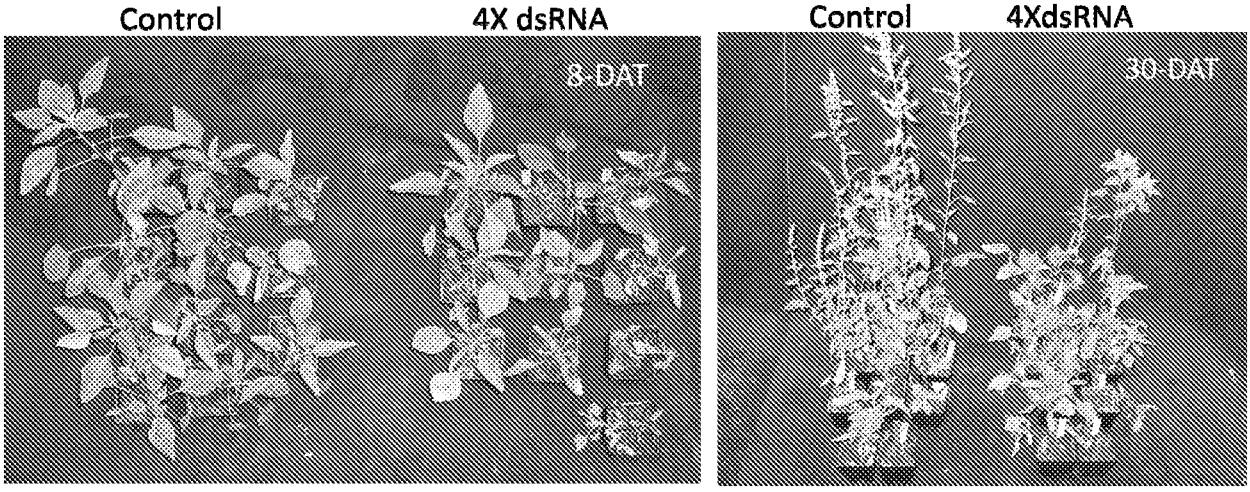
ATGGCTCAAGCTACT**ACCATCAACAATGGTGTCCATACTGGTCAATTGCACCATACTTTACCCAAAA**
CCCAGTTACCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATTTTGGATCAAACTTGAGAATTTCTCCAAAGTTCAT
GTCTTTAACCAATAAAAGAGTTGGTGGGCAATCATCAATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTTGCT
GCTGCAGCTGAGAAACCTTCATCTGTCCCAGAAATTGTGTTACAACCCATCAAAGAGATCTCTGGTA
CTGTTCAATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTTCTTTTAGCTGCTTTGTCTGAGGG
CACAACAGTGGTCGACAACTTGCTGTATAGTGATGATATTCTTTATATGTTGGACGCTCTCAGAACT
CTTGGTTTAAAAGTGGAGGATGATAGTACAGCCAAAAGGGCAGTCGTA**GAGGGTTGTGGTGGTCTGT**
TTCCTGTTGGTAAAGATGGAAAGGAAGAGATTCAACTTTTCCTTGGTAATGCAGGAACAGCGATGCG
CCCATTGACAGCTGCGGTTGCCGTTGC*TGGAGGAAATTCAAGTTATGTGCTT*GATGGAGTACCAAGA
ATGAGGGAGCGCCCCATTGGGGATCTGGTAGCAGGTCTAAAGCAACTTGGTTCAGATGTAGATTGTT
TTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGTTCGGGTCAATGCTAAAGGAGGCCTTCCAGGGGGCAAGGTCAA
GCTCT*CTGGATCGGTTAGTAGCCAATATTT*AACTGCACTTCTCATGGCTACTCCTTTGGGTCTTGGA
GACGTGGAGATTGAGATAGTTGATAAATTGATTTCTGTACCGTATGTTGAAATGACAATAAAGTTGA
TGGAACGCTTTGGAGTATCCGTAGAACATAGTGATAGTTGGGACAGGTTCTACATTCGAGGTGGTCA
GAAATACAAATCTCCTGGAAAGGCATATGTTGAGGGTGATGCTTCAAGTGCTAGCTACTTCCTAGCC
GGAGCCGCCGTCACTGGTGGGACTGTCACTGTCAAGGGTTGTGGAACAAGCAGTTTACAGGGTGATG
TAAAATTTGCCGAAGTTCTTGAGAAGATGGGTTGCA**AGGTCACCTGGACAGAGAATAGTGTAACTGT**
TACTGGACCACCCAGGGATTCATCTGGAAAGAAACATCTGCGTGCTATCGACGTCAACATGAACAAA
ATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGCCTTGTATGCAGATGGGCCCACCGCCATCAGAG
ATGTGGCTAGCTGGAGAGTGAAGGAAACCGAACGGATGATTGCCATTTGCACAGAACTGAGAAAGCT
TGGGGCAACAGTTGAGGAAGGATCTGATTACTGTGTGATCACTCCGCCTGAAAAGCTAAACCCCACC
GCCATTGAAACTTATGACGATCACCGAATGGCCATGGCATTCTCTCTTGCTGCCTGTGCAGATGTTC
CCGTCACTATCCTTGATCCGGGATGCACCCGTAAAACCTTCCCGGACTACTTTGATGTTTTAGAAAA
GTTCGCCAAGCATTGA

SEQ ID NO:40

Figure 21


Control
1X dsRNA
2X dsRNA
4X dsRNA

A


Control
4X dsRNA
8-DAT
Control
4XdsRNA
30-DAT

B

Figure 22

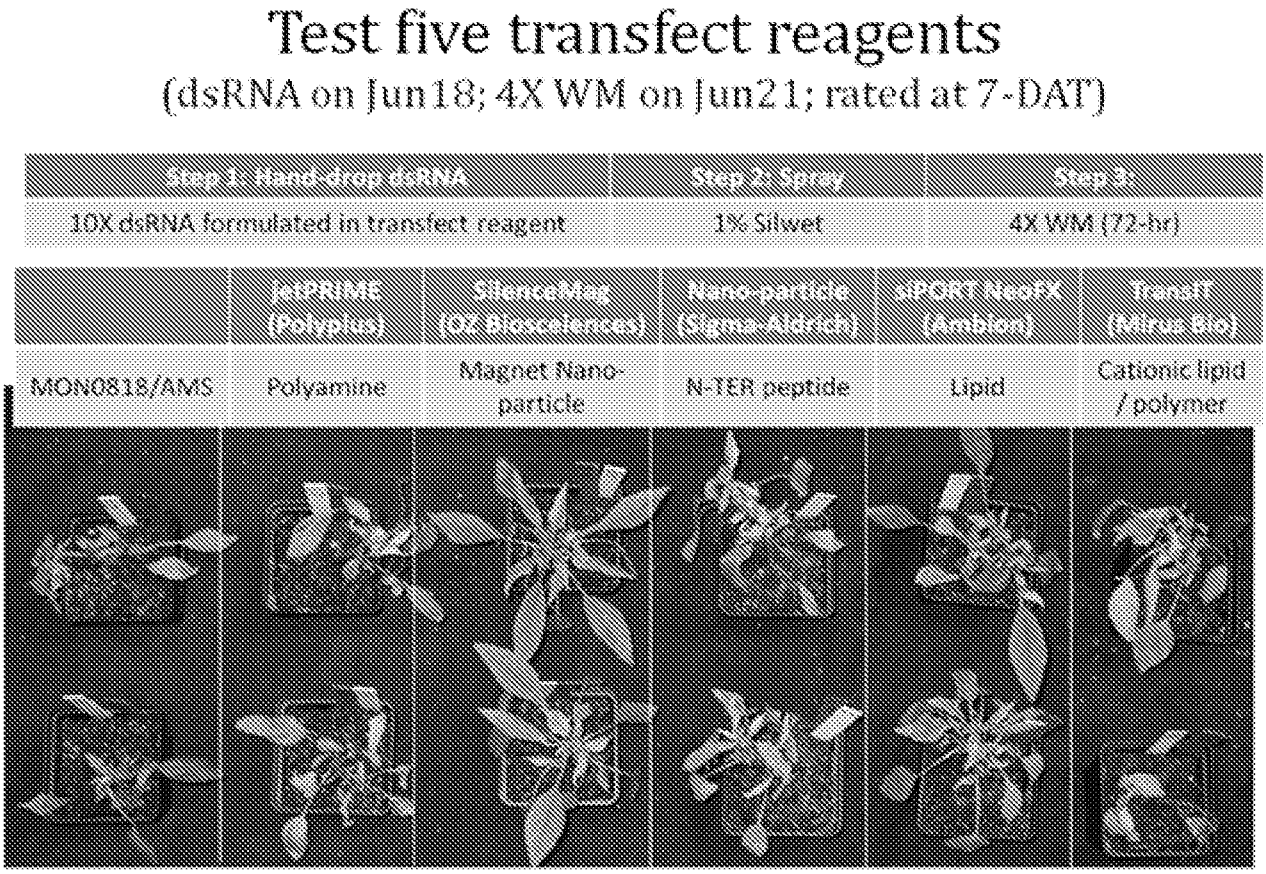
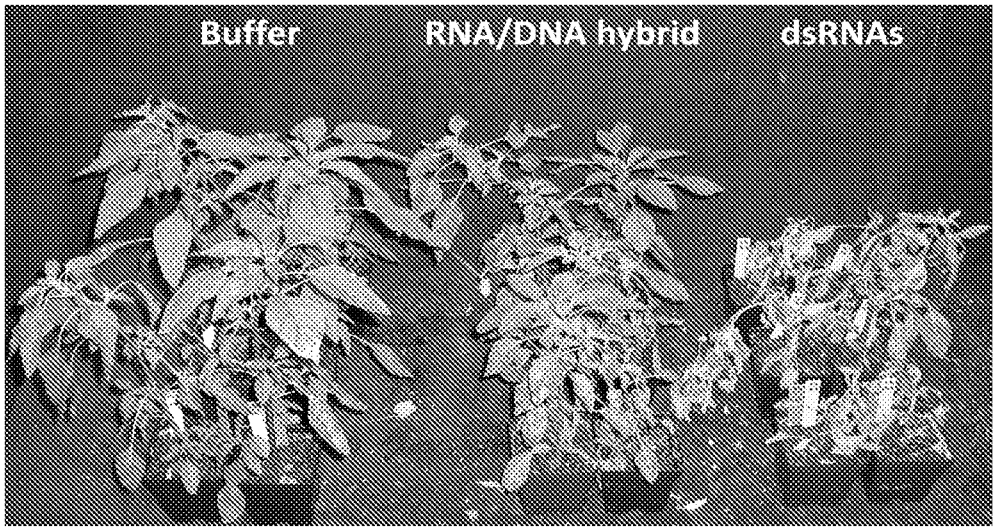

Test five transfect reagents
(dsRNA on Jun18; 4X WM on Jun21; rated at 7-DAT)
Step 1: Hand-drop dsRNA
Step 2: Spray
Step 3:
10X dsRNA formulated in transfect reagent
1% Silwet
4X WM (72-hr)
JetPRIME (Polyplus)
SilenceMag (OZ Biosciences)
Nano-particle (Sigma-Aldrich)
siPORT NeoFX (Ambion)
TransIT (Mirus Bio)
MON0818/AMS
Polyamine
Magnet Nano-particle
N-TER peptide
Lipid
Cationic lipid / polymer
Palmer with 35-copies EPSPS; 10X dsRNA

Figure 23


Buffer
RNA/DNA hybrid
dsRNAs

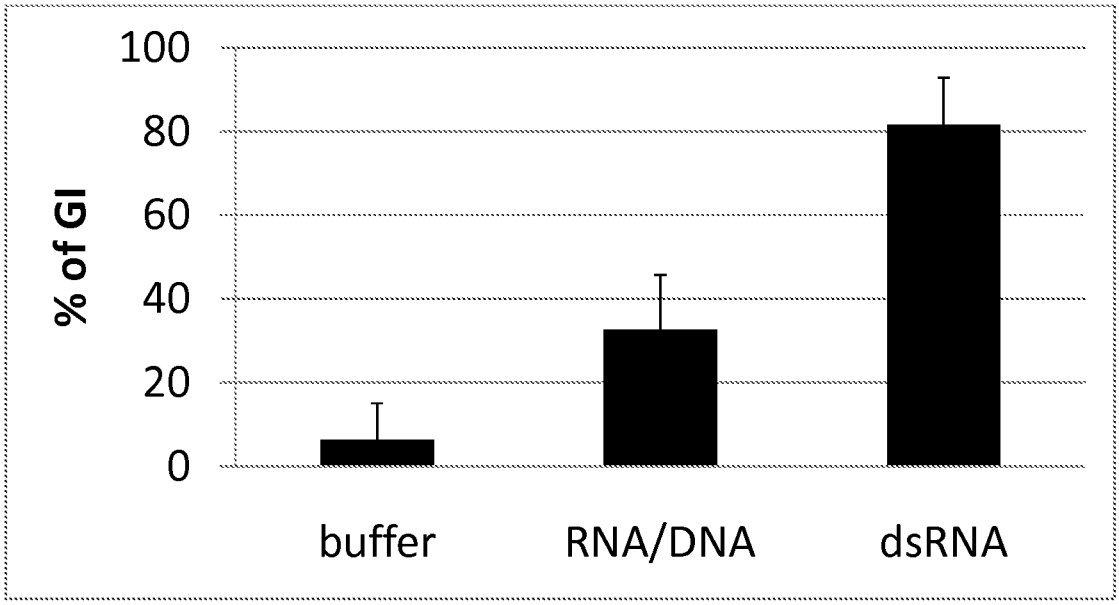
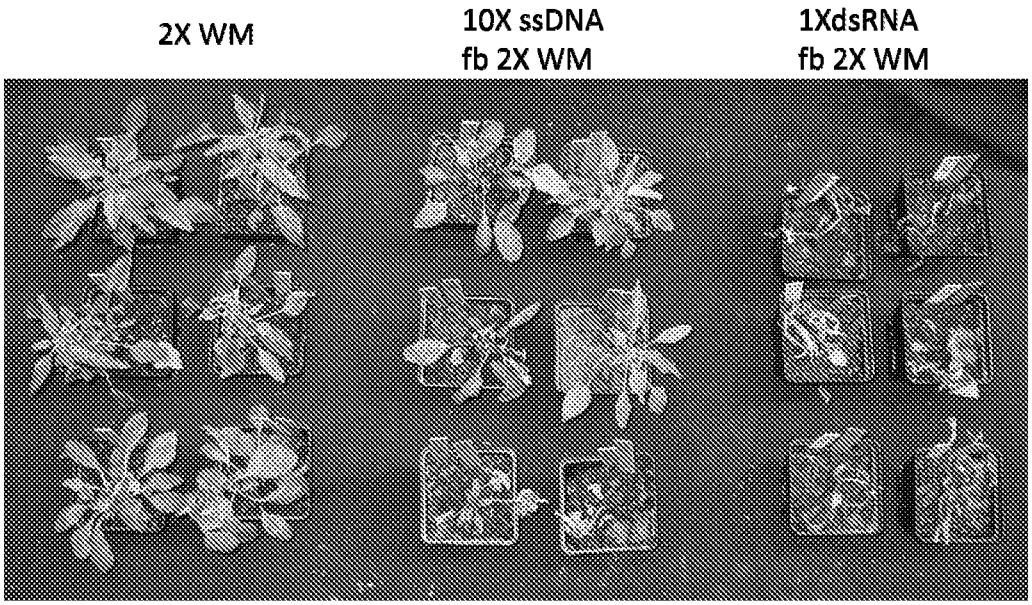

100
80
60
40
20
0
% of GI
buffer
RNA/DNA
dsRNA

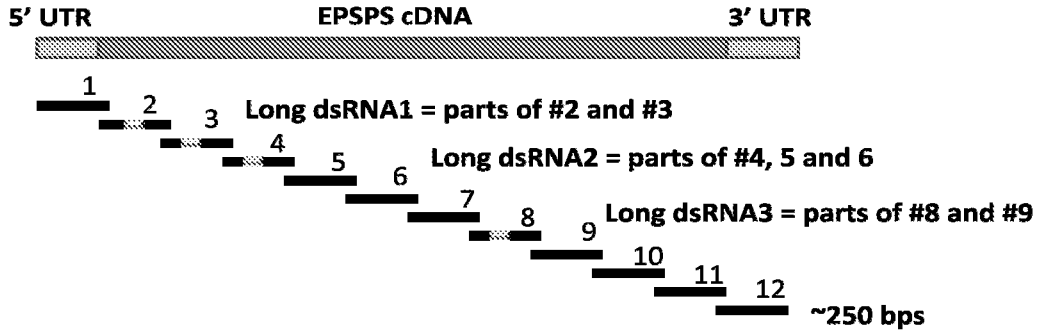
Figure 24

Step 1:	Step 2: dsRNAs formulated in	Step 3:
1% Silwet	1X dsRNA or 10X ssDNA with 2% AMS (via hand-drop)	2X WM (48-hr)

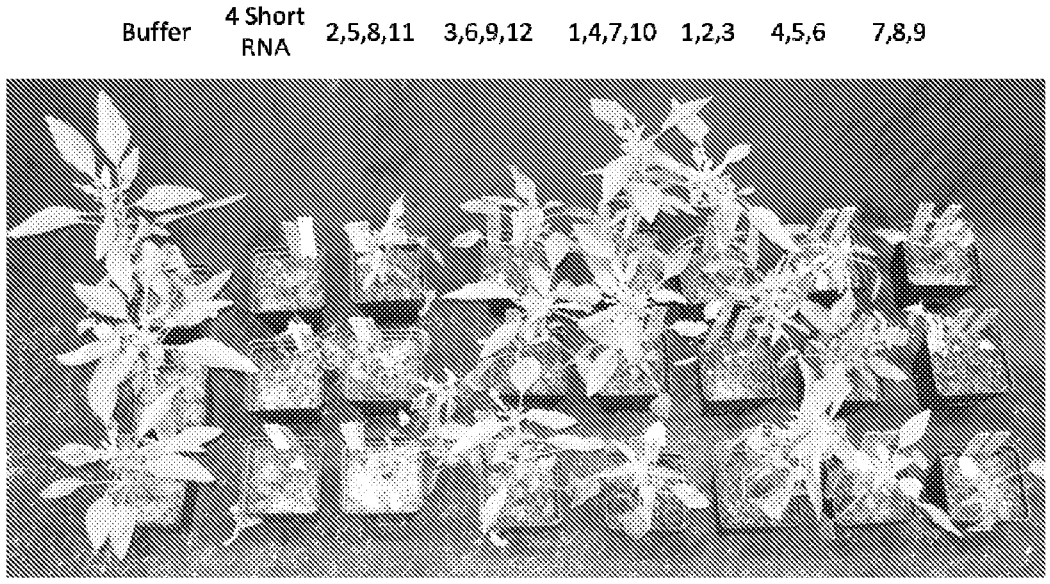


Palmer with 16-copies EPSPS)

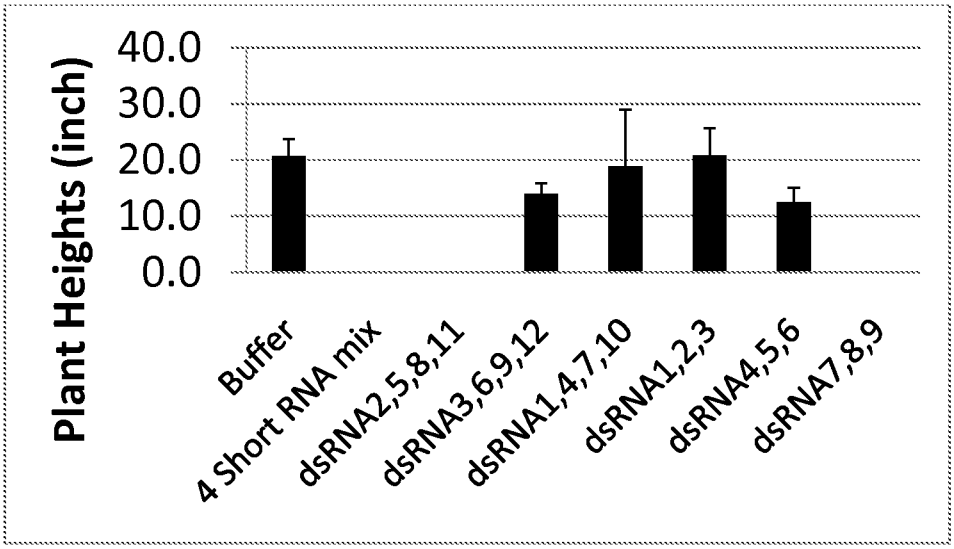
Figure 25



A



B



C

Figure 26

Step 1	Step 2 and Step 3 (2-hr or 24-hr later)
2X WeatherMax	1% Silwet spray fb 1X dsRNA

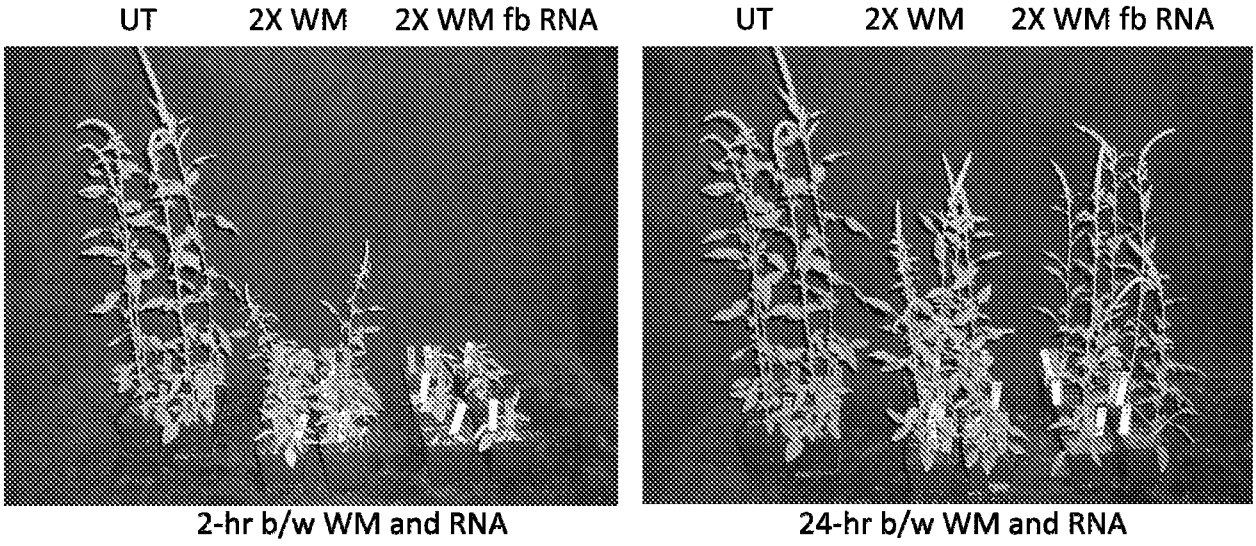


Figure 27

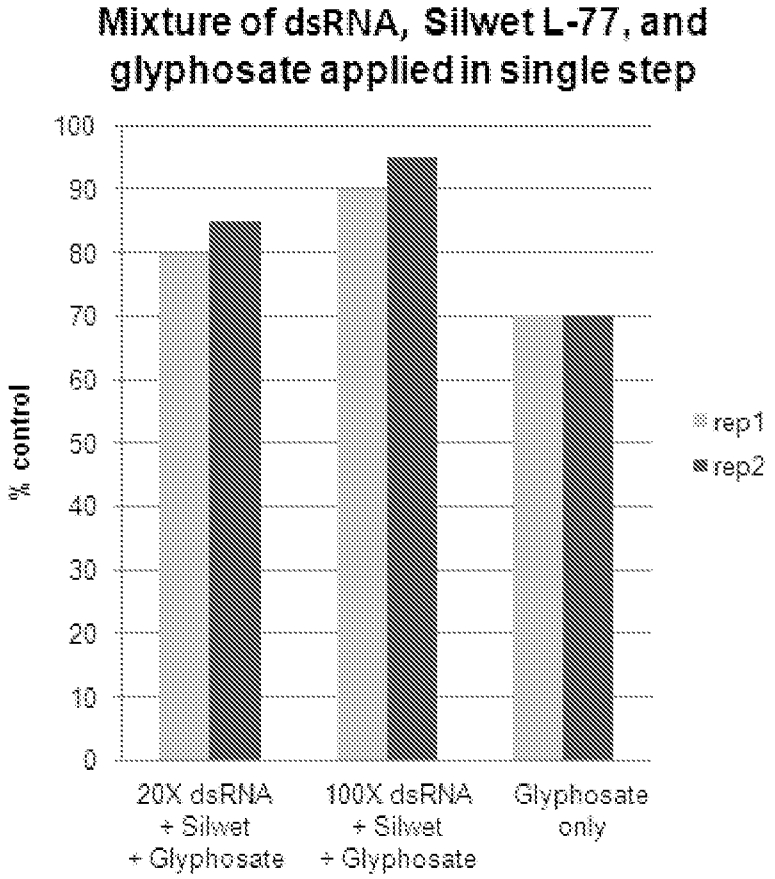

Mixture of dsRNA, Silwet L-77, and glyphosate applied in single step
% control
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
20X dsRNA + Silwet + Glyphosate
100X dsRNA + Silwet + Glyphosate
Glyphosate only
rep1
rep2

Figure 28

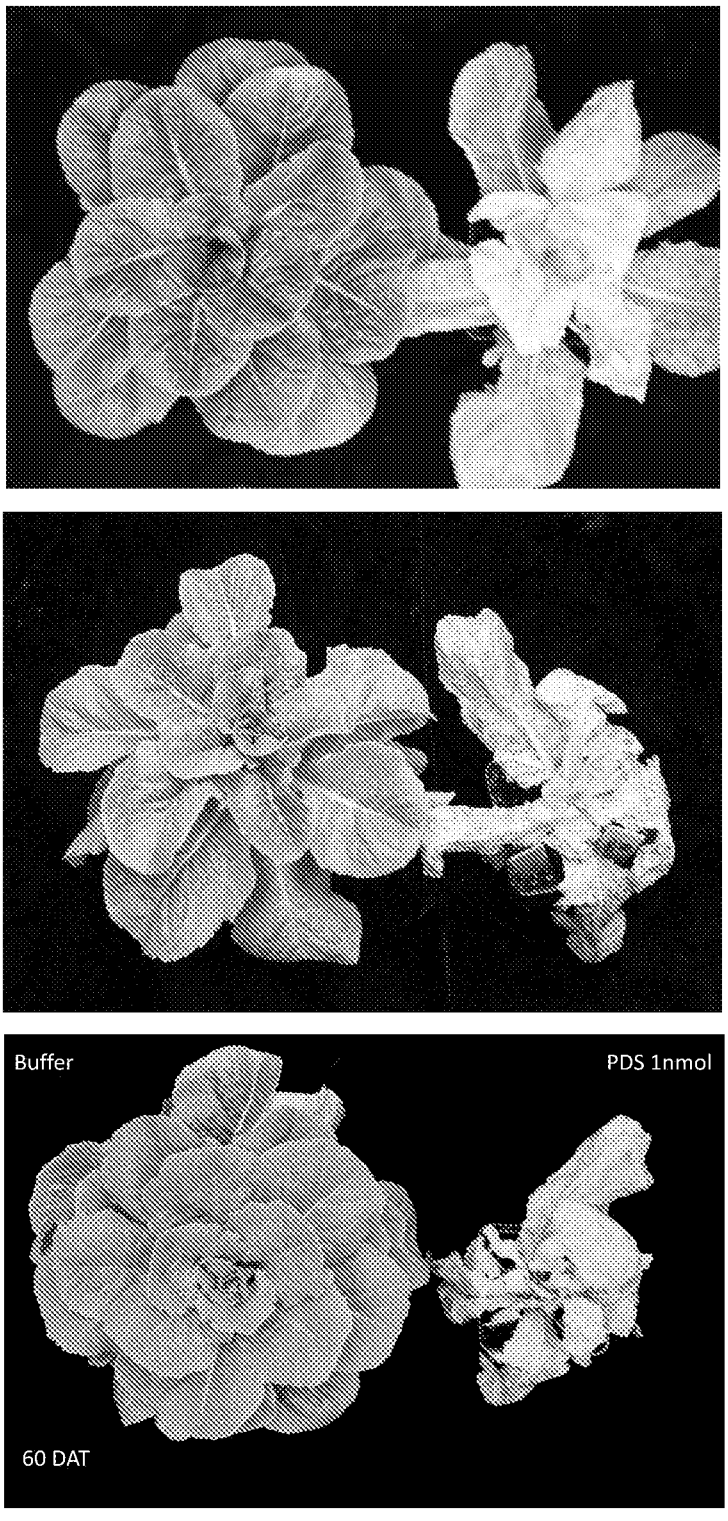
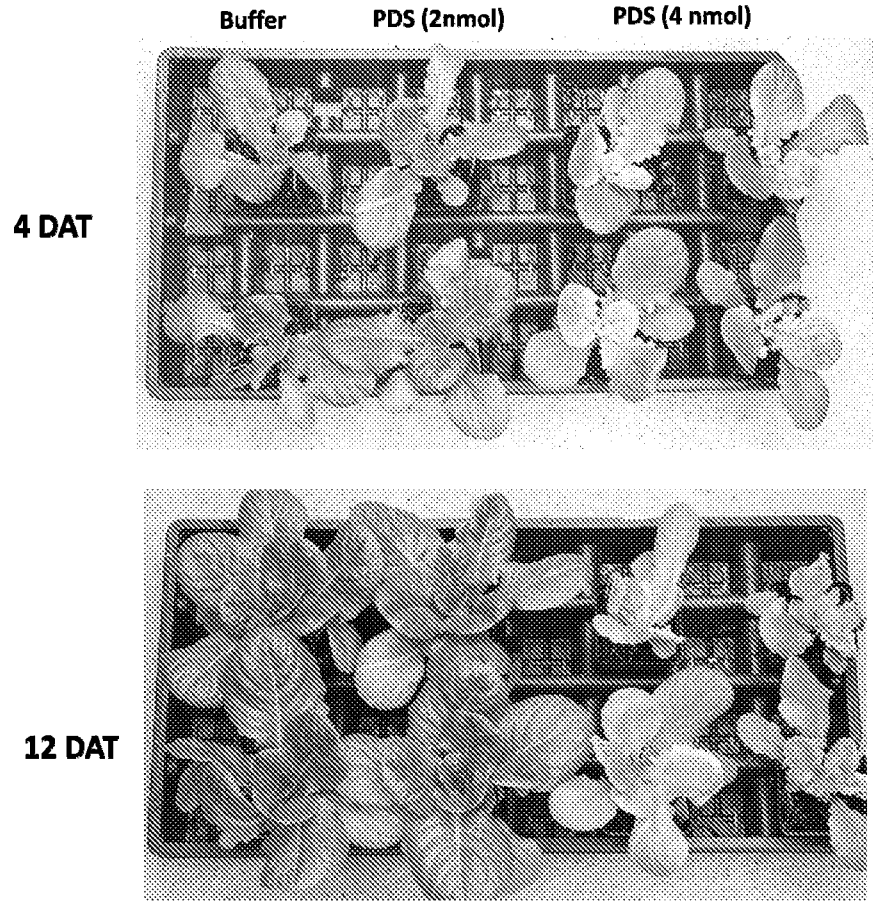
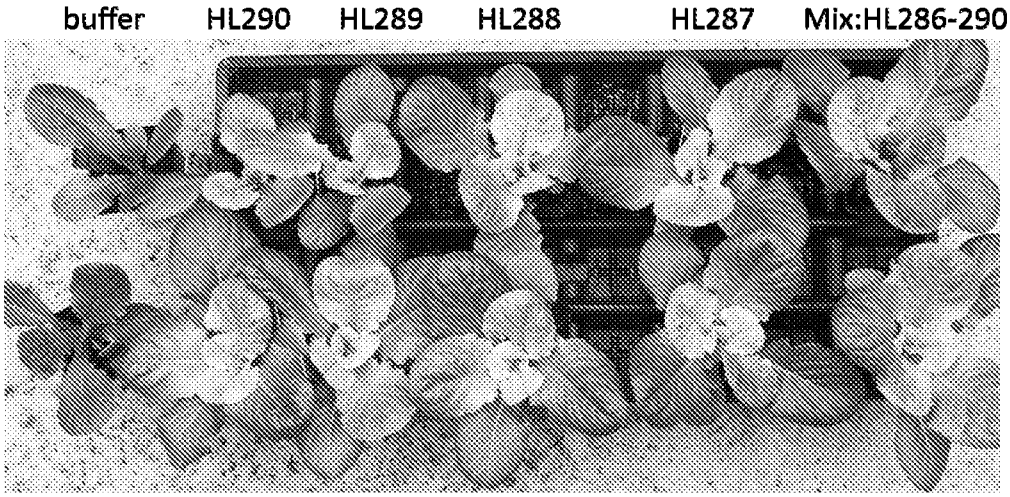


Figure 29


Buffer
PDS (2nmol)
PDS (4 nmol)
4 DAT
12 DAT

A


buffer
HL290
HL289
HL288
HL287
Mix:HL286-290

B

Figure 30



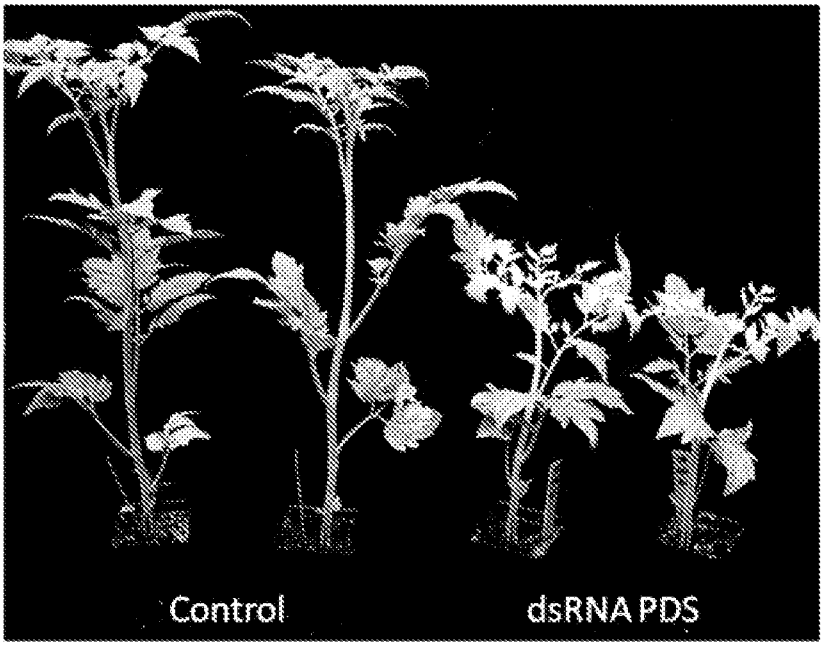


Figure 31

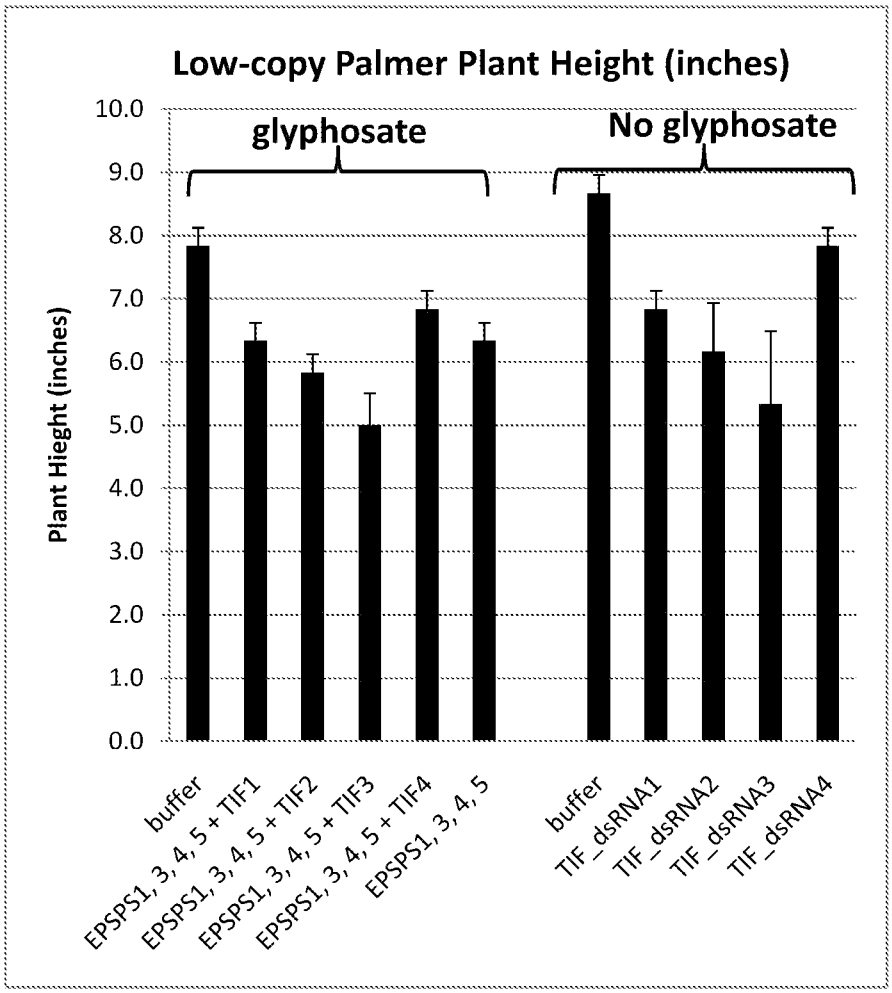

Low-copy Palmer Plant Height (inches)
glyphosate
No glyphosate
Plant Hieght (inches)
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
buffer
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF1
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF2
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF3
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF4
EPSPS1, 3, 4, 5
buffer
TIF_dsRNA1
TIF_dsRNA2
TIF_dsRNA3
TIF_dsRNA4

Figure 32

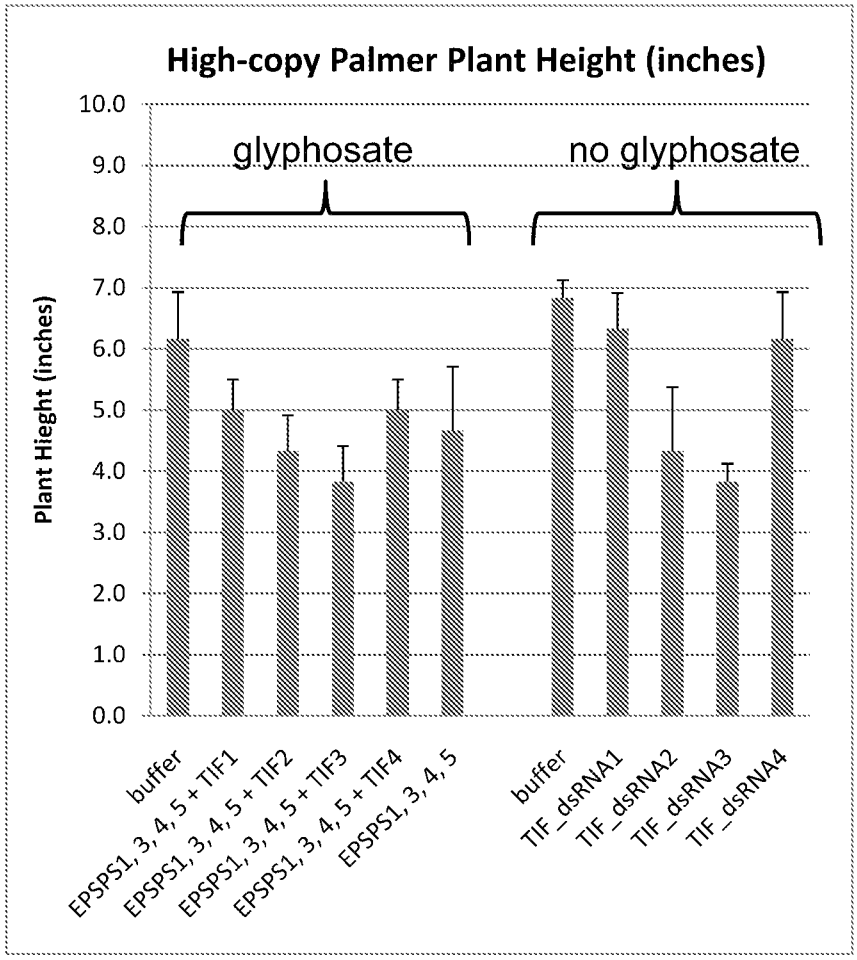

High-copy Palmer Plant Height (inches)
Plant Hieght (inches)
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
glyphosate
no glyphosate
buffer
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF1
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF2
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF3
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF4
EPSPS1, 3, 4, 5
buffer
TIF_dsRNA1
TIF_dsRNA2
TIF_dsRNA3
TIF_dsRNA4

Figure 33

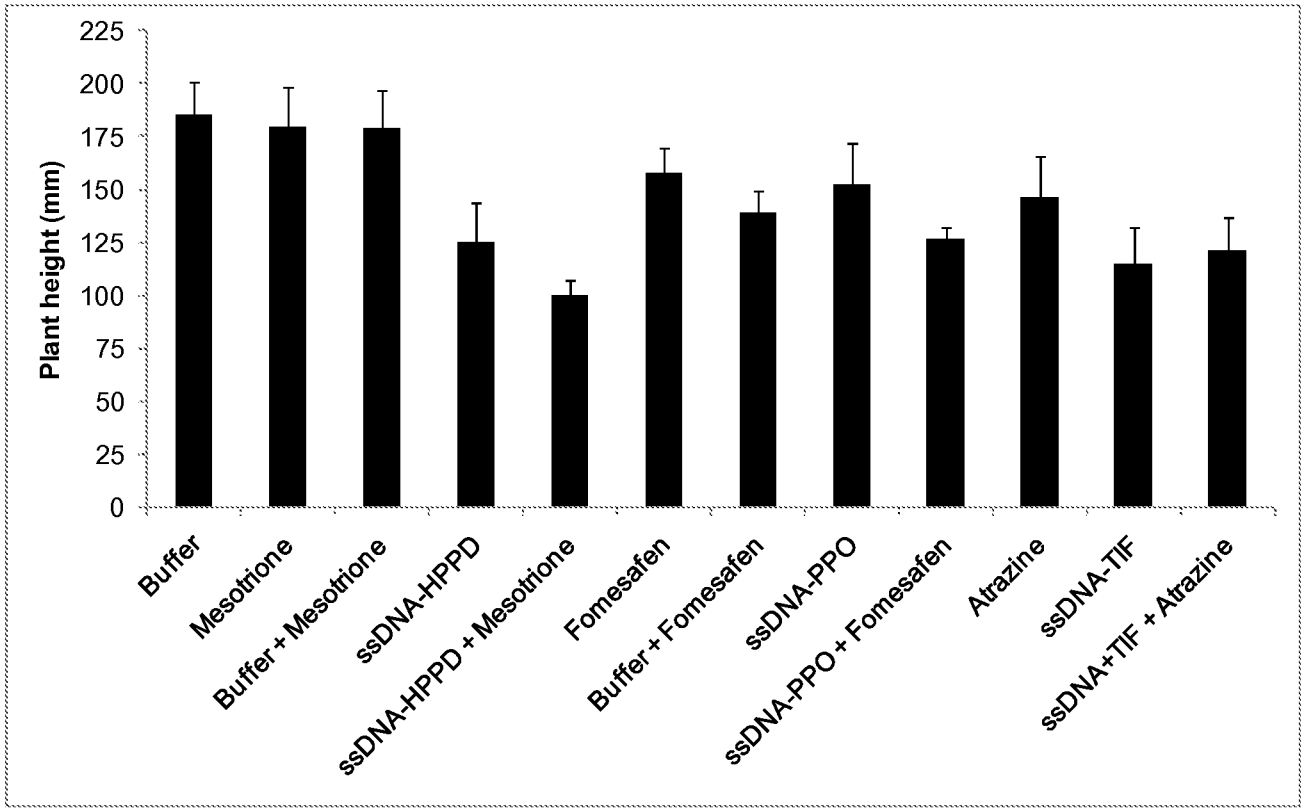
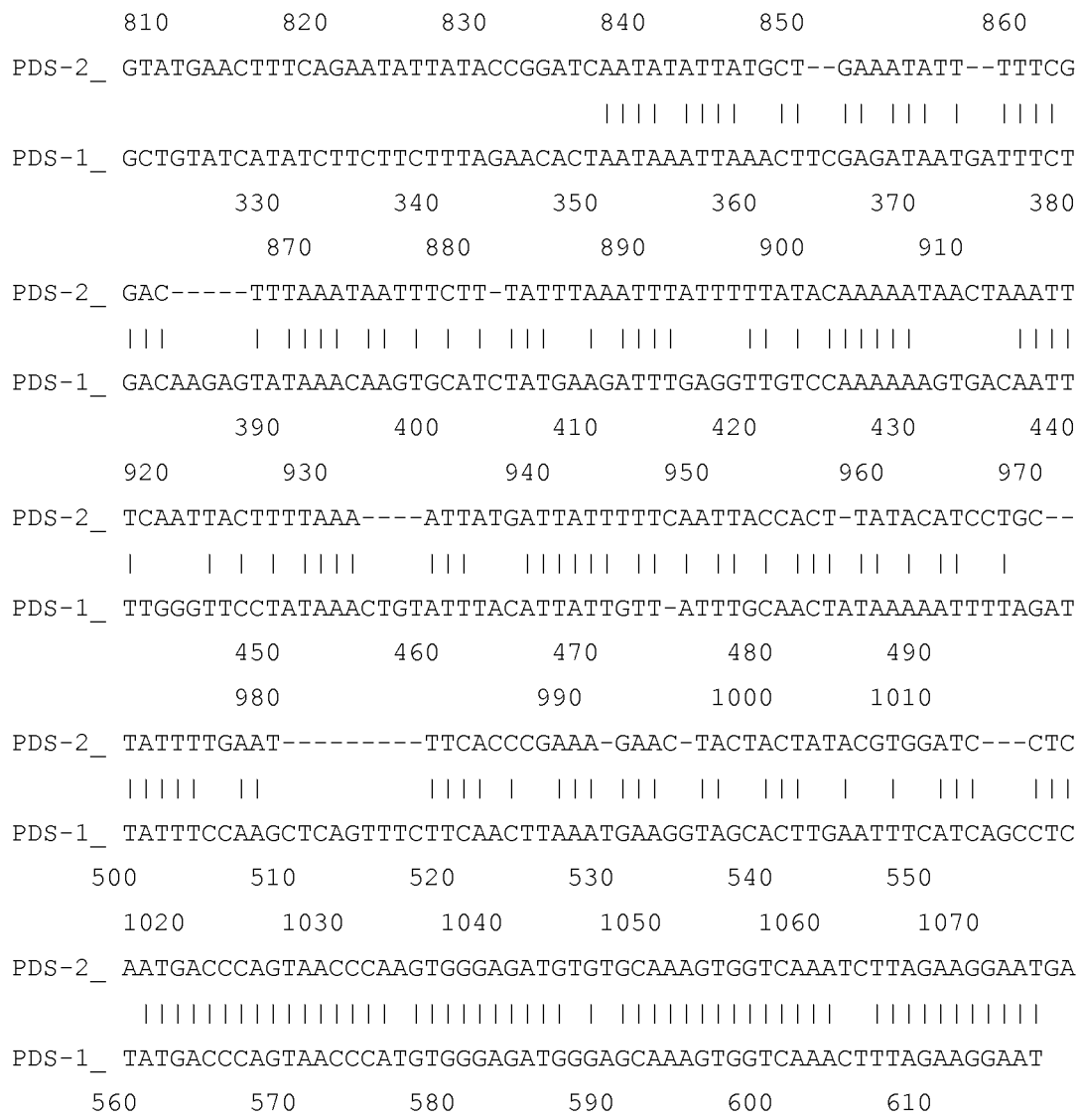

Plant height (mm)
225
200
175
150
125
100
75
50
25
0
Buffer
Mesotrione
Buffer + Mesotrione
ssDNA-HPPD
ssDNA-HPPD + Mesotrione
Fomesafen
Buffer + Fomesafen
ssDNA-PPO
ssDNA-PPO + Fomesafen
Atrazine
ssDNA-TIF
ssDNA+TIF + Atrazine

Figure 34



PDS-1 promoter sequence (SEQ ID NO:319)

and

PDS-2 promoter sequence (SEQ ID NO:320)

Figure 35

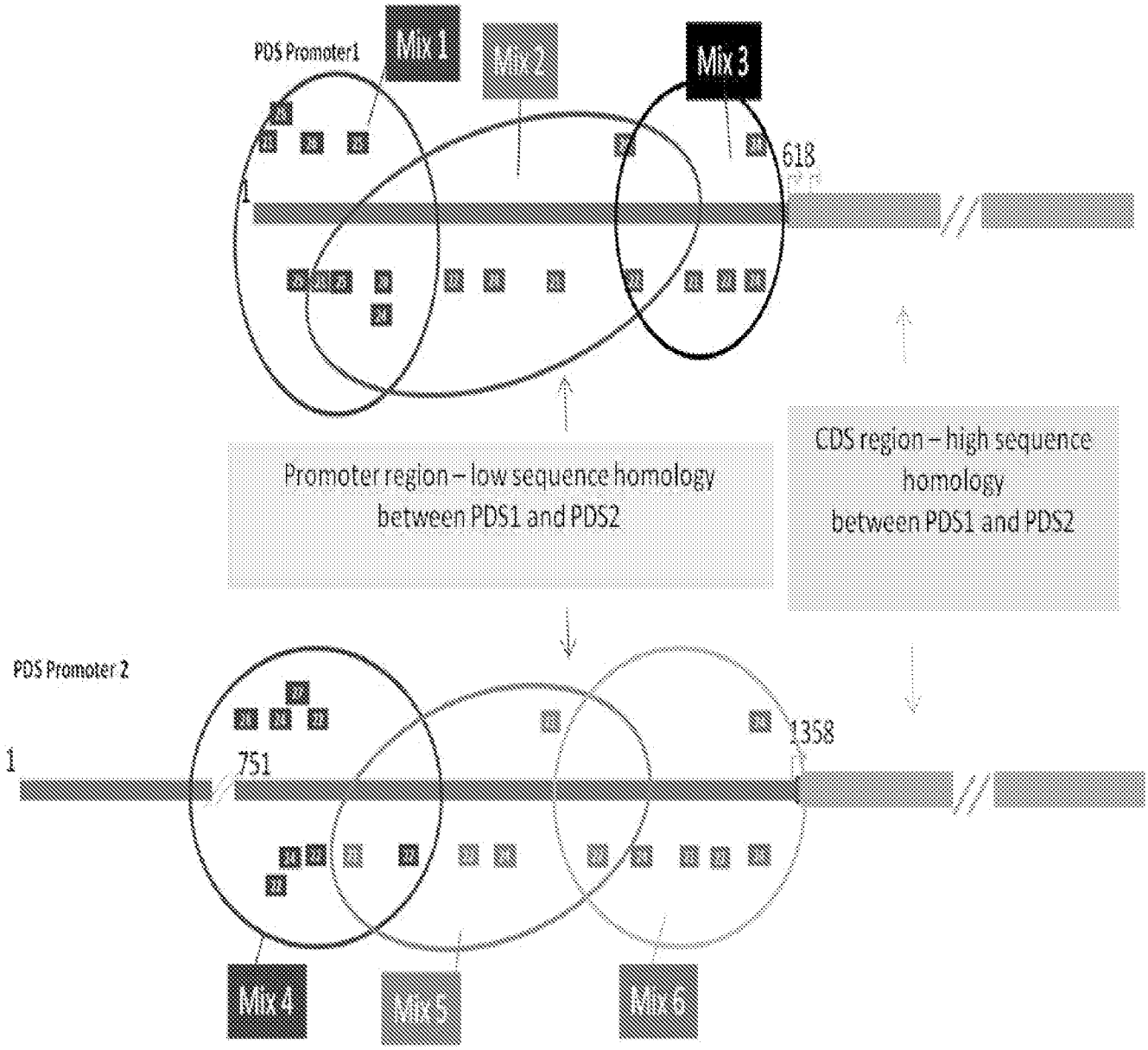

PDS Promoter1
Mix 1
Mix 2
Mix 3
618
1
Promoter region – low sequence homology between PDS1 and PDS2
CDS region – high sequence homology between PDS1 and PDS2
PDS Promoter 2
1
751
1358
Mix 4
Mix 5
Mix 6

Figure 36

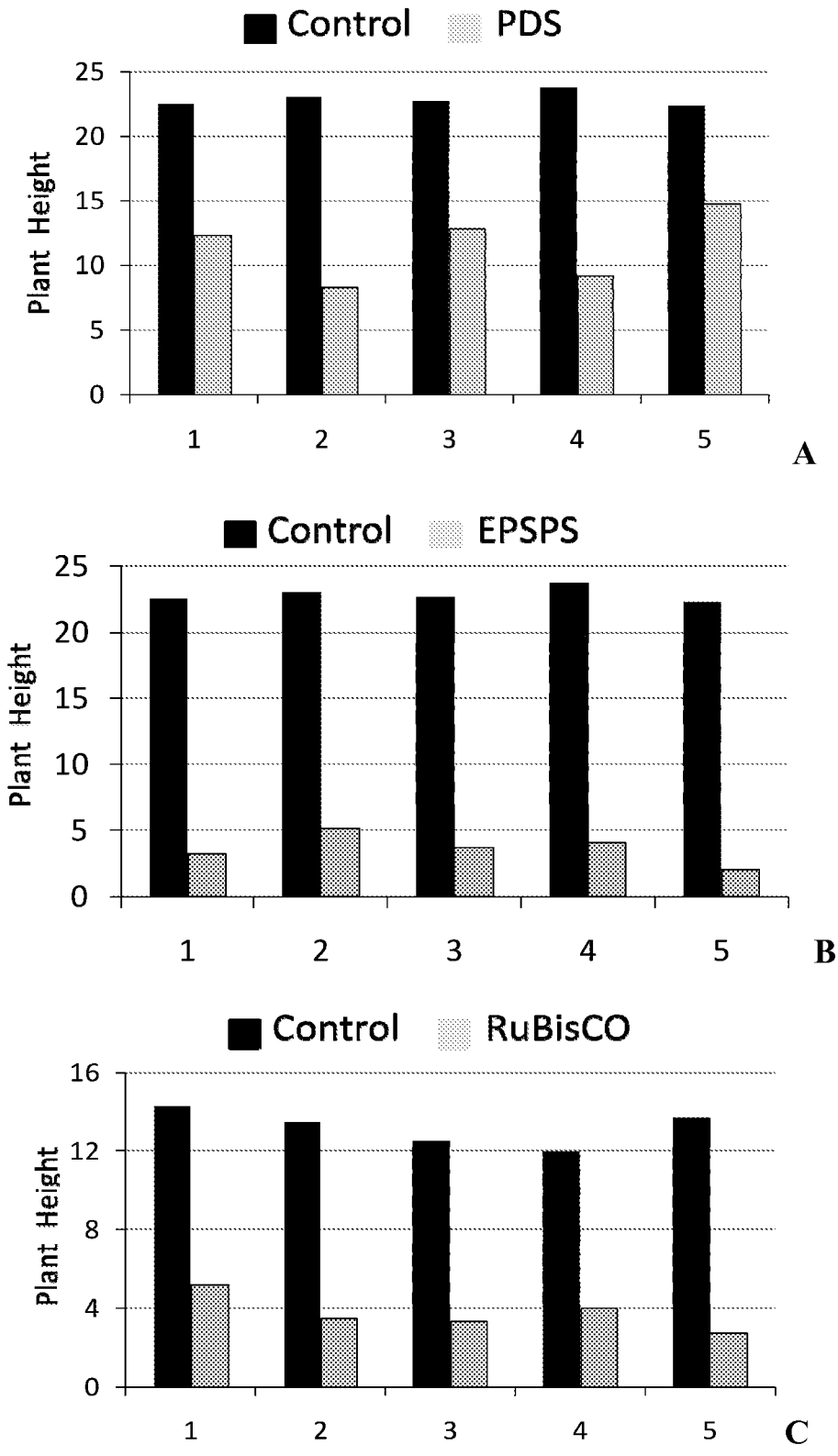

Control
PDS
Plant Height
25
20
15
10
5
0
1
2
3
4
5
A
Control
EPSPS
Plant Height
25
20
15
10
5
0
1
2
3
4
5
B
Control
RuBisCO
Plant Height
16
12
8
4
0
1
2
3
4
5
C

Figure 37

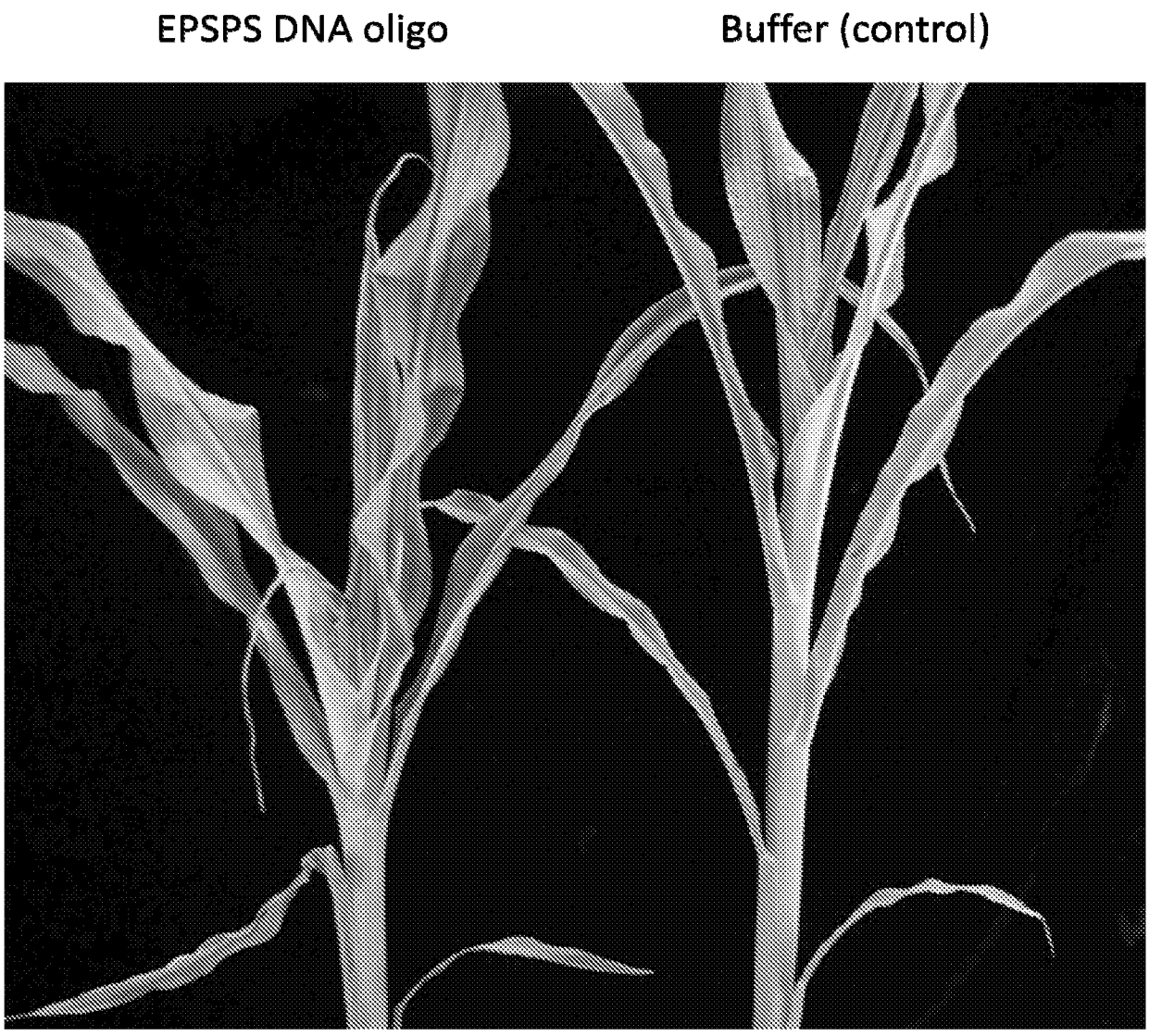


Figure 38

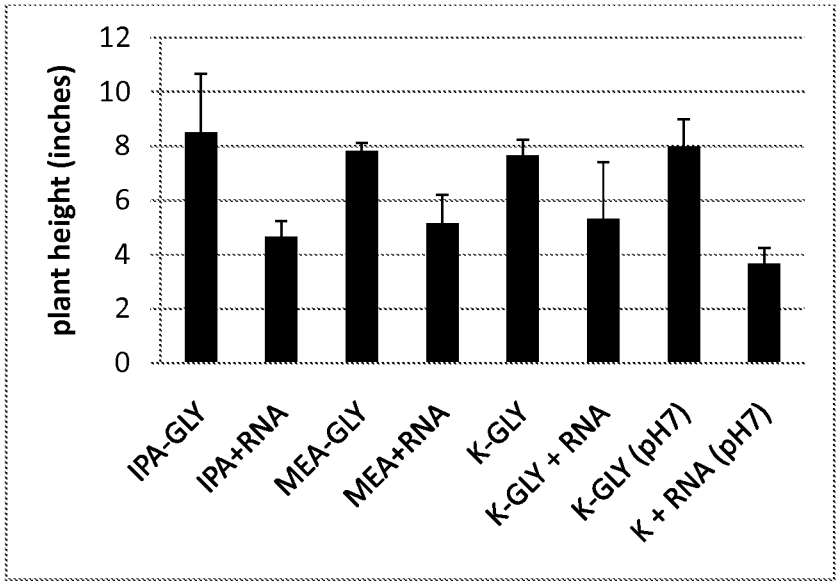
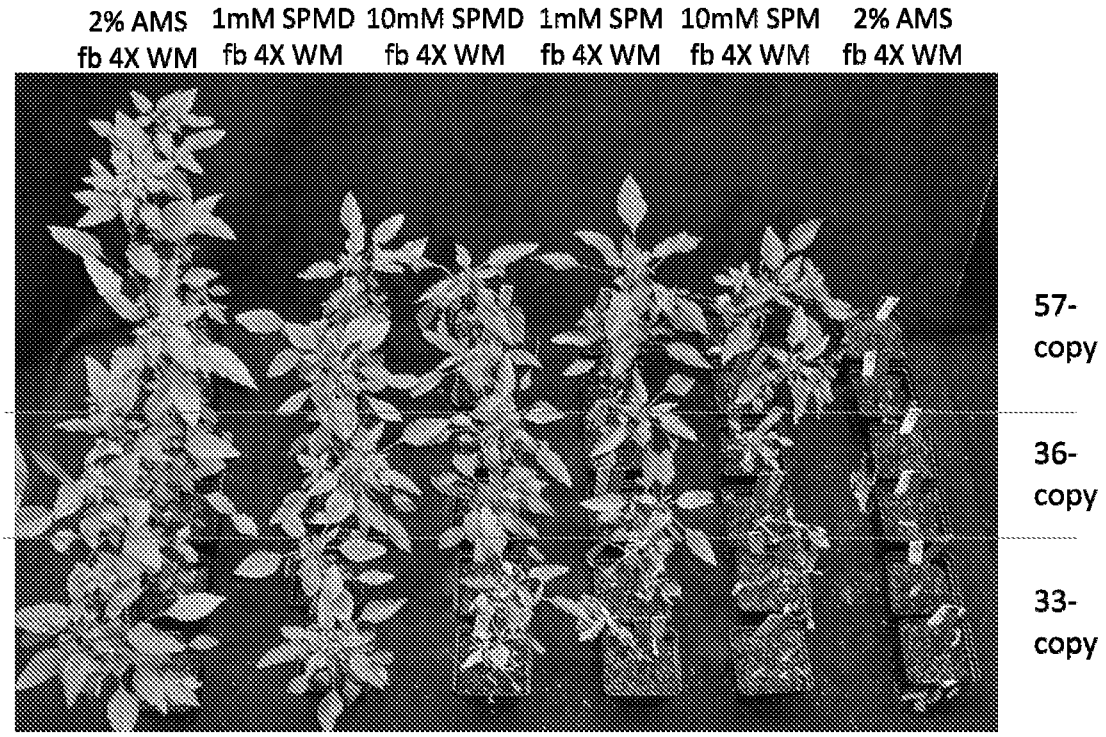

plant height (inches)
12
10
8
6
4
2
0
IPA-GLY
IPA+RNA
MEA-GLY
MEA+RNA
K-GLY
K-GLY + RNA
K-GLY (pH7)
K + RNA (pH7)

Figure 39



Comparison of spermine (SPM), spermidine (SPMD), ammonium sulfate (AMS)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US 11/27528

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(8) - C12P 19/34; C07H 21/04; C12N 15/113 (2011.01)
USPC - 435/91.3, 536/24.1, 800/278
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
USPC: 435/91.3, 536/24.1, 800/278

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
USPC: 435/91.3, 536/24.1, 23.1, 800/278 (text search)

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
Electronic data bases : PGPB, USPT, EPAB, JPAB; Google Scholar
Search terms: RNAi (e.g. siRNA, miRNA, dsRNA) dsDNA antisense oligo, ssDNA antisense oligo, gene regulation, crop spray, permeating moiety, transferring agent, organosilicone surfactant, allyloxypolypropylene glycol methylester, Silwet L-77,herbicide

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X ---- Y	WO 2007/039454 A1 (REN et al.). 12 April 2007 (12.04.2007). Especially pg 8 ln 3-6, pg 61 ln 21-26, pg 63 ln 1-6, pg 67 ln 29-30, pg 79 ln 1-5, pg 87 ln 14-18, pg 90 ln 12-14, pg 95 ln 27-29, pg 96 ln 9-10. This document can be viewed by entering the doc number at the following url: http://ep.espacenet.com/numberSearch?locale=en_EP	4,13 ---- 1-3,5-12,15,16
X ---- Y	ZHANG et al. Agrobacterium-mediated transformation of Arabidopsis thaliana using the floral dip method. Nat Protoc ePub 29 June 2006 Vol 1 No 2 Pages 641-646. Especially abstract, pg 1 right col para 1.	14 ---- 1-3,5-12,15,16
A	LI et al. The FAST technique: a simplified Agrobacterium-based transformation method for transient gene expression analysis in seedlings of Arabidopsis and other plant species. Plant Methods 20 May 2009 Vol 5 No 6 Pages 1-15. Especially abstract.	1-16
A	EP 1416049 A1 (TENLLADO et al.) 6 May 2004 (06.05.2004). Especially abstract, para [13], [14].	1-16
A	ARTMYMOVICH. Using RNA interference to increase crop yield and decrease pest damage. MMG 445 Basic Biotech 10 December 2009 Vol 5 No 1 Pages 7-12. Entire review.	1-16

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
5 April 2011 (05.04.2011)	10 MAY 2011
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201	Authorized officer: Lee W. Young PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT OSP: 571-272-7774

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 2009)

MOLÉCULAS POLINUCLEOTÍDICAS PARA REGULACIÓN GENÉTICA EN PLANTAS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS E INCORPORACIÓN DE LISTADO DE SECUENCIAS

La presente solicitud reivindica el beneficio de prioridad de las solicitudes de patentes provisionales de los Estados Unidos 61/311,762, presentada el 8 de marzo de 2010, 61/349,807, presentada el 28 de mayo de 2010 y 61/381,556, presentada el 10 de septiembre de 2010, las cuales se incorporan a modo de referencia en su totalidad a la presente. El listado de secuencias que figura en el archivo denominado "38-21_56855_D.txt", el cual tiene 133 kilobytes (medidos en el sistema operativo MS-Windows) y se creó el 7 de marzo de 2011, se presenta con la presente y se incorpora a la misma a modo de referencia.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

En la presente se divulgan moléculas polinucleotídicas para regular genes en plantas y métodos para preparar y utilizar dichas moléculas.

ANTECEDENTES

La ineficacia de los herbicidas para controlar las malezas resistentes es un problema especialmente cuando dichas malezas crecen en campos de cultivos resistentes a herbicidas que pueden tener una resistencia a herbicidas más baja que la maleza. Las malezas resistentes a los herbicidas se identifican por una variedad de modos de acción. La resistencia que resulta de la selección de múltiples copias de genes que producen proteínas dirigidas al herbicida en amaranto se describe en Gaines et al. (2010) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107(3):1029-1034. La resistencia que resulta de mutaciones en genes que producen proteínas dirigidas a herbicidas en amor de hortelano, lechuga espinaca y ryegrás se describe en Baerson et al. (2002) Plant Physiol., 129(3):1265-1275; Preston et al. (2006) Pesticide Biochem. Physiol., 84(3):227-235; y Wakelin et al. (2006) Weed Res. (Oxford), 46(5):432-440. El secuestro vacuolar del glifosato es un mecanismo que se observa en la hierba de caballo resistente al glifosato; ver Ge et al. (2010) Pest Management Sci., 66:576-576. La resistencia resultante de la expresión de enzimas que metabolizan herbicidas en una forma química inactiva en garranchuelos se describe en Hidayat et al. (1997) Pesticide Biochem. Physiol., 57(2):137-146. Reddy et al. (2008) J. Agric. Food Chem., 56(6):2125-2130 describieron la acumulación de ácido aminometilfosfónico en especies vegetales tratadas con glifosato.

SUMARIO DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona moléculas polinucleotídicas y métodos para regular genes en plantas, por ejemplo, proporcionando ARN para la regulación sistémica de genes. Varios aspectos de la invención proporcionan moléculas polinucleotídicas y métodos para regular genes y transgenes endógenos en una célula vegetal y moléculas polinucleotídicas. Los polinucleótidos, composiciones y métodos divulgados en la presente son útiles para regular genes endógenos de una plaga o patógeno vegetal. En un aspecto de la invención, las moléculas polinucleotídicas se proporcionan en composiciones que pueden permear o ser absorbidas en el tejido vegetal vivo para iniciar el silenciamiento génico sistémico de genes o transgenes endógenos o de su ARN transcrito. En algunos aspectos de la invención, las moléculas polinucleotídicas en última instancia proporcionan a una planta o permiten la producción en células de una planta, de ARN que es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en una célula vegetal con ARN transcrito a partir de un gen endógeno objetivo o transgén objetivo en la célula vegetal, produciendo así la regulación del gen objetivo, por ejemplo, el silenciamiento o supresión del gen objetivo. En otros aspectos de la invención, las moléculas polinucleotídicas divulgadas en la presente también son útiles para proporcionar en última instancia a una planta o permitir la producción en células de una planta, de ARN que es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas con ARN transcrito a partir de un gen objetivo en una célula de una plaga invertebrada o de un patógeno viral de la planta, produciendo así la regulación del gen objetivo, por ejemplo, el silenciamiento o supresión del gen objetivo. En algunos aspectos, el silenciamiento o supresión del gen objetivo conduce a la sobrerregulación de otro gen que es afectado o regulado por la expresión del gen objetivo.

Se cree que las composiciones y métodos de esta invención operan a través de una o más de las diversas vías celulares naturales implicadas en la supresión génica mediada por ARN, tal como se describe generalmente en reseñas de Brodersen y Voinnet (2006), Trends Genetics, 22:268-280; Tomari y Zamore (2005) Genes & Dev., 19:517-529; Vaucheret (2006) Genes Dev., 20:759-771; Meins et al. (2005) Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 21:297-318; y Jones-Rhoades et al. (2006) Annu. Rev. Plant Biol., 57:19-53. La supresión mediada por ARN generalmente implica un intermediario de ARN bicatenario (ARNbc) que se forma intramolecularmente dentro de una única molécula de ARN o intermolecularmente entre dos moléculas de ARN. Este intermediario de ARNbc más largo se procesa mediante una ribonucleasa de la familia RNasa III (ribonucleasa Dicer o similar a Dicer) en uno o más ARN bicatenarios más cortos, incorporándose una cadena de estos al complejo de silenciamiento inducido por ARN (“RISC”). Por ejemplo, la vía

ARNip implica la escisión de un intermediario de ARN bicatenario más largo en ARN interferentes pequeños (“ARNip”). Se cree que el tamaño de los ARNip varía de aproximadamente 19 a aproximadamente 25 pares de bases, pero los tipos más comunes de ARNip en plantas incluyen los que contienen 21 pares de bases o 24 pares de bases. Ver, Hamilton et al. (2002) EMBO J., 21:4671-4679. Tal como se usa en la presente, “oligonucleótido” significa una molécula polinucleotídica que tiene una longitud de 18-25 nucleótidos, similar al tamaño de moléculas de ARN pequeñas procesadas en mecanismos de silenciamiento génico. Varias realizaciones de esta invención incluyen composiciones que incluyen oligonucleótidos o polinucleótidos o una mezcla de ambos.

Los aspectos de la invención incluyen composiciones y métodos para: proporcionar moléculas de ARN monocatenarias en una célula vegetal para regulación sistémica de genes; tratamiento herbicida con composiciones que incluyen tensioactivo y un agente letal vegetal que proporciona ARN monocatenario para la supresión de un gen endógeno en una célula vegetal; revestimiento tópico sobre una superficie vegetal que incluye un tensioactivo (por ejemplo, un tensioactivo de organosilicona) y una molécula de oligonucleótido o polinucleótido para supresión de un gen endógeno en una célula vegetal; composición de aplicación tópica para inducir el silenciamiento sistémico de un gen objetivo en una planta que incluye (a) un agente para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos y (b) moléculas polinucleotídicas; y tratamiento herbicida con composiciones que incluyen (a) un agente para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos y (b) moléculas polinucleotídicas. Opcionalmente estas composiciones pueden incluir un herbicida no nucleotídico.

En otros aspectos, la invención proporciona métodos para: controlar plantas espontáneas resistentes a herbicidas; investigar la genética inversa modulando un gen endógeno en una planta mediante la aplicación sobre tejido de una planta en crecimiento de una composición para proporcionar moléculas de ARN monocatenario en una célula vegetal para regulación sistémica de genes; inducir el silenciamiento sistémico de una gen objetivo que incluye aplicación tópica de polinucleótidos en una planta; inducir el silenciamiento sistémico de un gen objetivo en una planta mediante (a) acondicionamiento de una planta para la permeación de polinucleótidos y (b) aplicación tópica de polinucleótidos en la planta; investigar la genética inversa modulando un gen endógeno en una planta mediante la aplicación tópica en una planta viva de una composición de aplicación tópica que incluye moléculas polinucleotídicas y un agente para acondicionar una planta para la permeación de dichas moléculas polinucleotídicas.

En otros aspectos, la invención proporciona una planta con ADN o ARN exógeno para suprimir un gen endógeno, donde el ADN exógeno no está integrado en un cromosoma de la planta, el ARN exógeno no se transcribe a partir de ADN integrado en un cromosoma de la planta y el gen endógeno se suprime mediante aplicación tópica de un polinucleótido en una planta. Estos y otros aspectos de la invención se describen en más detalle en las siguientes secciones.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 presenta la SEQ ID NO:1, una secuencia de nucleótidos que codifica EPSPS de palmera amaranto.

10) La Figura 2 presenta la SEQ ID NO:3 que es una secuencia de nucleótidos de un gen Pol III sintetizado.

11) La Figure 3 ilustra la morbilidad de las plantas de palmera amaranto tratadas con un ARNbc. La Figura 3A muestra a las plantas 7 días después del tratamiento con glifosato. La Figura 3B muestra plantas tratadas con tensioactivo que se trataron con la solución de ARNbc largo y posteriormente con tratamiento con glifosato después de 72 horas. La Figura 3C muestra plantas tratadas con tensioactivo que se trataron con la solución de ARNbc corto y posteriormente con tratamiento con glifosato después de 72 horas.

12) La Figura 4 ilustra el blanqueado en plantas Nicotiana benthamiana tratadas con una composición de ARNbc.

13) La Figura 5 presenta la SEQ ID NO:2 que es una secuencia de nucleótidos de una fitoeno desaturasa de Nicotiana benthamiana.

14) La Figura 6 ilustra oligonucleótidos de ADNmc antisentido marcado con Alexa Fluor 488 en 5' (SEQ ID NO:15) permeado las hojas de palmera amaranto resistente a glifosato tal como se describe en el Ejemplo 9.

15) La Figura 7 muestra los resultados de ARNm de EPSPS medidos en hojas de palmera amaranto resistente a glifosato tratadas con oligonucleótidos de ADNmc antisentido para EPSPS tal como se describe en el Ejemplo 9. Las barras representan experimentos repetidos para cada uno de los tratamientos No. 1 - No. 4 (indicados por los números dentro de los círculos y en referencia a la Tabla 2) y para testigos (hojas permeadas con oligonucleótidos de ADNmc antisentido para una proteína de semilla de cebada, SEQ ID NO:14, tratadas con y sin glifosato).

16) La Figura 8 muestra los resultados de la proteína EPSPS medidos en hojas de palmera amaranto resistente a glifosato tratadas tópicamente con oligonucleótidos de

ADNmc antisentido para EPSPS, tal como se describe en el Ejemplo 9; los tratamientos se indican mediante los números dentro de los círculos y en referencia a la Tabla 2.

17) La Figura 9 muestra los resultados de la acumulación de shiquimato medida en hojas de palmera amaranto resistente a glifosato tratadas con oligonucleótidos de ADNmc antisentido para EPSPS en dos experimentos, tal como se describe en el Ejemplo 9; los tratamientos se indican mediante los números dentro de los círculos y en referencia a la Tabla 2.

18) La Figura 10 muestra la secuencia de nucleótidos de una fitoeno desaturasa de Nicotiana benthamiana (SEQ ID NO:2).

19) La Figura 11 representa esquemáticamente la ubicación de las secuencias de los oligonucleótidos y polinucleótidos sometidos a ensayo (ver Tabla 3) en relación con la secuencia de fitoeno sintasa (SEQ ID NO:16) tal como se describe en el Ejemplo 10.

20) La Figura 12A ilustra el blanqueado apical de hoja en plantas Nicotiana benthamiana tratadas tópicamente con solución amortiguadora (“Testigo”), un polinucleótido de ARNbc de 200 mer con una secuencia de ARN que corresponde al segmento que consiste en los nucleótidos 914 – 1113 de la SEQ ID NO:2 (“200 nt dsRNA”), y una combinación de oligonucleótidos y polinucleótidos de ADN monocatenario (SEQ ID NOs:16, 17, 20, 21, 24, 25 y 26) (“ssDNA oligos”) tal como se describe en el Ejemplo 10. La Figura 12B ilustra los resultados de un análisis de transferencia northern de ARN aislado a partir de plantas Nicotiana benthamiana tratadas con solución amortiguadora (testigo), el polinucleótido de ARNbc de 200 mer y los oligonucleótidos de ADNmc. También se muestra el ARN aislado a partir de plantas que fueron estresadas manteniéndolas a 4 grados Celsius y en la oscuridad durante toda la noche antes del tratamiento con los polinucleótidos de ARNbc de 200 mer.

21) La Figura 13 ilustra el blanqueado apical de hojas en plantas Nicotiana benthamiana tratadas tópicamente por duplicado con varias combinaciones de polinucleótidos u oligonucleótidos (los números se refieren a los tratamiento enumerados en la Tabla 4) tal como se describe en el Ejemplo 10. Las plantas testigo (Tratamiento 13 en la Tabla 4) no se muestran.

22) La Figura 14 ilustra el blanqueado aplica en hojas de plantas Nicotiana benthamiana tratadas tópicamente con los polinucleótidos indicados en la Tabla 5 tal como se describe en el Ejemplo 10.

23) La Figura 15 ilustra el blanqueado apical de hojas observado en plantas Nicotiana benthamiana después del tratamiento tópico con el ADNmc antisentido de 21 mer de PDS (SEQ ID NO:34, “21nt PDS antisentido”) o con oligonucleótidos de 22 mer antisentido de

PDS sometidos a ensayo previamente sin un promotor T7 (SEQ ID NOs:22 y 23) (“PDS antisentido”). No se observó o se observó un blanqueado apical poco visible en hojas después del tratamiento tópico solo con la solución amortiguadora o después del tratamiento tópico con ADNmc sentido de 21 mer de PDS (SEQ ID NO:36, “21nt PDS sentido”) tal como se describe en el Ejemplo 10.

24) La Figura 16 ilustra una alineación de las secuencias de ADN PDS de palmera amaranto y Nicotiana benthamiana que muestra aproximadamente 71% de identidad (1252/1762) tal como se describe en el Ejemplo 11.

25) La Figura 17 ilustra el blanqueado apical de hojas observado en plantas de palmera amaranto tratadas tópicamente con ARNbc PDS de Palmer de 678 bp o 198 bp pero no en plantas de palmera amaranto tratadas tópicamente con un ARNbc de gen del gusano de la raíz de maíz de 260 pares de bases, tal como se describe en el Ejemplo 11.

26) La Figura 18A ilustra el blanqueado apical en hojas, tallos y flores de plantas Nicotiana benthamiana tratadas tópicamente primero con una solución de tensioactivo y luego con un oligonucleótido PDS de ADNmc para inducir el silenciamiento sistémico de la fitoeno desaturasa, tal como se describe en el Ejemplo 12. La Figura 18B ilustra el blanqueado apical en hojas, tallos y flores de plantas Nicotiana benthamiana tratadas tópicamente con un oligonucleótido PDS de ADNmc para inducir el silenciamiento sistémico de la fitoeno desaturasa, con o sin acondicionamiento con una solución de tensioactivo, tal como se describe en el Ejemplo 12.

27) La Figura 19 ilustra los resultados de los ensayos con diferentes líneas de palmera amaranto resistentes a glifosato (3 plantas por repetición) tratadas con las condiciones indicadas en la Tabla 6, tal como se describe en el Ejemplo 13. Las fotografías fueron sacadas a los 7 días después del tratamiento con glifosato (experimentos 1 – 6) o a los 9 días después del tratamiento con glifosato (experimentos 7 – 9).

28) La Figura 20 ilustra la ubicación de dos ARN pequeños identificados como abundantes en las plantas de palmera amaranto tratadas con ARNbc de EPSPS y que se muestran como nucleótidos en cursiva subrayados en las posiciones 564-588 y 743 – 767 del EPSPS de longitud completa (SEQ ID NO:40), tal como se describe en el Ejemplo 14. La secuencia de EPSPS también muestra la ubicación de las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “cortas” de tamaño de oligonucleótido (testo subrayado, sin cursiva) y los tres polinucleótidos de ARN bicatenario “largos” (texto en negrita, tal como se describe en el Ejemplo 1).

29) La Figura 21A ilustra los resultados del tratamiento de las plantas de palmera amaranto con tensioactivo y posteriormente ARNbc en una de tres cantidades de

aplicación y posteriormente con herbicida, tal como se describe en el Ejemplo 17. La Figura 21B ilustra los resultados del ensayo 1 llevado a cabo con semillas recogidas de palmera amaranto resistente a glifosato cultivadas en el campo, tal como se describe en el Ejemplo 17; las plantas se muestran a los 8 días y 30 días después del tratamiento con herbicida.

30) La Figura 22 ilustra los resultados obtenidos con el tratamiento de palmera amaranto con tensioactivo de amina de sebo y sulfato de amonio o con reactivos de transfección, tal como se describe en el Ejemplo 18.

31) La Figura 23 ilustra los resultados de tratar plantas de palmera amaranto resistentes a glifosato con ARNbc de EPSPS o híbridos de ADN/ARN de EPSPS, tal como se describe en el Ejemplo 19.

32) La Figura 24 ilustra los resultados de tratar plantas de palmera amaranto resistentes a glifosato con ARNbc de EPSPS o polinucleótidos de ADNmc de EPSPS, tal como se describe en el Ejemplo 20. La fotografía superior se tomó a los 8 días después de la pulverización del herbicida y la gráfica inferior (barras) presenta los resultados como la puntuación de lesión por glifosato (GI) 8 días después de la pulverización del herbicida.

33) La Figura 25A ilustra doce polinucleótidos de ARNbc correspondientes a segmentos de ADN de aproximadamente 250 bp, cubriendo cada uno de forma traslapada la secuencia sentido completa y parte de las regiones en 5' y en 3' sin traducir del gen EPSPS de Palmer, tal como se describe en el Ejemplo 21; las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS "cortas" de tamaño de oligonucleótido tales como se describen en el Ejemplo 1 y la Figura 1 están ubicadas en los segmentos de traslape 2, 3, 4 y 8 respectivamente y se muestran como barras gris claro dentro de dichos segmentos. La Figura 25B y la Figura 25C ilustran los resultados del tratamiento de plantas de palmera amaranto resistentes a glifosato con ARNbc diseñado a partir de estos segmentos de traslape o las cuatro moléculas de ARNbc "cortas" o solución amortiguadora.

34) La Figura 26 ilustra los resultados del tratamiento de plantas de palmera amaranto resistentes a glifosato con glifosato y posteriormente con pulverización de Silwet L-77 al 1% y posterior aplicación de ARNbc de EPSPS en solución amortiguadora que contenía 2% de sulfato de amonio, tal como se describe en el Ejemplo 22. Las plantas testigo sin tratamiento ("ST") se trataron solamente con pulverización de Silwet L-77 al 1% pero no con herbicida ni ARNbc. Las plantas se fotografiaron y puntuaron a las plantas a los 16 días después del tratamiento.

35) La Figura 27 ilustra los resultados del tratamiento de una población de campo de palmera amaranto resistente a glifosato con gran cantidad de copias con una composición

que contenía una cantidad de 20X o 100X de polinucleótidos de ARNbc de EPSPS, tensioactivo, sulfato de amonio y herbicida o con una composición que contenía tensioactivo, sulfato de amonio y herbicida, tal como se describe en el Ejemplo 23. Para cada tratamiento, se trataron dos parcelas duplicadas de 1 pie por 5 pies.

36) La Figura 28 representa la evolución del blanqueado y muerte de las plantas de lechuga tratadas con 1 nanomol de ADNmc por planta (de arriba hacia abajo) 37, 46 y 60 días después del tratamiento, tal como se describe en el Ejemplo 24.

37) La Figura 29A ilustra el silenciamiento sistémico en plantas de lechuga evidenciado por el blanqueado observado a los 4 o 12 días después del tratamiento tópico con polinucleótidos, tal como se describe en el Ejemplo 24. La Figura 29B muestra el silenciamiento sistémico evidenciado por el blanqueado observado a los 4 días después del tratamiento tópico con los cuatro ADNmc antisentido individuales (“HL287”, SEQ ID NO:43; “HL288”, SEQ ID NO:44; “HL289”, SEQ ID NO:45; y “HL290”, SEQ ID NO:46) o con una mezcla de los cuatro.

38) La Figura 30 ilustra el blanqueado de hojas (panel superior derecho) y flores (panel al medio derecho) de plantas de tomate tratadas con polinucleótidos de fitoeno desaturasa de tomate, tal como se describe en el Ejemplo 25. La Figura 30 también ilustra el enanismo de las plantas de tomate tratadas con polinucleótidos de PDS (panel inferior).

39) La Figura 31 ilustra la mejora de la actividad herbicida del glifosato en palmera amaranto con poca cantidad de copias de los polinucleótidos de EPSPS mediante polinucleótidos de TIF y que los polinucleótidos de TIF tienen actividad herbicida propia, tal como se describe en el Ejemplo 26. Los polinucleótidos de EPSPS “1, 3, 4” se refieren a ARNbc “cortos” que tienen una cadena antisentido que es capaz de hibridar con el ARNm transcrito a partir del gen EPSPS de palmera amaranto (SEQ ID NO:1) en las posiciones 14-38 (ARNbc-1 corto), 345-369 (ARNbc-3 corto) y 1105-1129 (ARNbc-4 corto), respectivamente tal como se indica mediante los nucleótidos subrayados en la Figura 1 (ver Ejemplo 1). EPSPS “5” se refiere a IDT [5] (SEQ ID NOS:91-92, tal como se describe en la Tabla 11).

40) La Figura 32 ilustra la mejora de la actividad herbicida del glifosato en palmera amaranto con gran cantidad de copias de los polinucleótidos de EPSPS mediante polinucleótidos de TIF y que los polinucleótidos de TIF tienen actividad herbicida propia, tal como se describe en el Ejemplo 26. Los polinucleótidos de EPSPS “1, 3, 4” se refieren a ARNbc “cortos” que tienen una cadena antisentido que es capaz de hibridar con el ARNm transcrito a partir del gen EPSPS de palmera amaranto (SEQ ID NO:1) en las posiciones 14-38 (ARNbc-1 corto), 345-369 (ARNbc-3 corto) y 1105-1129 (ARNbc-4

corto), respectivamente tal como se indica mediante los nucleótidos subrayados en la Figura 1 (ver Ejemplo 1). EPSPS “5” se refiere a IDT [5] (SEQ ID NOS:91-92, tal como se describe en la Tabla 11).

41) La Figura 33 ilustra el efecto herbicida sobre palmera amaranto después del tratamiento con las combinaciones indicadas de herbicidas no polinucleotídicos y polinucleótidos, tal como se describe en el Ejemplo 28.

42) La Figura 34 ilustra una alineación del promotor del locus 1 de PDS en Nicotiana benthamiana (SEQ ID NO:319) y el promotor del locus 2 de PDS (SEQ ID NO:320), tal como se describe en el Ejemplo 30.

43) La Figura 35 ilustra esquemáticamente los promotores de locus 1 y locus 2 de PDS en Nicotiana benthamiana y las regiones a las que se dirigen las mezclas de polinucleótidos, tal como se describe en el Ejemplo 30.

44) La Figura 36 ilustra el efecto en la altura de la planta en plantas Nicotiana benthamiana tratadas con un polinucleótido antisentido de PDS (Figura 36A), polinucleótidos antisentido de EPSPS (Figura 36B) o polinucleótidos antisentido de RuBisCO (Figura 36C), tal como se describe en el Ejemplo 33.

45) La Figura 37 ilustra el efecto en plantas monocotiledóneas Zea mays (Gaspe) mediante tratamiento tópico con polinucleótidos de ARNbc (“EPSPS DNA oligo”) dirigidos al gen EPSPS endógeno o con solución amortiguadora solo como testigo, tal como se describe en el Ejemplo 34.

46) La Figura 38 ilustra el efecto de la variación de los contraiones de glifosato en la actividad herbicida en plantas de palmera amaranto resistentes al glifosato, tal como se describe en el Ejemplo 35.

47) La Figura 39 ilustra el efecto de poliaminas espermina (“SPM”) y espermidina (“SPMD”) o sulfato de amonio (“AMS”) en palmera amaranto resistente a glifosato que contiene 33, 36 o 57 copias de EPSPS, tal como se describe en el Ejemplo 35. “fb 4X WM” significa “con posterior tratamiento con glifosato (3360 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®)”.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

48) A menos que se indique lo contrario, las secuencias de ácido nucleico en el texto de esta memoria descriptiva se proporcionan, cuando se leen de izquierda a derecha, en el sentido 5’ a 3’. Las secuencias de ácido nucleico pueden proporcionarse como ADN o como ARN, según se especifique; la divulgación de una necesariamente define a la otra, tal como sabe un experto en la técnica. Cuando un término se proporciona en singular,

los inventores también contemplan aspectos de la invención descritos por el plural de dicho término. Polinucleótidos “no transcribibles” significa que los polinucleótidos no comprenden una unidad de transcripción de polimerasa II completa. Tal como se usa en la presente, “solución” se refiere a mezclas homogéneas y mezclas no homogéneas tales como suspensiones, coloides, micelas y emulsiones.

Polinucleótidos

49) Tal como se usa en la presente, “polinucleótido” se refiere a una molécula de ácido nucleico que contiene múltiples nucleótidos y generalmente se refiere a “oligonucleótidos” (una molécula polinucleotídica de 18-25 nucleótidos de longitud) y polinucleótidos de 26 o más nucleótidos. Las realizaciones de esta invención incluyen composiciones que incluyen oligonucleótidos que tienen una longitud de 18-25 nucleótidos (por ejemplo, 18 mers, 19 mers, 20 mers, 21 mers, 22 mers, 23 mers, 24 mers o 25 mers) o polinucleótidos de longitud media que tienen 26 o más nucleótidos (por ejemplo, polinucleótidos de 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, aproximadamente 65, aproximadamente 70, aproximadamente 75, aproximadamente 80, aproximadamente 85, aproximadamente 90, aproximadamente 95, aproximadamente 100, aproximadamente 110, aproximadamente 120, aproximadamente 130, aproximadamente 140, aproximadamente 150, aproximadamente 160, aproximadamente 170, aproximadamente 180, aproximadamente 190, aproximadamente 200, aproximadamente 210, aproximadamente 220, aproximadamente 230, aproximadamente 240, aproximadamente 250, aproximadamente 260, aproximadamente 270, aproximadamente 280, aproximadamente 290 o aproximadamente 300 nucleótidos) o polinucleótidos largos que tienen una longitud mayor que aproximadamente 300 nucleótidos (por ejemplo, polinucleótidos de entre aproximadamente 300 a aproximadamente 400 nucleótidos, entre aproximadamente 400 a aproximadamente 500 nucleótidos, entre aproximadamente 500 a aproximadamente 600 nucleótidos, entre aproximadamente 600 a aproximadamente 700 nucleótidos, entre aproximadamente 700 a aproximadamente 800 nucleótidos, entre aproximadamente 800 a aproximadamente 900 nucleótidos, entre aproximadamente 900 a aproximadamente 1000 nucleótidos, entre aproximadamente 300 a aproximadamente 500 nucleótidos, entre aproximadamente 300 a aproximadamente 600 nucleótidos, entre aproximadamente 300 a aproximadamente 700 nucleótidos, entre aproximadamente 300 a aproximadamente 800 nucleótidos, entre aproximadamente 300 a aproximadamente 900 nucleótidos o aproximadamente 1000 nucleótidos de longitud, o incluso mayores que aproximadamente

1000 nucleótidos de longitud, por ejemplo hasta la longitud completa de un gen objetivo incluidas las porciones sentido o antisentido o las porciones sentidos y antisentidos del gen objetivo). Cuando un polinucleótido es bicatenario, su longitud puede describirse de forma similar en términos de pares de bases.

50) Las composiciones de polinucleótidos utilizadas en las diversas realizaciones de esta invención incluyen composiciones que incluyen oligonucleótidos o polinucleótidos o una mezcla de ambos, incluidos híbridos de ARN o ADN o ARN/ADN u oligonucleótidos o polinucleótidos modificados químicamente o una mezcla de estos. En algunas realizaciones, el polinucleótido puede ser una combinación de ribonucleótidos y desoxirribonucleótidos, por ejemplo, polinucleótidos sintéticos que consisten principalmente en ribonucleótidos pero con uno o más desoxirribonucleótidos terminales o polinucleótidos sintéticos que consisten principalmente en desoxirribonucleótidos pero con uno o más didesoxirribonucleótidos terminales. En algunas realizaciones, el polinucleótido incluye nucleótidos no canónicos tales como inosina, tiouridina o seudouridina. En algunas realizaciones, el polinucleótido incluye nucleótidos modificados químicamente. Los ejemplos de oligonucleótidos o polinucleótidos modificados químicamente se conocen en la técnica; ver, por ejemplo, Verma and Eckstein (1998) Annu. Rev. Biochem., 67:99–134. Por ejemplo, el esqueleto de enlaces fosfodiéster de origen natural de un oligonucleótido o polinucleótido puede modificarse parcialmente o totalmente con modificaciones de ligamientos internucleótido de fosforotioato, fosforoditioato o metilfosfonato, pueden utilizarse bases de nucleósido modificadas o azúcares modificados en la síntesis de oligonucleótidos o polinucleótidos y pueden marcarse oligonucleótidos o polinucleótidos con un resto fluorescente (por ejemplo, fluoresceína o rodamina) u otro marcador (por ejemplo, biotina).

51) Los polinucleótidos pueden ser ARN mono o bicatenario o ADN mono o bicatenario o híbridos de ADN/ARN bicatenarios o análogos modificados de los mismos y pueden tener una longitud de oligonucleótido o ser más largos. En realizaciones más específicas de la invención, los polinucleótidos que proporcionan ARN monocatenario en la células vegetal se seleccionan del grupo que consiste en (a) un molécula de ARN monocatenaria, (b) una molécula de ARN monocatenaria que se autohibrida para formar una molécula de ARN bicatenaria, (c) una molécula de ARN bicatenaria, (d) una molécula de ADN monocatenaria, (e) una molécula de ADN monocatenaria que se autohibrida para formar una molécula de ADN bicatenaria y (f) una molécula de ADN monocatenaria que incluye un gen Pol III modificado que se transcribe en una molécula de ARN, (g) una molécula de

ADN bicatenaria, (h) una molécula de ADN bicatenaria que incluye un gen Pol III modificado que se transcribe en una molécula de ARN, (i) una molécula de ARN/ADN bicatenaria hibridada o combinaciones de estas. En algunas realizaciones estos polinucleótidos incluyen nucleótidos modificados químicamente o nucleótidos no canónicos. En realizaciones del método, los polinucleótidos incluyen ADN bicatenario formado mediante hibridación intramolecular, ADN bicatenario formado mediante hibridación intermolecular, ARN bicatenario formado mediante hibridación intramolecular o ARN bicatenario formado mediante hibridación intermolecular. En una realización, los polinucleótidos incluyen ADN monocatenario o ARN monocatenario que se autohibrida para formar una estructura de horquilla que tiene una estructura al menos parcialmente bicatenaria que incluye al menos un segmento que hibridará en condiciones fisiológicas en la células con ARN transcrito a partir del gen objetivo de la supresión. Sin ánimo de ceñirse a ningún mecanismo, se cree que dichos polinucleótidos son o producirán ARN monocatenario con al menos un segmento que hibridará en condiciones fisiológicas en una célula con ARN transcrito a partir del gen objetivo de la supresión. En ciertas realizaciones distintas, los polinucleótidos además incluyen un promotor, generalmente un promotor funcional en una planta, por ejemplo, un promotor de pol II, un promotor de pol III, un promotor de pol IV o un promotor de pol V.

52) En algunas realizaciones, las composiciones de polinucleótidos se formulan con contraiones u otras moléculas conocidas por asociarse con moléculas de ácido nucleico, por ejemplo, iones de tetraalquil amonio, iones de trialquil amonio, iones de sulfonio, iones de litio y poliaminas tales como espermina, espermidina o putrescina. En algunas realizaciones, las composiciones de polinucleótidos se formulan con un herbicida no polinucleotídico (por ejemplo, los herbicidas químicos divulgados en la presente en la sección titulada “Proteínas de tolerancia a herbicidas”) o con un agente de transferencia o agente que potencia la permeabilidad (ver la sección titulada “Agentes y Tratamientos para potenciar la permeabilidad”).

53) Los polinucleótidos se diseñan para inducir la regulación o supresión sistémica de un gen endógeno en una planta y se diseñan para tener una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia (que puede ser una secuencia sentido o una secuencia antisentido) de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de una gen endógeno de una planta. “Esencialmente idéntica” o “esencialmente complementaria” significa que los polinucleótidos (o al menos una cadena de un polinucleótido bicatenario) están diseñados para hibridar en condiciones

fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir la regulación o supresión del gen endógeno.

54) **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**Las realizaciones de polinucleótidos monocatenarios funcionales en este invención tienen una complementariedad secuencial que no es necesariamente del 100% pero es al menos suficiente para permitir la hibridación con ARN transcrito a partir del gen objetivo para formar un dúplex en condiciones fisiológicas en una células vegetal para permitir la escisión mediante un mecanismo de silenciamiento génico. Por consiguiente, en realizaciones el segmento está diseñado para ser esencialmente idéntico o esencialmente complementario a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen objetivo o en el ARN mensajero transcrito a partir de dicho gen objetivo. “Esencialmente idéntica” significa que tiene 100% de identidad secuencial o al menos aproximadamente 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99% de identidad secuencial cuando se compara con la secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen objetivo o el ARN transcrito a partir del gen objetivo; “esencialmente complementario” significa que tiene 100% de complementariedad secuencial o al menos aproximadamente 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99% de complementariedad secuencial cuando se compara con la secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen objetivo o el ARN transcrito a partir del gen objetivo. En algunas realizaciones de esta invención, las moléculas polinucleotídicas se diseñan para tener 100% de identidad o complementariedad secuencial con una alelo de un gen objetivo dado (por ejemplo, una secuencia sentido o antisentido de un gen para una proteína de tolerancia a herbicidas, una proteína de desactivación de herbicida, un gen de respuesta a estrés o un gen esencial); en otras realizaciones las de polinucleótido se diseñan para tener 100% de identidad o complementariedad secuencial con múltiples alelos de un gen objetivo dado.

55) En un aspecto de la invención los polinucleótidos son genes de ARN polimerasa III modificados, por ejemplo, genes que transcriben ARN de partícula de reconocimiento de señal 7SL o ARN spliceosomal U6 (genes Pol III) o polinucleótidos que contienen una secuencia promotora de Pol III funcional. En una realización, los polinucleótidos son genes Pol III modificados que contienen ADN sentido y antisentido correspondiente a ARN del gen objetivo identificado para regulación reemplazando a la secuencia de ADN transcrita originalmente por el gen Pol III.

56) Los polinucleótidos útiles en esta invención típicamente producen la regulación o modulación (por ejemplo, supresión) de la expresión génica durante un período durante la vida de la planta tratada de al menos 1 semana o más extenso y típicamente de forma

sistémica. Por ejemplo, tras días de tratar a una hoja de planta con una composición de polinucleótidos de esta invención, se pueden detectar ARNip primarios y transitivos en otras hojas laterales y por encima de la hoja tratada y en tejido apical.

57) Los métodos para hacer polinucleótidos se conocen en la técnica. La preparación comercial de oligonucleótidos a menudo proporciona 2 desoxirribonucleótidos en el extremo 3' de la cadena sentido. Las moléculas polinucleotídicas largas pueden sintetizarse a partir de kits disponibles en el mercado, por ejemplo, los kits de Ambion tienen ADN ligado en el extremo 5' que codifica un promotor de polimerasa T7 bacteriano que hace cadenas de ARN que pueden ensamblarse en un ARNbc. Alternativamente, se pueden producir moléculas de ADNbc a partir de casetes de expresión en células bacterianas que tienen actividad enzimática de RNasa III regulada o deficiente. Las moléculas polinucleotídicas largas también pueden ensamblarse a partir de múltiples fragmentos de ARN o ADN. En algunas realizaciones, los parámetros de diseño tales como la puntuación Reynolds y las reglas Tuschl se conocen en la técnica y se utilizan para seleccionar secuencias de polinucleótidos eficaces para el silenciamiento génico. En algunas realizaciones, se utiliza el diseño aleatorio o la selección empírica de secuencias de polinucleótidos para seleccionar las secuencias de polinucleótidos eficaces para el silenciamiento génico. En algunas realizaciones la secuencia de un polinucleótido se somete a detección contra el ADN genómico de la planta prevista para minimizar el silenciamiento no intencional de otros genes.

58) Las composiciones de polinucleótidos de esta invención son útiles en composiciones, tales como soluciones de moléculas polinucleotídicas, a concentraciones bajas, solas o en combinación con otros componentes (por ejemplo, tensioactivos, sales y herbicidas no polinucleotídicos) en la misma solución o en soluciones aplicadas por separado. Aunque no existe un límite superior en las concentraciones y dosificaciones de moléculas polinucleotídicas que pueden ser útiles en los métodos de esta invención, en general se buscará la eficacia de las concentraciones y dosificaciones eficaces más bajas. Las concentraciones pueden ajustarse teniendo en cuenta el volumen de pulverización aplicado sobre las hojas de las plantas. En una realización , un tratamiento útil para plantas herbáceas que utilizan moléculas de oligonucleótidos de 25 mer es aproximadamente 1 nanomol de moléculas de oligonucleótido por planta, por ejemplo, de aproximadamente 0,05 a 1 nanomol por planta. Otras realizaciones para plantas herbáceas incluyen rangos útiles de aproximadamente 0,05 a aproximadamente 100 nanomoles o aproximadamente 0,1 a aproximadamente 20 nanomoles o aproximadamente 1 nanomol a aproximadamente 10 nanomoles de polinucleótidos por

planta. Las plantas, árboles o viñas muy grandes pueden requerir, en consecuencia, cantidades mayores de polinucleótidos. Cuando se utilizan moléculas de ARNbc largas que pueden procesarse en múltiples oligonucleótidos, se pueden usar concentraciones más bajas. En los ejemplos más adelante para ilustrar realizaciones de la invención, el factor 1X cuando se aplica a moléculas de oligonucleótido se usa arbitrariamente para denotar un tratamiento de 0,8 nanomoles de molécula polinucleotídica por planta; 10X, 8 nanomoles de molécula polinucleotídica por planta; y 100X, 80 nanomoles de molécula de polinucleótido por planta. Por ejemplo, en el ejemplo 23, las plantas se trataron con una solución acuosa que comprende un tratamiento de 100X de ARNbc de EPSPS (264 microgramos u 80 nanomoles) por planta.

Moléculas de ARN monocatenarias

59) Esta invención proporciona moléculas polinucleotídicas para proporcionar ARN monocatenario para regulación sistémica de genes en una célula vegetal. Más específicamente, la invención también proporciona composiciones y métodos para inducir la regulación sistémica (por ejemplo, supresión o silenciamiento sistémico) de un gen objetivo en una planta mediante aplicación tópica en la planta de una molécula polinucleotídica con un segmento en una secuencia de nucleótidos esencialmente idéntica o esencialmente complementaria con una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen objetivo o el ARN transcrito a partir del gen objetivo, por el cual la composición permea al interior de la planta e induce la regulación sistémica del gen objetivo mediante la acción del ARN monocatenario que hibrida con el ARN transcrito, por ejemplo, ARN mensajero. La molécula polinucleotídica puede ser una o más moléculas polinucleotídicas con uno solo de dicho segmento, múltiples de dicho segmento, múltiples de dichos segmentos diferentes o combinaciones de estos.

Agentes de transferencia, agentes y tratamiento para potenciar la permeabilidad

60) Las composiciones y métodos de esta invención pueden comprender agentes de transferencia o agentes y tratamiento para potenciar la permeabilidad para acondicionar la superficie del tejido vegetal, por ejemplo, hojas, tallos, raíces, flores o frutas, para la permeación mediante las moléculas polinucleotídicas en las células vegetales. La transferencia de polinucleótidos en células vegetales puede facilitarse mediante la aplicación previa o simultánea de un agente de transferencia de polinucleótido en el tejido vegetal. En algunas realizaciones el agente de transferencia se aplica posteriormente a la aplicación de la composición de polinucleótido. El agente de transferencia de

polinucleótido posibilita una vía para los polinucleótidos a través de las barreras de cera de la cutícula, estomas y/o membrana celular o barreras membranosas y hacia dentro de las células vegetales. Los agentes adecuados para facilitar la transferencia de la composición a una célula vegetal incluyen agentes que aumentan la permeabilidad del exterior de la planta o que aumentan la permeabilidad de las células vegetales para oligonucleótidos o polinucleótidos. Dichos agentes para facilitar la transferencia de la composición a una célula vegetal incluyen un agente químico o un agente físico o combinaciones de estos. Los agentes químicos para acondicionamiento incluyen (a) tensioactivos, (b) un disolvente orgánico o una solución acuosa o mezclas acuosas de disolventes orgánicos, (c) agentes de oxidación, (e) ácidos, (f) bases, (g) aceites, (h) enzimas o combinaciones de estos. Las realizaciones del método opcionalmente pueden incluir una etapa de incubación, una etapa de neutralización (por ejemplo, para neutralizar un ácido, base o agente de oxidación o para desactivar una enzima), una etapa de enjuague o combinaciones de estas. Las realizaciones de agentes o tratamientos para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos incluyen emulsiones, emulsiones inversas, liposomas y otras composiciones similares a micelas. Las realizaciones de agentes o tratamientos para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos incluyen contraiones u otras moléculas que se conocen por asociarse con moléculas de ácido nucleico, por ejemplo, iones de amonio inorgánico, iones de alquil amonio, iones de litio, poliaminas tales como espermina, espermidina o putrescina y otros cationes. Los disolventes orgánicos útiles para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos incluyen DMSO, DMF, piridina, N-pirrolidina, hexametilfosforamida, acetonitrilo, dioxano, polipropilenglicol, otros disolventes miscibles con agua o que disolverán fosfonucleótidos en sistemas no acuosos (tales como se utilizan en reacciones sintéticas). Se pueden utilizar aceites de origen natural o sintéticos con o sin tensioactivos o emulsionantes, por ejemplo, aceites de fuentes vegetales, se pueden utilizar aceites de cultivos (tales como los enumerados en el 9o Compendio de Adyuvantes de Herbicidas, disponibles públicamente en línea en www.herbicide.adjuvants.com), por ejemplo, aceites parafínicos, ésteres de ácido graso de polioles o aceites con moléculas de cadena corta modificados con amidas o poliaminas tales como polietilenimina o N-pirrolidina.

61) Dichos agentes para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos se aplican a la planta mediante cualquier método conveniente, por ejemplo, pulverización o revestimiento con un polvo, emulsión, suspensión o solución; de forma similar, las

moléculas polinucleotídicas se aplican a la planta mediante cualquier método conveniente, por ejemplo, pulverización o frotamiento de una solución, emulsión o suspensión.

62) Los ejemplos de tensioactivos útiles incluyen sales de sodio y litio de ácidos grasos (tales como cebo o aminas de cebo o fosfolípidos) y tensioactivos de organosilicona. Otros tensioactivos útiles incluyen tensioactivos de organosilicona incluidos tensioactivos de organosilicona no iónicos, por ejemplo, tensioactivos de etoxilato de trisiloxano o un copolímero de poliester y silicona tal como un copolímero de heptametil trisiloxano modificado con óxido de polialquileno y aliloxipolipropilenglicol metiléter (disponible en el mercado como el tensioactivo Silwet® L-77 que tiene el número CAS 27306-78-1 y el número EPA: CAL.REG.NO. 5905-50073-AA, actualmente comercializado por Momentive Performance Materials, Albany, Nueva York). Cuando se usa el tensioactivo Silwet L-77 como tratamiento de prepulverización de las hojas de plantas u otras superficies, las concentraciones en el rango de aproximadamente 0,015 a aproximadamente 2 por ciento en peso (%p) (por ejemplo, aproximadamente 0,01, 0,015, 0,02, 0,025, 0,03, 0,035, 0,04, 0,045, 0,05, 0,055, 0,06, 0,065, 0,07, 0,075, 0,08, 0,085, 0,09, 0,095, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,5%p) son eficaces para preparar una hoja u otra superficie vegetal para la transferencia de moléculas polinucleotídicas en células vegetales a partir de una aplicación tópica en la superficie.

63) Los agentes físicos útiles pueden incluir (a) abrasivos tales como carburo de silicio, corindón, arena, calcita, piedra pómez, granate y similares, (b) nanopartículas tales como nanotubos de carbono o (c) una fuerza física. Los nanotubos de carbono se divulgan en Kam et al. (2004) J. Am. Chem. Soc., 126 (22):6850–6851, Liu et al. (2009) Nano Lett., 9(3):1007–1010 y Khodakovskaya et al. (2009) ACS Nano, 3(10):3221–3227. Los agentes de fuerza física pueden incluir, calentamiento, enfriamiento, la aplicación de presión positiva o tratamiento con ultrasonidos. Las realizaciones del método opcionalmente pueden incluir una etapa de incubación, una etapa de neutralización (por ejemplo, para neutralizar un ácido, base o agente de oxidación o para desactivar una enzima), una etapa de enjuague o combinaciones de las mimas. Los métodos de la invención pueden incluir además la aplicación de otros agentes que tendrán un efecto potenciado debido al silenciamiento de ciertos genes. Por ejemplo, cuando se diseña una polinucleótido para regular genes que proporcionan resistencia herbicida, la aplicación posterior del herbicida puede tener un efecto drástico en la eficacia del herbicida.

64) Los agentes para el acondicionamiento en laboratorio de una planta para permeación de polinucleótidos incluyen, por ejemplo, aplicación de un agente químico, tratamiento

enzimático, calentamiento o enfriamiento, tratamiento con presión negativa o positiva o tratamiento con ultrasonidos. Los agentes para acondicionar plantas en un campo incluyen agentes químicos tales como tensioactivos y sales.

Genes objetivo y genes esenciales

65) Las composiciones y métodos de la invención son útiles para modular la expresión de un gen objetivo endógeno o transgénico en una célula vegetal. En varias realizaciones, un gen objetivo incluye una secuencia sentido (sentido de proteína o traducible), una secuencia antisentido (no traducible) o una secuencia sentido y una antisentido. Las composiciones de la invención pueden incluir polinucleótidos y oligonucleótidos diseñados para dirigirse a múltiples genes o múltiples segmentos de uno o más genes. El gen objetivo puede incluir múltiples segmentos consecutivos de un gen objetivo, múltiples segmentos no consecutivos de un gen objetivo, múltiples alelos de un gen objetivo o múltiples genes objetivo de una o más especies. Los ejemplos de genes objetivo incluyen genes y transgenes vegetales endógenos expresados en células vegetales. Otros ejemplos de genes objetivo incluyen genes endógenos de patógenos virales vegetales o genes endógenos de plagas vegetales invertebradas.

66) Los genes objetivo pueden incluir genes que codifican proteínas de tolerancia a herbicidas, secuencias antisentidos que incluyen ARN reguladores y genes esenciales, que son genes necesarios para sustentar la vida celular o para permitir la reproducción de un organismo. Las realizaciones de genes esenciales incluyen genes que participan en la replicación del ADN o ARN, transcripción génica, regulación génica mediada por ARN, síntesis proteica, producción de energía y división celular. Un ejemplo de un compendio de genes esenciales se describe en Zhang et al. (2004) Nucleic Acids Res., 32:D271-D272 y está disponible en tubic.tju. edu.cn/deg/; versión DEG 5.4 enumera 777 genes esenciales para Arabidopsis thaliana. Los ejemplos de genes esenciales incluyen el factor de iniciación de traducción (TIF) y la ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCO). Los genes objetivo pueden incluir genes que codifican factores de transcripción y genes que codifican enzimas implicadas en la biosíntesis o catabolismo de moléculas en plantas tales como, a modo no taxativo, aminoácidos, ácidos grasos y otros lípidos, azúcares y otros carbohidratos, polímeros biológicos y metabolitos secundarios incluidos alcaloides, terpenoides, poliquétidos, péptidos no ribosómicos y metabolitos secundarios de origen biosintético mixto.

Composiciones y Métodos

67) Las moléculas de ARN monocatenarias de esta invención pueden proporcionarse directamente a la célula vegetal como ARN o pueden proporcionarse indirectamente, por ejemplo, cuando una molécula polinucleotídica en la composición de tratamiento provoca en células de una planta la producción del ARN monocatenario que es capaz de hibridar con el transcrito del gen objetivo. En muchas realizaciones, las composiciones de moléculas polinucleotídicas además incluyen uno o más agentes potenciadores de la permeabilidad para facilitar la transferencia de las moléculas polinucleotídicas a una célula vegetal, tales como agentes para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos. En aspectos de la invención, los métodos incluyen una o más aplicaciones de la composición de polinucleótido y una o más aplicaciones de un agente potenciador de la permeabilidad para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos. Cuando el agente de acondicionamiento para la permeación es un tensioactivo de organosilicona, las realizaciones de las moléculas polinucleotídicas son oligonucleótidos de ARN bicatenario, oligonucleótidos de ARN monocatenario, polinucleótidos de ARN bicatenarios, polinucleótidos de ARN monocatenario, oligonucleótidos de ADN bicatenario, oligonucleótidos de ADN monocatenario, polinucleótidos de ADN bicatenarios, polinucleótidos de ADN monocatenario, oligonucleótidos o polinucleótidos de ADN o ARN químicamente modificados o mezclas de estos.

68) Un aspecto de la invención proporciona un método para inducir el silenciamiento sistémico de un gen objetivo en una planta que incluye (a) acondicionamiento de una planta para la permeación de polinucleótidos y (b) aplicación tópica de moléculas polinucleotídicas a la planta, donde las moléculas polinucleotídicas incluyen al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos clonados o de otra forma identificados a partir del gen objetivo en sentido sentido o antisentido, por el cual las moléculas polinucleotídicas permean al interior de la planta e inducen el silenciamiento sistémico del gen objetivo. El acondicionamiento y la aplicación de polinucleótidos pueden llevarse a cabo por separado o en una sola etapa. Cuando el acondicionamiento y la aplicación de polinucleótidos se llevan a cabo en etapas separadas, el acondicionamiento puede preceder o puede ser posterior a la aplicación de polinucleótidos en minutos, horas o días. En algunas realizaciones, se pueden llevar a cabo más de una etapa de acondicionamiento o más de una etapa de aplicación de molécula polinucleotídica en la misma planta. En realizaciones del método, el segmento puede clonarse o identificarse a partir de partes (a) sentidos (es decir, sentidos de proteínas), (b) antisentidos o (c) sentidos y antisentidos del gen objetivo. Las partes antisentidos incluyen ADN (o el ARN

codificado por el ADN) que codifica secuencias reguladoras de ARN (por ejemplo, promotores, intrones, regiones no traducidas en 5' o 3' y microARN, ARNip trans-activos, ARNip antisentidos naturales y otros ARN pequeños con función reguladora) o que codifica ARN que tienen función estructural o enzimática (por ejemplo, ribozimas, ARN ribosómicos, ARN-t, aptámeros y riboswitches).

69) En varias realizaciones del método para inducir el silenciamiento sistémico de un gen objetivo en una planta, el gen objetivo es (a) un gen endógeno de la planta, (b) un gen endógeno de un patógeno viral de la planta, (c) un gen endógeno de una plaga invertebrada de la planta, (d) un gen endógeno de un simbionte de una plaga invertebrada de la planta o (e) un gen sintético insertado en una planta transgénica. En realizaciones donde el gen objetivo es endógeno de una planta, el gen objetivo (a) es un gen endógeno de la planta que es esencial para mantener el crecimiento o la vida de la planta, (b) codifica una proteína que proporciona resistencia a herbicidas a la planta o (c) se transcribe a una molécula reguladora de ARN. En realizaciones del método para inducir el silenciamiento sistémico de un gen objetivo en una planta, el acondicionamiento incluye la aplicación de un agente químico, abrasión, lesionado, tratamiento enzimático, calentamiento o enfriamiento, tratamiento con presión positiva o negativa, tratamiento con ultrasonidos o combinaciones de estos. En algunas realizaciones, el acondicionamiento incluye la aplicación de un tensioactivo, tales como tensioactivos de organosilicona, por ejemplo, un copolímero de poliester y silicona tal como un copolímero de heptametil trisiloxano modificado con óxido de polialquileno y aliloxipolipropilenglicol metiléter (disponible en el mercado como el tensioactivo Silwet® L-77). En realizaciones del método, el acondicionamiento incluye la aplicación de (a) un tensioactivo, (b) un disolvente orgánico o una solución acuosa o mezcla acuosa de un disolvente orgánico, (c) un polipropilenglicol o una solución acuosa o una mezcla acuosa de polipropilenglicol, (d) nanopartículas, (e) un agente de oxidación, (f) un ácido o una base o (g) un aceite o de una combinación de estos. Las realizaciones del método opcionalmente pueden incluir una etapa de incubación, una etapa de neutralización (por ejemplo, para neutralizar un ácido, base o agente de oxidación o para desactivar una enzima), una etapa de enjuague o combinaciones de las mimas.

70) La invención proporciona composiciones tópicas para inducir el silenciamiento sistémico de un gen objetivo en una planta que incluyen (a) un agente para el acondicionamiento de una planta para la permeación de polinucleótidos y (b) moléculas polinucleotídicas con al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos esencialmente idénticos o complementario a la secuencia de nucleótidos del gen objetivo

en sentido antisentido o sentido. Dichas composiciones pueden utilizarse para los diversos métodos divulgados en la presente, incluidos métodos para investigar la genética inversa modulando un gen endógeno en una planta y como composiciones herbicidas para los métodos divulgados de control de malezas y control de plantas espontáneas. Otro aspecto de la invención proporciona una planta que incluye ADN o ARN exógeno para suprimir un gen endógeno, donde el ADN exógeno no está integrado en un cromosoma de la planta y el ARN exógeno no se transcribe a partir de ADN integrado en un cromosoma de la planta y en donde el gen endógeno se suprime mediante aplicación tópica de un polinucleótido en la planta. Alternativamente, el ADN o ARN exógeno puede diseñarse para suprimir un gen vegetal endógeno que participan en la respuesta a un plaga o patógeno para proporcionar control de plagas o enfermedades vegetales. Dicha planta puede cultivarse a partir de una semilla o producirse mediante un proceso de corte, clonación o uso de injertos (es decir, una planta no cultivada a partir de una semilla). Dicha planta es una planta de cultivo en hileras, una fruta, una verdura, un árbol o una planta ornamental. Por ejemplo, en realizaciones de las invenciones divulgadas en la presente, la planta es una planta de cultivo en hileras (por ejemplo, maíz, soja, algodón, colza, remolacha azucarera, alfalfa, caña de azúcar, arroz y trigo) o es una verdura (por ejemplo, tomate, pimiento dulce, pimiento picante, melón, sandia, pepino, berenjena, coliflor, brócoli, lechuga, espinaca, cebolla, guisantes, zanahorias, maíz dulce, col de China, puerro, hinojo, calabaza, calabacín o calabaza de San Juan, rábano, coles de Bruselas, tomatillo, porotos, porotos secos u okra) o es una planta culinaria (por ejemplo, albahaca, perejil, café o té) o es una fruta (por ejemplo, manzana, pera, cereza, durazno, ciruela, albaricoque, banana, plátano, uva de mesa, uva de vino, cítricos, aguacate, mango o baya) o es un árbol cultivado para uso comercial u ornamental (por ejemplo, un árbol frutal o un nogal o es una planta ornamental (por ejemplo, una planta floral ornamental o arbusto o hierba de césped). Las realizaciones de una planta producida mediante un proceso de corte, clonación o uso de injertos (es decir, una planta no cultivada a partir de una semilla) incluye árboles frutales y plantas incluidos cítricos, manzanas, aguacates, tomates, berenjenas, pepino, melones, sandías y uvas, así como también varias plantas ornamentales.

Métodos para investigar la genética inversa

71) En otro aspecto, la invención proporciona un método para investigar la genética inversa regulando o modulando un gen objetivo endógeno en una planta; dicho método incluye aplicar en un tejido de una planta en crecimiento una composición para

proporcionar (directamente o indirectamente) ARN monocatenario de esta invención para regulación sistémica de genes en una célula vegetal. En realizaciones de dicho método, el ARN mensajero que codifica una proteína o gen de ARN regulador es objetivo de un polinucleótido de la invención, produciendo la modulación del gen durante un período de al menos 1 semana durante la vida de la planta, por ejemplo, para identificar rasgos que pueden impartirse mediante aplicación tópica de polinucleótidos. El método además puede incluir etapas adicionales, por ejemplo, exponer a la planta a un conjunto de compuestos para identificar interacciones con herbicidas o exponer a la planta a estrés abiótico (por ejemplo, estrés por déficit hídrico, estrés por déficit de nutrientes, estrés por calor, estrés por frío, estrés por salinidad) o a tratamientos bióticos (por ejemplo, desafío con una plaga de insectos o nematodos o con una patógeno viral, fúngico o bacteriano o exposición a un compuesto químico o tratamiento biológico) para identificar respuestas de la planta al estrés o tratamiento. En otro aspecto de la invención, se someten a detección bibliotecas de plantas con una variedad de genes silenciados transitoriamente para contrastar con bibliotecas de compuestos (por ejemplo, herbicidas, fitohormonas, estimuladores de defensa endógenos o exógenos tales como ácido salicílico o harpins, deficiencias de moléculas que proporciona un nutriente vegetal tal como nitrógeno, fósforos, potasio, azufre, calcio, magnesio, hierro y zinc) para identificar interacciones con dichos compuestos. Los ejemplos de plantas útiles para dichas detecciones incluyen Amaranthus palmeri y Nicotiana benthamiana.

Métodos para silenciamiento transgénico

72) En otro aspecto adicional de la invención, este método puede utilizarse para silenciar un transgén que se expresa en una planta, proporcionando así un control negativo que es una medición independiente de acontecimientos de una contribución del transgén al rendimiento o efecto de la planta en un rasgo. Impartir un efecto de control negativo puede requerir múltiples tratamientos sucesivos con las moléculas polinucleotídicas de esta invención durante el ciclo de vida de una planta.

Aplicaciones específicas

73) En un aspecto relacionado, las composiciones y métodos de la invención también son útiles para silenciar transitoriamente uno o más genes en una célula vegetal o planta entera en crecimiento para producir un fenotipo deseado en respuesta a condiciones de

cultivo, estrés ambiental o abiótico o biótico o carga en la demanda de mercado durante la estación de crecimiento o en el ambiente poscosecha. Por ejemplo, las composiciones y métodos de la invención son útiles para suprimir transitoriamente un gen biosintético o catabólico para producir una planta o producto vegetal con un fenotipo deseado, tal como una composición nutricional deseada de un producto vegetal de cultivo, por ejemplo, suprimir un gen FAD2 para producir un perfil de ácido graso deseado en soja o colza u otra semilla de aceite o suprimir genes biosintéticos de lignina tales como COMT y CCOMT para proporcionar plantas forrajeras más fáciles de digerir. De forma similar, las composiciones y métodos de la invención son útiles para suprimir transitoriamente una molécula reguladora de ARN tal como un microARN (miARN) o un señuelo de miARN endógeno tal como un miARN endógeno, un precursor de miARN o un señuelo de miARN tal como se divulga en la publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos 2009/0070898 que se incorpora a la presente a modo de referencia. Las realizaciones de la invención son útiles para suprimir un gen vegetal endógeno que participa en la respuesta a una plaga o patógeno, proporcionando así control de plagas o enfermedades vegetales. Los polinucleótidos, composiciones y métodos de administración divulgados en la presente son útiles además para suprimir un gen objetivo endógeno de una plaga invertebrada de una planta, por ejemplo, plagas de lepidópteros o coleópteros que pueden ingerir ARN de la planta, proporcionando así control de plagas vegetales o enfermedades inducidas por plagas, por ejemplo, mediante el uso de un pulverizador tópico para cultivos, verduras o árboles frutales con moléculas de ADN o ARN dirigidas a un gen esencial invertebrado o un gen de un simbionte de la plaga invertebrada. Los polinucleótidos, composiciones y métodos de administración divulgados en la presente además son útiles para proporcionar control de un patógeno viral, por ejemplo, mediante el uso de un pulverizador antiviral tópico para cultivos, verduras o árboles frutales con moléculas de ADN o ARN dirigidas a un gen viral.

Composiciones herbicidas y métodos

74) Un aspecto de la invención proporciona una composición herbicida líquida que comprende moléculas polinucleotídicas como agente letal para plantas que proporciona al menos una especie de ARN monocatenario que puede hibridar en condiciones fisiológicas en una célula vegetal con ARN transcrito a partir de un gen(es) endógeno(s) en la célula vegetal. En algunas realizaciones, el gen objetivo codifica una proteína que proporciona tolerancia a un herbicida o codifica un gen esencial para mantener el crecimiento o la vida de la planta. La composición herbicida líquida puede incluir adicionalmente agentes

potenciadores de la permeabilidad, herbicidas no nucleotídicos o combinaciones de los mismos y pueden utilizarse en un tratamiento multietapa con el herbicida no nucleotídico y/o los agentes potenciadores de permeabilidad aplicados por separado. Una realización de la composición herbicida líquida es un líquido que incluye un tensioactivo de organosilicona como agente potenciador de la permeabilidad y oligonucleótidos o polinucleótidos como agente letal para plantas que proporcionan a las células de la planta ARN monocatenario capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en las células vegetales con ARN transcrito a partir de un gen objetivo en la célula vegetal para producir el silenciamiento del gen objetivo. En una realización, una composición herbicida líquida eficaz contra plantas resistentes a glifosato incluye un tensioactivo de organosilicona tal como el tensioactivo Silwet® L-77 y moléculas polinucleotídicas para proporcionar ARN monocatenario capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en las células vegetales con ARN transcrito a partir de un gen EPSPS endógeno o transgénico que codifica una proteína EPSPS que proporciona tolerancia al glifosato. Cuando la molécula polinucleotídica se diseña para hibridar en condiciones fisiológicas en una célula vegetal con ARNm que codifica una proteína o no proteína endógena que codifica ARN que es esencial para mantener el crecimiento o la vida de la planta y para producir el silenciamiento génico y la reducción de la proteína esencial, la molécula polinucleotídica funciona como un agente letal para plantas, es decir, un herbicida nucleotídico. Estas composiciones herbicidas que incluyen moléculas polinucleotídicas pueden adaptarse para revestimiento tópico sobre las hojas de una planta en crecimiento o para aplicación sobre semillas o tallos cortados, por ejemplo, de plantas cultivadas hidropónicamente o en macetas.

75) Un aspecto de la invención proporciona una composición adaptada para revestimiento tópico sobre las hojas u otras superficies de una planta viva que incluye un agente potenciador de permeabilidad, por ejemplo, un tensioactivo tal como un tensioactivo de organosilicona y oligonucleótidos o polinucleótidos que proporcionan (directamente o indirectamente) ARN monocatenario que puede hibridar en condiciones fisiológicas en una célula vegetal con ARN transcrito a partir de un gen vegetal endógeno en una célula. En una realización, el gen vegetal endógeno es un gen vegetal endógeno que codifica una proteína que proporciona tolerancia a herbicidas para herbicidas tales como glifosato, dicamba o sulfonilurea. Más adelante, en la sección "Proteínas de tolerancia a herbicidas", se divulgan ejemplos de dichas proteínas que proporcionan tolerancia a herbicidas.

76) Otro aspecto de la invención proporciona un método para controlar plantas espontáneas resistentes a herbicidas que crecen en un campo de cultivos resistentes a herbicidas, que incluye aplicar sobre las hojas u otra superficie de las plantas espontáneas una composición que proporciona o posibilita la producción en células de las plantas espontáneas de una molécula de ARN monocatenario es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en células de las plantas espontáneas con ARN transcrito a partir de un gen endógeno en las células, en donde el gen endógeno (i) es un gen esencial para mantener el crecimiento o vida de la planta espontánea, (ii) codifica una proteína que proporciona resistencia a herbicidas a la planta espontánea o (iii) se transcribe en un agente regulador de ARN (por ejemplo, promotores, también precursores de miARN, miARN, ARNip trans-activos y otros ARN antisentidos que tienen una función reguladora tales como aptámeros y riboswitches). La composición que proporciona o posibilita la producción en células de plantas espontáneas de una molécula de ARN monocatenaria es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en células de las plantas espontáneas con ARN transcrito a partir de un gen endógeno en las células incluye al menos una molécula polinucleotídica seleccionada del grupo que consiste en (a) una molécula de ARN monocatenaria, (b) una molécula de ARN monocatenaria que se autohibrida para formar una molécula de ARN bicatenaria, (c) una molécula de ARN bicatenaria, (d) una molécula de ADN monocatenaria, (e) una molécula de ADN monocatenaria que se autohibrida para formar una molécula de ADN bicatenaria y (f) una molécula de ADN monocatenaria que incluye un gen Pol III modificado que se transcribe en una molécula de ARN, (g) una molécula de ADN bicatenaria, (h) una molécula de ADN bicatenaria que incluye un gen Pol III modificado que se transcribe en una molécula de ARN, (i) una molécula de ARN/ADN bicatenaria hibridada. En realizaciones para silenciamiento o supresión de un gen endógeno de una planta espontánea que codifica una proteína que proporciona resistencia a herbicidas a la planta espontánea, el método puede incluir aplica sobre la planta espontánea una cantidad del herbicida para el que la proteína le proporciona resistencia. Las composiciones y métodos de la invención son útiles para controlar malezas tolerantes a herbicidas (resistentes) o plantas transgénicas espontáneas tolerantes a herbicidas (resistentes) que pueden crecer en campos de cultivo, por ejemplo, un campo de cultivos resistentes a herbicidas tales como maíz, soja, algodón, colza, remolacha azucarera, alfalfa, caña de azúcar, arroz, trigo, así como también cultivos de frutas y verduras. En algunas de dichas realizaciones, la maleza o planta espontánea es amaranto (por ejemplo, palmera amaranto) y otras especies de amaranto, cola de yegua (hierba de caballo), amaranto tuberculoso, ambrosía gigante,

ambrosía común, sorgo, amor de hortelano, ryegrás, garranchuelos, lechuga espinaca, yute de china, alfalfa, maíz, soja, colza, algodón, remolacha azucarera, caña de azúcar, arroz o trigo. En algunas realizaciones el gen endógeno codifica una proteína que proporciona tolerancia a herbicidas; en la presente se divulgan ejemplos de dichas proteínas en la sección “Proteínas de tolerancia a herbicidas”. En otras de dichas realizaciones el ARN monocatenario suprime selectivamente un gen en una especie vegetal específica pero no en otras, para permitir el control selectivo de dicha especie vegetal. En otra de dichas realizaciones una molécula de ADN monocatenario no selectiva suprime un gen común en múltiples especies vegetales, permitiendo un control más amplio dentro de un grupo o taxón de plantas. En realizaciones más específicas, el método además incluye aplicar sobre la maleza o planta espontánea una cantidad de herbicida no nucleotídico (por ejemplo, glifosato, dicamba, glufosinato o sulfonilurea) para el que la proteína a la que se dirige la molécula de ARN proporciona resistencia, permitiendo modos de acción dobles a través de la reducción de la producción de la proteína objetivo mediante la acción de la molécula de ARN y la inhibición de la función de la proteína que se produce por acción del herbicida no nucleotídico; el herbicida puede aplicarse en una etapa aparte (más temprano o más tarde) o junto con la composición nucleotídica. La aplicación de una composición polinucleotídica concomitantemente con o seguida de la aplicación de un herbicida no nucleotídico convencional en algunos casos proporciona control de malezas o plantas espontáneas con efecto sinergístico (es decir, donde el efecto combinado es mayor que la suma de los efectos de los tratamientos administrados por separado).

Proteínas de tolerancia a herbicidas

77) Las plantas naturales (no transgénicas) y transgénicas que exhiben tolerancia a herbicidas (resistencia) a menudo tienen un gen que codifica una proteína que es responsable por la tolerancia a herbicidas, por ejemplo, un transgén que proporciona la tolerancia, un gen endógeno mutado que proporciona la tolerancia o múltiples copias de un gen endógeno al cual se dirige normalmente un herbicida. Una estrategia de control de dichas plantas es aplicar un agente que suprime o al menos reduce la expresión del gen que codifica la proteína que imparte la tolerancia a herbicidas. Los ejemplos de proteínas que proporcionan tolerancia a un herbicida incluyen, por ejemplo, una 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una glifosato oxidorreductasa (GOX), una glifosato decarboxilasa, una glifosato-N-acetil transferasa (GAT), una dicamba monooxigenasa, una fosfinotricina acetiltransferasa, una ácido 2,2- dicloropropionico

dehalogenasa, una ácido acetohidroxi sintasa, una acetolactato sintasa, una haloarilnitrilasa, una acetil-coenzima A carboxilasa, una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa, una protoporfirina IX oxigenasa, una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa, una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa, una celulosa sintasa, una beta-tubulina y una serina hidroximetiltransferasa.

78) Los ejemplos de ácidos nucleicos que codifican proteínas que confieren tolerancia a herbicidas incluyen 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasas (EPSPS; ver, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Números 5,627,061, 5,633,435 RE39247, 6,040,497 y 5,094,945 y las Publicaciones de Solicitudes Internacionales PCT WO04074443 y WO04009761), glifosato oxidorreductasa (GOX; Patente de los Estados Unidos Número 5.463.175), glifosato decarboxilasa (Publicación de Solicitud Internacional PCT WO05003362, Patente de los Estados Unidos Número 7.405.347 y publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos 2004/0177399), glifosato-N-acetil transferasa (GAT; Patente de los Estados Unidos Número 7,714,188) que confieren tolerancia al glifosato; dicamba monooxigenasa que confieren resistencia a herbicidas similares a auxina tales como dicamba (Patente de los Estados Unidos Número 7,105,724); fosfinotricina acetiltransferasa (pat o bar) que confiere tolerancia a la fosfinotricina o al glufosinato (Patente de los Estados Unidos Número 5,646,024); ácido 2,2-dicloropropionico dehalogenasa que confiere tolerancia al ácido 2,2-dicloropropionico (Dalapon) (Publicación de Solicitud Internacional PCT WO9927116); ácido acetohidroxi sintasa o acetolactato sintasa que confieren tolerancia a inhibidores de acetolactato sintasa tales como sulfonilurea, imidazolinona, triazolopirimidina, pirimidiloxibenzoatos y ftalida (Patente de los Estados Unidos Número 6,225,105); haloarilnitrilasa (Bxn) para conferir tolerancia a bromoxinilo (Patente de los Estados Unidos Número 4,810,648); acetil-coenzima A carboxilasa modificada para conferir tolerancia a ciclohexanodiona (setoxidim) y ariloxifenoxipropionato (haloxifop) (Patente de los Estados Unidos Número 6,414,222); dihidropteroato sintasa (sul I) para conferir tolerancia a herbicidas de sulfonamida (Patente de los Estados Unidos Número 5.719.046); polipéptido fotosistem II de 32 kDa (psbA) para conferir tolerancia a herbicidas de triazina (Hirscberg et al., 1983, Science, 222:1346-1349); antranilato sintasa para conferir tolerancia a 5-metiltriptófano (Patente de los Estados Unidos Número 4,581,847); ácido dihidrodipicolínico sintasa (dap A) para conferir tolerancia a aminoetil cisteína (Publicación de Solicitud Internacional PCT WO8911789); fitoeno desaturasa (crtI) para conferir tolerancia a herbicidas de piridazinona tales como norflurazón (Patente de Japón JP06343473); hidroxifenilpiruvato dioxigenasa, una ácido 4-hidroxifenilacético oxidasa y una ácido 4-hidroxifenilacético 1-

hidrolasa (Patente de los Estados Unidos 7,304,209) para conferir tolerancia a herbicidas de ciclopropilisoxazol tales como isoxaflutol (Patente de los Estados Unidos Número 6,268,549); protoporfirinógeno oxidasa I modificada (protox) para conferir tolerancia a inhibidores de protoporfirinógeno oxidasa (Patente de los Estados Unidos Número 5939602); ariloxialcanoato dioxigenasa (AAD-1) para conferir tolerancia a un herbicida que contiene un resto de ariloxialcanoato (WO05107437); una serina hidroximetiltransferasa (publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos 2008/0155716), una glutamina sintasa tolerante a glufosinato (publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos 2009/0018016). Ejemplos de dichos herbicidas incluyen fenoxi auxinas (tales como 2,4- D y diclorprop), piridiloxi auxinas (tales como fluroxipir y triclopir), ariloxifenoxipropionatos (AOPP) inhibidores de acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa) (tales como haloxifop, quizalofop y diclofop) e inhibidores de 5- fenoxiacetato protoporfirinógeno oxidasa IX sustituida (tales como piraflufen y flumiclorac). Las secuencias de nucleótidos de los ácidos nucleicos que codifican proteínas de tolerancia a herbicidas y las secuencias de las proteínas de tolerancia a herbicidas, tales como se divulgan en las patentes y publicaciones de solicitudes de patentes de los Estados Unidos mencionadas en este párrafo se incorporan a la presente a modo de referencia.

79) Aspectos de esta invención proporcionan polinucleótidos y métodos que proporcionan directamente o indirectamente a una célula vegetal, ARN que hibridan con ARN que codifica dichas proteínas de tolerancia a herbicidas a un nivel que es letal para las plantas o al menos a una nivel para reducir la tolerancia al herbicida. Debido a la degeneración secuencial del ADN que codifica proteínas de tolerancia a herbicidas es posible diseñar un polinucleótido para uso en esta invención que es específicamente eficaz en una planta específica. Debido a la conservación de dominios de ADN entre múltiples plantas es posible diseñar un polinucleótido para uso en esta invención que es eficaz en una variedad de plantas.

80) En una realización el polinucleótido se mezcla con el herbicida correspondiente para potenciar la actividad del herbicida proporcionan una actividad herbicida mejorada. En una realización el polinucleótido se utiliza separado del herbicida pero en combinación con una aplicación del herbicida como un pre o postratamiento. En realizaciones, el tensioactivo de organosilicona se combina de forma ventajosa con el herbicida y el polinucleótido o se combina con uno o el otro cuando las composiciones se aplican de forma secuencial. Las plantas en un invernadero pueden tratarse utilizando un pulverizador agrícola o un pulverizador de laboratorio con una boquilla de pulverización 11001XR para administrar la solución de muestra a una tasa determinada (por ejemplo,

140 L/ha) a 0,25 MPa de presión. En el campo, la solución de tratamiento puede aplicarse con un pulverizador de mochila presurizado con CO2 calibrado para administrar la tasa apropiada de la composición con una boquilla de pulverización de chorro plano 11015 con un ensamblaje de boquilla simple adaptado (para minimizar el desperdicio) a una presión de pulverización de 0,25 MPa; el pulverizador de boquilla simple proporciona una pulverización eficaz de 60 cm por encima de la copa de 3 a 12 pulgadas de altura de las plantas en crecimiento.

81) La descripción precedente y los ejemplos presentados en esta divulgación describen el objeto de esta invención, que incluye, a modo no taxativo, aspectos y realizaciones descritas en estas oraciones enumeradas con números romanos: (I) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo. (II) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo en células vegetales distintas a las revestidas tópicamente. (III) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de

transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo sistémicamente en al menos un órgano vegetal. (IV) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde la composición polinucleotídica induce la supresión del gen endógeno objetivo. (V) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde la composición polinucleotídica produce un fenotipo deseado en la planta u órgano vegetal en crecimiento. (VI) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde la composición polinucleotídica suprime la expresión de una enzima, una proteína estructural o una proteína reguladora vegetal en las plantas u órganos vegetales en crecimiento. (VII) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u

órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde la composición polinucleotídica es un agente letal para plantas. (VIII) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el gen endógeno objetivo codifica una proteína que interactúa con un herbicida. (IX) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el gen endógeno objetivo se selecciona del grupo que consiste en 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una glutamina sintasa tolerante al glufosinato, una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-transferasa (GST), una proteína D1 de fotosistem II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina y una serina hidroximetiltransferasa. (X) Un método para

regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el gen endógeno objetivo codifica una proteína esencial para mantener el crecimiento de las plantas en crecimiento. (XI) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el gen endógeno objetivo se selecciona del grupo que consiste en RuBisCO, Factor de iniciación de traducción y fitoeno desaturasa. (XII) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el gen endógeno objetivo codifica una proteína que proporciona tolerancia a un herbicida. (XIII) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN

mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el gen endógeno objetivo codifica una enzima acetolactato sintasa mutante que confiere resistencia a los herbicidas de sulfonilurea y imidazolinona o una ACCasa mutante que confiere resistencia a herbicidas de ariloxifenoxi propionato. (XIV) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde la composición polinucleotídica incluye además un segundo polinucleótido, teniendo el segundo polinucleótido una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de un segundo gen endógeno objetivo o ARN mensajero transcrito a partir del segundo gen endógeno objetivo. (XV) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde la composición polinucleotídica incluye además un segundo polinucleótido, teniendo el segundo polinucleótido una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de un segundo gen endógeno objetivo o ARN mensajero transcrito a partir del segundo gen endógeno objetivo, en donde el al menos un polinucleótido es esencialmente idéntico o esencialmente complementario a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de un gen EPSPS endógeno en las plantas u órganos vegetales en crecimiento y el segundo polinucleótido es esencialmente idéntico

o esencialmente complementario a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos del gen de Factor de iniciación de traducción endógeno en las plantas u órganos vegetales en crecimiento. (XVI) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el gen endógeno objetivo es una secuencia antisentido, una secuencia sentido o una combinación de la secuencia antisentido y la secuencia sentido. (XVII) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde la composición polinucleotídica se aplica sobre un órgano de las plantas en crecimiento. (XVIII) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde la composición polinucleotídica se aplica sobre un hoja, tallo, semilla, fruta o flor de las plantas en crecimiento. (XIX) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un

polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde la composición polinucleotídica incluye además un segundo polinucleótido, teniendo el segundo polinucleótido una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de un segmento diferente del gen endógeno objetivo o ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo diferente del al menos un polinucleótido. (XX) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde las plantas en crecimiento están en un campo abierto o en un invernadero. (XXI) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde los polinucleótidos no están integrados en el cromosoma de las plantas en crecimiento. (XXII) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad

eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal. (XXIII) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y una sal. (XXIV) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliéter y silicona y una sal. (XXV) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliéter y silicona y una sal, en donde el copolímero de poliester y silicona

es un copolímero de heptametil trisiloxano modificado con óxido de polialquileno y aliloxipolipropilenglicol metiléter. (XXVI) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal, en donde la sal es una sal orgánica o una inorgánica . (XXVII) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo, una sal de amonio orgánica y una sal de amonio inorgánica. (XXVIII) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y sulfato de amonio. (XXIX) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición

polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal y además incluye un humectante o un agente quelante. (XXX) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde la composición polinucleotídica se aplica sobre las plantas u órganos vegetales en crecimiento mediante un aparato de pulverización. (XXXI) Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen endógeno objetivo o el ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de las plantas en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión del gen endógeno objetivo, en donde el polinucleótido se selecciona del grupo que consiste en ADNmc, ADNbc, ARNmc, ARNbc y híbridos de ARN/ADN. (XXXII) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para

permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento. (XXXIII) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde el gen endógeno expresa una proteína que es un gen objetivo de herbicida o un gen de desactivación de herbicida. (XXXIV) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde el gen endógeno expresa una proteína que es un gen objetivo de herbicida o un gen de desactivación de herbicida seleccionado del grupo que consiste en 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), un ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una glutamina sintasa tolerante a glufosinato, una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina

amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-transferasa (GST), una proteína D1de fotosistem II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina y una serina hidroximetiltransferasa. (XXXV) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde la composición polinucleotídica y el herbicida se aplican por separado o en la misma solución. (XXXVI) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde el polinucleótido se selecciona del grupo que consiste en ADNmc, ADNbc, ARNmc, ARNbc y híbridos de ARN/ADN. (XXXVII) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos

un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde la composición polinucleotídica incluye además un segundo polinucleótido, teniendo el segundo polinucleótido una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de un segmento diferente del gen endógeno objetivo o ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo diferente del al menos un polinucleótido. (XXXVIII) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde la composición polinucleotídica incluye además una pluralidad de polinucleótidos, teniendo la pluralidad de polinucleótidos cada uno una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de un segmento diferente del gen endógeno objetivo o ARN mensajero transcrito a partir del gen endógeno objetivo diferente del al menos un polinucleótido. (XXXIX) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal. (XL) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en

crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y una sal. (XLI) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliéter y silicona y una sal. (XLII) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde el agente de transferencia se

selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliéter y silicona y una sal, en donde el copolímero de poliester y silicona es un copolímero de heptametil trisiloxano modificado con óxido de polialquileno y aliloxipolipropilenglicol metiléter. (XLIII) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal, en donde la sal es una sal orgánica o una inorgánica. (XLIV) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo, una sal de amonio orgánica y una sal de amonio inorgánica. (XLV) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente

de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y sulfato de amonio. (XLVI) Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que incluye (a) revestir tópicamente la superficie de una planta en crecimiento una composición polinucleotídica que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos de una esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de la planta, en donde el gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que los polinucleótidos permeen el interior de las plantas en crecimiento y (b) aplicar el herbicida a las plantas en crecimiento; con lo cual el al menos un polinucleótido permea el interior de las plantas en crecimiento e induce la supresión del gen endógeno, potenciando así la actividad del herbicida en las plantas en crecimiento, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal, en donde el agente de transferencia incluye además un humectante o un agente quelante. (XLVII) En una composición herbicida líquida adaptada para revestimiento tópico sobre la superficie exterior de plantas en crecimiento que incluye tensioactivo y al menos un agente letal para plantas, la mejora en donde el agente letal para plantas incluye polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen vegetal o la secuencia del ARN transcrito del gen vegetal, produciendo los polinucleótidos la producción sistémica de ARN pequeños que hibridan con una sonda para el gen vegetal. (XLVIII) En una composición herbicida líquida que incluye un herbicida no polinucleotídico, la mejora en donde la composición incluye además polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a una secuencia de una planta vegetal o a una secuencia del ARN transcrito del gen vegetal. (XLIX) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de

transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta. (L) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal. (LI) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y una sal inorgánica. (LII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliéter y silicona y una sal inorgánica. (LIII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de

ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliéter y silicona y una sal inorgánica, en donde el copolímero de poliester y silicona es un copolímero de heptametil trisiloxano modificado con óxido de polialquileno y aliloxipolipropilenglicol metiléter (disponible como el tensioactivo Silwet® L-77). (LIV) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, que incluye además una molécula herbicida no polinucleotídica. (LV) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el gen vegetal codifica una proteína que proporciona tolerancia a herbicidas y es una 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una glutamina sintasa tolerante al glufosinato, una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-

transferasa (GST), una proteína D1 de fotosistem II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina y una serina hidroximetiltransferasa. (LVI) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta. (LVII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal. (LVIII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y una sal inorgánica. (LIX) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones

fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un copolímero de poliester y silicona y una sal inorgánica. (LX) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliéter y silicona y una sal inorgánica, en donde el copolímero de poliester y silicona es un copolímero de heptametil trisiloxano modificado con óxido de polialquileno y aliloxipolipropilenglicol metiléter (disponible como el tensioactivo Silwet® L-77). (LXI) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ADN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, que incluye además una molécula herbicida no polinucleotídica. (LXII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los

polinucleótidos del ADN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el gen vegetal codifica una proteína que proporciona tolerancia a herbicidas y es una 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una glutamina sintasa tolerante al glufosinato, una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-transferasa (GST), una proteína D1 de fotosistem II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina y una serina hidroximetiltransferasa. (LXIII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta. (LXIV) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal. (LXV) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el

silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y una sal inorgánica. (LXVI) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliester y silicona y una sal inorgánica. (LXVII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliéter y silicona y una sal inorgánica, en donde el copolímero de poliester y silicona es un copolímero de heptametil trisiloxano modificado con óxido de polialquileno y aliloxipolipropilenglicol metiléter (disponible como el tensioactivo Silwet® L-77). (LXVIII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN desde la superficie de la planta hacia las

células de la planta, que incluye además una molécula herbicida no polinucleotídica. (LXIX) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el gen vegetal codifica una proteína que proporciona tolerancia a herbicidas y es una 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una glutamina sintasa tolerante al glufosinato, una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-transferasa (GST), una proteína D1 de fotosistem II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina y una serina hidroximetiltransferasa. (LXX) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ARN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta. (LXXI) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la

transferencia de los polinucleótidos del ARN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal. (LXXII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ARN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y una sal inorgánica. (LXXIII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ARN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliester y silicona y una sal inorgánica. (LXXIV) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ARN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliéter y silicona y una sal inorgánica, en donde el copolímero de poliester y silicona es un copolímero de heptametil trisiloxano modificado

con óxido de polialquileno y aliloxipolipropilenglicol metiléter (disponible como el tensioactivo Silwet® L-77). (LXXV) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ARN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, que incluye además una molécula herbicida no polinucleotídica. (LXXVI) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos del ARN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el gen vegetal codifica una proteína que proporciona tolerancia a herbicidas y es una 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una glutamina sintasa tolerante al glufosinato, una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-transferasa (GST), una proteína D1 de fotosistem II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina y una serina hidroximetiltransferasa. (LXXVII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para

producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta. (LXXVIII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal. (LXXIX) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y una sal inorgánica. (LXXX) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliester y silicona y una sal inorgánica. (LXXXI) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de híbrido

de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo de organosilicona y copolímero de poliéter y silicona y una sal inorgánica, en donde el copolímero de poliester y silicona es un copolímero de heptametil trisiloxano modificado con óxido de polialquileno y aliloxipolipropilenglicol metiléter (disponible como el tensioactivo Silwet® L-77). (LXXXII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, que incluye además una molécula herbicida no polinucleotídica. (LXXXIII) Una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la planta con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN desde la superficie de la planta hacia las células de la planta, en donde el gen vegetal codifica una proteína que proporciona tolerancia a herbicidas y es una 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa

(HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una glutamina sintasa tolerante al glufosinato, una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-transferasa (GST), una proteína D1 de fotosistem II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina y una serina hidroximetiltransferasa. (LXXXIV) Un método para controlar selectivamente plantas espontáneas resistentes a herbicidas objetivo en un campo de cultivos resistentes a herbicidas que incluye aplicar sobre las hojas de las plantas espontáneas una composición que incluye oligómeros polinucleotídicos que proporciona a células de las plantas espontáneas ARN monocatenario sistémico que es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en células de las plantas espontáneas con ARN mensajero que se transcribe a partir de una gen endógeno que (i) es un gen esencial para mantener el crecimiento o la vida de la planta espontánea, (ii) codifica una proteína que proporciona resistencia herbicida la planta espontánea o (iii) se transcribe en un agente regulador de ARN. (LXXXV) Un método para controlar selectivamente plantas espontáneas resistentes a herbicidas objetivo en un campo de cultivos resistentes a herbicidas que incluye aplicar sobre las hojas de las plantas espontáneas una composición que incluye oligómeros polinucleotídicos que proporciona a células de las plantas espontáneas ARN monocatenario sistémico que es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en células de las plantas espontáneas con ARN mensajero que se transcribe a partir de una gen endógeno que (i) es un gen esencial para mantener el crecimiento o la vida de la planta espontánea, (ii) codifica una proteína que proporciona resistencia herbicida la planta espontánea o (iii) se transcribe en un agente regulador de ARN, en donde la composición incluye un tensioactivo y oligómeros seleccionados del grupo que consiste en ARN monocatenario, ARN bicatenario, ADN monocatenario, ADN bicatenario y ARN/ADN hibridados bicatenarios, en donde los oligómeros tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria al ARN mensajero del gen endógeno; y en donde el gen endógeno es un gen natural o un transgén recombinante. (LXXXVI) Un método para controlar selectivamente plantas espontáneas resistentes a herbicidas objetivo en un campo de cultivos resistentes a herbicidas que incluye aplicar sobre las hojas de las plantas espontáneas una composición que incluye oligómeros polinucleotídicos que proporciona a células de las plantas espontáneas ARN monocatenario sistémico que es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en células de las plantas espontáneas con ARN mensajero que se transcribe a partir de una gen endógeno que (i) es un gen esencial para mantener el crecimiento o la vida de la planta espontánea, (ii) codifica una proteína que proporciona

resistencia herbicida la planta espontánea o (iii) se transcribe en un agente regulador de ARN, en donde la planta espontánea es amaranto, yute de china, amaranto tuberculoso, lechuga espinaca, diente de león, alfalfa, maíz, soja, colza, algodón, remolacha azucarera, caña de azúcar, trigo, arroz o una verdura. (LXXXVII) Un método para controlar selectivamente plantas espontáneas resistentes a herbicidas objetivo en un campo de cultivos resistentes a herbicidas que incluye aplicar sobre las hojas de las plantas espontáneas una composición que incluye oligómeros polinucleotídicos que proporciona a células de las plantas espontáneas ARN monocatenario sistémico que es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en células de las plantas espontáneas con ARN mensajero que se transcribe a partir de una gen endógeno que (i) es un gen esencial para mantener el crecimiento o la vida de la planta espontánea, (ii) codifica una proteína que proporciona resistencia herbicida la planta espontánea o (iii) se transcribe en un agente regulador de ARN, en donde los cultivos son maíz, soja, algodón, colza, remolacha azucarera, alfalfa, caña de azúcar, arroz, trigo o cultivos de frutas o verduras. (LXXXVIII) Un método para controlar selectivamente plantas espontáneas resistentes a herbicidas objetivo en un campo de cultivos resistentes a herbicidas que incluye aplicar sobre las hojas de las plantas espontáneas una composición que incluye oligómeros polinucleotídicos que proporciona a células de las plantas espontáneas ARN monocatenario sistémico que es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en células de las plantas espontáneas con ARN mensajero que se transcribe a partir de una gen endógeno que (i) es un gen esencial para mantener el crecimiento o la vida de la planta espontánea, (ii) codifica una proteína que proporciona resistencia herbicida la planta espontánea o (iii) se transcribe en un agente regulador de ARN, en donde el gen endógeno codifica una proteína que proporciona resistencia a herbicidas a la planta espontánea y la proteína es una 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una glutamina sintasa tolerante a glufosinato, una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-transferasa (GST), una proteína D1 de fotosistem II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina o una serina hidroximetiltransferasa. (LXXXIX) Un método para controlar selectivamente plantas espontáneas resistentes a herbicidas objetivo en un campo de cultivos resistentes a herbicidas que incluye aplicar sobre las hojas de las

plantas espontáneas una composición que incluye oligómeros polinucleotídicos que proporciona a células de las plantas espontáneas ARN monocatenario sistémico que es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en células de las plantas espontáneas con ARN mensajero que se transcribe a partir de una gen endógeno que (i) es un gen esencial para mantener el crecimiento o la vida de la planta espontánea, (ii) codifica una proteína que proporciona resistencia herbicida la planta espontánea o (iii) se transcribe en un agente regulador de ARN, en donde el gen endógeno codifica una proteína que proporciona resistencia a herbicidas a la planta espontánea y la proteína es una 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una glutamina sintasa tolerante a glufosinato, una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-transferasa (GST), una proteína D1 de fotosistem II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina o una serina hidroximetiltransferasa, que incluye además aplicar sobre la planta espontánea una cantidad del herbicida para el que la proteína proporciona resistencia. (XC) Un método para investigar la genética inversa modulando un gen objetivo endógeno en una planta, incluyendo el método aplicar sobre tejido de una planta en crecimiento: (1) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ADN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (2) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de

transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ADN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (3) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (4) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (5) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta. (XCI) Un método para investigar la genética inversa modulando un gen objetivo endógeno en una planta, incluyendo el método aplicar sobre tejido de una planta en crecimiento: (1) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con

el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ADN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (2) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ADN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (3) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (4) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (5) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen

endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; en donde la composición produce la modulación del gen objetivo durante un período de al menos 1 semana durante la vida de la planta. (XCII) Un método para investigar la genética inversa modulando un gen objetivo endógeno en una planta, incluyendo el método aplicar sobre tejido de una planta en crecimiento: (1) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ADN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (2) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ADN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (3) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (4) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno

de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (5) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; en donde el ARN transcrito en las células es ARN mensajero que codifica una proteína o ARN regulador. (XCIII) Un método para investigar la genética inversa modulando un gen objetivo endógeno en una planta, incluyendo el método aplicar sobre tejido de una planta en crecimiento: (1) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ADN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (2) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ADN monocatenario desde la superficie de la

planta hacia las células de la planta; o (3) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (4) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (5) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; incluyendo además exponer la planta a un conjunto de compuestos para identificar interacciones con herbicidas. (XCIV) Un método para investigar la genética inversa modulando un gen endógeno en una planta, incluyendo el método aplicar tópicamente sobre tejido de una planta viva: (1) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el

ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ADN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (2) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ADN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (3) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (4) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de ARN monocatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta; o (5) una composición que consiste esencialmente en (a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir del gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de la plante con el gen endógeno o con el ARN transcrito a partir del gen

endógeno para producir el silenciamiento del gen endógeno; y (b) un agente de transferencia eficaz para facilitar la transferencia de los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario desde la superficie de la planta hacia las células de la planta. (XCV) Una composición herbicida que incluye una solución acuosa de (a) un agente para acondicionar una planta para la permeación de oligómeros polinucleotídicos y (b) oligómeros polinucleotídicos que incluyen al menos una cadena polinucleotídica que incluye al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos de un gen endógeno de la planta en sentido antisentido o sentido, en donde el gen endógeno codifica una proteína que proporciona a la planta resistencia a un herbicida químico o es un gen esencial. (XCVI) Una composición herbicida que incluye una solución acuosa de (a) un agente para acondicionar una planta para la permeación de oligómeros polinucleotídicos y (b) oligómeros polinucleotídicos que incluyen al menos una cadena polinucleotídica que incluye al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos de un gen endógeno de la planta en sentido antisentido o sentido, en donde el gen endógeno codifica una proteína que proporciona a la planta resistencia a un herbicida químico o es un gen esencial, incluyendo además un herbicida químico. (XCVII) Una composición herbicida que incluye una solución acuosa de (a) un agente para acondicionar una planta para la permeación de oligómeros polinucleotídicos y (b) oligómeros polinucleotídicos que incluyen al menos una cadena polinucleotídica que incluye al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos de un gen endógeno de la planta en sentido antisentido o sentido, en donde el gen endógeno codifica una proteína que proporciona a la planta resistencia a un herbicida químico o es un gen esencial, incluyendo además un herbicida químico, que incluye compuestos herbicidas de glifosato, dicamba, fosfinotricina, bromoxinilo, ioxinilo o clorsulfurón. (XCVIII) Una composición herbicida que incluye una solución acuosa de (a) un agente para acondicionar una planta para la permeación de oligómeros polinucleotídicos y (b) oligómeros polinucleotídicos que incluyen al menos una cadena polinucleotídica que incluye al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos de un gen endógeno de la planta en sentido antisentido o sentido, en donde el gen endógeno codifica una proteína que proporciona a la planta resistencia a un herbicida químico o es un gen esencial, incluyendo además un herbicida químico, que incluye un compuesto de glifosato, un tensioactivo de copolímero de poliester y silicona y oligómeros polinucleotídicos. (XCIX) Una planta que incluye ADN o ARN exógeno para suprimir un gen endógeno, donde el ADN exógeno no está integrado en un cromosoma de la planta y el ARN exógeno no se transcribe a partir de ADN integrado en un cromosoma de la planta y en donde el gen endógeno se suprime mediante aplicación tópica de un polinucleótido

en la planta después que la planta ha emergido de una semilla. (C) Un método para administrar un polinucleótido en el interior de una célula vegetal mediante aplicación tópica del polinucleótido al exterior de la célula vegetal, incluyendo el método combinar el polinucleótido con un tensioactivo de organosilicona. (CI) Un método para administrar un polinucleótido en el interior de una célula vegetal mediante aplicación tópica del polinucleótido al exterior de la célula vegetal, incluyendo el método combinar el polinucleótido con un tensioactivo de organosilicona, en donde el tensioactivo de organosilicona es un copolímero de poliester y silicona. (CII) Un método para administrar un polinucleótido en el interior de una célula vegetal mediante aplicación tópica del polinucleótido al exterior de la célula vegetal, incluyendo el método combinar el polinucleótido con un tensioactivo de organosilicona, en donde el tensioactivo de organosilicona es un copolímero de poliester y silicona, en donde el copolímero de poliester y silicona es un copolímero de heptametil trisiloxano modificado con óxido de polialquileno y aliloxipolipropilenglicol metiléter. (CIII) Un método para administrar un polinucleótido en el interior de una célula vegetal mediante aplicación tópica del polinucleótido en el exterior de la célula vegetal, incluyendo el método combinar el polinucleótido con un tensioactivo de organosilicona y una sal orgánica o una inorgánica. (CIV) Un método para administrar un polinucleótido en el interior de una célula vegetal mediante aplicación tópica del polinucleótido en el exterior de la célula vegetal, incluyendo el método combinar el polinucleótido con un tensioactivo de organosilicona y una sal orgánica o una inorgánica, en donde la sal es una sal de amonio. (CV) Un método para administrar un polinucleótido en el interior de una célula vegetal mediante aplicación tópica del polinucleótido en el exterior de la célula vegetal, incluyendo el método combinar el polinucleótido con un tensioactivo de organosilicona y una sal orgánica o una inorgánica, en donde la sal es una sal de amonio, en donde la sal de amonio es sulfato de amonio. (CVI) Un método para administrar un polinucleótido en el interior de una célula vegetal mediante aplicación tópica del polinucleótido al exterior de la célula vegetal, incluyendo el método combinar el polinucleótido con un tensioactivo de organosilicona, en donde la composición polinucleotídica se aplica sobe las plantas u órganos vegetales en crecimiento mediante un aparato pulverizador.

Ejemplo 1

82) Este ejemplo ilustra la utilidad de las moléculas polinucleotídicas de esta invención en el control de malezas resistentes a herbicidas. Se identificó que los genotipos de palmera amaranto resistente a glifosato tienen múltiples copias, por ejemplo, de 4 a más de 100 copias del gen que codifica la 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) a la cual se dirigen los compuestos de glifosato en los tratamientos con herbicidas.

83) En referencia a la SEQ ID NO:1 tal como se muestra en la Figura 1, se diseñaron cuatro moléculas de ARNbc “cortas” de tamaño de oligonucleótido con una cadena antisentido que es capaz de hibridar con ARNm transcrito a partir del gen EPSPS de la palmera amaranto en las posiciones 14-38 (ARNbc-1 corto), en las posiciones 153-177 (ARNbc-2 corto), 345-369 (ARNbc-3 corto) y 1105-1129 (ARNbc-4 corto), tal como se indica mediante los nucleótidos subrayados en la Figura 1. Los cuatro ARNbc cortos diseñados se adquirieron de Integrated DNA Technologies (IDT); los ARNbc tenían un excedente de dos nucleótidos en el extremo 3’ de la cadena antisentido y tenían dos desoxinucleótidos como los nucleótidos terminales en el extremo 3’ de la cadena sentido.

84) En referencia a la SEQ ID NO:1 y la Figura 1, se diseñaron tres polinucleótidos de ARN bicatenario “largo” con una cadena que es capaz de hibridar con el ARNm transcrito a partir del gen EPSPS de la palmera amaranto en las posiciones 16-170 (ARNbc-1 largo), 451-722 (ARNbc-2 largo) y 1109-1328 (ARNbc-3 largo) tal como se indica mediante los nucleótidos en negrita en la Figura 1. Los ARNbc largos diseñados se hicieron utilizando el Ambion MEGAscript® RNAi Kit, Cat. No. 1626.

85) Se cultivaron clones vegetativos de palmera amaranto resistente e glifosato con 16 copias del gen endógeno que codifica EPSPS (Gaines, et al. (2010) Proceedings of the National Academy of Sciences 107(3): 1029-1034) en pocillos cuadrados de 3,5 pulgadas con mezcla para plántulas SunGro® Redi-earth que contenía 3,5 kg/metro cúbico de fertilizante Osmocote® 14-14-14 en un invernadero con un fotoperíodo de 14 horas y una temperatura diurna de 30 grados centígrados y una temperatura nocturna de 20 grados centígrados; las plantas se regaron con agua desionizada según fuera necesario.

86) Se preparó una solución de pretratamiento de tensioactivo para bañar las hojas, diluyendo el tensioactivo de organosilicona de marca Silwet L-77 con agua destilada hasta 0,1% (v/v). Se preparó una solución de pretratamiento de carburo de silicio al 5% (p/v) mezclando 2 g de carburo de silicio (arena 400) en 40 ml de agua destilada. Se preparó una solución amortiguadora de tratamiento con 10 mM de fosfato de sodio y tensioactivo de organosilicona Silwet L-77 al 0,01% (v/v) en agua DEPC (Omega Bio-Tek) y se ajustó hasta pH 6,8. Se preparó una solución de ARNbc corto con cantidades equimolares de

cada uno de los cuatro ARNbc cortos (identificados anteriormente) en la solución amortiguadora de tratamiento a una concentración de 0,005 nanomoles de cada ARNbc corto por microlitro. Se preparó una solución de ARNbc largo con cantidades equimolares de cada uno de los tres ARNbc largos en la solución amortiguadora de tratamiento a una concentración de 0,0006 nanomoles de cada ARNbc largo por microlitro. Se preparó una solución mixta de ARNbc (corto/largo) con 0,005 nanomoles de cada uno de los cuatro ARNbc cortos y 0,0006 nanomoles de cada uno de los tres ARNbc largos por microlitro.

87) Los clones vegetativos de palmera amaranto resistente a glifosato con 16 copias del gen endógeno que codifica EPSPS se pretrataron con la solución de carburo de silicio o la solución de tensioactivo para acondicionar las hojas para transferir o permear los ARNbc. Para el pretratamiento con solución de carburo de silicio se llevó a cabo la abrasión de la hoja frotando suavemente 0,5 ml de la solución de carburo de silicio sobre la superficie superior de una hoja, se enjuagó con agua y se secó con papel secante. Para el pretratamiento con la solución de tensioactivo se sumergieron cuatro hojas fuente maduras, completamente expandidas en la solución de tensioactivo y se dejaron secar. Después del pretratamiento de la hoja con la solución de carburo de silicio o la solución de tensioactivo, las hojas acondiciones se trataron con la solución amortiguadora (como testigo) o con 40 microlitros de una solución de ARNbc (aplicando 10 microlitros de solución de ARNbc en cada una de 4 hojas por planta). En el tratamiento con la solución de ARNbc corto se aplicaron aproximadamente 0,8 nanomoles de moléculas de ARNbc corto (0,2 nanomoles de cada ARNbc corto) a cada planta tratada. En el tratamiento con la solución de ARNbc largo se aplicaron aproximadamente 0,072 nanomoles de moléculas de ARNbc largo (0,024 nanomoles de cada ARNbc largo) a cada planta tratada. En el tratamiento con la solución mixta de ARNbc (corto/largo) se aplicaron aproximadamente 0,8 nanomoles de las moléculas de ARNbc corto y aproximadamente 0,072 nanomoles de las moléculas de ARNbc largo a cada planta tratada. Excepto los testigos, todas las plantas se pulverizaron con una solución de herbicida glifosato (1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®) inmediatamente, 48 o 72 horas después del tratamiento con ARNbc y se evaluaron al menos después de 7 días postratamiento con glifosato.

Resultados:

88) Seis plantas testigo tratadas con tensioactivo (sin tratamiento con molécula de ARNbc) sobrevivieron al tratamiento con glifosato. Ver la Figura 3A que muestra una fotografía de las plantas 7 días después del tratamiento con glifosato.

89) Dos de cuatro plantas testigo tratadas con abrasión con carburo de silicio (sin tratamiento con molécula de ARNbc) murieron a causa del tratamiento con glifosato.

90) Seis plantas tratadas con tensioactivo que se trataron con glifosato inmediatamente después de la aplicación de la solución mixta de ARNbc (corto/largo) sobrevivieron pero presentaban enanismo.

91) Seis plantas tratadas con tensioactivo que se trataron solo con la solución mixta de ARNbc (corto/largo) y sin glifosato, sobrevivieron. Cinco de seis plantas tratadas con tensioactivo que se trataron con las soluciones mixtas de ARNbc (corto/largo) y posteriormente con tratamiento con glifosato, murieron.

92) Cinco de seis plantas tratadas con tensioactivo que se trataron con glifosato 48 horas después de la aplicación de la solución mixta de ARNbc (corto/largo) murieron.

93) Tres de cuatro plantas tratadas con carburo de silicio que se trataron con glifosato 48 horas después de la aplicación de la solución mixta de ARNbc (corto/largo) murieron.

94) Cinco de seis plantas tratadas con tensioactivo que se trataron con la solución de ARNbc largo y posteriormente con tratamiento con glifosato después de 72 horas, murieron; ver Figura 3B. Seis de seis plantas tratadas con tensioactivo que se trataron con la solución de ARNbc corto y posteriormente con tratamiento con glifosato después de 72 horas, murieron; ver Figura 3C.

Ejemplo 2

95) Este ejemplo ilustra la utilidad de las moléculas polinucleotídicas de esta invención en la mejor del control de malezas sensibles al herbicida glifosato. Las soluciones mixtas de ARNbc (corto/largo) preparadas en el Ejemplo 1 se aplicaron a plantas de yute de china sensibles al glifosato (un total de 40 microlitros aplicados a dos hojas) que se pretrataron con la solución de tensioactivo utilizada en el Ejemplo 1. Las plantas testigo se trataron solo con solución amortiguadora luego del pretratamiento con la solución de tensioactivo. 48 horas después del tratamiento con ARNbc las plantas se trataron con una solución del herbicida glifosato (53 g de equivalente ácido por hectárea del herbicida glifosato de marca Roundup® WeatherMAX®). Se observó un aumento por duplicado de la actividad del glifosato según se estimó por la observación del crecimiento de la planta (medido como la altura de planta) en las plantas tratadas con la composición polinucleotídica y el herbicida en comparación con las plantas testigo tratadas con solución amortiguadora y herbicida. Las plantas tratadas con la composición polinucleotídica y el herbicida sobrevivieron con un enanismo grave; las plantas testigos tratadas con solución amortiguadora y herbicida sobrevivieron y se recuperaron completamente. Se obtuvieron

resultados similares con otros malezas sensibles al herbicida glifosato, es decir, amaranto tuberculoso, bledo, ambrosía gigante, lechuga espinaca, tabaco y diente de león.

Ejemplo 3

96) Este ejemplo ilustra la utilidad de las moléculas polinucleotídicas de esta invención en el control de malezas en cultivos transgénicos resistentes a glifosato. Se trataron plantas transgénicas de alfalfa, colza, maíz, algodón, arroz, soja, caña de azúcar y trigo que tienen ADN recombinante para expresar una EPSPS bacteriana (ver Patente de los Estados Unidos RE39.247 para ver la descripción de los genes de EPSPS “tipo II” resistentes a glifosato) con (a) la solución de tensioactivo utilizada en el Ejemplo 1, (b) la solución mixta de ARNbc (corto/largo) preparada en el Ejemplo 1 y (c) una solución de herbicida glifosato (1682 g de equivalente ácido por hectárea de Roundup® WeatherMAX®) 48 horas después del tratamiento con ARNbc. Después de 30 días todas las plantas de cultivos transgénicos resistentes a glifosato sobrevivieron y no presentaron enanismo.

Ejemplo 4

97) Este ejemplo ilustra la utilidad de las moléculas polinucleotídicas de esta invención como agentes herbicidas. Se diseñaron dos moléculas polinucleotídicas de ARNbc para dirigirse a segmentos superpuestos de ARNm que codifican fitoeno desaturasa en tabaco (Nicotiana benthamiana). En referencia a la SEQ ID NO:2 y la Figure 5, un ARNbc dirigido a 192 nt de longitud (se muestra en negrita en la Figura 5) y a 685 nt de longitud (se muestra subrayado en la Figura 5) del ARNm se hizo utilizando un kit Ambion® MEGAscript®. Se prepararon solución de ARNbc separadas. Las hojas de planta de tabaco se pretrataron con la solución de tensioactivo preparada tal como en el Ejemplo 1 y luego se trataron con uno de las soluciones de ARNbc aplicando aproximadamente 0,6 micromoles de ARNbc por planta. El día 9 después del tratamiento con ARNbc, el silenciamiento de la fitoeno desaturasa se evidenció a partir del blanqueado de hojas en hojas apicales; ver Figura 4. A los 15 días después del tratamiento con ARNbc una mitad de las plantas tratadas parecía estar muerta y la otra mitad de las plantas tenía blanqueada la mayor parte de los tejidos por encima del suelo. El análisis de transferencia northern indica la presencia de los ARNip correspondientes a los ARNbc utilizados en el tratamiento.

Ejemplo 5

98) Este ejemplo ilustra adicionalmente la utilidad de las moléculas polinucleotídicas de esta invención como agentes herbicidas. Se diseñaron moléculas oligonucleotídicas de ARNbc para dirigirse a ARN que codifica EPSPS para cada una de las siguientes plantas: ambrosía común (Ambrosia artemisiifolia), ambrosía gigante (Ambrosia trifida), sorgo de Alepo (Sorghum halepense), rama negra (Conzya bonariensis), cola de zorro (Digitaria insularis), urochloa (Urochloa panicoides), Poinsettia salvaje (Euphorbia heterophylla), arocillo (Echinochloa colona), quínoa blanca (Chenopodium album), almorejo (Setaria viridis), moha (Setaria italic), amor de hortelano (Echinochloa crus-galli), digitaria (Digitaria sanguinalis), cadillo (Xanthium strumarium), alopecuro de campo (Alopecurus myosuroides), avena salvaje (Avena fatua), palo zorrillo (Senna obtusifolia), bejucos (Ipomoea sp.), correhuela (Convolvulus arvensis), sorgo (Sorghum bicolor), hierba del pollo (Commelina), amor de hombre (Tradescantia sp.), ryegrás (Lolium sp.), pata de ganso (Eleusine indica), cola de caballo (Conzya canadensis), llantén (Plantago lanceolata), palmera amaranto (Amaranthus palmeri), amaranto tuberculoso (Amaranthus tuberculatus), amaranto blanco (Amaranthus albus), quintonil (Amaranthus hybridus), abrebujo (Amaranthus retroflexus), cánamo común (Amaranthus rudis/tuberculatus), amaranto sudamericano (Amaranthus viridis), amaranto de Thunberg (Amaranthus thumbergii), amaranto espinoso (Amaranthus spinosis), (Amaranthus rubra), (Amaranthus lividus), bledo (Amaranthus graecizans), alegría (Amaranthus chlorostachys), amaranto de Powell (Amaranthus powellii), cenizo (Amaranthus blitoides), rodadora (Kochia scoparia), abrepuño (Centaurea solstitialis) y abutilón (Abutilon theophrasti). Las hojas de la planta se pretrataron con la solución de tensioactivo preparada tal como en el Ejemplo 1 y se trataron con las soluciones de ARNbc a una tratamiento de aproximadamente 1 nanomol por planta. Después de 15 días las plantas tratadas murieron, están muriendo o presentan enanismo.

Ejemplo 6

99) Este ejemplo ilustra adicionalmente la utilidad de las moléculas polinucleotídicas de esta invención como agentes herbicidas. Se diseñaron moléculas oligonucleotídicas de ARNbc para dirigirse a ARN que codifica acetolactato sintasa y fitoeno desaturasa para cada una de las plantas indicadas en el Ejemplo 5. Las hojas de la planta se pretrataron con la solución de tensioactivo preparada tal como en el Ejemplo 1 y se trataron con las soluciones de ARNbc a una tratamiento de aproximadamente 1 nanomol por planta. Después de 15 días las plantas tratadas murieron, están muriendo o presentan enanismo.

Ejemplo 7

100) Este ejemplo ilustra adicionalmente la utilidad de las moléculas polinucleotídicas de esta invención como agentes herbicidas. El método del Ejemplo 4 se repite para proporcionar oligonucleótidos de ARNbc corto diselados para dirigirse a ARN que codifica cada una de las siguiente proteínas en la palmera amaranto: una 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una acetil-coenzima A carboxilasa, una dihidropteroato sintasa, una protoporfirina IX oxigenasa, una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa, una glutamina sintasa, proteína D1, un factor de iniciación de traducción (TIF), una ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCO) y una ATPasa dependiente de ADN (ddATPasa). Las hojas de plantas de palmera amaranto resistentes a glifosato separadas se trataron con la solución de tensioactivo preparada tal como en el Ejemplo 1 y por separado cada una con las moléculas oligonucleotídicas de ARNbc en la forma del Ejemplo 1 a una tratamiento de 1 nanomol de ARNbc por planta. Después de 30 días las plantas tratadas murieron, están muriendo o presentan enanismo.

Ejemplo 8

101) Este ejemplo ilustra la utilidad de emplear un gen Pol III sintético en composiciones y métodos de esta invención. En referencia a la SEQ ID NO:3 y la Figura 2, se creó un gen Pol III sintético utilizando elementos de un gen de ARNmc de U6 de Arabidopsis thaliana para proporiconar una molécula de ADNbc con dos copias de elementos RGCCCR (en negrita y subrayado), un elemento de secuencia hacia 5 (USE) que tiene la secuencia “TCCCACATCG” (SEQ ID NO:4, en negrita y subrayada), una secuencia TATA (en negrita y subrayada), un nucleótido “G” (en negrita y subrayado), ADN antisentido (en cursiva) correspondiente a una ADN bacteriano que codifica una proteína EPSPS (ver Patente de los Estados Unidos RE39.247) que imparte resistencia al herbicida glifosato cuando se expresa en plantas de maíz transgénicas, un elemento “AAGATTAGCACGG” (SEQ ID NO:5, en negrita y subrayado) incluido en el ADN antisentido, un elemento “ACGCATAAAAT” (SEQ ID NO:6, en negrita y subrayado) seguido por el ADN sentido (en minúsculas) y un elemento de terminación “TTTTTT” (SEQ ID NO:7, en negrita y subrayado). Se pulverizaron una solución de tensioactivo de organosilicona de marca Silwet L-77 al 0,1%p y una solución de múltiples copias de la molécula de ADNbc sobre las hojas de plantas espontáneas de maíz resistentes al glifosato que crecieron en un campo de plantas de soja resistentes al glifosato y posteriormente, 7 días después, se aplicó el tratamiento con el herbicida glifosato de marca Roundup WeatherMAX®. 15 días después las plantas de maíz murieron y las plantas de soja siguieron creciendo; las

plantas de maíz resistentes a glifosato testigo tratadas solo con tensioactivo y herbicida glifosato siguieron creciendo.

Ejemplo 9

102) Este ejemplo ilustra un aspecto de la invención. En este ejemplo, las moléculas polinucleotídicas se aplicaron y permearon en tejido vegetal induciendo así la regulación sistémica, es decir, el silenciamiento de un gen objetivo (una EPSPS endógena). Más específicamente, una composición que incluye oligonucleótidos de ADN monocatenario (ADNmc) suprimió la expresión de una EPSPS endógena en palmera amaranto tolerante a glifosato (Amaranthus palmeri).

103) Los oligonucleótidos de ADNmc antisentido se diseñaron utilizando el programa informático IDT SciTools (disponible en idtdna.com/Scitools/Applications/Anti-sense/Anti-sense.aspx). Los oligonucleótidos incluían cuatro oligonucleótidos de ADNmc antisentidos para EPSPS de Amaranthus palmeri (SEQ ID NOs:8, 9, 10 y 11), dos oligonucleótidos de ADNmc antisentido químicamente modificados (modificado con fosgorotioato) para EPSPS de Amaranthus palmeri (SEQ ID NOs:12 y 13) y un oligonucleótido de ADNmc antisentido testigo para un gen testigo, proteína de semilla de cebada (Hordeum vulgare), identificación de GenBank X97636 (SEQ ID NO:14) y un oligonucleótido de ADNmc antisentido químicamente modificado (marcado en 5’con Alexa Fluor 488 de Invitrogen) para EPSPS de Amaranthus palmeri (SEQ ID NO:15), tal como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1: Oligonucleótidos de ADNmc antisentido

Nombre	SEQ ID NO:	Secuencia (5’ a 3’)	Notas
Anti-sense_PO1	8	ACCCTCCACGACTGCCCTTT	
Anti-sense_PO2	9	GTTTCCTTCACTCTCCAGC	
Anti-sense_PO3	10	GTAGCTTGAGCCATTATTGT	
Anti-sense_PO4	11	GTTGATGGTAGTAGCTTGAG	
Anti-sense_PS1	12	ACCCTCCACGACTGCCCTTT	Modificación con fosforotioato de tres nucleótidos terminales en 5’-terminal de tres nucleótidos terminales en 3’
Anti-sense_PS2	13	GTTTCCTTCACTCTCCAGC	Modificación con fosforotioato de tres nucleótidos terminales en 5’-terminal de tres nucleótidos terminales en 3’
Anti-sense_ck	14	AAGCGGTTGAGCACTGAA	Secuencia testigo, proteína de semilla de cebada, identificación de GenBank X97636
Anti-sense_PO1_488	15	ACCCTCCACGACTGCCCTTT	Marcado en 5’con Alexa Fluor 488

104) La absorción de los oligonucleótidos se demostró con los oligonucleóitos de ADNmc marcados fluorescentmente (SEQ ID NO:15) que confirmaron que los oligonucleótidos de ADNmc permearon el tejido de la hoja. Se colocaron peciolos de hojas arrancadas de

palmera amaranto resistente a glifosato en 200 mM de solución de sacarosa con oligonucleótidos de ADNmc marcados fluorescentemente (SEQ ID NO:15). Las imágenes de la hoja se obtuvieron con un generador de imágenes Bio-Rad PharosFX equipado con un láser de 488 nm de 4 h hasta 48 h después de la absorción a través del peciolo. Las hojas se incubaron con 200 mM de sacarosa solo y sirvieron como testigo. Se observó una absorción vacuolar ligeramente dependiente del tiempo de los oligonucleótidos de ADNmc marcados fluorescentemente (ver Figura 6). Los oligonucleótidos de ADNmc marcados fluorescentemente se liberaron del tejido vacuolar hacia las células tan temprano como 8 h después del tratamiento y se observó que se acumularon en el borde de la hoja a las 24 h y 48 h, lo que sugiere un efecto de la transpiración.

105) La supresión de EPSPS se demostró con hojas arrancadas de palmera amaranto resistente a glifosato utilizando la técnica de absorción del peciolo. Se colocaron peciolos de hojas arrancadas de palmera amaranto resistente a glifosato en 200 mM de solución de sacarosa con oligonucleótidos de acuerdo con los tratamientos indicados en la Tabla 2. Las hojas testigo se permearon con el testigo antisentido (SEQ ID NO:14) y adicionalmente se trataron con o sin 50 microgramos/mL de glifosato. Se midieron los niveles de ARNm de EPSPS, proteína EPSPS y shiquimato después de 48 h de incubación. Para evaluar los efectos de los oligonucleótidos de ADNmc antisentidos sobre el ARNm de EPSPS, se aisló el ARN total de la hoja y se llevó a cabo una RT-PCR en tiempo real cuantitativa para comparar los niveles de ARNm de EPSPS. Para evaluar los efectos de los oligonucleótidos de ADNmc antisentidos sobre la proteína EPSPS, se aisló la proteína soluble total de la hoja, se separó mediante SDS-PAGE y se midieron los niveles de proteína EPSPS mediante transferencia Western utilizando anticuerpos contra EPSPS_TIPA de maíz. Los efectos de los oligonucleótidos de ADNmc antisentidos sobre la acumulación de shiquimato como un indicador de la supresión de la EPSPS se evaluaron en dos experimentos: en el experimento 1, las hojas tratadas con oligonucleótidos se incubaron con 50 microgramos/mL de glifosato durante 48 h adicionales mediante absorción de peciolo (las hojas testigo se permearon con el testigo antisentido (SEQ ID NO:14) y se trataron adicionalmente con o sin 50 microgramos/mL de glifosato); en el experimento 2, se llevaron a cabo experimentos con discos de hoja en las hojas tratadas con oligonucleótidos y se midieron los niveles de shiquimato mediante HPLC (los testigos en este caso fueron hojas que no habían sido tratadas con oligonucleótidos pero se incubaron con 50 microgramos/mL de glifosato).

Tabla 2: Lista de tratamientos que utilizan oligonucleótidos de ADNmc antisentido

Tratamiento	ADNmc antisentido	Concentración final
No.1	Anti-sense_PO1 (SEQ ID NO:8)	5 microM
No.2	Anti-sense_PO2 (SEQ ID NO:9)	5 microM
No.3	Anti-sense_PS1 (SEQ ID NO:12)	5 microM
No.4	Anti-sense_PS2 (SEQ ID NO:13)	5 microM
No.5	Anti-sense_PS1, PS2 (SEQ ID NOs:12, 13)	10 microM cada uno (20 microM en total)
No.6	Anti-sense_PO1, PO2, PO3, PO4 (SEQ ID NOs:8, 9, 10, 11)	5 microM cada uno (20 microM en total)
Testigo	Anti-sense_ck (SEQ ID NO:14)	5 microM o 20 microM

106) Los resultados para expresión de ARNm de EPSPS, niveles de proteína EPSPS y niveles de shiquimato se muestran en las Figuras 7, 8 y 9, respectivamente. Estos resultados demuestran que el tratamiento con los oligonucleótidos de ADNmc antisentidos regularon o suprimieron sistémicamente el gen objetivo disminuyendo los niveles del transcrito del gen objetivo (ARNm de EPSPS) de la proteína (EPSPS) codificada por el gen objetivo en el tejido vegetal. En este experimento específico, los tratamientos No. 1 y No. 6 parecieron ser más eficaces en la supresión de los niveles de ARNm de EPSPS y proteína y en el aumento de la eficacia del glifosato, tal como se evidencia por la acumulación aumentada de shiquimato. Estos resultados también indican que la eficacia del glifosato mejora suprimiendo el ARNm de EPSPS y la proteína en la palmera amaranto resistente al glifosato.

Ejemplo 10

107) Este ejemplo ilustra un aspecto de la invención. En este ejemplo, se trataron plantas en crecimiento con una composición aplicada tópicamente para induir el silenciamiento sistémico de un gen objetivo en una planta que incluye (a) un agente para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos y (b) polinucleótidos que incluyen al menos una cadena polinucleotídica que incluye al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos del gen objetivo en dirección antisentido o sentido. Más específicamente, se trataron plantas de tabaco (Nicotiana benthamiana) con (a) una solución de tensioactivo aplicada tópicamente para acondicionar la planta para la permeación de polinucleótidos y (b) una composición que incluye oligonucleótidos o

polinucleótidos de ADN aplicados tópicamente que tiene al menos una cadena que incluye al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos del gen objetivo en dirección antisentido o sentido, con la cual se logró la regulación o supresión sistémica del gen objetivo (una fitoeno desaturasa, “PDS”).

108) El gen objetivo utilizado fue de una fitoeno desturasa de Nicotiana benthamiana (SEQ ID NO:2), que se muestra en la Figura 10; el segmento que consistía en los nucleótidos 421 – 1120 de la SEQ ID NO:2 (testo subrayado en la Figura 10) se utilizó para diseñar un polinucleótido de ARNbc de 700-mer (“PDS 700-mer”) y el segmento que consistía en los nucleótidos 914 – 1113 de la SEQ ID NO:2 (testo en negrita subrayado en la Figura 10) se utilizó para diseñar un polinucleótido de ARNbc de 200-mer (“PDS 200-mer”). Las secuencias de otros polinucleótidos u oligonucleótidos utilizados en los tratamientos se indican en la Tabla 3. La Figura 11 representa esquemáticamente la ubicación de las secuencias de estos oligonucleótidos ypolinucleótidos en relación con la secuencia de fitoeno sintasa (SEQ ID NO:2). Se utilizaron secuencias no vegetales obtenidas del gusano de la raíz del maíz (“CRW”), SEQ ID NOs:27, 28, 29 y 30 como tesstigos no homólogos. Algunos de los polinucleótidos incluían una secuencia promotora de T7 (indicada por el texto en minúsculas en la Tabla 3) que es un promotor reconocido por una polimerasa de ARN del bacteriófago T7.

Tabla 3

Descripción	sentido/ antisentido	Secuencia	Cantidad de nucleótidos	SEQ ID NO:
oligo 1 con promotor de T7	C	taatacgactcactataggGCAAGAGATGTCCTAGGTGGG	40	16
oligo 2 con promotor de T7	C	taatacgactcactataggACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGG	44	17
oligo 1 sin el promotor de T7	C	GCAAGAGATGTCCTAGGTGGG	21	18
oligo 2 sin el promotor de T7	C	ACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGG	25	19
mezcla oligo 3 con promotor de T7	NC	taatacgactcactataggCATCTCCTTTAATTGTACTGCC (SEQ ID NO:20) y taatacgactcactataggTTTAATTGTACTGCCATTATTC (SEQ ID NO:21)	41 (SEQ ID NO:20), 41 (SEQ ID NO:21)	20, 21
mezcla oligo 3 sin el promotor de T7	NC	CATCTCCTTTAATTGTACTGCC (SEQ ID NO:22) y TTTAATTGTACTGCCATTATTC (SEQ ID NO:23)	22 (SEQ ID NO:22), 22 (SEQ ID NO:23)	22, 23
oligo 4 sin el promotor de T7	NC	CACTTCCATCCTCATTCAGCTCGAT	25	24
oligo 5 sin el promotor de T7	NC	ACACCTCATCTGTCACCCTATCAG	24	25
oligo 6 sin el promotor de T7	NC	CAGTCTCGTACCAATCTCCATCAT	24	26

mezcla CRW oligo con promotor de T7	C y NC	taatacgactcactatagggATCCATGATATCGTGAACATC (SEQ ID NO:27) y taatacgactcactatagggGCAAAGAAAAATGCGTCG (SEQ ID NO:28)	41 (SEQ ID NO:27), 38 (SEQ ID NO:28)	27, 28
mezcla CRW oligo sin promotor de T7	C y NC	ATCCATGATATCGTGAACATC (SEQ ID NO:29) y GCAAAGAAAAATGCGTCG (SEQ ID NO:29)	21 (SEQ ID NO:29), 18 (SEQ ID NO:30)	29, 30

109) El siguiente procedimiento se utilizó para todos los ensayos descritos en este ejemplo. Se utilizaron plantas de Nicotiana benthamiana con cuatro semanasen todos los ensayos. Las plantas se trataron con solución de Silwet L-77 al 0,1% hecho recientemente con H2O bidestilada. Se sumergieron dos hojas completamente expandidas por planta (un cotiledón, una hoja verdadera) en la solución de Silwet L-77 durante poco segundos y se dejaron secar durante 15-30 minutos antes de la aplicación de la composición polinucleotídica. La concentración final para cada oligonucleótido o polinucleótido fue 25 microM (en Silwet L-77 al 0,01% , 5 mM de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8) a menos que se indique lo contrario. Se aplicaron 20 microlitros de la solución a la superficie superior de cada una de las dos hojas pretratadas para proporcionar un total de 40 microlitros (1 nmol de oligonucleótido o polinucleótido) para cada planta. El blanqueado de la hoja se observó 3 días postratamiento.

110) La Figura 12A ilustra los resultados de un ensayo donde se aplicaron por separado un polinucleótido de ARNbc de 200-mer con una secuencia de ARN correspondiente al segmento “PDS 200-mer” (nucleótidos 914 – 1113 de la SEQ ID NO:2) y una combinación de oligonucleótidos y polinucleótidos de ADN monocatenario (SEQ ID NOs:16, 17, 20, 21, 24, 25 y 26) a plantas de tabaco. El polinucleótido de ARNbc de 200-mer se aplicó a una concentración de 0,6 microM. El blanqueado de las hojas aplicales se observó después del tratamiento tópico con los polinucleótidos y oligonucleótidos, indicando la regulación o supresión sistémica del gen de fitoeno desaturasa objetivo.

111) La Figura 12B ilustra los resultados del análisis de transferencia northern de ARN aislado a partir de plantas Nicotiana benthamiana tratadas con solución amortiguadora (testigo), el polinucleótido de ARNbc de 200-mer y los oligonucleótidos de ADNmc. También se muestra el ARN aislado a partir de plantas que se habían estresado

manteniéndolas a 4 grados Celsius y en la oscuridad durante toda la noche antes del tratamiento con los polinucleótidos de ARNbc de 200-mer.

112) La Figura 13 ilustra los fenotipos observados el día 12 después del tratamiento en otro ensayo del efecto de doce combinaciones de polinucleótidos u oligonucleótidos (ver Tabla 4). La Tabla 4 también indica observaciones de blanqueado visible de las plantas el día 5 después del tratamiento y los resultados de las mediciones de clorofila llevadas a cabo los días 7 y 12 después del tratamiento. Las mediciones de clorofila son un indicador de la supresión de la fitoeno desaturasa del gen objetivo y las mediciones que se llevaron a cabo en 6 lugares del área apical, enfocándose en hojas visiblemente blanqueadas o (en plantas sin blanqueado visible) en hojas en ubicaciones equivalentes en las plantas; los valores de medición de clorofila más bajos indicaron supresión de la fitoeno desaturasa. Estos resultados muestran que las combinaciones de oligonucleótidos y polinucleótidos en los tratamientos 2, 3, 4, 8 y 11 fueron eficaces para regular (suprimir) sistemáticamente el gen objetivo en las plantas tratadas; el tratamiento 1 también produjo la regulación (supresión) sistemática del gen objetivo en menor medida. El polinucleótido de ARNbc de 200-mer también fue eficaz para regular (suprimir) sistemáticamente el gen objetivo en las plantas tratadas. Los oligonucleótidos de un gen no homólogo (gusano de la raíz de maíz) (tratamientos 5 y 6) no suprimieron el gen de la fitoeno desaturasa objetivo. Estos resultados demuestaran que los oligonucleótidos y polinucleótidos de ADN monocatenario sentidos y antisentido fueron eficaces para regular (suprimir) sistemáticamente el gen objetivo en las plantas tratadas. En este ejemplo específicos, los oligonucleótidos sentidos con el promotor de T7 (tratamiento 1) produjeron una supresión sistemática débil del gen de la fitoeno desaturasa, mientras que los oligonucleótidos sentidos sin el promotor de T7 (tratamiento 7) no suprimió el gen de la fitoeno desaturasa. In este ejemplo específico, los oligonucleótidos antisentido con el promotor de T7 (tratamiento 2) así como los oligonucleótidos antisentido sin el promotor de T7 (tratamiento 8) proporcionaron un blanqueado intenso, indicando una regulación sistémica fuerte del gen de la fitoeno desaturasa obejetivo.

Tabla 4

Tratamiento	Descripción	SEQ ID NO:	Comentario	Blanqueado (día 5)	Clorofila (día 7)	Clorofila (día 12)
1	Oligos 1 y 2	16, 17	Oligos sentidos con promotor de T7	débil	18,6	17,5
2	Oligo 3	20, 21	Oligos antisentido con promotor de T7	intenso	12,7	1,6
3	Oligos 1, 2 y 3	16, 17, 20, 21	Oligos sentidos y antisentido con promotor de T7	intenso	11,5	2,6
4	Oligos 1, 2, 3, 4, 5 y 6	16, 17, 20, 21, 24, 25, 26	Oligos sentidos y antisentido con promotor de T7, más oligos antisentido sin promotor de T7	intenso	15,1	2,5
5	mezcla CRW oligo con promotor de T7	27, 28	Oligos sentidos y antisentido con promotor de T7	todavía no	30,8	37,3
6	mezcla CRW oligo sin promotor de	29, 30	Oligos sentidos y antisentido sin promotor de	todavía no	34,2	38,2

	T7		T7			
7	Oligos 1 y 2 sin promotor de T7	18, 19	Oligos sentidos sin promotor de T7	todavía no	32,0	41,1
8	Oligo 3 sin promotor de T7	22, 23	Oligos antisentido sin promotor de T7	intenso	11,3	3,2
9	Oligos 1, 2 y 3 sin promotor de T7 y oligos 4, 5 y 6	18, 19, 22, 23, 24, 25, 26	Oligos sentidos y antisentido sin promotor de T7	todavía no	30,2	34,4
10	Polinucleótido de ARNbc de 200-mer	Secuencia de ARN correspondiente al segmento “PDS 200-mer” que consiste en los nucleótidos 914 – 1113 de la SEQ ID NO:2	Polinucleótido de ARNbc sentido y antisentido	intenso	11,3	4,0

11	Mezcla de oligonucleódtidos 1/10º del Experimento 4	16, 17, 20, 21, 24, 25, 26	Oligos sentidos y antisentido con promotor de T7, más oligos antisentido sin promotor de T7	intenso	11,4	4,5
12	Mezcla de oligonucleódtidos 1/100º del Experimento 4	16, 17, 20, 21, 24, 25, 26	Oligos sentidos y antisentido con promotor de T7, más oligos antisentido sin promotor de T7	todavía no	31,0	38,0
13	Testigo	(ninguna)	Solo solución amortiguadora	todavía no	31,2	38,4

113) La Tabla 5 muestra seis polinucleótidos: un segmento de 40-mer ("PDS 40-mer sense ssDNA", SEQ ID NO:31) que consiste en los 40 nucleótidos más hacia 5' de la "PDS 700-mer" (nucleótidos 1081 – 1120 de la SEQ ID NO:2) y cuatro polinucleótidos de ADN monocatenario antisentido y un polinucleótido de ADN monocatenario sentido sintetizado en base a la secuencia "PDS 40-mer sense ssDNA" (SEQ ID NO:31). La Figura 14 ilustra los resultados del tratamiento tópico de plantas de tabaco con los polinucleótidos y oligonucleótidos. Se observó un blanqueado intenso de las hojas apicales que indica la regulación o supresión sistémica del gen objetivo de la fitoeno desaturasa después del tratamiento tópico con el ADNmc antisentido de 21 mer de PDS y el ADNmc antisentido de 33 mer de PDS, así como también después del tratamiento tópico con el polinucleótido de ARNbc de 700 mer aplificado por PCR y purificado en columna ("PDS 700-mer dsRNA"), oligonucleótidos de 22 mer antisentido de PDS sometidos a ensayo previamente con un promotor de T7 (SEQ ID NOs:20 and 21) ("PDS T7 anti-sense") o oligonucleótidos de 22 mer antisentido de PDS sometidos a ensayo previamente sin un promotor de T7 (SEQ ID NOs:22 y 23) ("PDS anti-sense"). No se observó o se observó poco blanqueado de las hojas aplicales después del tratamiento

tópico solo con la solución amortiguadora (“Buffer”) o después del tratamiento tópico con polinucleótido de ARNbc de 700 mer desnaturalizados por calor (5 minutos a 95 grados Celsius, a continuación almacenados sobre hielo) (“PDS 700-mer dsRNA heated”), el ADNmc antisentido de 15 mer de PDS o el ADNmc antisentido de 18 mer de PDS .

Tabla 5

Descripción	Secuencia	SEQ ID NO:
ADNmc antisentido de 40-mer de PDS	TGTTTTATACTGAATAATGGCAGTACAATTAAAGGAGATG	31
ADNmc antisentido de 15-mer de PDS	CATCTCCTTTAATTG	32
ADNmc antisentido de 18-mer de PDS	CATCTCCTTTAATTGTAC	33
ADNmc antisentido de 21-mer de PDS	CATCTCCTTTAATTGTACTGC	34
ADNmc antisentido de 33-mer de PDS	CATCTCCTTTAATTGTACTGCCATTATTCAGTA	35
ADNmc sentido de 21-mer de PDS	GCAGTACAATTAAAGGAGATG	36

114) Los resultados de otro ensayo se muestran en la Figura 15, se observó un blanqueado de las hojas apicales indicando una regulación o supresión sistémica del gen objetivo de la fitoeno desaturasa después del tratamiento tópico con el ADNmc antisentido de 21 mer de PDS (SEQ ID NO:34, “21nt PDS anti-sense”) o con oligonucleótidos de 22 mer antisentido de PDS somtidos a ensayo previamente sin un promotor de T7 (SEQ ID NOs:22 y 23) (“PDS anti-sense”). No se observó o se observó un blanqueado de hojas apicales poco visible después del tratamiento tópico solo con la solución amortiguadora

(“control: buffer”) o después del tratamiento tópico con ADNmc sentido de 21 mer de PDS (SEQ ID NO:36, “21nt PDS sense”).

Ejemplo 11

115) Este ejemplo ilustra el tratamiento de plantas en crecimiento con una composición aplicada tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico de un gen objetivo en una planta que incluye (a) un agente para acondicionar una plant a la permeación de polinucleótidos y (b) polinucleótidos que incluyen al menos una cadena polinucleotídica que incluye al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos del gen objetivo en dirección antisentido o sentido. Más específicamente, este ejemplo demuestra la especificidad objetivo (especificidad secuencial) de los polinucleótidos.

116) La fitoeno desaturasa de palmera amaranto (PDS) tiene la secuencia

TCAATTTCATCTATTGGAAGTGATTTTTTGGGTCATTCTGTGAGAAATTTCAGTGTTAG
TAAAGTTTATGGAGCAAAGCAAAGAAATGGGCACTGCCCTTTAAAGGTTGTTTGTATA
GATTATCCTAGGCCAGAGCTTGAAAGTACATCCAATTTCTTGGAAGCCGCCTACTTAT
CTTCTACTTTTCGGAATTCGCCTCGTCCTCAGAAGCCATTAGAAGTTGTAATTGCTGG
AGCAGGTTTGGCTGGTCTATCCACGGCAAAGTATTTAGCTGATGCAGGTCACAAACC
CATATTGTTGGAAGCACGAGATGTTTTAGGAGGAAAGGTTGCAGCGTGGAAGGATGA
GGATGGTGACTGGTATGAGACTGGGCTACATATATTCTTTGGGGCATATCCAAATGTC
CAAAATCTATTTGGAGAACTTGGTATAAATGACCGACTGCAATGGAAGGAGCACTCTA
TGATTTTTGCAATGCCCAGCAAGCCCGGTGAATTCAGTCGCTTTGATTTTCCCGAAAT
CCTGCCTGCACCATTAAATGGCATATGGGCAATCCTAAGAAATAATGAAATGCTAACC
TGGCCAGAAAAAATCAAGTTTGCCATTGGCTTGTTGCCTGCTATGGCAGGCGGACAG
TCATATGTTGAAGCACAAGATGGTTTGAGTGTCCAAGAGTGGATGAGAAAACAAGGA
GTACCCGATCGTGTAACTGATGATGTGTTTATTGCCATGTCAAAGGCACTGAACTTCA
TAAATCCCGATGAACTTTCAATGCAGTGCATCTTGATTGCTCTGAACCGATTCCTGCA
GGAGAAACATGGTTCTAAGATGGCCTTCCTAGACGGAAACCCTCCAGAGAGGCTGTG
CATGCCTATTGTTAAACACATCGAGTCACTAGGTGGTGAAGTTAAACTTAACTCTCGT
ATACAAAAGATTCAGTTGGACCAGAGTGGAAGCGTGAAGAGTTTTTTGCTAAATAACG
GGAGGGAAATACGAGGAGATGCCTATGTTTTTGCCACCCCAGTTGACATCTTGAAGC
TGTTACTACCTGATACTTGGAAGGAAATCTCATACTTCAAAAAACTTGAGAAATTAGTG
GGCGTTCCTGTGATTAATGTTCACATATGGTTTGACAGAAAATTAAAGAATACATATGA
CCATCTACTCTTCAGCAGGAGTCCTCTTTTGAGTGTCTATGCTGATATGTCGGAGACA
TGCAAGGAATATAAGGATCCAAATAGATCCATGCTGGAATTGGTTTTTGCACCCGCGG
AGGAATGGATTTCACGAAGCGACACTGATATTATAGAGGCAACAATGAAAGAGCTTGC

CAAGCTTTTCCCGGATGAAATCGCTGCCGATGGAAGCAAGGCCAAGATCCTCAAATA
TCATGTCGTCAAAACTCCAAGGTCGGTTTATAAGACTGTACCGGATTGTGAACCTTGT
CGGCCGCTGCAAAGATCACCAATAGAGGGTTTCTATTTAGCTGGTGATTACACAAAAC
AAAAATATTTGGCTTCTATGGAAGGTGCTGTCTTATCTGGGAAGCTTTGTGCACAGGC
TATCGTACAGGATTATGATCTGCTGAGTTCTCGAGCACAAAGAGAATTGGCG (SEQ ID NO:37). Se sintetizaron un polinucleótido de ARNbc de 678 pares de bases con una cadena antisentido capaz de hibridar con el ARN codificado por los nucleótidos en las posiciones 317 – 994 (se muestran como texto subrayado) en la SEQ ID NO:37 y un polinucleótido de ARNbc de 198 pares de bases con una cadena antisentido capaz de hibridar con el ARN codificado por los nucleótidos en las posiciones 797 – 994 (se muestan como texto en cursiva y subrayado) en la SEQ ID NO:37.

117) La fitoeno desaturasa de Nicotiana benthamiana tiene la secuencia ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAATTCAGCTT
ATCTTTGGAGCTCGAGGTCTTCGTTGGGAACTGAAAGTCAAGATGTTTGCTTGCAAAG
GAATTTGTTATGTTTTGGTAGTAGCGACTCCATGGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACT
CCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGACAAAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCA
TTGATTATCCAAGACCAGAGCTAGACAATACAGTTAACTATTTGGAGGCGGCGTTATT
ATCATCATCGTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGAGATTGTTATTGCTG
GTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGTCACAAAC
CGATATTGCTGGAG<u>GCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGCTGCATGGAAAGATG
ATGATGGAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATAT
GCAGAACCTGTTTGGAGAACTAGGGATTGATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTC
AATGATATTTGCGATGCCTAACAAGCCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAA
GCTCTTCCTGCGCCATTAAATGGAATTTTGGCCATACTAAAGAACAACGAAATGCTTA
CGTGGCCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGCAATGCTTGGAGGGC
AATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGAGAAAGCAAGG
TGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATGTCAAAGGCACTTAACTTC
ATAAACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCATTTTGATTGCTTTGAACAGATTTCTTCA
GGAGAAACATGGTTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGC
ATGCCGATTGTGGAACATATTGAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAA
TAAAAAAGATCGAGCTGAATGAGGATGGAAGTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATGG
CAGTA</u>CAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCCAGTGGATATCTTGAAGCTT
CTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAAGTTGGAGAAGCTAGTGG
GAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTGACAGAAAACTGAAGAACACATCTGA
TAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCGTTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACA

TGTAAGGAATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAG
AAGAGTGGATAAATCGTAGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGC
GAAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGGCAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTAT
CATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAACTGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTC
GGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTATTTAGCTGGTGACTACACGAAACA
GAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGCTGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCACAAGCT
ATTGTACAGGATTACGAGTTACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCA
AGCGTAGTTAGCATAGTGAACTAA (SEQ ID NO:38). Se sintetizaron un polinucleótido de ARNbc de 685 pares de bases con una cadena antisentido capaz de hibridar con el ARN codificado por los nucleótidos en las posiciones 421 – 1105 (se muestran como texto subrayado) en la SEQ ID NO:38 y un polinucleótido de ARNbc de 192 pares de bases con una cadena antisentido capaz de hibridar con el ARN codificado por los nucleótidos en las posiciones 914 – 1105 (se muestran como texto en cursiva y subrayado) en la SEQ ID NO:38.

118) Se llevó a cabo una alineación de las secuencias de ADN de PDS de palmera amaranto y Nicotiana benthamiana utilizando una alineación en pares global (extensor) y se ilustra en la Figura 16; con este método las dos secuencias exhibieron aproximadamente 71% de identidad (1252/1762).

119) Las plantas de palmera amaranto que tenían 16 copias de EPSPS y 5 – 8 pulgadas de altura se trataron con una solución de Silwet L-77 al 0,1% preparada recientemente con H2O bidestilada. Se sumergieron cuatro hojas completamente expandidas por planta en la solución de Silwet L-77 durante pocos segundos y y se dejaron secar durante 30 minutos hasta 1 hora antes de la aplicación de la composición polinucleotídica. Se hicieron soluciones individuales de polinucleótidos para cada uno de ARNbc de PDS de palmera de 678 bp, ARNbc de PDS de palmera de 198 bp, el ARNbc de PDS de Nicotiana benthamiana de 685 bp y el ARNbc de PDS de Nicotiana benthamiana de 192 bp (0,6 micromolares de polinucleótido en Silwet L-77 al 0,01%, 5 mM de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8). Se aplicaron 10 microlitros de solución de polinucleótido (o solución amortiguadora como testigo) sobre la superficie superior de de cada una de las cuatro hojas pretratadas por planta para proporcionar un total de 40 microlitros para cada planta. Las plantas se mantuvieron en una cámara de crecimiento y el blanqueado de hojas se observó 3 días postratamiento. Las plantas tratadas tópicamente con ARNbc de PDS de palmera de 678 bp o ARNbc de PDS de palmera de 198 bp, exhibieron blanqueado de hojas (que indica silenciamiento de la fitoeno desaturasa endógena) pero las plantas de palmera amaranto tratadas tópicamente con ARNbc de PDS de Nicotiana

benthamiana de 685 bp o ARNbc de PDS de Nicotiana benthamiana de 192 bp no exhibieron blanqueado de hojas. Esta especificidad secuencial demuestra que las composiciones polinucleotídicas y métodos de la invención son útiles para el control selectivo de una especie o taxón dado que tiene una secuencia de gen objetivo específica, por ejemplo, para el control de plantas espontáneas resistentes a herbicidas que crecen en una campo de plantas de cultivo resistentes al mismo herbicida.

120) En un ensayo aparte, las plantas de palmera amaranto tratadas tópicamente con ARNbc de PDS de palmera 678 bp (marcados como “700 nt dsRNA PDS”) o ARNbc de PDS de palmera de 198 bp (marcados como “200 nt dsRNA PDS”) exhibieron blanqueado de hojas (que indica el silenciamiento de la fitoeno desaturasa endógena) pero las plantas de palmera amaranto tratadas tópicamente con un ARNbc de 260 pares de bases de un gen invertebrado (marcado como “260 nt dsRNA DV49”, del gusano de la raíz de maíz Diabrotica virgifera) no resultaron en un fenotipo blanqueado, indicando que no hubo silenciamiento de la fitoeno desaturasa endógena (Figura 17). Esta especificidad secuencial demuestra que las composiciones polinucleotídicas y los métodos de la invención son útiles para el control selectivo de una especie o taxón dado.

Ejemplo 12

121) Este ejemplo describe el use de una composición aplicada tópicamente que incluye al menos una cadena polinucleotídica que incluye al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos de un gen objetivo en dirección antisentido o sentido para inducir el silenciamiento sistémico de un gen objetivo en una planta. Más específicamente, este ejemplo demuestra el uso de un único tratamiento con un oligonucleótido de fitoeno desaturasa (PDS) para inducir el silenciamiento sistémico en diferentes órganos vegetales incluidos hojas, tallos y flores.

122) Se utilizaron plantas de tabaco (Nicotiana benthamiana) con cuatro semanas en todos los tratamientos. Se acondicionaron dos hojas completamente expandidas (un cotiledón, una hoja verdadera) sumergiéndolas en solución de tensioactivo preparada recientemente (Silwet L-77 al 0,1% en agua bidestilada) durante pocos segundos y se dejaron secar durante 15 – 30 minutos. Se aplicaron veinte microlitros de un oligonucleótido de 22 mer de ADN monocatenario (ADNmc) con la secuencia GGCAGTACAATTAAAGGAGATG (SEQ ID NO:39), correspondiente a los nucleótidos en las posiciones 1099 – 1120 de la fitoeno desaturasa de Nicotiana benthamiana (SEQ ID NO:2) como 25 micromolares de solución de 0,01% de Silwet L-77 en 5 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8 sobre la superficie superior de cada

hoja acondicionada para un total de 40 microlitros (1 nanomol de oligonucleótido) por planta. Las plantas testigo se trataron con la solución de Silwet sin el oligonucleótido de ADN . Las plantas se observaron para determinar el blanqueado 3 días postratamiento. Las hojas apicales, tallos y flores de plantas tratadas con el oligonucleótido de ADN exhibieron todos blanqueado indicando el silenciamiento sistémico de PDS (Figura 18A).

123) Se dejó que las flores de las plantas tratadas con ADNmc y testigo produjeran semillas. Se recogieron semillas de frutas maduras, se pesaron y se dejaron germinar. Los pesos de las semillas eran idénticos (aproximadamente 11 mg por 100 semillas) y la morfología de la semilla parecía similar entre las plantas tratadas con ADNmc y las testigo. Se observó una cantidad reducida de semillas producidas por fruta y una reducción en la tasa de germinación (4 de 100 semillas germinaron) en semillas de las plantas tratadas con ADNmc, en comparación con la cantidad de semillas por fruta y tasa de germinación (95 de 100 semillas germinadas) de semillas de plantas testigo.

124) En un ensayo aparte utilizando un procedimiento similar, se acondicionaron plantas de tabaco sumergiéndolas en Silwet L-77 al 0,1% en agua bidestilada, se dejaron secar durante 15 – 30 minutos y se trataron con ADNmc de 22 mer de PDS (SEQ ID NO:39) aplicado como 25 micromolares de solución de 0,01% de Silwet L-77 en 5 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8 sobre la superficie superior de cada hoja acondicionada para un total de 40 microlitros (1 nanomol de oligonucleótido) por planta. Otras plantas no se acondicionaron con tratamiento de tensioactivo pero se trataron solo con 1 nanomol del ADNmc de 22 mer de PDS (SEQ ID NO:39) aplicado mediante infiltración con una jeringa sin aguja (se muestra en la Figura 18B) o mediante aplicación manual de gotas sobre la superficie de la hoja (no se muestra en la Figura 18B) y como 25 micromolares de solución de 0,01% de Silwet L-77 en 5 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8 o como 25 micromolares de solución en 5 milimolares de una solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8 (sin tensioactivoe). Las plantas control negativo se trataron con la solución amortiguadora de Silwet sin el oligonucleótido de ADN. Los resultados se muestran en la Figura 18B. Todas las plantas tratadas solo con aplicación directa del ADNmc de PDS (sin acondicionamiento mediante tratamiento con tensioactivo Silwet L-77), ya sea aplicado por infiltración o por aplicación manual de gotas, exhibieron blanqueado de hojas apicales, tallos y flores, indicando el silenciamiento sistémico de PDS.

Ejemplo 13

125) Este ejemplo ilustra métodos y composiciones aplicadas tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico que incluye el uso de agentes para acondicionar una planta para

la permeación de polinucleótidos. Más específicamente, este ejemplo describe el uso de polinucleótidos de la invención para controlar la palmera amaranto resistente a herbicidaa.

126) Las plantas de palmera amaranto que tienen una cantidad menor (menos de 30) de copias de 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) son susceptibles al tratamiento con ARNbc diseñado para silenciar la EPSPS con posterior tratamiento con glifosato (ver detalles en el Ejemplo 1). Sin embargo, las plantas de palmera amaranto que tienen grandes cantidades de copias de EPSPS (es decir, 30 o más copias de EPSPS) son resistentes al tratamiento con glifosato y son un desafío la gestión de la resistencia a malezas. Por ejemplo, en un ensayo (no se muestran los resultados) en palmera amaranto resistente a glifosato con gran cantidad de copias utilizando tratamientos similares a los descritos en el Ejemplo 1 pero donde se aumentó la dosis de ARNbc hasta diez veces (es decir, 8 nanomoles de ARNbc corto descrito en el Ejemplo 1 por planta) o donde se utilizó una formulación de glifosato patentada (“Roundup® WeatherMAX® brand herbicide”) combinada con un tensioactivo de amina de cebo, la actividad del glifosato mejoró (estimada mediante la obervación del crecimiento de la planta medido por la altura de la planta) pero las plantas resistentes no murieron.

127) Se trataron tres líneas diferentes de palmera amaranto resistente a glifosato con gran cantidad de copias (3 plantas por repetición) con ARNbc utilizando las condiciones de tratamiento indicadas en la Tabla 6, donde el vehículo de administración de ARNbc, el agente de permeabilización o acondicionamiento y otras etapas se variaron. Los resultados se muestran en la Figura 19. El tratamiento con glifosato “4X” (es decir, tratamiento con 3360 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® que es cuatro veces mayor a la tasa estándar de aplicación de 840 g equivalente ácido por hectárea) solo no mató la palmera amaranto con 35 copias (experimento 3) ni con 57 copias (experimento 6).

128) En un conjunto de experimentos (1 – 3, Tabla 6), que incluyen sulfato de amonio al 2% en un vehículo de administración de ARNbc acuoso que comprende tensioactivo de amina de cebo al 0,1% y glicerol al 10% (experimento 2) se mejoró la eficacia de una dosis 10 veces mayor de ARNbc con posterior aplicación de un glifosato 4X. También se observó una eficacia mejorada de una dosis 10 veces mayor de ARNbc con posterior aplicación de glifosato cuando se incluyó sulfato de amonio en un vehículo de administración ARNbc sin un tensioactivo de amina de cebo (experimento 8).

129) En otro conjunto de experimentos (4 – 6, Tabla 6), la aplicación del tensioactivo Silwet L-77 antes de la aplicación del ARNbc en un vehículo de administración que contiene sulfato de amonio fue eficaz, mientras que la combinación del sufactante Silwet

L-77 con el ARNbc en el vehículo de administración de ARNbc que contenía sulfato de amonio no fue eficaz. La aplicación de glifosato (“Roundup® WeatherMAX® brand herbicide”) a las 72 horas (experimento 7) fue menos eficaz que la aplicación de glifosato a las 48 horas (experimento 2) después del tratamiento con ARNbc.

Tabla 6

Línea de palmer a amaran to	Cantida d de copias de EPSPS	Núme ro de experi mento	Paso 1		Paso 2	Paso 3*
			Concentr ación relativa de EPSPS ARNbc	Vehículo de administración de ARNbc		
R31	35	1	10X	0,1% de tensioactivo de amina de cebo + 10% de glicerol	1% de Silwet L-77	4x WeatherMA X (48 h)
		2	10X	2% de sulfato de amonio + 0,1% de tensioactivo de amina de cebo + 10% de glicerol	1% de Silwet L-77	4x WeatherMA X (48 h)
		3	Solo solución amortigu adora (testigo)	2% de sulfato de amonio + 0,1% de tensioactivo de amina de cebo + 10% de glicerol	1% de Silwet L-77	4x WeatherMA X (48 h)

Línea de palmer	Cantida d de copias	Núme ro de experi	Paso 1	Paso 2		Paso 3*
				Concentración relativa de	Vehículo de	

a amaranto	de EPSPS	mento		EPSPS ARNbc	administración de ARNbc	
R34	57	4	--	10X	1% de Silwet L-77 + 2% de sulfato de amonio	4x WeatherMAX (48 h)
		5	1% de Silwet L-77	10X	2% de sulfato de amonio	4x WeatherMAX (48 h)
		6	1% de Silwet L-77	Solo solución amortiguadora (testigo)	2% de sulfato de amonio	4x WeatherMAX (48 h)

Línea de palmer a amaranto	Cantidad de copias de EPSPS	Número de experimento	Paso 1		Paso 2	Paso 3*
			Concentración relativa de EPSPS ARNbc	Vehículo de administración de ARNbc		
R28	87	7	10X	2% de sulfato de amonio + 0,1% de tensioactivo de amina de cebo + 10% de glicerol	1% de Silwet L-77	4x WeatherMAX (72 h)

Línea de palmer	Cantidad de copias	Número de experi	Paso 1	Paso 2		Paso 3*
				Concentración relativa de	Vehículo de	

a amaranto	de EPSPS	mento		EPSPS ARNbc	administración de ARNbc	
R28	87	8	1% de Silwet L-77	10X	2% de sulfato de amonio	4x WeatherMAX (72 h)
		9	1% de Silwet L-77	Solo solución amortiguadora (testigo)	2% de sulfato de amonio	4x WeatherMAX (72 h)

*el glifosato (como la formulación comercial “Roundup® WeatherMAX® brand herbicide” que contiene 660 g/L de glifosato K+ sal en un portador que incluye la mezcla de tensioactivo de amina de cebo MON56151 de amina de cebo (16-18C) y cocoamina (12-14C) en la relación 55:45) se indica en la cantidad utilizada (donde 1X = 840 g equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®, 4X = 3360 g equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®) y las horas después de la aplicación del ARNbc.

Ejemplo 14

130) Este ejemplo ilustra métodos y composiciones aplicadas tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico que incluyen el uso de agentes para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos.

131) Se descubrió que dos ARN pequeños identificados a través de secuenciación de ARN pequeños eran abundantes y exclusivos de plantas de palmera amaranto que habían sido tratadas con cuatro moléculas de ARNbc “corto” de EPSPS de tamaño de oligonucleótidos tal como se describió en el Ejemplo 1. Estos dos ARN pequeños se mapearon respectivamente en las posiciones de nucleótidos 743 – 764 y 566 – 585 de la EPSPS de longitud complenta que tiene la secuencia que se muestra en la Figura 20 (SEQ ID NO:40). Se diseñaron dos moléculas de ARNbc “corto”de tamaño de oligonucleótido de 25 nucleótidos de longitud con una cadena antisentido que es capaz de hibridar con el ARNm transcrito a partir del gen EPSPS de palmera amaranto en las posiciones nucleotídicas 743 – 767 (“short RNAbc-5”) y 564 – 588 (“short RNAbc-6”), tal como se indica mediante los nucleótidos en cursiva subrayados en la SEQ ID NO:40 que se muestra en la Figura 20, que también muestra las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “corto”de tamaño de oligonucleótido (testo subrayado sin cursiva) y los tres

polinucleótidos de ARN bicatenario “largos” (testo en negrita), tal como se describió en Ejemplo 1.

132) La aplicación de una mezcla de cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “corto” de tamaño de oligonucleótido (descritos en el Ejemplo 1) con posterior aplicación de glifosato repitiendo el procedimiento de tratamiento descrito en el Ejemplo 1 resultó en 4 de 4 plantas de palmera amaranto con 16 copias de EPSPS muertas. El uso del mismo procedimiento de tratamiento pero aplicando ARNbc de 5 corto y ARNbc de 6 corto juntos resultó en 0 de 4 plantas de palmera amaranto muertas. La adición de cualquiera o ambos ARNbc de 5 corto y ARNbc de 6 corto a la mezcla de las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “corto” de tamaño de oligonucleótido (descritas en el Ejemplo 1) resultó en 4 de 4 plantas de palmera amaranto muertas, es decir, no se observó un efecto antagonístico del ARNbc de 5 corto y el ARNbc de 6 corto.

Ejemplo 15

133) Este ejemplo ilustra métodos and composiciones aplicadas tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico que incluyen el uso de agentes para acondicionar una plant para la permeación de polinucleótidos. Más específicamente, este ejemplo describe el uso de ácido salicílico y polinucleótidos.

134) El ácido salicílico (SA) induce la resistencia a virus en el tabaco; ver, por ejemplo, Chivasa et al. (1997) Plant Cell, 19:547 – 557. Las plantas de palmera amaranto resistentes a glifosato que tienen 49 o 63 copias de EPSPS se pretrataron con 15 milimolares de SA. Se aplicó una solución de las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “corto” de tamaño de oligonucleótido (descritas en el Ejemplo 1) manualmente a 1, 5 o 24 horas después del tratamiento con SA, con posterior con pulverización con glifosato 72 horas después (1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida de marca Roundup® WeatherMAX®). No se observó mejora de los efectos de los ARNbc y la actividad de glifosato (estimada mediante la observación del crecimiento de la planta medido por la altura de la planta) para cualquiera de los tratamientos con SA a los 7 días después del tratamiento con glifosato.

Ejemplo 16

135) Este ejemplo ilustra métodos and composiciones aplicadas tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico que incluyen el uso de agentes para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos. Más específicamente, este ejemplo describes

variations in the order and timing of aplicación de polinucleótidos and solución de tensioactivo.

136) Estos ensayos se llevaron a cabo en plantas de palmera amaranto con grandes cantidades de copias (56, 63 o 100 copias) de EPSPS, utilizando un protocolo que incluye las siguientes etapas: (1) aplicación de ARNbc (una solución de las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “corto” de tamaño de oligonucleótido descritas en el Ejemplo 1) en una solución que contenía tensioactivo de amina de cebo y glicerol; (2) aplicación de 1% de tensioactivo de silicona Silwet L-77; y (3) aplicación de glifosato (1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida de marca Roundup® WeatherMAX®). Se evaluó la separación del tiempo de aplicación de los polinucleótidos y la aplicación de Silwet, aplicándose el Silwet por pulverización a los 30 minutos, 1 hora o 2 horas después de la aplicación de la solución de ARNbc. En este conjunto de ensayos, los tres tiempo diferentes de aplicación de la solución de Silwet produjeron resultados similares, es decir, enanismo de crecimiento en la mayoría de las plantas con gran cantidad de copias que se trataron con la solución de ARNbc, tal como se comparó con las plantas de gran cantidad de copias testigo que se trataron con una solución testigo que contenía solo tensioactivo de amina de cebo y glicerol.

Ejemplo 17

137) Este ejemplo ilustra métodos y composiciones aplicadas tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico que incluyen el uso de agentes para acondicionar una plant para la permeación de polinucleótidos. Más específicamente, este ejemplo describe la aplicación de polinucleótidos de la invención mediante pulverización de bajo volumen y el uso de un tensioactivo de silicona y sulfato de amonio.

138) Se aplicó una solución de ARNbc (una solución de los cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “corto” de tamaño de oligonucleótido descritas en el Ejemplo 1) en una solución que contenía 2% de sulfato de amonio mediante pulverizaciónd e bajo volumen a palmera amaranto que tenía 16 copias de EPSPS, con posterior pulverización con glifosato (1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®), que resultó en la muerte de las plantas de palmera amaranto.

139) Se trataron seis plantas de palmera amaranto por tratamiento con un procedimiento de tres etapas utilizando pulverización de bajo volumen: (1) pulverización de Silwet L-77 al 1%; (2) pulverización de 2 mililitros de una solución de ARNbc que contenía cantidades iguales de las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “corto” de tamaño de oligonucleótido descritas en el Ejemplo 1 a una de 3 dosis (1X o 0,8 nanomoles por

planta, 2X o 1,6 nanomoles por planta o 4X o 3,2 nanomoles por planta); y (3) pulverización de glifosato (1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®) a una tasa de 159 litros/acre. Nueve días después de la pulverización con glifosato, todas las seis plantas que se pulverizaron con 4X (3,2 nanomoles por planta) de ARNbc murieron y las plantas pulverizadas con 2X (1,6 nanomoles por planta) de ARNbc o 1X (0,8 nanomoles por planta) de ARNbc presentaban enanismo (Figura 21A).

140) Se llevaron a cabo varios ensayos en palmera amaranto resistente a glifosato cultivada a partir de semillas recogidas en el campo. Las plantas se trataron con varios protocolos descritos a continuación, tratándose tópicamente algunas plantas con una solución de ARNbc y tratándose las plantas testigo con la solución amortiguadora (vehículo de ARNbc); la aplicación se hizo mediante pulverización de bajo volumen. A menos que se indique lo contrario, la solución de ARNbc contenía cantidades iguales de las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “corto” de tamaño de oligonucleótido descritas en el Ejemplo 1 en solución amortiguadora a una dosis “4X” (3,2 nanomoles por planta); la solución amortiguadora consistía en 10 milimolares de fosfato de sodio y 0,01 % (v/v) de tensioactivo de organosilicona Silwet L-77 en agua con dietilpirocarbonato (DEPC) (Omega Bio-Tek) y se ajustó hasta pH 6,8; y el herbicida era un herbicida de glifosato aplicado a 840 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre. Los resultados se proporcionan en la Tabla 7.

141) Ensayos 1 y 2: Estos ensayos se llevaron a cabo en palmera amaranto resistente a glifosato cultivada a partir de semillas obtenidas de una muestra de suelo de una granja con plantaciones de palmera amaranto resistente a glifosato conocidas. Para el ensayo 1, se trataton diez plantas por tratamiento de la siguiente forma: (1) pulverización de Silwet L-77 al 1%; (2) pulverización de 2 mililitros de la solución de ARNbc; y (3) pulverización de glifosato. Para el ensayo 2, se trataron dieciocho plantas por tratamiento utilizando el mismo procedimiento que en el ensayo 1.

142) Ensayo 3: Este ensayo comparó tratamientos aplicados a diferentes etapas de desarrollo y utilizó plántulas cultivadas a partir de semillas de palmera amaranto de un sitio del Condado de Macon, GA y seleccionados por su resistencia al glifosato. La solución amortiguadora incluía 2% de sulfato de amonio. Se trataron doce plántulas pequeñas (etapa de hoja 3) o doce plántulas grandes (etapa de hoja 5) por tratamiento de la siguiente forma: (1) pulverización de Silwet L-77 al 1%; (2) pulverización de 2 mililitros de la solución de ARNbc; y (3) pulverización de glifosato. Este tratamiento proporcionó

mejor control (murieron más plntas) en plántulas pequeñas en comparación con plántulas más grandes. El tratamiento con ARNbc mató o provocó enanismo en más plantas resistentes al glifosato que el tratamiento con solución amortiguadora y herbicida, aunque a los 16 días después del tratamiento no todas las plantas tratadas con ARNbc habían muerto.

143) Ensayos 4 y 5: Estos ensayos utilizaron plantas de palmera amaranto cultivadas a partir de semillas en suelo de una granja de Pemiscot, MO. La solución amortiguadora incluía 2% de sulfato de amonio. Se trataron once plántulas pequeñas (etapa de hoja 3) de la siguiente forma: (1) pulverización de Silwet L-77 al 1%; (2) pulverización de 2 mililitros de la solución de ARNbc; y (3) pulverización de glifosato. Para el ensayo 5, Se trataron doce plantas por tratamiento utilizando el mismo procedimiento que en el ensayo 4.

144) Ensayo 6: Este ensayo utilizó plantas de palmera amaranto cultivadas a partir de semillas en suelo de la granja “Ivy2”. La solución amortiguadora incluía 2% de sulfato de amonio. Se trataron dieciocho plántulas pequeñas (etapa de hoja 3) por tratamiento de la siguiente forma: (1) pulverización de Silwet L-77 al 1%; (2) aplicación de 2 mililitros de la solución de ARNbc, manualmente o mediante pulverización; y (3) pulverización de glifosato. En este ensayo el método de aplicación (manualmente o pulverización) proporcionó resultados similares.

145) Ensayo 7: Este ensayo utilizó plántulas de palmera amaranto en la etapa de hoja 3 a 4 cultivadas a partir de semillas F3 seleccionadas por su resistencia al glifosato y por ser más resistentes al glifosato que las plantas en los ensayos 1 - 6. La solución amortiguadora incluía 2% de sulfato de amonio. Se trataron dieciocho plantas por tratamiento de la siguiente forma: (1) pulverización de Silwet L-77 al 1%; (2) pulverización de 2 mililitros de la solución de ARNbc; y (3) pulverización de glifosato.

Tabla 7

Número de ensayo	plantas muertas/plantas totales		Comentarios
	tratadas con ARNbc	testigo	
1	2/10	0/10	Enanismo en las supervivientes tratadas con ARNbc en comparación con las testigo (Figura 21B)
2	7/18	4/18	Enanismo en las supervivientes tratadas con ARNbc a los 8 y 30 días después del tratamiento, en comparación con las testigo
3 (plántulas grandes)	5/12	3/12	Mayor enanismo en supervivientes tratadas con ARNbc/sulfato de amonio después del tratamiento, en comparación con las testigo
3 (plántulas pequeñas)	9/12	6/12	
4	7/11	2/11	Mayor enanismo en supervivientes tratadas con ARNbc/sulfato de amonio después del tratamiento, en comparación con las testigo
5	8/12	3/12	
6 (manual)	14/18	--	
6 (pulverización)	13/18	9/18	
7	8/18	2/18	

Ejemplo 18

146) Este ejemplo ilustra métodos y composiciones aplicadas tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico que incluyen el uso de agentes para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos.

147) En este ensayos, la solución de ARNbc contenía cantidades iguales de de las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “corto” de tamaño de oligonucleótido descritas en el Ejemplo 1 a una dosis “10X” (8 nanomoles por planta) en una solución que contenía 0,2% de tensioactivo de amina de cebo y 2% de sulfato de amonio (identificada en la Figura 22 como “amina de cebo/AMS”) o uno de los siguiente reactivos de transfección: (a) a

poliamina (JetPRIMETM, Polyplus-transfection SA, Illkirch, Francia), (b) una nanopartícula magnética (SilenceMag, OZ Biosciences, Marsella, Francia), (c) un péptido (N-TERTM Nanoparticle, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), (d) un lípido (siPORTTM NeoFXTM, Ambion, Foster City, CA) o (e) un lípido/polímero catiónico (TransIT®, Mirus Bio, Madison, WI). Las plantas se trataron de la siguiente forma: (1) aplicación manual de la solución de ARNbc; (2) pulverización de Silwet L-77 al 1%; y (3) pulverización con glifosato aplicado a 840 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre. Este protocolo cuando se utiliza con ARNbc en la solución de tensioactivo de amina de cebo/sulfato de amonio mata a la palmera amaranto resistente a glifosato que tiene 35 copias de EPSPS. Los resultados se muestran en la Figura 22. Se observó enanismo o muerte de las plantas para plantas tratadas con ARNbc rn soluciones que cotienen poliamina (JetPRIMETM), péptido (N-TERTM Nanoparticle), lípido/polímero catiónico (TransIT®) o tensioactivo de amina de cebo/sulfato de amonio.

Ejemplo 19

148) Este ejemplo ilustra métodos que utilizan composiciones que incluyen polinucleótidos aplicados tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico en una planta. Más específicamente, este ejemplo describe el uso de diferentes tipos de polinucleótidos para inducir el silenciamiento sistémico.

149) Se adquirieron ADN monocatenarios sentidos (ADNmc) y ARN monocatenarios antisentido (ARNmc) correspondientes al gen de EPSPS de la palmera amaranto en las posiciones 14-38, posiciones 153-177, 345-369 y 1105-1129 (indicadas por los nucleótidos subrayados en la Figura 1) de Integrated ADN Technologies. Los ADNmc sentidos y ARNmc antisentido se aparearon calentando moles iguales de ADNmc y ARNmc mezclados a 95 grados Celsius durante 5 minutos y se enfriaron lentamente durante 1,5 – 2 horas hasta alcanzar temperatura ambiente para proporcionar los híbridos de ADN/ARN.

150) Se utilizaron plantas de palmera amaranto resistentes a glifosato de 16 copias en los ensayos que utilizaron este procedimiento: (1) pulverización de Silwet L-77 al 1% ; (2) aplicación manual sobre cuatro hojas maduras de cada planta para un total de 0,8 nanomoles de los ARNbc de EPSPS de palmera (tal como se describió en Ejemplo 1) o de los híbridos de ADN/ARN de EPSPS de palmera; y (3) pulverización con glifosato aplicada a 840 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre.

151) Los resultados se representan en la Figura 23. Siete días después de la pulverización del herbicida, 4 de 6 plantas tratadas con ARNbc estaban muertas y las 2 restantes estaban muriendo, mientras que las plantas pulverizadas con el híbrido de ADN/ARN presentaban enanismo en el crecimiento (lesión por glifosato) en comparación con las testigo.

Ejemplo 20

152) Este ejemplo ilustra métodos que utilizan composiciones que incluyen polinucleótidos aplicados tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico en una planta. Más específicamente, este ejemplo describe el uso de tipos diferentes de polinucleótidos para inducir el silenciamiento sistémico.

153) Se utilizaron seis plantas de palmera amaranto resistentes a glifosato que tenían 16 copias de EPSPS por tratamiento en este ensayo. Se aplicaron un tratamiento de 0,8 nanomoles de ARNbc (“1X”) por planta, un tratamiento con una cantidad diez veces mayor (tratamiento de 8 nanomoles por planta, “10X”) de polinucleótidos de ADNmc (descritos en el Ejemplo 19) y solución amortiguadora sola como testigo a plantas separadas manualmente en solución amortiguadora que contenía 2% de sulfato de amonio, con posterior pulverización con glifosato a las 48 horas aplicado a 840 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre. La Figura 24 muestra los resultados. Ambos tratamientos polinucleotídicos proporcionaron un control mejor de palmera amaranto en comparación con plantas tratadas solo tratadas con solución amortiguadora y herbicida. De las plantas tratadas con el tratamiento con ADNmc 10X, dos de seis murieron y las cuatro restantes presentaron enanismo en el crecimiento en el 30%. De las plantas tratadas con el tratamiento con ARNbc 1X , las seis plantas muerieron a los 8 días después de la pulverización con WM o 10 días después del tratamiento con ARNbc.

Ejemplo 21

154) Este ejemplo ilustra métodos que utilizan composiciones que incluyen polinucleótidos aplicados tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico en una planta. Más específicamente, este ejemplo describe la selección de una secuencia polinucleotídica para inducir el silenciamiento sistémico en una planta.

155) Se diseñaron doce ARNbc de aproximadamente 250 bp cada uno y con una cadena del ARNbc correspondiente a lal secuencias de ADN traslapadas de EPSPS de las SEQ ID NOS:41-52 (Tabla 8) para cubrir de forma traslapada la secuencia sentido completa y

parte de las regiones sin traducir en 5’ y 3’ del gen de EPSPS de palmera amaranto, tal como se muestra en la Figura 25A.

Tabla 8

Número de segmento de traslape (ver Figura 25A)	Secuencia	SEQ ID NO.
1	CGCCAGGGCTGCAGACGCGTTACGTANTCGGATCC AGAATTCGTGATTAACGTCACAGCATGTCATGTAAAA CACGCGAATCAGACCGGTCCACTCTTGTTTTAATTT GAGACAATTTTGATGTTGAGTCATCCCACACCAACC CCAAAAAATTCAACAACAAACTCTTATAATGATTCCC TCTACTCTACTAGAGTCTACACCAACCCACTTTCTCT TTGCCCACCAAAACTTTGGTTTGGTAAGAACT	41
2	CACCAACCCACTTTCTCTTTGCCCACCAAAACTTTG GTTTGGTAAGAACTAAGCCCTCTTCTTTCCCTTCTCT CTCTTAAAAGCCTAAAATCCACCTAACTTTTTCAGCC AACAAACAACGCCAAATTCAGAGGAAGAATAATGAT GGCTCAAGCTACTACCATCAACAATGGTGTCCATAC TGGTCAATTGCACCATACTTTACCCAAAACCCAGTTA CCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATT	42
3	CCATACTTTACCCAAAACCCAGTTACCCAAATCTTCA AAAACTCTTAATTTTGGATCAAACTTGAGAATTTCTC CAAAGTTCATGTCTTTAACCAATAAAAGAGTTGGTGG GCAATCATCAATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTT GCTGCTGCAGCTGAGAAACCTTCATCTGTCCCAGAA ATTGTGTTACAACCCATCAAAGAGATCTCTGGTACT GTTCAATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCC	43
4	TCAAAGAGATCTCTGGTACTGTTCAATTGCCTGGGT CAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTTCTTTTAGCTGC TTTGTCTGAGGGCACAACAGTGGTCGACAACTTGCT GTATAGTGATGATATTCTTTATATGTTGGACGCTCTC AGAACTCTTGGTTTAAAAGTGGAGGATGATAGTACA GCCAAAAGGGCAGTCGTAGAGGGTTGTGGTGGTCT GTTTCCTGTTGGTAAAGATGGAAAGGAAGAGAT	44

5	GAGGGTTGTGGTGGTCTGTTTCCTGTTGGTAAAGAT GGAAAGGAAGAGATTCAACTTTTCCTTGGTAATGCA GGAACAGCGATGCGCCCATTGACAGCTGCGGTTGC CGTTGCTGGAGGAAATTCAAGTTATGTGCTTGATGG AGTACCAAGAATGAGGGAGCGCCCCATTGGGGATC TGGTAGCAGGTCTAAAGCAACTTGGTTCAGATGTAG ATTGTTTTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGTTCGGG	45
6	TGGTTCAGATGTAGATTGTTTTCTTGGCACAAATTGC CCTCCTGTTCGGGTCAATGCTAAAGGAGGCCTTCCA GGGGGCAAGGTCAAGCTCTCTGGATCGGTTAGTAG CCAATATTTAACTGCACTTCTCATGGCTACTCCTTTG GGTCTTGGAGACGTGGAGATTGAGATAGTTGATAAA TTGATTTCTGTACCGTATGTTGAAATGACAATAAAGT TGATGGAACGCTTTGGAGTATCCGTAGAACAT	46
7	TTGAAATGACAATAAAGTTGATGGAACGCTTTGGAG TATCCGTAGAACATAGTGATAGTTGGGACAGGTTCT ACATTCGAGGTGGTCAGAAATACAAATCTCCTGGAA AGGCATATGTTGAGGGTGATGCTTCAAGTGCTAGCT ACTTCCTAGCCGGAGCCGCCGTCACTGGTGGGACT GTCACTGTCAAGGGTTGTGGAACAAGCAGTTTACAG GGTGATGTAAAATTTGCCGAAGTTCTTGAGAAGAT	47
8	ACAAGCAGTTTACAGGGTGATGTAAAATTTGCCGAA GTTCTTGAGAAGATGGGTTGCAAGGTCACCTGGACA GAGAATAGTGTAACTGTTACTGGACCACCCAGGGAT TCATCTGGAAAGAAACATCTGCGTGCTATCGACGTC AACATGAACAAAATGCCAGATGTTGCTATGACTCTT GCAGTTGTTGCCTTGTATGCAGATGGGCCCACCGC CATCAGAGATGTGGCTAGCTGGAGAGTGAAGGAAA	48
9	AGATGGGCCCACCGCCATCAGAGATGTGGCTAGCT GGAGAGTGAAGGAAACCGAACGGATGATTGCCATTT GCACAGAACTGAGAAAGCTTGGGGCAACAGTTGAG GAAGGATCTGATTACTGTGTGATCACTCCGCCTGAA AAGCTAAACCCCACCGCCATTGAAACTTATGACGAT CACCGAATGGCCATGGCATTCTCTCTTGCTGCCTGT GCAGATGTTCCCGTCACTATCCTTGATCCGGGATGC	49

10	CTCTTGCTGCCTGTGCAGATGTTCCCGTCACTATCC TTGATCCGGGATGCACCCGTAAAACCTTCCCGGACT ACTTTGATGTTTTAGAAAAGTTCGCCAAGCATTGATG AGTAGCTATATACGAGATCCTTAAATTGTACGCCGA AGGTTTTGATTTGAGTCTAATAGTAGATAAAAGGCTA TAAATAAACTGGCTTTCTGCTTGAGTAATTATGAAAT TCTTTGTATTATGTTTGTGAGATTTGAAGTAGCTTAT A	50
11	TAATTATGAAATTCTTTGTATTATGTTTGTGAGATTTG AAGTAGCTTATAAATTACAATGTACTAAAGTCTAGAA ATAAGTTATGTATCTTTTAAATCAATGAGAAATGCAT ACTTGAAAGGCTTGACCTTGTATTTGTGACCTAAAGA GTACTAACTTTGGAGTTTCCAACTCATTTGTTTATCT CATTTTTTTTTAATTTTTGATTTAAATTGTTTATTTTTA TGAGTAATCATGTATCTTTCTTATTCTAACCAAATGTA ATACTCCTTC	51
12	TATGAGTAATCATGTATCTTTCTTATTCTAACCAAATG TAATACTCCTTCCAACTCTCTTTAAACGTCCACACTC TGGGCACAGAGTGTAATAGTGTGGTGGTTGGAGTCT TTTAAGTGATTATAATAATTGTAAATGTGGTAGTTAG AATATTTTAAGTAATGTAGGTGGGGTATTATGGTCTT GTTGAACATAGGATATTTAGGTAAAAAATCTATGCAA AAAAAGGAAAGTAAGCAAATAAAGCGAATTGACCTG AAAAGAAAAGTGGACATGTATAGTGAGTTGGAGGAA GTATTTT	52

156) Las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “corto” de tamaño de oligonucleótido tales como se describieron en el Ejemplo 1 y la Figura 1 están ubicadas en los segmentos de traslape 2, 3, 4 y 8 respectivamente y se muestran como barras gris claro dentro de dichos segmentos. Los polinucleótidos se sintetizaron mediante transcripción in vitro utilizando un vector pBR322 con los polinucleótidos de EPSPS insertados en los sitios de clonación EcoRI y BamHI; el ADN de plásmido se aisló con kits Qiagen Maxi prep y se digirió con las enzimas de restricción EcoRI y BamHI. La solución de ADN digerido se utilió en el tratamiento de las plantas sin purificación adicional.

157) Las plantas de palmera amaranto resistentes a glifosato que tenían 16 copias de EPSPS se trataron de la siguiente forma: pulverización con Silwet L-77 al 1%; (2) aplicación manual de una solución de ARNbc (que contenía polinucleótidos selecccionados de los doce segmentos de traslape de las cuatro moléculas de ARNbc "corto" descritas en el Ejemplo 1 a la tasa de 0,01 nanomol ADN/planta) o de solución amortiguadora como testigo; y (3) pulverización con glifosato 48 horas después aplicada a 840 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre. Se observó la altura por encima del suelo de las plantas tratadas 11 días después del tratamiento con herbicida; a las plantas que estaban muertas o muriendo se les asignó una altura de cero. Los resultados se muestran en las Figuras 25B y 25C. Las combinaciones de polinucleótidos de ARNbc que mostraron la mayor eficacia en este ensayo incluyeron las cuatro moléculas de ARNbc "corto" descritas en el Ejemplo 1, la combinación de los segmentos de traslape 2, 5, 8 y 11 y la combinación de los segmentos de traslape 7, 8 y 9.

Ejemplo 22

158) Este ejemplo ilustra métodos que utilizan composiciones que incluyen polinucleótidos aplicados tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico en una planta. Más específicamente, este ejemplo describe la aplicación tópica de polinucleótidos con posterior aplicación de herbicida a una planta.

159) En un ensayo, las plantas de palmera amaranto resistentes a glifosato que tenían 16 copias de EPSPS se pulverizaron con glifosato aplicado a 840 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre. Dos o 24 horas después de la aplicación de herbicida, las plantas se trataron con pulverización con Silwet L-77 al 1%. Quince a 20 minutos después del tratamiento con Silwet, las plantas se trataron mediante aplicación manual con 0,8 nanomoles ("1X") por planta de las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS "corto" de tamaño de oligonucleótido tal como se describieron en Ejemplo 1 en solución amortiguadora que contenía 2% de sulfato de amonio o en solución amortiguadora que contenía 2% de sulfato de amonio. En este ensayo, las plantas testigo no tratadas ("UT") se trataron solo con pulverización de Silwet L-77 al 1% pero no con herbicida o ARNbc. Los resultados se muestran en la Figura 26. En este ensayo, la aplicación de Silwet al 1% resultó en una actividad de glifosato mejorada en 60% cuando se aplicó 2 horas después de la pulverización del herbicida y en 20% cuando se aplicó 24 horas después de la pulverización del herbicida. En este ensayo, la aplicación de Silwet al 1% con posterior aplicación de ARNbc de EPSPS

resultó en actividad de glifosato mejorada en al menos 80% cuando se aplicó 2 horas después de la pulverización del herbicida y en 20% cuando se aplicó 24 horas después de la pulverización del herbicida.

160) En otro ensayo, las plantas de palmera amaranto cultivadas a partir de semillas en suelo de una granja en Macon, GA se pulverizaron con glifosato aplicado a 840 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre. Tres días después del tratamiento con herbicida, 9 de 40 plantas murieron y 3 presentaban enanismo grave. Las plantas supervivientes se pulverizaron con Silwet L-77 al 1% , con posterior aplicación tópica manual de 8 nanomoles (“10X”) por planta de las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “corto” de tamaño de oligonucleótido tals como se describieron en Ejemplo 1 o de solución amortiguadora como testigo. Tres días después, 3 plantas más en el grupo de las tratadas con ARNbc murieron y 2 plantas más en el grupo de las tratadas con solución amortiguadora muerieron. En este punto (6 días después del tratamiento original con herbicida y 3 días después del tratamiento con Silwet/ARNbc o solución amortiguadora), la mitad de las plantas supervivientes en cada grupo se pulverizó con una segunda aplicación de glifosato (aplicado a las misma dosis que la primera aplicación). Dose semanas después de este segundo tratamiento con herbicida, las plantas tratadas con ARNbc restantes exhibieron 80% de lesión y las plantas tratadas con solución amortiguadora restantes exhibieron 40% de lesión.

Ejemplo 23

161) Este ejemplo ilustra métodos que utilizan composiciones que incluyen polinucleótidos aplicados tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico en una planta. Más específicamente, este ejemplo describe una aplicación tópica de una sola etapa de una sola composición que incluye polinucleótidos, tensioactivo y herbicida para controlar malezas resistentes a herbicidas.

162) Este ensayo se llevó a cabo en una población de campo de plantas de palmera amaranto resistentes al glifosato conocidos por tener cantidades muy grandes de copias de EPSPS (Gaines et al. (2010) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107:1029-1034 informó que las plantas de este sitio de estudio tienen de 5 a más de 160 copias de EPSPS). Los polinucleótidos utilizados en este ensayo eran una mezcla equimolar de las cuatro moléculas de ARNbc de EPSPS “corto” de tamaño de oligonucleótido tal como se describieron en Ejemplo 1.

163) Se pulverizaron plantas de cuatro a seis pulgadas de altura en un área de tratamiento de 1 pie por 5 pies es un único tratamiento con 264 microgramos (“100X”) o

52,8 micrograms (“20X”) de los ARNbc de EPSPS en una solución que también contenía 1% de tensioactivo Silwet L-77, 2% de sulfato de amonio y glifosato (aplicado a 1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre). Para la comparación, se pulverizaron otras plantas en áreas de tratamiento de 1 pie por 5 pies con glifosato (en una solución que también contenía 1% de tensioactivo Silwet L-77 y 2% de sulfato de amonio) aplicado a la misma tasa.

164) Los resultados se muestran en la Figura 27. El tratamiento de las plantas solo con glifosato (aplicado a 1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre) en una solución que también contenía Silwet L-77 y sulfato de amonio resultó en un control de aproximadamente 70% (muerte de las plantas). El tratamiento de una etapa utilizando una composición que contenía 20X de los polinucleótidos de ARNbc de EPSPS, tensioactivo, sulfato de amonio y herbicida resultó en un control de aproximadamente 80 – 85% de la palmera amaranto resistente a glifosato, que es la tasa de control aproximada obtenida mediante pulverización con glifosato aplicado a 6720 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre (es decir, 8 veces la tasa de apliación estándar de aproximadamente 840 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre). El tratamiento de una etapa utilizando una composición que contenía 100X de los polinucleótidos de ARNbc de EPSPS, tensioactivo, sulfato de amonio y herbicida resultó en un control de aproximadamente 90 – 95% de la palmera amaranto resistente a glifosato, que es la tasa de control aproximada obtenida mediante pulverización con glifosato aplicado a 13440 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre (es decir, 16 veces la tasa de apliación estándar de aproximadamente 840 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® a una tasa de 159 litros/acre).

Ejemplo 24

165) Este ejemplo ilustra un método para inducir la regulación sistémica de un gen objetivo en una hortaliza mediante aplicación tópica a la hortaliza de una molécula polinucleotídica que incluye un segmento con una secuencia nucleotídica esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen objetivo o el ARN transcrito a partir de gen objetivo, por el cual la molécula permea el interior de la hortaliza e induce la regulación sistémica del gen objetivo. En este ejemplo, se trataron hortalizas en crecimiento con una composición

aplicada tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico de un gen objetivo en una hortaliza o planta de cultivo frutal que incluye (a) un agente para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos y (b) polinucleótidos que incluyen al menos una cadena polinucleotídica que incluye al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos del gen objetivo en dirección antisentido o sentido. Más específicamente, este ejemplo demuestra el uso de polinucleótidos aplicados tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico de un gen de fitoeno desaturasa (PDS) en una hortaliza, es decir, lechuga (Lactuca sativa).

166) La PDS de lechuga tiene la secuencia

ATGTCTCTGTTTGGAAATGTTTCTGCCATTAACTCAAGTGGAAAGTGTATAGTAATGAA
TCTTTCAAGCACACAAATCACTTCAAGAGATTGTTTCAAGATTACCTCAGGGCAAAAA
GATGTTTTGTCATTTGGATGCTGTGATGCTATGGGTAACAGATTGCAATTCCCAAGTG
CTCGTTCTTTTACACCAAGATCAAAGAAGAATGTCTCCCCTCTAAAGGTAGTTTGTGTT
GATTATCCAAGACCAGATCTTGATAACACATCTAATTTCTTGGAAGCTGCTCACTTGTC
TTCAACCTTCAGAACTTCCCCACGCCCATCTAAGCCATTGAAGATTGTAATTGCTGGT
GCAGGTTTAGCTGGTTTATCAACTGCTAAGTATTTAGCTGATGCAGGTCACAAGCCAA
TTTTACTAGAAGCAAGAGATGTTCTTGGTGGAAAGGTGGCAGCTTGGAAAGATGATGA
TGGAGATTGGTATGAGACAGGTTTACACATATTCTTTGGAGCTTACCCAAATGTACAA
AATTTATTTGGAGAGCTAGGAATTAATGATAGATTACAGTGGAAGGAGCATTCTATGAT
ATTTGCAATGCCAAATAAGCCTGGAGAATTTAGTAGGTTTGACTTCCCAGATGTTTTAC
CTGCACCATTGAATGGAATTTTTGCTATATTGAGGAACAATGAAATGCTGACGTGGCC
TGAGAAAGTGAAGTTTGCAATTGGGCTGTTGCCTGCAATGTTAGGTGGACAGGCTTAT
GTTGAGGCCCAAGATGGGCTTAGTGTTCAGGACTGGATGAGAAAGCAAGGTATACCT
GATCGAGTTACTACTGAAGTGTTTATTGCAATGTCAAAAGCATTAAACTTTATAAATCC
AGATGAACTTTCAATGCAATGTATTCTCATTGCTCTAAACCGTTTTCTTCAGGAAAAGC
ATGGTTCCAAGATGGCATTTTTAGATGGGAGCCCACCAGAAAGACTTTGCAAGCCAAT
TGTTGACCACATCGAGTCACTCGGTGGCCAAGTCAGAGTCAACTCACGAATACAAAA
AATTGAGTTAAACAAAGACGGAACTGTCCGGAACTTTCTATTGAGTGATGGGAATGTT
CTAGAAGCTGATGCTTATGTTTTCGCTACCCCTGTTGACATTCTCAAGCTTCTTTTACC
CGAAGAATGGAAACCAATTCCATATTTCAAAAAATTAGAGAAGTTAGTCGGTGTTCCT
GTTATAAACGTTCATATATGGTTTGACAGAAAGCTGAAAAACACATATGATCACTTACT
TTTCAGTAGGTCACCTCTGCTGAGTGTGTATGCTGACATGTCAGTGACATGTAAGGAA
TATTATGATCCGAATAAGTCAATGTTGGAGTTGGTTCTTGCTCCAGCTGAGGAATGGA
TTTCAAGAAGTGACACTGATATTATTGATGCAACAATGAGTGAACTTTCAAGGCTTTTT
CCTGATGAAATTGCAGCTGATCAAAGTAAAGCAAAAATCTTGAAATATAAAGTTGTTAA

AACACCAAGGTCTGTTTATAAAACTGTTCCAGATTGTGAACCATGTCGACCCCTACAA AGATCTCCAATTCAAGGATTTTATTTATCTGGTGATTATACTAAACAAAAGTATTTGGCT TCAATGGGGGGTGCTGTTTTATCTGGAAAAATTTGTGCACAAGCTATTTTACAAGATTA TGAGATGCTTGCTACA (SEQ ID NO:53). Se sintentizaron ADN monocatenarios polinucleotídicos de 21 – 45 nucleótidos de longitud con las siguientes secuencias: taatacgactcactatagggtttggagcttacccaaATGtac (“HL286”, dirección sentido, SEQ ID NO:54), taatacgactcactatagggaggccacgtcagcatttcattgttc (“HL287”, dirección antisentido, SEQ ID NO:55), ccattcaATGgtgcaggtaaaac (“HL288”, dirección antisentido, SEQ ID NO:56), catagaATGctccttccactg (“HL289”, dirección antisentido, SEQ ID NO:57) y caaataaattttgtacatttgggtaagctccaa (“HL290”, dirección antisentido, SEQ ID NO:58). Se preparó una solución de ADNmc con una mezcla igual de los cinco polinucleótidos en 0,01% de Silwet L-77 en 5 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8.

167) Se utilizó la variedad de lechuga LS49 “Green Tower” en los ensayos. Se sumergieron dos hojas completamente expandidas en una solución preparada recientemente de 0,1% de Silwet L-77 en agua bidestilada durante pocos segundos. Las hojas se dejaron secar durante 15-30 minutos. A continuación cada planta se trató mediante aplicación de 20 microlitros de solución de ADNmc sobre la superficie superior de dos hojas tratadas con Silwet (total 40 microlitros por planta). La Tabla 9 indica las condiciones del ensayo utilizadas y el blanqueado observado en las plants tratadas tópicamente con polinucleótidos de ADNmc. La Figura 28 representa la evolución del blanqueado y la muerte de las plantas de lechuga tratadas con 1 nanomol de ADNmc por planta a los (de arriba hacia abajo) 37, 46 y 60 días después del tratamiento.

Tabla 9

Etapa de desarrollo	Cantidad de cada ADNmc aplicado (nanomoles/planta)	Observación más temprana del blanqueado
4 semanas posgerminación, las plantas tienen 2 hojas completamente expandidas	1	3 semanas postratamiento
5 semanas posgerminación, las plantas tienen 4 hojas completamente expandidas	4	4 días postratamiento

168) Los ensayos se repitieron con 2 o 4 nanomoles de ADNmc aplicados por planta. La Figura 29A muestra el silenciamiento sistémico evidenciado por el blanqueado observados a los 4 u 12 días después del tratamiento tópico con los polinucleótidos.

169)Los ensayos se repitieron utilizando cada ADNmc individual antisentido (“HL287”, SEQ ID NO:55; “HL288”, SEQ ID NO:56; “HL289”, SEQ ID NO:57; y “HL290”, SEQ ID NO:58) aplicándose 8 nanomoles de polinucleótido por planta; las plantas testigo positivo se trataron con una mezcla de los cuatro ADNmc individuales antisentido a 2 nanomoles de cada uno (para un total de 8 nanomoles de polinucleótido aplicados por planta) y las plantas testigo negativo se trataron solo con solución amortiguadora. La Figura 29B muestra el silenciamiento sistémico evidenciado por el blanqueado observado a 4 después del tratamiento tópico con los ADNmc antisentido.

Ejemplo 25

170) Este ejemplo ilustra un aspecto de la invención. En este ejemplo, se trataron plantas en crecimiento con una composición aplicada tópicamente para inducir el silenciamiento sistémico de un gen objetivo en una planta que incluye (a) un agente para acondicionar una planta para la permeación de polinucleótidos y (b) polinucleótidos que incluyen al menos una cadena polinucleotídica que incluye al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos del gen objetivo en dirección antisentido o sentido. Más específicamente, este ejemplo demuestra el uso de polinucleótidos aplicados tópicamente

para inducir el silenciamiento sistémico de un gen de fitoeno desaturasa (PDS) en una hortaliza, es decir, tomate (Solanum lycopersicum).

171) El PDS del tomate tiene la secuencia

GGGTTTATCTCGCAAGTGTGGCTATGGTGGGACGTGTCAAATTTTGGATTGTAGCCAA
ACATGAGATTTGATTTAAAGGGAATTGGCCAAATCACCGAAAGCAGGCATCTTCATCA
TAAATTAGTTTGTTTATTTATACAGAATTATACGCTTTTACTAGTTATAGCATTCGGTAT
CTTTTTCTGGGTAACTGCCAAACCACCACAAATTTCAAGTTTCCATTTAACTCTTCAAC
TTCAACCCAACCAAATTTATTTGCTTAATTGTGCAGAACCACTCCCTATATCTTCTAGG
TGCTTTCATTCGTTCCGAGTAAAATGCCTCAAATTGGACTTGTTTCTGCTGTTAACTTG
AGAGTCCAAGGTAGTTCAGCTTATCTTTGGAGCTCGAGGTCGTCTTCTTTGGGAACTG
AAAGTCGAGATGGTTGCTTGCAAAGGAATTCGTTATGTTTTGCTGGTAGCGAATCAAT
GGGTCATAAGTTAAAGATTCGTACTCCCCATGCCACGACCAGAAGATTGGTTAAGGA
CTTGGGGCCTTTAAAGGTCGTATGCATTGATTATCCAAGACCAGAGCTGGACAATACA
GTTAACTATTTGGAGGCTGCATTTTTATCATCAACGTTCCGTGCTTCTCCGCGCCCAA
CTAAACCATTGGAGATTGTTATTGCTGGTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAA
ATATTTGGCAGATGCTGGTCACAAACCGATACTGCTGGAGGCAAGGGATGTTCTAGG
TGGAAAGGTAGCTGCATGGAAAGATGATGATGGAGATTGGTACGAGACTGGTTTGCA
TATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATATTCAGAACCTGTTTGGAGAATTAGGGATTAACG
ATCGATTGCAATGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCAATGCCAAGCAAGCCAGGAGA
ATTCAGCCGCTTTGATTTCTCCGAAGCTTTACCCGCTCCTTTAAATGGAATTTTAGCCA
TCTTAAAGAATAACGAAATGCTTACATGGCCAGAGAAAGTCAAATTTGCAATTGGACT
CTTGCCAGCAATGCTTGGAGGGCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGATGGGATAAGTGTT
AAGGACTGGATGAGAAAGCAAGGTGTGCCGGACAGGGTGACAGATGAGGTGTTCAT
TGCTATGTCAAAGGCACTCAACTTTATAAACCCTGACGAACTTTCAATGCAGTGCATTT
TGATCGCATTGAACAGGTTTCTTCAGGAGAAACATGGTTCAAAAATGGCCTTTTTAGA
TGGTAATCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTTGAACACATTGAGTCAAAAGGT
GGCCAAGTCAGACTGAACTCACGAATAAAAAAGATTGAGCTGAATGAGGATGGAAGT
GTCAAGAGTTTTATACTGAGTGACGGTAGTGCAATCGAGGGAGATGCTTTTGTGTTTG
CCGCTCCAGTGGATATTTTCAAGCTTCTATTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATTCCATA
TTTCCAAAAGTTGGAGAAGTTAGTCGGAGTACCTGTGATAAATGTACATATATGGTTT
GACAGAAAACTGAAGAACACATATGATCATTTGCTCTTCAGCAGAAGCTCACTGCTCA
GTGTGTATGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGAATATTACAACCCCAATCAGTCTAT
GTTGGAATTGGTTTTTGCACCTGCAGAAGAGTGGATATCTCGCAGCGACTCAGAAATT
ATTGATGCAACGATGAAGGAACTAGCAACGCTTTTTCCTGATGAAATTTCAGCAGATC
AAAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTACCATGTTGTCAAAACTCCGAGGTCTGTTTATAAA

ACTGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCTTTACAAAGATCCCCAATAGAGGGGTTT
TATTTAGCCGGTGACTACACGAAACAGAAATACTTGGCTTCAATGGAAGGCGCTGTCT
TATCAGGAAAGCTTTGTGCTCAAGCTATTGTACAGGATTATGAGTTACTTGTTGGACG
TAGCCAAAAGAAGTTGTCGGAAGCAAGCGTAGTTTAGCTTTGTGGTTATTATTTAGCT
TCTGTACACTAAATTTATGATGCAAGAAGCGTTGTACACAACATATAGAAGAAGAGTG
CGAGGTGAAGCAAGTAGGAGAAATGTTAGGAAAGCTCCTATACAAAAGGATGGCATG
TTGAAGATTAGCATCTTTTTAATCCCAAGTTTAAATATAAAGCATATTTTATGTACCACT
TTCTTTATCTGGGGTTTGTAATCCCTTTATATCTTTATGCAATCTTTACGTTAGTTAAAA
AAAAAAAAAAAAAAAAAACTCGA (SEQ ID NO:59).

172) Se sintetizó un polinucleótido de ARNbc de 201 nucleótidos con una cadena antisentido capaz de hibridar con el ARN codificado por la secuencia tcgcagcgactcagaaattattgATGcaacgATGaaggaactagcaacgctttttcctgATGaaatttcagcagatcaaa gcaaagcaaaaatattgaagtaccATGttgtcaaaactccgaggtctgtttataaaactgtgccaggttgtgaaccctgtcgg cctttacaaagatccccaatagaggggttttatttag (SEQ ID NO:60) que corresponde a los nucleótidos en las posiciones 1724 – 1923 del ARNm transcrito a partir de la secuencia del gen de PDS del tomate (SEQ ID NO:59) mediante RT PCR utilizando cebadores oligonucleotídicos con las secuencias taatacgactcactatagggtcgcagcgactcagaaattattg (SEQ ID NO:61, cebador sentido) y taatacgactcactataggggtaaaggccgacagggttcacaacc (SEQ ID NO:62, cebador antisentido). Se preparó una solución de ARNbc de 2,5 micromolares con el polinucleótido de ARNbc de 201 nucleótidos (SEQ ID NO:60) en 0,01% de Silwet L-77 en 5 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8.

173) Se trataron plántulas de tomate de tres semanas de la siguiente forma. Se sumergieron dos hojas completamente expandidas en una solución preparada recientemente de 0,1% de Silwet L-77 en agua bidestilada durante pocos segundos. Las hojas se dejaron secar durante 30 minutos a 1 hora. A continuación cada planta se trató mediante aplicación de 20 microlitros de solución de ARNbc sobre la superficie superior de dos hojas tratadas con Silwet (total 40 microlitros por planta). Las plantas testigo se trataron con solución amortiguadora. Las plantas se mantuvieron en una cámara de crecimiento para la observación. La Figura 30 muestra el silenciamiento sistémico del gen objetivo de PDS, tal como se evidencia por el blanqueado de las plantas tratadas con ARNbc 30 días después del tratamiento tópico. Las plantas tratadas con ARNbc presentaban enanismo grave en comparación con las plantas testigo.

Ejemplo 26

174) Este ejemplo ilustra una mejora en composiciones herbicidas adaptadas para revestimiento tópico sobre la superficie exterior de una planta en crecimiento donde el agente letal para plantas incluye polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a secuencias de uno o más genes vegetales o a la secuencia del ADN transcrito a partir de los genes vegetales. Los polinucleótidos producen la supresión sistémica del gen vegetal en órganos o tejidos vegetales distintos a los que recibieron la aplicación tópica del polinucleótido. Más específicamente, este ejemplo ilustra una composición herbicida adaptada para revestimiento tópico sobre la superficie exterior de una planta en crecimiento que comprende tensioactivo y al menos un agente letal para plantas que incluye combinaciones de polinucleótidos que tienen una secuencia dirigida al gen de 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una factor de iniciación de la transcripción (TIF) y ATPasa dependiende de ADN (ddATPasa) en palmera amaranto.

175) La composición herbicida incluye al menos uno de los siguientes polinucleótidos de ARN bicatenario de 21 pares de bases:

(1) nDsRNA1: cadena sentido CUACCAUCAACAAUGGUGUCC (SEQ ID NO: 63) y cadena antisentido GGACACCAUUGUUGAUGGUAG (SEQ ID NO: 64)

(2) nDsRNA3: cadena sentido GUCGACAACUUGCUGUAUAGU (SEQ ID NO: 65) y cadena antisentido ACUAUACAGCAAGUUGUCGAC (SEQ ID NO: 66)

(3) nDsRNA4: cadena sentido GGUCACCUGGACAGAGAAUAG (SEQ ID NO: 67) y cadena antisentido CUAUUCUCUGUCCAGGUGACC (SEQ ID NO: 68)

(4) nDsNA5: cadena sentido AAUGCCAGAUGUUGCUAUGAC (SEQ ID NO: 69) y cadena antisentido GUCAUAGCAACAUCUGGCAUU (SEQ ID NO: 70)

176) Una mezcla de múltiples polinucleótidos es ventajosa para prevenir la selección de resistencia en las plantas tratadas. En una realización, la composición herbicida incluye una mezcla de los cuatro polinucleótidos de ARNbc mencionados anteriormente que tienen las SEQ ID NOS: 63-70. En otra realización, la composición herbicida incluye polinucleótidos de ADN monocatenario con secuencias desoxirribonucleotídicas que corresponden a una o más de las secuencias de ARNbc SEQ ID NOS: 63-70. En otra realización, la composición herbicida incluye híbridos de ARN/ADN con secuencias nucleotídicas que corresponden a una o más de las secuencias de ARNbc SEQ ID NOS: 63-70. En otra realización, la composición herbicida incluye polinucleótidos de ARNbc donde los 2’ hidroxilos se metilan para proporcionar estabilidad.

177) La composición herbicida incluye un tensioactivo tal como Silwet L-77 (u otros tensioactivos eficaces tales como los proporcionados en el Ejemplo 36). Opcionalmente, la composición herbicida puede incluir uno o más aditivos tales como una sal, agente quelante o un humectante (tales como los proporcionados en el Ejemplo 35) para mejorar el rendimiento herbicida, por ejemplo, potenciando la transferencia de polinucleótidos hacia el interior de la plant, potenciando la eficacia de los polinucleótidos o potenciando la actividad herbicida del herbicida no polinucleotídico.

178) Opcionalmente, la composición herbicida incluye polinucleótidos diseñados para regular múltiples genes en la planta. En una realización, la composición herbicida incluye polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un segundo gen o a la secuencia del ARN transcrito a partir del segundo gen, en donde la regulación del segundo gen proporciona una mejora sinergística de la actividad herbicida de la composición.

179) En una realización, la composición herbicida incluye polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia del gen endógeno de 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) de palmera amaranto o a la secuencia del ARN transcrito a partir del gen endógeno de EPSPS así como también polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia del gen endógeno del factor de iniciación de traducción (TIF) de la palmera o a la secuencia del ARN transcrito a partir del gen endógeno de TIF. El factor de iniciación de traducción (TIF) es una proteína cloroplástica codificada en el núcleo que es esencial para la iniciar la síntesis proteica y se expresa en toda la planta. La Arabidopsis thaliana tiene un ortólogo denominado AT1G17220,1 (descrito en la base de datos disponible púlicamente The Arabidopsis Information Resource que se encuentra en línea en www.arabidopsis.org/servlets/TairObject?type=locus&name=AT1G17220) y con el número de acceso a GenBank GI:186478573, que se ha identificado como una proteína localizada en el cloroplasto con similitud al factor de iniciación de traducción bacteriano 2; ver además Miura et al. (2007) Plant Cell, 19:1313–1328 para ver la descripción de este gen. Las secuencias de TIF se identificaron apartir de la palmera amaranto (Amaranthus palmeri); se identificó que un gen de TIF tiene la secuencia de SEQ ID NO:71. Los ejemplos de polinucleótidos para la supresión de este gen de TIF en Amaranthus palmeri se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10

Polinucleótido	Posición en la secuencia de TIF	Secuencia	SEQ ID NO.
TIF de palmera amaranto	Secuencia completa de SEQ ID NO:71	ATGGCAACAATGGcTTCCCTAGTGAGTTTG GGAAGCTCTGGAGCAACTTGCTCAGGGCA ATTGGAGGTTtCCTTTTCATTGGTTAAGAAA ATTaCATTGCCTAGAAGAAATTGTAGTTgCA ATTTTAGGCAATTAGgAGGGGGGAGGAGAT GGCGTTACGTTTCGGTGTGTAGACTTTCTG TCACTACTGATTATGTTTCTGAGCAAGGAA ATGCTGTTTCTCTTGAAAATGCATATAGTGA GAGTAAAGAAGAGGGTCTCATCTTGAAGC CTTCTCCTAAGCCGGTTTTGAAATCCGGGT CTGATGGAAATCGGAAATTTGGGGAGAGTT CGGTGGCGTTTTCGAGTAATGGGAAATTG GATAATGTAGAGGAGAGGAAGAAGGTTATT GATTCATTGGATGAGGTATTAGAAAAGGCc GAGAGATTAGAAACGGCGAACTTACAAGC AGATAATAGAAAGGATAGCACAAATGTAAA TAAACCGTCTCCGAGTGTAAGTAGTTCAAC CAATGGTAAACCTGTAAATAATTTGAACAAA GGGAAGCCTAAAGCTGCGAAGAGCGTTTG GAGAAAGGgAAATCCAGTTTCTACTGTGCA AAAAGTAGTGCAAGAATCTCCGAAGATTGA AAAGGTTGAGAGAGTGGAAGCTCGAACGA CCAGCCAATCGTCTGAAACGATAAGACCC CCAGTGCCACTACAGAGGCCTGAGATTAA GTTGCAGGCAAAGCCTTCTACTGCTCCTCC ACCCATGCCTAAGAAGCCGGTTTTGAAGG ATGTGGGGATGTCCTCCAGAGCTGATGGG AAGGACCAGTCTGTGAAATCTAAAGAGAG GAAGCCTATTCTAGTGgACAAATTTGCCAC CAAGAAGGCATCAGTTGATCCGTCGATTGC	71

		TCAAGCAGTAATTGCCCCACcAAAACCTGC TAAATTTCCTTCTGGAAAGTTTAAAGATGAT TATCGGAAGAAGGGTCTTGCAGCTGGTGG GCCGAAGAGGCGTATGGTCAATGATGATG ATATTGAAATGCATGAAGACACTTCAGAGC TCGGTCTTTCTATTCCTGGTGCTGCTACGG CTCGGAAAGGCAGGAAATGGAGTAAGGCA AGTCGCAAGGCTGCCAGACGCCAAGCAGC TAGAGATGCCGCTCCTGTTAAAGTGGAAAT CTTAGAGGTTGAAGAAAAGGGCATGTCGA CCGAAGAATTAGCATACAACTTGGCTATTA GCGAAGGTGAAATTCTTGGGTACCTGTATt CTAAGGGGATAAAACCAGaTGGTGTGCAAA CTCTTGACAAGGCAATGGTAAAGATGATAT GTGAAAGATATGACGTGGAGGTTTTGGAC GCACTTTCTGAACAAATGGAAGAAATGGCT CGAAAGAAGGAAATTTTCGACGAAGATGAC CTTGACAAGCTTGAAGATAGGCCTCCTGTG CTTACTATAATGGGTCATGTAGATCATGGC AAGACGACCCTTCTGGATTATATACGGAAG AGCAAGGTTGCTGCTTCTGAAGCTGGTGG GATTACACAAGGTATTGGTGCTTATAAAGT GGAAGTACCGGTTGATGGCAAGTTGCTGC CTTGTGTCTTTCTTGACACTCCCGGACACG AGGCGTTCGGGGCAATGAGGGCTCGTGGA GCAAGAGTGACAGATATTGCTATTATAGTtG TAGCTGCTGACGATGGGATCCGTCCTCAA ACAAATGAAGCCATAGCACATGCAAAAGCA GCTGGTGTACCTATTGTGGTTGCAATTAAT AAGATTGACAAGGATGGGGCTAATCCGGA CCGTGTGATGCAAGAGCTTTCATCAATTGG TCTAATGCCAGAGGATTGGGGTGGTGATA CCCCAATGGTCAAGATAAGTGCTCTAAAAG GTGAAAATGTGGACGAGTTACTCGAGACA GCcATGCTTGTCGCCGAGTTGCAAGAGTTA	

		AAGGCTAATCCTCAGAGGAACGCTAAGGG CACTGTAATTGAGGCTGGTCTTCATAAATC AAAAGGACCCATTGCCACTTTTATtGTGCAG AATGGTACCCTCAAACAAGGGGATACTGTA GTTTGTGGGGAAGCATTTGGGAAGGTTCG TGCCCTATTTGATCACGGAGGGAATCGCG TTGATGAAGCTGGTCCATCTATTCCcGTGC AGGTTATTGGATTGAATAATGTtCCTTTTGC CGGTGATGAGTTCGAGGTAGTGAGTTCCC TTGAtATAGCTCGTGAAAAGGCAGAGGTCC GTGCAGAgtCTTTACGAAATGAGCGTATAG CTGCTAAGGCCGGAGACGGAAAGGTTAcgc TGTCATCCTTGGCATCGGCtGTTTCTTCaGG GAAGATGGCTGGTTTGGATTTGCACCAGTT AAaTATCATTTTGAAGGTTGATGTTCAGGG ATCAATCGAGGCATTGAGGCAAGCTCTAGA AGTTCTTCCTCAAGAtAACGTCACTTTGAAG TTTCTCTTACAAGCGACCGGAGATGTTACT ACAAGTGATGTTGATCTTGCAGTTGCTAGT AAAGCTATTATCTTGGGGTTCAATGTGAAG GCACCAGGTTCTGTCGAAAAATTAGCAGAT AACAAAGGTGTTGAAATTCGGCTTTATAAA GTCATTTATGATCTAATTGACGACATGCGG AGTGCAATGGAAGGAATGCTAGATCCCGTT GAGGAACAAGTTgCAATTGGTTCAGCCGAA GTGCGGGCTACATTCAGTAGTGGTAGTGG CCGTGTCGCTGGATGCATGGTGACCGAGG GAAAGATTACCAAAGGCTGTGGGATTCGA GTGATACGGAAGGGAAAAaCTGTCCACGTT GGAGTTCTTGATTCGTTGCGTCGAGTAA	
ADN de 200 bp	341-541	TTTCGAGTAATGGGAAATTGGATAATGTAG AGGAGAGGAAGAAGGTTATTGATTCATTGG ATGAGGTATTAGAAAAGGCcGAGAGATTAG AAACGGCGAACTTACAAGCAGATAATAGAA AGGATAGCACAAATGTAAATAAACCGTCTC	72

		CGAGTGTAAGTAGTTCAACCAATGGTAAAC CTGTAAATAATTTGAACAAA	
ARNbc de 160 bp	342-501	Sentido: UUCGAGUAAUGGGAAAUUGGAUAAUGUAG AGGAGAGGAAGAAGGUUAUUGAUUCAUU GGAUGAGGUAUUAGAAAAGGCCGAGAGA UUAGAAACGGCGAACUUACAAGCAGAUAA UAGAAAGGAUAGCACAAAUGUAAAUAAAC CGUCUCCGAGUGUAAGU	73
		Antisentido: ACUUACACUCGGAGACGGUUUAUUUACAU UUGUGCUAUCCUUUCUAUUAUCUGCUUG UAAGUUCGCCGUUUCUAAUCUCUCGGCC UUUUCUAAUACCUCAUCCAAUGAAUCAAU AACCUUCUUCCUCUCCUCUACAUUAUCCA AUUUCCCAUUACUCGAA	74
ADN antisentido de TIF_AS1	555-576	ATTTCTCCAAACGCTCTTCGca	75
ADN antisentido de TIF_AS2	342-363	ATCCAATTTCCCATTACTCGaa	76
ADN antisentido de TIF_AS3	412-433	GTTTCTAATCTCTCGGCCTTtt	77
ADN antisentido de TIF_AS4	488-509	TTGAACTACTTACACTCGGag	78
ADN antisentido de TIF_AS5	368-389	TAACCTTCTTCCTCTCCTCta	79
ADN antisentido de TIF_AS6	790-811	GTCCTTCCCATCAGCTCTGGA	80

ADN antisentido de TIF_AS7	1052-1073	CGTAGCAGCACCAGGAATAG	81
ADN antisentido de TIF_AS8	1655-1676	CAGCAGCTACaACTATAATAG	82

180) En una realización, la composición herbicida incluye una mezcla de al menos dos de los polinucleótidos de ARNbc de EPSPS mencionados anteriormente que tienen la SEQ ID NOS: 63-70 y también al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia del gen endógeno del factor de iniciación de traducción (TIF) de palmera o a la secuencia del ARN transcrito a partir del gen endógeno de TIF, tales como los proporcionados en la Tabla 10. En una realización específica, la composición herbicida incluye una mezcla de los cuatro polinucleótidos de ARNbc de EPSPS que tienen las SEQ ID NOS: 63-70 y un polinucleótido de ARN bicatenario de TIF de 160 pares de bases que tiene la secuencia sentido de UUCGAGUAAUGGGAAAUUGGAUAAUGUAGAGGAGAGGAAGAAGGUUAUUGAUUCAUUGGAUGAGGUAUUAGAAAAGGCCGAGAGAUUAGAAACGGCGAACUUACAAGCAGAUAAUAGAAAGGAUAGCACAAAUGUAAAUAAACCGUCUCCGAGUGUAAGU (SEQ ID NO. 73) y la secuencia antisentido de ACUUACACUCGGAGACGGUUUAUUUACAUUUGUGCUAUCCUUUCUAUUAUCUGCUUGUAAGUUCGCCGUUUCUAAUCUCUCGGCCUUUUCUAAUACCUCAUCCAAUGAAUCAAUAACCUUCUUCCUCUCCUCUACAUUAUCCAAUUUCCCAUUACUCGAA (SEQ ID NO. 74).

181) En algunas realizaciones, los polinucleótidos se diseñan para regular múltiples genes objetivo, que resultan en un efecto sinergísitico sobre la actividad herbicida. Por ejemplo, se obtuvo un efecto sinergísitico sobre la actividad herbicida mediante el tratamiento de una planta con polinucleótidos diseñados para suprimir un factor de iniciación de traducción (TIF) y la 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) con posterior tratamiento con el herbicida glifosato no polinucleotídico.

182) Los polinucleótidos indicados en la Tabla 11 se produjeron mediante síntesis o mediante transcripción in vitro.

Tabla 11

Nombre	Comentarios	Secuencias nucleotídicas
IDT [1]	ARNbc de EPSPS de palmera con dos 2-desoxirribonucleótidos (en texto en negrita subrayado) en el extremo 3' de la cadena sentido (25 mer) y un excedente de 2 nucleótidos en el extremo 3' de la cadena antisentido (27 mer); sintetizados químicamente mediante IDT	Sentido: CUACCAUCAACAAUGGUGUCCAUAC (SEQ ID NO. 83) Antisentido: GUAUGGACACCAUUGUUGAUGGUAGUA (SEQ ID NO. 84)
IDT [2]		Sentido: AGUUGGUGGGCAAUCAUCAAUUGTT (SEQ ID NO. 85) Antisentido: AACAAUUGAUGAUUGCCCACCAACUCU (SEQ ID NO. 86)
IDT [3]		Sentido: GGUCGACAACUUGCUGUAUAGUGAT (SEQ ID NO. 87) Antisentido: AUCACUAUACAGCAAGUUGUCGACCUC (SEQ ID NO. 88)
IDT [4]		Sentido: UGCAAGGUCACCUGGACAGAGAATA (SEQ ID NO. 89) Antisentido: UAUUCUCUGUCCAGGUGACCUUGCAAC (SEQ ID NO. 90)
IDT [5]	ARNbc de EPSPS de palmera (21 mer) con extremos romos; sintetizado químicamente mediante IDT	Sentido: AACAUGAACAAAAUGCCAGAU (SEQ ID NO. 91) Antisentido: AUCUGGCAUUUUGUUCAUGUU (SEQ ID NO. 92)

IDT romo [1]	ARNbc de EPSPS de palmera (27 mer) con extremos romos; sintetizado a través de transcripción T7 in vitro	1S-Antisentido GUAUGGACACCAUUGUUGAUGGUAGUA (SEQ ID NO. 93) 1S-Sentido UACUACCAUCAACAAUGGUGUCCAUAC (SEQ ID NO. 94)
IDT romo [2]		2S-Antisentido AAUAAUUGAUGAUUGCCCACCAACUCU (SEQ ID NO. 95) 2S-Sentido AGAGUUGGUGGGCAAUCAUCAAUUAUU (SEQ ID NO. 96)
IDT romo [3]		3S-Antisentido AUCACUAUACAGCAAGUUGUCGACCAC (SEQ ID NO. 97) 3S-Sentido GUGGUCGACAACUUGCUGUAUAGUGAU (SEQ ID NO. 98)
IDT romo [4]		4S-Antisentido UAUUCUCUGUCCAGGUGACCUUGCAAC (SEQ ID NO. 99) 4S-Sentido GUUGCAAGGUCACCUGGACAGAGAAUA (SEQ ID NO. 100)
3OH [1]	ARNbc de EPSPS de palmera (27 mer) con excedentes en 3'; sintetizado a través de transcripción T7 in vitro	1S-Antisentido gGUAUGGACACCAUUGUUGAUGGUAGUAC (SEQ ID NO. 101) 1S-Sentido GCUACCAUCAACAAUGGUGUCCAUACCAC (SEQ ID NO. 102)
3OH [2]		2S-Antisentido gAAGAAUUGAUGAUUGCCCACCAACUCAC (SEQ ID NO. 103)

		2S-Sentido GAGUUGGUGGGCAAUCAUCAAUUAUUCAC (SEQ ID NO. 104)
3OH [3]		3S- Antisentido gAUCACUAUACAGCAAGUUGUCGACAC (SEQ ID NO. 105) 3S-Sentido GUCGACAACUUGCUGUAUAGUGAUCAC (SEQ ID NO. 106)
3OH [4]		4S-Antisentido gUAUUCUCUGUCCAGGUGACCUUGCACAC (SEQ ID NO. 107) 4S-Sentido GUGCAAGGUCACCUGGACAGAGAAUACAC (SEQ ID NO. 108)
IDT HP [1]	Cadena simple de ARN de EPSPS de palmera diseñada para autohibridarse en una horquilla, que contiene una secuencia antisentido en el bazo 5' y una secuencia antisentido en el brazo 3', con un bucle tetranucleotide intermediario	1S– GUAUGGACACCAUUGUUGAUGGUAGUAGAAAU ACUACCAUCAACAAUGGUGUCCAUAC (SEQ ID NO. 109)
IDT HP [2]		2S- AAUAAUUGAUGAUUGCCCACCAACUCUGAAAAG AGUUGGUGGGCAAUCAUCAAUUAUU (SEQ ID NO. 110)
IDT HP [3]		3S- AUCACUAUACAGCAAGUUGUCGACCACGAAA GUGGUCGACAACUUGCUGUAUAGUGAU (SEQ ID NO. 111)
IDT HP [4]		4S- UAUUCUCUGUCCAGGUGACCUUGCAACGAAA GUUGCAAGGUCACCUGGACAGAGAAUA (SEQ ID NO. 112)

	GAAA; sintetizada químicamente mediante IDT	
[TIF]	ARNbc de factor de iniciación de traducción (TIF) de palmera (160 mer) sintetizado a través de transcripción T7 in vitro	Sentido: UUCGAGUAAUGGGAAAUUGGAUAAUGUAGAGG AGAGGAAGAAGGUUAUUGAUUCAUUGGAUGAG GUAUUAGAAAAGGCCGAGAGAUUAGAAACGGCG AACUUACAAGCAGAUAAUAGAAAGGAUAGCACA AAUGUAAAUAAACCGUCUCCGAGUGUAAGU (SEQ ID NO. 73) Antisentido: ACUUACACUCGGAGACGGUUUAUUUACAUUUGU GCUAUCCUUUCUAUUAUCUGCUUGUAAGUUCG CCGUUUCUAAUCUCUCGGCCUUUUCUAAUACCU CAUCCAAUGAAUCAAUAACCUUCUUCCUCUCCU CUACAUUAUCCAAUUUCCCAUUACUCGAA (SEQ ID NO. 74)
[ddATPasa]	ARNbc de ATPasa dependiente de ADN de palmera (ddATPasa) (168-mer) sintetizado a través de transcripción T7 in vitro	Sentido: GAUCACAAAUUUGCCGGUUUAUGAUCAAAUACG GAACAUAAGACAGAUACACUUGAACACCAUGAU UCGCAUUGGGGGUGUGGUUACUCGUCGUUCUG GAGUAUUCCCUCAGUUGAUGCAGGUGAAGUAU GACUGCAAUAAAUGUGGGGCUAUCCUGGGUCC CUUUUU (SEQ ID NO. 113) Antisentido: AAAAAGGGACCCAGGAUAGCCCCACAUUUAUUG CAGUCAUACUUCACCUGCAUCAACUGAGGGAAU ACUCCAGAACGACGAGUAACCACACCCCCAAUG CGAAUCAUGGUGUUCAAGUGUAUCUGUCUUAU GUUCCGUAUUUGAUCAUAAACCGGCAAAUUUGU GAUC (SEQ ID NO. 114)

183) Las soluciones de los polinucleótidos se prepararon y aplicaron a las hojas de palmera amaranto utilizando los protocolos descritos en la Tabla 12.

Tabla 12

Número de protocolo (descripción)	Protocolo
1 (1 etapa - aplicación manual)	1. Aplicar una mezcla de polinucleótidos en 1% de Silwet L-77, 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8 (o solución amortiguadora testigo de 1% de Silwet L-77, 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8) mediante pipeteo manual 2. 48 o 72 horas después, pulverización de glifosato ("2X Wmax" o 1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®) mediante pulverizador común (10 galones/acre)
2 (1 etapa - pulverizador)	1. Pulverizar una mezcla de polinucleótidos en 1% de Silwet L-77, 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8 (o solución amortiguadora testigo de 1% de Silwet L-77, 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8) mediante pulverizador Milli 2. 48 o 72 horas después, pulverización de glifosato ("2X Wmax" o 1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®) mediante pulverizador común (10 galones/acre)
3 (2 etapas - aplicación manual)	1. Pulverización de 1% de Silwet como en la 1ª etapa mediante pulverizador común o pulverizador Milli; 2. Aplicar una mezcla de polinucleótidos en 1% de Silwet L-77, 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8 (o solución amortiguadora testigo de 1% de Silwet L-77, 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato

	de sodio, pH 6,8) mediante pipeteo manual 3. 48 o 72 horas después, pulverización de glifosato (“2X Wmax” o 1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®) mediante pulverizador común (10 galones/acre)
4 (2 etapas - pulverizador)	1. Pulverización de 1% de Silwet como en la 1ª etapa mediante pulverizador común o pulverizador Milli; 2. Pulverizar mezcla de polinucleótidos en 1% de Silwet L-77, 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8 (o solución amortiguadora testigo de 1% de Silwet L-77, 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8) mediante pulverizador Milli 3. 48 o 72 horas después, pulverización de glifosato (“2X Wmax” o 1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®) mediante pulverizador común (10 galones/acre)
5 (mezcla en tanque)	Pulverizar mezcla de polinucleótidos en 1% de Silwet L-77, 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8 que contiene glifosato a 1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX® (o solución amortiguadora testigo de 1% de Silwet L-77, 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8, que contiene glifosato a 1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®) mediante pulverizador Milli.

184) Las combinaciones de polinucleótidos se evaluaron tal como se indica en la Tabla 13.

Tabla 13

Polinucleótidos aplicados en combinación	SEQ ID NO,	Protocolo	Cantidad aplicada de cada polinucleótido (g/acre)	Total de polinucleótidos aplicados (g/acre)	Cantidad de copias de EPSPS*	Resultados**
IDT [1] IDT [3] IDT [4]	83,84, 87,88 89,90	1	0,29 0,29 0,29	0,87	112	75% de muerte (27 DDT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4] [TIF]	83,84, 87,88 89,90 73,74	1	0,29 0,29 0,29 0,50	1,4	112	100% de muerte (27 DDT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4] [ddATPasa]	83,84, 87,88 89,90 113,114	1	0,29 0,29 0,29 0,50	1,37	112	11,2% de enanismo (27 DDT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4] [TIF] [ddATPasa]	83,84, 87,88 89,90 73,74 114,114	1	0,29 0,29 0,29 0,50 0,50	1,87	112	100% de muerte (27 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	83,84, 85,86 87,88 89,90	1	0,29 0,29 0,29 0,29	1,2	112, 36	0% testigo (11 DDT); 0% testigo

						(31 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	83,84, 85,86 87,88 89,90	1	1,4 1,4 1,4 1,4	5,8	112, 36	0% testigo (11 DDT); 15% de enanismo (31 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	83,84, 85,86 87,88 89,90	1	2,9 2,9 2,9 2,9	12	112, 36	0% testigo (11 DDT); 35% de enanismo (31 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	83,84, 85,86 87,88 89,90	1	5,8 5,8 5,8 5,8	23	112, 36	51% de enanismo (11 DDT); 100% de enanismo (31 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3]	83,84, 85,86 87,88	2	0,29 0,29 0,29	1,2	33, 54	9% de enanismo

IDT [4]	89,90		0,29			(6 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	83,84, 85,86 87,88 89,90	2	5,8 5,8 5,8 5,8	23	33, 54	100% de muerte (6 DDT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4]	83,84, 87,88 89,90	2	0,29 0,29 0,29	0,87	33, 54	20% de enanismo (6 DDT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4]	83,84, 87,88 89,90	2	5,8 5,8 5,8	17	33, 54	100% de muerte (6 DDT)
IDT [5]	91,92	1	0,29	0,29	34, 36, 54	14,1% de enanismo (22 DDT)
IDT [5]	91,92	1	2,9	2,9	34, 36, 54	100% de muerte (22 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	83,84, 85,86 87,88 89,90	1	2,9 2,9 2,9 2,9	12	34, 36, 54	100% de muerte (22 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4] IDT [5]	83,84, 85,86 87,88 89,90 91,92	1	2,9 2,9 2,9 2,9 2,9	14	34, 36, 54	100% de muerte (22 DDT)
IDT [1]	83,84,	1	2,9	8,7	34, 36,	100% de

IDT [3] IDT [4]	87,88 89,90		2,9 2,9		54	muerte (22 DDT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4] IDT [5]	83,84, 87,88 89,90 91,92	1	2,9 2,9 2,9 2,9	12	34, 36, 54	100% de muerte (22 DDT)
IDT [5]	91,92	1	0,29	0,29	33, 54, 55	71% de enanismo (18 DDT)
IDT [5]	91,92	1	2,9	2,9	33, 54, 55	100% de muerte (18 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4] IDT [5]	83,84, 85,86 87,88 89,90 91,92	1	0,29 0,29 0,29 0,29 0,29	1,4	33, 54, 55	100% de muerte (18 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	83,84, 85,86 87,88 89,90	1	0,29 0,29 0,29 0,29	1,2	33, 54, 55	100% de muerte (18 DDT)
IDT HP [1] IDT HP [2] IDT HP [3] IDT HP [4]	109 110 111 112	3	0,29 0,29 0,29 0,29	1,2	16, 33	100% de muerte (18 DDT)
IDT [1]	83,84,	3	0,29	1,2	16, 33	100%

IDT [2] IDT [3] IDT [4]	85,86 87,88 89,90		0,29 0,29 0,29			de muerte (18 DDT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4]	83,84, 87,88 89,90	3	0,29 0,29 0,29	0,87	16, 36	100% de muerte (18 DDT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4]	83,84, 87,88 89,90	3	5,8 5,8 5,8	17	16, 36	100% de muerte (18 DDT)
IDT [1] IDT [3] IDT [4]	83,84, 87,88 89,90	3	29 29 29	87	16, 36	100% de muerte (18 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	83,84, 85,86 87,88 89,90	3	0,29 0,29 0,29 0,29	1,1	16, 36	100% de muerte (18 DDT)
3’-OH [1] 3’-OH [2] 3’-OH [3] 3’-OH [4]	101,102 103,104 105,106 107,108	3	No correspond e	22-26 microlitros (en volumen)	16	100% de muerte (10 DDT)
IDT romo [1] IDT romo [2] IDT romo [3]	93,94 95,96 97,98 99,100	3	0,29 0,29 0,29 0,29	1,1	16	75% de muerte (10 DDT)

IDT romo [4]						
IDT romo [1] IDT romo [2] IDT romo [3] IDT romo [4]	93,94 95,96 97,98 99,100	3	5,8 5,8 5,8 5,8	23	16	100% de muerte (10 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3]	83,84, 85,86 87,88	3	29 29 29	87	16	34% de enanismo (14 DDT)
IDT [2] IDT [3] IDT [4]	85,86 87,88 89,90	3	29 29 29	87	16	48% de enanismo (14 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [4]	83,84, 85,86 89,90	3	29 29 29	87	16	25% de enanismo (14 DDT)
IDT [1] IDT [4]	83,84, 89,90	3	29 29	58	16	44% de enanismo (14 DDT)
IDT [3] IDT [4]	87,88 89,90	3	29 29	58	16	41% de enanismo (14

						DDT)
IDT [2] IDT [4]	85,86 89,90	3	29 29	58	16	40% de enanismo (14 DDT)
IDT [1]	83,84	3	29	29	16	51% de enanismo (13 DDT)
IDT [2]	85,86	3	29	29	16	0% testigo (13 DDT)
IDT [3]	87,88	3	29	29	16	51% de enanismo (13 DDT)
IDT [4]	89,90	3	29	29	16	51% de enanismo (13 DDT)
IDT [1] IDT [2] IDT [3] IDT [4]	83,84, 85,86 87,88 89,90	3	29 29 29 29	116	16	75% de muerte (13 DDT)

*cuando se indica más de una cantidad de copias, las plantas tratadas eran una mezcla de cantidades de copias

**DDT = días después del tratamiento; “0% testigo” significa que no se observaron diferencias entre las plantas tratadas y las testigo; el % de enanismo se calcula como [100

- (promedio de altura de las plantas de prueba/promedio de altura de las plantas testigo)*100]

185) Se diseñaron secuencias polinucleotídicas de ARN bicatenario de 25 mer para la supresión del gen TIF en Amaranthus palmeri tal como se indica en la Tabla 14.

Tabla 14

Nombre	Secuencia	SEQ ID NO:
TIF_ARNbc1	antisentido: 5'-UUUUCUAAUACCUCAUCCAAUGAAU-3‘	115
	sentido: 5'-AUUCAUUGGAUGAGGUAUUAGAAAA-3’	116
TIF_ARNbc2	antisentido: 5'-UAUCUGCUUGUAAGUUCGCCGUUUC-3‘	117
	sentido: 5'-GAAACGGCGAACUUACAAGCAGAUA-3'	118
TIF_ARNbc3	antisentido: 5'-GGAGACGGUUUAUUUACAUUUGUGC-3'	119
	sentido: 5'-GCACAAAUGUAAAUAAACCGUCUCC-3'	120
TIF_ARNbc4	antisentido: 5'-UAUUUACAGGUUUACCAUUGGUUGA-3‘	121
	sentido: 5'-UCAACCAAUGGUAAACCUGUAAAUA-3'	122

186) Los polinucleótidos de ARNbc de TIF de 25 mer se evaluaron en palmera amaranto resistente a glifosato con alta cantidad de copias (112) y baja cantidad de copias (16) de EPSPS.

187) Las plantas con alta cantidad de copias se trataron con una mezcla de 4 ARNbc cortos de EPSPS (ARNbc 1 corto, ARNbc 3 corto, ARNbc 4 corto, tales como se describieron en el Ejemplo 1 y IDT [5] (SEQ ID NOS:91-92 tales como se describieron en la Tabla 11) a 11,5 gramos/acre y un ARNbc de TIF individual a 5,8 gramos/acre o con cada ARNbc de TIF individual de 25 mer a 5,8 gramos/acre; las soluciones de

polinucleótidos se formularon en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio (pH 6,8) que contenía 2% de sulfato de amonio y 1% de Silwet L-77. Treinta minutos después del tratamiento con polinucleótidos, las plantas se pulverizaron con glifosato (1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®) o no.

188) Las plantas con baja cantidad de copias se trataron con una mezcla de 4 ARNbc cortos de EPSPS (ARNbc 1 corto, ARNbc 3 corto, ARNbc 4 corto, tales como se describieron en el Ejemplo 1 y IDT [5] (SEQ ID NOS:91-92 tales como se describieron en la Tabla 11)) a 0,23 grams/acre un ARNbc de TIF individual a 5,8 gramos/acre o con cada ARNbc de TIF individual de 25 mer a 5,8 gramos/acre; las soluciones de polinucleótidos se formularon en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio (pH 6,8) que contenía 2% de sulfato de amonio y 1% de Silwet L-77. Treinta minutos después del tratamiento con polinucleótidos, las plantas se pulverizaron con glifosato (1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®) o no.

189)Los resultados se muestran en las Figuras 31 y 32 y muestran que los polinucleótidos de TIF potencian la actividad de los polinucleótidos de EPSPS y que los polinucleótidos de TIF tienen actividad herbicida propia.

Ejemplo 27

190) Los aspectos de la invención incluyen composiciones polinucleotídicas y métodos de uso para potenciar la actividad de un herbicida no polinucleotídico en una planta. Por ejemplo, una composición polinucleotídica diseñada para regular un gen dirigido a un herbicida o un gen de desactivación de un herbicida o un gen de respuesta a estrés o una combinación de dichos genes objetivo, se aplica a una maleza o a una planta espontánea, simultáneamente o posteriormente o antes de la aplicación de un herbicida no polinucleotídico (típicamente un herbicida químico convencional), resultando en la mejora de la actividad del herbicida no polinucleotídico. La combinación de una composición polinucleotídica con un herbicida no polinucleotídico (por ejemplo, un herbicida químico convencional) proporciona un efecto sinergístico, es decir, el efecto herbicida de la combinación es mayor que la suma del efecto herbicida de la composición polinucleotídica y el efecto herbicida del herbicida no polinucleotídico.

191) Se proporcionan ejemplos de herbicidas químicos convencionales y sus genes dirigidos al herbicida correspondientes en la Tabla 15.

Tabla 15

Ejemplos de herbicidas	Gen objetivo (gen dirigido al herbicida)
Glifosato	5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS)
Lactofeno, flumioxazina, etc.	protoporfirinogen oxidase (PPO)
Mesotriona, isoxaflutol	4-hidroxifenil-piruvato-dioxigenasa (HPPD)
Quizalofop, cletodim	acetil coenzima A carboxilasa (ACCasa)
Norflurazona, clomazona	fitoeno desaturasa (PDS)
Glufosinato	glutamina sintasa (GS)
Rimsulfurón, clorsulfurón	acetolactato sintasa (ALS)
Atrazina, diurón, bromoxinilo, metribuzina	proteína D1 de fotosistem II (PSII)
Dinitroanilina, pendimetalina	tubulina
Diclobenilo, isoxabeno	Celulosa sintasa

192) Se proporcionan ejemplos de herbicidas químicos convencionales y sus genes de desactivación del herbicida correspondientes en la Tabla 16.

Tabla 16

Ejemplos de herbicidas	Gen objetivo (gen de desactivación del herbicida)
Acetoclor, metolaclor	glutatión S-transferasa (GST)
Muchos incluidos los herbicidas SU	Monooxigenasas incluidos citocromos P450 (ver, por ejemplo, un citocromo P450 para conferir resistencia a inhibidores de HPPD, benzotiadiazinonas, sulfonilureas y otros clases de herbicides, descritas en la publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos 2009/0011936)
Tiazopir	esterasas (por ejemplo, esterasas implicadas en la apoptosis o senescencia)
2,4-D, metribuzina,	glucosil transferasas; malonil transferasas
Glifosato, paraquat	Compartimentación celular y genes de secuestro (por ejemplo, transportadores ABC)

Ejemplo 28

193) Este ejemplo ilustra un método para inducir la regulación sistémica de un gen objetivo endógeno en una planta en crecimiento que incluye revestir tópicamente hojas de la planta en crecimiento con polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en el gen objetivo endógeno o en el ARN mensajero transcrito a partir de gen objetivo endógeno, por los cual los polinucleótidos permean el interior de la planta en crecimiento e inducen la regulación sistémica del gen objetivo endógeno.

194) Se diseñaron polinucleótidos de ARN bicatenario o ADNmc antisentido para los genes dirigidos al herbicida 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), fitoeno desaturasa (PDS), protoporfirina IX oxigenasa (PPO), fenilalanina amoníaco liasa (PAL), hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), acetolactato sintasa (ALS) y glutamina sintasa (GS). Para cada gen dirigido a herbicida, se aplicó una solución que contenía una mezcla de 8 polinucleótidos de ADNmc antisentido en 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8, a una tasa de 2,32 g/acre con posterior aplicación de 0,5% de Silwet L-77 por pulverización (10 galones/acre). Los polinucleótidos evaluados y las observaciones del fenotipo resultante se indican en la Tabla 17.

Tabla 17

Gen	Nombre	Tamaño (nt)	Secuencia	SEQ ID NO:	Fenotipo
EPSPS			(Ver secuencias proporcionadas en los Ejemplos 1, 9, 13, 14, 21, 26)	--	El ARNbc aplicado tópicamente con posterior aplicación de glifosato mató a palmera resistente a glifosato (hasta 60 copias de EPSPS) en 7-10 días
PDS	PDS sentido	185	GACGGAAACCCUCCAGAGAGGCUGUGCAUGCCUAUUGUUAAACACAUCGAGUCACUAGGUGGUGAAGUUAAACUUAACUCUCGUAUACAAAAGAUUCAGUUGGACCAGAGUGGAAGCGUGAAGAGUUUUUUGCUAAAUAACGGGAGGGAAAUACGAGGAGAUGCCUAUGUUUUUGCCACCCCAGU	123	El ARNbc aplicado tópicamente provocó el fenotipo de blanqueado y enanismo y es sistémico.
	PDS antisentido	185	ACUGGGGUGGCAAAAACAUAGGCAUCUCCUCGUAUUUCCCUCCCGUUAUUUAGC	124	

			AAAAAACUCUUCACGCUUCCACUCUGGUCCAACUGAAUCUUUUGUAUACGAGAGUUAAGUUUAACUUCACCACCUAGUGACUCGAUGUGUUUAACAAUAGGCAUGCACAGCCUCUCUGGAGGGUUUCCGUC		
PPO	PPO_OLIGO1	21	GTGATATTACCTCCAACACGAT	125	Los ADN ansentido aplicados tópicamente provocaron enanismo en el crecimiento vegetal.
	PPO_OLIGO2	21	ATAGTAAGCACAGGATCGGAG	126	
	PPO_OLIGO3	21	CTTTCAATCCACTGTCAACCG	127	
	PPO_OLIGO4	21	ATCAAGCGTTCGAAGACCTCAT	128	
	PPO_OLIGO5	21	CAGCAATGGCGGTAGGTAACA	129	
	PPO_OLIGO6	21	GCAATTGCCCGAATCCTTTTA	130	
	PPO_OLIGO7	21	TAGCTCAAtATCAAGGTCCTA	131	
	PPO_OLIGO8	21	TCATAAGCACCCTCTATACAC	132	
PAL	PAL_OLIGO1	21	TTCTTAACCTCGTCGAGATG	133	Los ADN ansentido aplicados tópicamente provocaron enanismo en el crecimiento vegetal.
	PAL_OLIGO2	21	ATACCCGAGTATCCTTGCAAA	134	
	PAL_OLIGO3	21	TAGGGCCCACGGCCTTGGAGT	135	
	PAL_OLIGO4	21	AGCGGATATAACCTCAGCTAG	136	
	PAL_OLIGO5	21	CTTCGTGGCCCAACGAATGAC	137	

	PAL_OLIGO6	21	CAAGCTCGGGTCCCTGCTTGC	138	
	PAL_OLIGO7	21	GGAAGGTAGATGACATGAGTT	139	
	PAL_OLIGO8	21	GATGGCATAGTTACCACTGTC	140	
HPPD	HPPD_OLIGO1	21	TCCGTAGCTTACATACCGAAG	141	Los ADN ansentido aplicados tópicamente provocaron enanismo en el crecimiento vegetal.
	HPPD_OLIGO2	21	TCCAAGTGAATAGGAGAAACA	142	
	HPPD_OLIGO3	21	AGCAGCTTCtgCGTCTTCTAC	143	
	HPPD_OLIGO4	21	ACAGCACGCACGCCAAGACCG	144	
	HPPD_OLIGO5	21	CGaTGTAAGGAATTTGGtAAA	145	
	HPPD_OLIGO6	21	CGAGGGGATTGCAGCAGAAGA	146	
	HPPD_OLIGO7	21	GTAGGAGaATacGGTGAAGTA	147	
	HPPD_OLIGO8	21	GACCCCAAGaAAATCGTCTGC	148	
ACCasa	ACCA_OLIGO1	20	gtcttacaagggttctcaa	149	El ADN ansentido aplicado tópicamente provocó enanismo en el crecimiento vegetal.
	ACCA_OLIGO2	21	ATCTATGTTCACCTCCCTGTG	150	
	ACCA_OLIGO3	21	ATAAACCATTAGCTTTCCcGG	151	
	ACCA_OLIGO4	21	TTtATtGgAaCAaGCGgAgTT	152	
	ACCA_OLIGO5	21	TATAGCACCACTTCCCGATAG	153	
	ACCA_OLIGO6	21	GCACCACGAGGATCACAAGAA	154	

	ACCA_OLIGO7	21	CCACCCGAGAAACCTCTCCAA	155	
	ACCA_OLIGO8	21	CAGTCTTGaCGAGTGATTCCT	156	
ALS	ALS-OLIGO1	22	gTTCTtCAGGgCTAAATCGGGA	157	Sin fenotipo significativo
	ALS-OLIGO2	22	GTTCAAGAGCTTCAACGAGAAC	158	
	ALS-OLIGO3	22	ATACAAACTCCAACGCGTCCAG	159	
	ALS-OLIGO4	22	CTCTTGgAAAGCATCAGTACCA	160	
	ALS-OLIGO5	22	CTAGAAAGATACCCACCCAATT	161	
	ALS-OLIGO6	22	ACTAGAATTCAAACACCCACCC	162	
	ALS-OLIGO7	22	TTTCTGCTCATTCAACTCCTCC	163	
	ALS-OLIGO8	22	TATGTATGTGCCCGGTTAGCTT	164	
GS (glutamina sintasa)	GS_OLIGO1	21	TCATATCCAAGCCAGATCCTC	165	Sin fenotipo significativo
	GS_OLIGO2	21	TGCATCACACATCACCAAGAT	166	
	GS_OLIGO3	21	GTACTCCTGTTCAATGCCATA	167	
	GS_OLIGO4	21	ATTGATACCAGCATAGAGACA	168	
	GS_OLIGO5	21	AGCAATTCTCTCTAGAATGTA	169	
	GS_OLIGO6	21	CATCATTCCTCATCGACTTAG	170	
	GS_OLIGO7	21	CTCTCGTTGCCCTCTCCATAA	171	

	GS_OLIGO 8	21	CAACGCCCCAGGAGAAAG TTC	17 2	

195) Se investigaron la actividad herbicida de los polinucleótidos de ADNmc que se dirigen a las enzimas 4-hidroxifenilpiruvato (HPPD) y protoporfirinógeno oxidasa (PPO) y un factor de iniciación de transcripción (TIF) y su efecto sobre la actividad herbicida cuando se usan en combinación con los herbicidas mesotriona, fomesafen y atrazina en palmera amaranto. Los polinucleótidos utilizados en este experimento eran 8 oligonucleótidos de ADNmc antisentido de HPPD (SEQ ID NOS:141-148), 8 oligonucleótidos antisentido de PPO (SEQ ID NOS:125-132) y 8 oligonucleótidos de ADNmc antisentido de TIF (SEQ ID NOS:75-82, ver Ejemplo 26).

196) Se cultivaron plantas de palmera amaranto (Amaranthus palmeri) sensibles al glifosato en macetas cuadradas de 4 pulgadas con mezcla para plántulas Sun Gro® Redi-Earth que contenía 3,5 kg/metro cúbico de fertilizante Osmocote® 14-14-14 en un invernadero con un fotoperíodo de 14 h p y una temperatura diurna de 30 grados Celsius y una temperatura noctura de 20 grados Celsius. Se subregaron las plantas según fue necesario.

197) Las plantas de 10 a 15 cm de altura se pretrataron manualmente con 40 microlitros (se trataron 4 hojas maduras completamente expandidas con 10 microlitros de solución por hoja en cada planta) de una solución de solución amortiguadora-tensioactivo (como testigo; 0,5% de Silwet L-77 y 2% de sulfato de amonio) o una mezcla de solución amortiguadora-tensioactivo-polinucleótido de ADNmc de los oligonucleótidos antisentido dirigidos a HPPD, PPO o TIF. Algunas plantas se dejaron sin tratamiento y se usaron como testigos. Veinticuatro horas después, las plantas sin tratamiento, las plantas tratadas con solución amortiguadora-tensioactivo y las plantas tratadas con solución amortiguadora-tensioactivo-ADNmc se trataron utilizando un pulverizador agrícola equipado con una boquilla 9501E y calibrado para administrar 93 litros de solución por hectárea con un inhibidor de HPPD, mesotriona (4 libras de ingrediente activo por galón;) o con un inhibidor de PPO, fomesafen (2 libras de ingrediente activo por galón) o con un inhibidor de Fotosistema II, atrazina (90% de ingrediente activo) tal como se indica en la Table 18. Se agregó concentrado de aceite de cultivo (CAC) a 1% a todos los tratamientos con herbicida. Se usó una tasa baja de cada herbicida (mesotriona: 13 g por acre, equivalente a 1/8X de la tasa de campo recomendada; fomesafen: 16 g por acre, equivalente a1/22X de la tasa de campo recomendada; y atrazina: 170 g por acre,

equivalente a1/8X de la tasa de campo recomendada), para poder detectar cualquier mejora en la actividad herbicida mediante la mezcla oligonucleotídica.

Tabla 18

Número de tratamiento	Pretratamiento	Ingrediente activo	Tasa (gramos por hectárea de ingrediente activo)
0	Solución amortiguadora-tensioactivo	--	
1	Sin tratamiento	Mesotriona	13
2	Solución amortiguadora-tensioactivo	Mesotriona	13
3	Solución amortiguadora-tensioactivo-ADNmc-HPPD		
4	Solución amortiguadora-tensioactivo-ADNmc-HPPD	Mesotriona	13
5	Sin tratamiento	Fomesafén	16
6	Solución amortiguadora-tensioactivo	Fomesafén	16
7	Solución amortiguadora-tensioactivo-ADNmc-PPO		
8	Solución amortiguadora-tensioactivo-ADNmc-PPO	Fomesafén	16
9	Sin tratamiento	Atrazina	170

10	Solución amortiguadora-tensioactivo-ADNmc-TIF		
11	Solución amortiguadora-tensioactivo-ADNmc-TIF	Atrazina	170

198) La altura de las plantas se determinó cuatro días después del tratamiento con herbicida. Se recogieron los datos de un experimento con cuatro repeticiones por tratamiento. Los resultados (expresados como altura de las plantas de palmera amaranto según fue afectada por la solución de solución amortiguadora-tensioactivo, ADNmc y combinaciones de tratamientos con herbicida) se mustran en la Tabla 19 y la Figura 33. Las plantas tratadas con oligonucleótidos de ADNmc antisentido de HPPD, oligonucleótidos de ADNmc antisentido de PPO y oligonucleótidos de ADNmc antisentido de TIF exhibieron enanismo en el crecimiento, midiendo 125, 153 y 115 mm, respectivamente, mientras que las plants tratadas con solución amortiguadora-tensioactivo (testigo) midieron 185 mm (Figura 33). El tratamiento con oligonucleótidos de ADNmc antisentido de HPPD, oligonucleótidos de ADNmc antisentido de PPO y oligonucleótidos de ADNmc antisentido de TIF respectivamente provocó una reducción del crecimiento de 32%, 18% y 38% con respecto al testigo con solución amortiguadora-tensioactivo.

199) No se observaron diferencias importantes en la altura de las plantas entre plantas tratadas con solución amortiguadora-tensioactivo y posteriormente con herbicida y plantas tratadas solo con herbicida. Las plantas tratadas con oligonucleótidos de ADNmc antisentido de HPPD y posteriormente con mesotriona exhibieron la mayor reducción en el crecimiento de la planta, midiendo 100 mm, una reducción del 46% en comparación con las plantas tratadas con solución amortiguadora-tensioactivo. Las plantas tratadas con oligonucleótidos de ADNmc antisentido de PPO y posteriormente con fomesafen midieron 126 mm, un reducción del 32% en comparación con las plantas tratadas con solución amortiguadora-tensioactivo. Las plantas tratadas con oligonucleótidos de ADNmc antisentido de TIF y posteriormente con atrazina midieron 121 mm, un reducción del 34% en comparación con las plantas tratadas con solución amortiguadora-tensioactivo.

Tabla 19

Número de tratamiento	Pretratamiento	Ingrediente activo	Tasa (gramos por hectárea de ingrediente activo)	Altura de la planta (mm)	Error estándar
0	Solución amortiguadora	--	--	185	15
1	Sin tratamiento	Mesotriona	13	180	18
2	Solución amortiguadora	Mesotriona	13	179	18
3	ADNmc-HPPD			125	19
4	ADNmc-HPPD	Mesotriona	13	100	7
5	Sin tratamiento	Fomesafén	23	158	12
6	Solución amortiguadora	Fomesafén	23	139	10
7	ADNmc-PPO			153	20
8	ADNmc-PPO	Fomesafén	23	126	6
9	Sin tratamiento	Atrazina	170	146	19
10	ADNmc-TIF			115	17
11	ADNmc-TIF	Atrazina	170	121	16

Ejemplo 29

200) Este ejemplo ilustra las secuencias evaluadas de polinucleótidos ARN bicatenario diseñadas para diferentes genes esenciales para determinar el efecto de la secuencia evaluada en el fenotipo observable. Para cada gen esencial, se aplicó una solución que contenía el polinucleótido de ARNbc en 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6.8, a palmera amaranto a una tasa de 240 picomol por planta con posterior aplicación de 0,5% de Silwet L-77 por pulverización (10 galones/acre). Los polinucleótidos evaluados y las observaciones del fenotipo resultante se indican en la Tabla 20.

Tabla 20

Gen	Nombre	Tamaño (nt)	Secuencia	SEQ ID NO:	Fenotipo
Factor de iniciación de traducción (TIF)	sentido	160	UUCGAGUAAUGGGAAAUUGGAUAAUGUAGAGGAGAGGAAGAAGGUUAUUGAUUCAUUGGAUGAGGUAUUAGAAAAGGCCGAGAGAUUAGAAACGGCGAACUUACAAGCAGAUAAUAGAAAGGAUAGCACAAAUGUAAAUAAACCGUCUCCGAGUGUAAGU	73	El ARNbc aplicado tópicamente provocó enanismo en el crecimiento vegetal.
	antisentido	160	ACUUACACUCGGAGACGGUUUAUUUACAUUUGUGCUAUCCUUUCUAUUAUCUGCUUGUAAGUUCGCCGUUUCUAAUCUCUCGGCCUUUUCUAAUACCUCAUCCAAUGAAUCAAUAACCUUCUUCCUCUCCUCUACAUUAUCCAAUUUCCCAUUACUCGAA	74	
ATPasa dependiente de ADN (ddATPasa)	sentido	168	GAUCACAAAUUUGCCGGUUUAUGAUCAAAUACGGAACAUAAGACAGAUACACUUGAACACCAUGAUUCGCAUUGGGGGUGUGGUUACUCGUCGUUCUGGAGUAUUCCCUCAGUUGAUGCAGGUGAAGUAUGACUGCAAUAAAUGUGGGGCUAUCCUGGGUCCCUUUUU	113	El ARNbc aplicado tópicamente provocó enanismo en el crecimiento vegetal.
	antisentido	168	AAAAAGGGACCCAGGAUAGCCCCACAUUUAUUGCAGUCAUACUUCACCUGCAUCAACUGAGGGAAUACUCCAGAACGACGAGUAACCACACCCCCAAUGCGAAUCAUGGUGUUCAAGUGUAUCUGUCUUAUGUUCCGUAUUUGAUCAUAAACCGGCAAAUUUGUGAUC	114	
Hidroxi-3-Metilbut-2-	sentido	200	CUGAAGCUGGUGAAGGUGAAGAUGGACGAAUGAAAUCUGCGAUUGGAAUUGG	173	Sin fenotipo

enil difosfato sintasa (HMEDS)			GACCCUUCUUCAGGAUGGCUUGGGAGAUACGAUCAGGGUGUCUCUAACAGAACCACCAGAAGAGGAGAUAGACCCUUGCAGAAGGUUGGCAAAUCUUGGAACAAAAGCAGCUGAAAUUCAGCAAGGAGUGGCACCAUUUGAAG		significativo
	antisentido	200	CUUCAAAUGGUGCCACUCCUUGCUGAAUUUCAGCUGCUUUUGUUCCAAGAUUUGCCAACCUUCUGCAAGGGUCUAUCUCCUCUUCUGGUGGUUCUGUUAGAGACACCCUGAUCGUAUCUCCCAAGCCAUCCUGAAGAAGGGUCCCAAUUCCAAUCGCAGAUUUCAUUCGUCCAUCUUCACCUUCACCAGCUUCAG	174	
TF (FIE) de endosperma indpendiente de fertilización	sentido	183	UCCCAUCAAAGUUCCCUACAAAAUAUGUGCAGUUUCCUAUCUUCCUUGCCGCCAUUCAUACAAACUAUGUUGAUUGUACAAGGUGGCUUGGUGAUUUUGUUCUUUCUAAGAGUGUUGACAAUGAGAUUGUACUGUGGGAGCCAAUUAUGAAGGAGCAAUCUCCUGGAGAGGGUUCAGUUGACA	175	Sin fenotipo significativo
	antisentido	183	UGUCAACUGAACCCUCUCCAGGAGAUUGCUCCUUCAUAAUUGGCUCCCACAGUACAAUCUCAUUGUCAACACUCUUAGAAAGAACAAAAUCACCAAGCCACCUUGUACAAUCAACAUAGUUUGUAUGAAUGGCGGCAAGGAAGAUAGGAAACUGCACAUAUUUUGUAGGGAACUUUGAUGGGA	176	
subunidad RPT5B de 26S proteasoma de ATPasa	sentido	143	UUGUGCUUAAAACAUCGACCAGACAGACAAUAUUUCUUCCUGUUGUUGGACUAGUUGAUCCUGAUACGCUGAAACCUGGUGAUUUAGUUGGUGUCAACAAAGAUAGUUAUCUUAUCCUGGACACUCUGCCGUCGGAAUAUGAU	177	Sin fenotipo significativo

(RPTB)	antisentido	143	AUCAUAUUCCGACGGCAGAGUGUCCAGGAUAAGAUAACUAUCUUUGUUGACACCAACUAAAUCACCAGGUUUCAGCGUAUCAGGAUCAACUAGUCCAACAACAGGAAGAAAUAUUGUCUGUCUGGUCGAUGUUUUAAGCACAA	178	
ligasa 1 (LIG1)	sentido	159	CGCUGCAGUUGGUGAAGUAGAUCCCGGCAAGGGGAUUUCACUCCGGUUUCCACGUCUGGUUCGUAUCCGAGAGGAUAAAUCUCCAGAGGACGCCACAUCAUCUGAGCAGGUGGCGGAUAUGUACAGAUCUCAAGCAAACAAUCCACACCGCAAAAAGAG	179	Sin fenotipo significativo
	antisentido	159	CUCUUUUUGCGGUGUGGAUUGUUUGCUUGAGAUCUGUACAUAUCCGCCACCUGCUCAGAUGAUGUGGCGUCCUCUGGAGAUUUAUCCUCUCGGAUACGAACCAGACGUGGAAACCGGAGUGAAAUCCCCUUGCCGGGAUCUACUUCACCAACUGCAGCG	180	
ARNt sintetasa (tS)	sentido	159	UAAAGAUGGCGGAAAAAUCGACUAUGAUAAAUUGAUUGACAAAUUCGGCUGUCAGCGACUUGAUUUAUCGCUCAUUCAGAGAAUUGAGCGCAUCACUGCUCGUCCUGCUCAUGUAUUUCUUCGCCGCAACGUUUUCUUCGCUCACCGUGAUUUGAAUGA	181	Sin fenotipo significativo
	antisentido	159	UCAUUCAAAUCACGGUGAGCGAAGAAAACGUUGCGGCGAAGAAAUACAUGAGCAGGACGAGCAGUGAUGCGCUCAAUUCUCUGAAUGAGCGAUAAAUCAAGUCGCUGACAGCCGAAUUUGUCAAUCAAUUUAUCAUAGUCGAUUUUUCCGCCAUCUUUA	182	

Proteasa 14 específica de ubiquitina (UBP)	sentido	150	UGAAGCUGAUGCUGAAGGAAAGGAUAUUGAUGCUAGUGAAGUAGUUCGCCCAAGGGUGCCAUUAGAAGCUUGCCUAGCUAGCUACUCAGCUCCGGAGGAGGUGAUGGACUUCUACAGCACUGCAUUGAAGGCAAAGGCAACUGCUACAAA	183	Sin fenotipo significativo
	antisentido	150	UUUGUAGCAGUUGCCUUUGCCUUCAAUGCAGUGCUGUAGAAGUCCAUCACCUCCUCCGGAGCUGAGUAGCUAGCUAGGCAAGCUUCUAAUGGCACCCUUGGGCGAACUACUUCACUAGCAUCAAUAUCCUUUCCUUCAGCAUCAGCUUCA	184	
Serina hidroximetil transferasa 2 (SHMT)	sentido	155	ACACCUGCCCUAACAUCUCGGGGUUUUCUCGAAGAAGAUUUUGUUAAAGUGGCCGAGUAUUUUGAUGCUGCUGUUAAGCUGGCUCUAAAAAUCAAGGCUGACACAAAAGGAACAAAGUUGAAGGACUUCGUUGCCACCUUGCAGUCUGGUGUUUU	185	Sin fenotipo significativo.
	antisentido	155	AAAACACCAGACUGCAAGGUGGCAACGAAGUCCUUCAACUUUGUUCCUUUUGUGUCAGCCUUGAUUUUUAGAGCCAGCUUAACAGCAGCAUCAAAAUACUCGGCCACUUUAACAAAAUCUUCUUCGAGAAAACCCCGAGAUGUUAGGGCAGGUGU	186	
Metionina-ARNt ligasa/sintasa (MtS)	sentido	159	UGAACUACGAAGCAGGCAAAUUCUCCAAAAGUAAAGGCAUUGGAGUUUUUGGGAAUGACGCCAAGAAUUCUAAUAUACCUGUAGAAGUGUGGAGAUACUAUCUGCUAACAAACAGGCCUGAGGUAUCAGACACAUUGUUCACUUGGGCGGAUCUUCAAG	187	Sin fenotipo significativo.

	antisentido	159	CUUGAAGAUCCGCCCAAGUGAACAAUGUGUCUGAUACCUCAGGCCUGUUUGUUAGCAGAUAGUAUCUCCACACUUCUACAGGUAUAUUAGAAUUCUUGGCGUCAUUCCCAAAAACUCCAAUGCCUUUACUUUUGGAGAAUUUGCCUGCUUCGUAGUUCA	188	

Ejemplo 30

201) Este ejemplo ilustra polinucleótidos diseñados para dirigirse a una región de homología secuencial baja específica y son útiles, por ejemplo, para seleccionar un alelo específico de un gen objetivo o un gen de una especie específica. Los polinucleótidos diseñados para dirigirse a secuencias antisentidos son útiles para regular ARN antisentidos que participan en la regulación génica, por ejemplo, regular ARN antisentidos que que se procesan en ARNip en una vía regulada por iARN. La Figura 34 muestra una alineación del promotor de locus 1 de PDS de Nicotiana benthamiana (SEQ ID NO:319) y del promotor de locus 3 de PDS (SEQ ID NO:320); en el caso del locus 1 que contiene múltiples sitios de inicio de transcripción, la secuencia promotora usada en esta alineación es la que tiene más sitios de inicio de transcripción en 5'. Se descubrió que los genes PDS1 y PDS2 de Nicotiana benthamiana tienen baja homología secuencial en la región promotora pero alta homología secuencial en la región sentido.

202) Los polinucleótidos diseñados para dirigirse a partes diferentes de los promotores de PDS1 y PDS2 se muestran en la Tabla 21.

Tabla 21

Mezcla	Polinucleótido	Objetivo del promotor	Secuencia	SEQ ID NO.	posición/dir
2	HL419	Motivo del promotor 1 de PDS objetivo	TCCCATCTCCCACATGGGTTACTG	189	590-567
2	HL420	Motivo del promotor 1 de PDS objetivo	CAGTAACCCATGTGGGAGATGGGA	190	567-590
2	HL421	Motivo del promotor 1 de PDS objetivo	GGCTGATGAAATTCAAGTGCTA	191	557-536
2	HL422	Motivo del promotor 1 de PDS objetivo	AAACTGAGCTTGGAAATAATC	192	517-497
2	HL423	Motivo del promotor 1 de PDS objetivo	GAACCCAAAATTGTCACTTTTT	193	448-427
3	HL424	Motivo del promotor 1 de PDS objetivo	ATGCACTTGTTTATACTCTTGTCA	194	403-438
3	HL425	Motivo del promotor 1 de PDS objetivo	ATTTATTAGTGTTCTAAAGAA	195	357-337
3	HL426	Motivo del promotor 1 de PDS objetivo	TGTAGTAGCTTATAAGATTAGCTT	196	287-264
3	HL427	Motivo del promotor 1 de PDS objetivo	GTTGTCCCTTTTATGGGTCTTT	197	240-183
3	HL428	Motivo del promotor 1 de PDS objetivo	CCCGTGCAATTTCTGGGAAGC	198	86-66
5	HL429	Motivo del promotor 2 de PDS objetivo	ATTAGTTTTTTATACACGAAAGAT	199	1313-1336
5	HL430	Motivo del promotor 2 de PDS objetivo	ATCTTTCGTGTATAAAAAACTAAT	200	1336-1313
5	HL431	Motivo del promotor 2 de PDS objetivo	TTGGTGGTTTGGCCACTTCCGT	201	1291-1270

5	HL432	Motivo del promotor 2 de PDS objetivo	TTTGTTTGCTATTTAGCTGGA	202	1256-1236
5	HL433	Motivo del promotor 2 de PDS objetivo	CAATTTGCAGCAACTCGCACTGGA	203	1205-1182
6	HL434	Motivo del promotor 2 de PDS objetivo	TCCCACCATTGGCTATTCCGAC	204	1156-1135
6	HL435	Motivo del promotor 2 de PDS objetivo	CTGTCTCTCTTTTTAATTTCT	205	1105-1085
6	HL436	Motivo del promotor 2 de PDS objetivo	CCACTTTGCACACATCTCCCACTT	206	1056-1033
6	HL437	Motivo del promotor 2 de PDS objetivo	GAGGATCCACGTATAGTAGTAG	207	1016-995
6	HL438	Motivo del promotor 2 de PDS objetivo	TTTAAATAAAGAAATTATTTA	208	889-869
1	HL439	Promotor 1 de PDS	taatacgactcactatagggcttgagtttataacgaagct	209	
1	HL440	Promotor 1 de PDS	taatacgactcactatagggcttctaattttcaaggacg	210	
1	HL441	Promotor 1 de PDS	agcttctaattttcaaggacgata	211	Antisentido
1	HL442	Promotor 1 de PDS	gtcATGtgactccacttttgattttg	212	Antisentido
1	HL443	Promotor 1 de PDS	ctcaattccgataaatttaagaaat	213	Antisentido
1	HL444	Promotor 1 de PDS	cgaagctattggaccgacctaatttc	214	Sentido
1	HL445	Promotor 1 de PDS	ggaattgagggcttccagaaattgc	215	Sentido
1	HL446	Promotor 1 de PDS	ATGacttttgattggtgaaactaA	216	Sentido

4	HL447	Promotor 2 de PDS	taatacgactcactataggtggaactccaacacacaaaaaatttc	217	Sentido
4	HL448	Promotor 2 de PDS	taatacgactcactataggttgaaaaataatcataatttta	218	Antisentido
4	HL449	Promotor 2 de PDS	gcataatatattgatccggtat	219	Antisentido
4	HL450	Promotor 2 de PDS	ctgaaagttcatacataggtactc	220	Antisentido
4	HL451	Promotor 2 de PDS	ggtactccaattttcagtatat	221	Antisentido
4	HL452	Promotor 2 de PDS	ctgaaaattggagtacctATGtAT	222	Sentido
4	HL453	Promotor 2 de PDS	ATGtATGaactttcagaatattatacc	223	Sentido
4	HL454	Promotor 2 de PDS	taccggatcaatatattATGct	224	Sentido

203) Se evaluaron seis combinaciones diferentes de polinucleótidos (1 nanomol/planta de cada polinucleótido aplicado) tal como se indica en la Tabla 21 y se ilustra en la Figura 35 en plantas de Nicotiana benthamiana de 4 semanas usando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 12. Las soluciones polinucleotídicas se prepararon en 0,01% (v/v) de Silwet L-77 y 2% (p/v) de sulfato de amonio en 5 milimolares de fosfato de sodio, pH 6,8. Se sumergieron dos hojas completamente expandidas por planta en solución de 0,1% de Silwet L-77 preparada recientemente con H2O bidestilada durante pocos segundos y se dejaron secar. Aproximadamente 30 minutos después, se aplicaron 20 microlitros de solución polinucleotídica a cada una de las dos hojas pretratadas. Las plantas testigo positivo se trataron de forma similarl con un oligonucleótido de ADN dirigido a un segmento conservado de la región sentido de PDS1 y PDS2; las plantas testigo negativo se trataron de forma similar con un oligonucleótido de ADN diseñado para silenciar la proteína verde fluorescente (GFP). Las seis combinaciones de polinucleótidos diseñados para dirigirse a las regiones promotoras de PDS1 o PDS2 indujeron el silenciamiento sistémico en las plantas tratadas tal como se evidenció por el blanqueado. El tratamiento con polinucleótidos de ARNbc o ADNbc de aproximadamente 200 bp y

dirigidos a las regiones promotoras de PDS1 o PDS2 también indujo el silenciamiento sistémico en las plantas tratadas tal como se evidenció por el blanqueado.

204) Las siguientes secuencias genómicas adicionales (incluidos el promotor y la secuencia del intrón y exón transcrita) indicadas en la Tabla 22 se identificaron para los genes de Amaranthus palmeri para uso en el diseño de polinucleótidos para aplicación tópica:

Tabla 22

Nombre del gen	Secuencia	SEQ ID NO.
ACC1	ttcaaaatgaatttaaaattatataaaaatcaatatggacacaagaccggatatc aatccgacccgaaatagttgacttgaaatcaacctgatgacccgaatgaacac ctctagttatcactaacaagggtcagattgcgtacatcaaacccctcaaatcctg cttaggtgggagcttgtcaatggcttaggggtaacgggaatgtgtgtgctatgtac attgtgcatctattcttatgcttatttatgttgagttagttttttttttggatcaaatataaa gagcttaacttttgtattttcttgatgtggtgtagtggtgatgaagatcaggctGAG AGAATCTAAATTGGCCAAAATTCTGAGAGAACAAGAA GTGAGTTCAGCCCTTCGTGCTGCTGGTGTTGGTGTGA TTAGTTGCATCATACAGAGAGATGAAGGGCGAACTCC GATGAGGCATTCATTCTATTGGTCAGCAGAAAAACAAT ATTATAGTGAGGAGCCTTTACTACGTCATTTGGAACCC CCTCTATCTATGTATCTCGAGCTGGtactagtctctgaaccgatt gcctttcttctgctttgttattttgtgtgatatttcgacttaagtctaatttacatcgttttgt acatttgttatc	225
ACC3	ttttgctttttactattatttccttctttcaaggatttgagttgtttattgctgactgcttcct atgtattacccatatgtctctgtataggcattacgggagctgtacctacaTCTAA CTCCTATACAACGTGTGAATATTGCCCGGCATCCTAAT CGCCCCACTTTTCTTGACCACGTATTCAGCATCACAG AAAAGgtttctgatttattataatttttgtcatttgtattcactcttcaataaagtacat ccattatcaatctttacggaggttgttcacacaacttcttgtttcattttgcataattAG TTTGTGGAACTACATGGAGATCGTGCTGGTTATGATG ACCCTGCTATAGTTACTGGCCTTGGTACGATAGATGG TAGGCGTTATATGTTCATTGGTCATCAAAAGGGAAGAA ATACGAAGGAAAATATTGCACGGAATTTCGGGATGCC TACTCCTCATGGgtaaatgctttactataatgttttactttaatttaattaccta	226

	tgttatttaggatgaaaatgaatacttttcttattactattacttaggttcctaatgcac aaaaaccgtaattattaatgtaccctaatggaattaacacatggtaattaagctct ccgctttgtgtaattaatccaatttttagagagtcaaatagttcaggttaaactaga gcttttcatacccaaataataaaaccaagggtaaatttccaaaa	
ACC4	atgtgatcaattaaagaaaaagtctaattatatgagcccgtctcacagtgacgg agctatcatagagcccatggggtcacgtgcccttcgggggttttagaaaaaattc aaagtatacttttctattaataagagtaaaaatgtaaaattaatattaaactcttttg ataataaatactctctcactttagtaattttgtcttatttatttattttatctcatgtgtttaat aaggtcagttgacttattttgttccattttcttttatggtatgccgtatttaaaattttagc aagtaaagataaaatagttgttaatcttacaaataaaactctatcgaaatttcatc cattagttaatgtccccaaaaagtccgaactacaaatcgaccactgtcatcacat ggtgagatagtctcatataaaacgagttcagttattaaaggaaaataggaaac acgaaacagttaatttaggcggggcctatgtattatccaaatgtgatactccagtc cacattactcagtccttccaattgaacagttggcttaatctaccaagcgcgtggcc ataaatgcctctaacacttttcaatctctcagataactctcacaccACTTATC ATCACAATTCACAATTACTCTAATTCTTTTTATTCCTTT CCATGTCGCTAATTTTCTACTGATTCAGGTTttattctcagctt ttatcaattttatttcatgctttttatgtcaatttcttgtttcgcattttgtcttccacttgctgt ctgttttattaatcaattttgtatgattgttggaataattgtatgtatttttcatgattttcctc ttatggaggttcataatgtattgctagatttgtttactttcac	227
ACC5	aatttgagcgggaaaattttaatatcattaaatagtctttgctttagtatatagaata gttaaaattaatagtcaaacttattgtaatagcatgcactaatctataataatcttat cctgaaagctataataaaattataaaaaaatatatgtgaaaaactaatttgagc gggaaaattttaaccaagggctaacacgtatcattaaatagtctttactttagtata tagaatgataattaacgatcataaaacaaaattgtcactttcagtagcaaactta caaaatgagcagagtacctcatatcataaaattgcttctttctcatttgttgtgttgct ctcattttaggaGTTCATCGTTTATATCGTCGTCTTACCACTC AATCACTTTTAGATTTATTAGTAGCACTTCCTCAATCTA CAGCAGCAATTTCTACAGTTCAACAACCTC	228
ACC6	ggaaaatttacctagaataatccaatttattcgtgatttttctacaaattccaacttca aggggtatttgcctaaagtaattaaacttggataccccgatgacctgctatagta gataatttaccagaaaattaaaaatgaaaattaatttaaaattagagaaaaatttt gaaatttcatataaaaaatttttaaataataaaaaaaatataaatttttttgaacatttt attttaatctatctttttttgaaaaaataaaacttagttatagcaagtgatctggtcacc gggtttactctaggaaaatatccctcaaagttgagattattcatggttaataaatag	229

	gtgagattattatagaaaaattacgaataaattggattattgttggtaatttttttttca aaactatccctaggaaggaccttattagtgattctccctctactttggaggagtata ttgtggacttcccatcttccttaattgtattgtaacttttaactattgattctttaaaaaa aagaacttataaaattgtagggttaataaaatctaagattttatctaatttcactttg attattccgattttgtattcacattattttaaatgacattcgtcaaataaaaaaaaata gtttcattgcattccaattttgttgactaggggattaaagaaagaatagtatcaat aatcgtaatgtagcaagtagtacaaaagaagtatatttcaatatgtcaaactttga tctcgttgtaacttgtaatttgtacgatgcggtgtgaatgacatacttcacctttttcatt attttatactggtagtgacatgggattattattgcgatatttgcagtaatgaaaatttttt ttggttgttgcttttacaaacaaaaattctaccgaatttttattaatttaattcaacac gttggtgttacccatgatttataggtctgggtccgccactgctagctaacattaaac aatttaacaaactcaatacaccaacctaaaaataaaatttttttggccataatttttt agaattttagtttttaaacattatatttgggaatttttttccttttatatatataaaataaa aaaaaatccaaaaaaaggggacacacattaatacacacttgaaagcatcgat gatatcgaagaaaaaccagatggggtgcccaattatcttcgtctccttcgatatta tcgaattcattaacaacattatatcaaaaaccaacCAAATTACCAACTT TCGAAACCAATATTCGCCGTATTTTTCTCTATTCAACA ATCCCTACAATGGCGGCATTGCCAGCTTCTTCTTCTC CTGCAATTTCGGAATCACCCACTTGCAATTTTCTTCCT ATTCAAAAAATCACTACCACTCGCTTTCTAAGGTTTCA TTCGGTTTTACTCCCAAGCCTAAATTTGGCCTTTTCTC CAAGgtttattttctatctctttttaattggttaatcaattggattgttgaatttttcagg gtttaacggtataatatttgtgggttttttcgagtacattctgggtttgtagtattggattt ggcattgcttttaatttttgagattgggtttttttgggttttatttggttcttgtgattcaaggt tattgatttgctgcattaaactgtatttatggaatgatgtcaattaactgttacattaca ttgctttatggttttcatcatgctgattagtgattactgtgtttgaatctcttgcttctctat gtactatttaatctgatacaacaagtacaacctagaaaacaggttaaagggaa atctataagcttagtaaattaacacttgaaagaagctaatgacggagagaggg gtctttttggagaaggcagttttcatattattgctcagttctctagtgcagctttacttca cttagacactcttaagtagaggtcataggtgttcagaatagatccaaagacccg atatttaccggactttgtaaacaacttaacccgacttcaaaatgaatttacaatcat ataaaagcaatatggacttaaaccgattttgaaccgaccttgaccggttgatccg aatgaatgcctctactcttaagcatgtcaactgtaatatgaaatagaattataatat aaactaagttcatgttttcttcaactacaaatgaaattttatgacccaaataatgtgt gaatacccccagcaataggttgaatggcatttagttcagttgattttagcagacca	

	catctgccctcatattccattgttcagtttagttgttagtagctgtacataatagacta attaagttgtcattttgatccatgttatggttgtctgggataaacggattggaattgta taataaaagtttgggttagtttattttgctctaggaggggttatgtcatatgtgcactct gttggcaacccgacaatgcaaaacattttcatacttggtacgttgttgcgtgttttgt gcccttcgtattttgtaactgttgatgaatgtgtaaaaatatactacatgatcatatg ctagtaggtcttcttcacctagtaaagaaatttttctaacacgagaagttcaaaac atattcccattaccattatccaacatcagtacccgagtccaagtaacatagggtg tccctttatgatagtataagaattggtgcatgaaaaacgcgtgattgtagcgagg atagtaggcgggagaggtacaggatttgaaaattttgaattgctaaaacgctatc aggatcttgtttttcttactttgatgttgctttttgaaatttgatccaaattgttaaattatt gagactaattcctgttgatcctgtcgtgaactttgtAGAATCTTTCAGGCC GCATTCTCACAGTGAAGGCTCAATTAAACAAGGTGagtc ttttttgtcttaactcttatgcagttcattatctcttctactgatgagaaaaccactattt ggcctaattctaatttccttctaggttgcTTTGGATGGTTCAAATCATG CTCCATCACCTTCGCACGAAAAATCTGGGCTACCAGC CCAAGAAAAGAAGAACGATGAGCCGTCTAGTGAATCT TCTCCTGCAGCATCAGTGTCTGAAGAACGAGTCTCCG AATTCTTGAGCCAAGTTGCCGGTCTTGTCAAgtatgtaaca ttctttattttcattcttccacacactcgcaatttggataacgagatgtctttagagac gtctggggaacaagggagaaatgagtctagaggttgctagagagaacgaga taaatactaatatatatgaatatttcataatccacattaaaaaaatacaattgaattt gcattatggtgaactaccaaagaatcgaatatttttaatactccatgttttgtggtct agACTTGTGGATTCTAGAGACATTGTAGAGTTGCAATT AAAACAACTGGACTGTGAGATATTGATCCGCAAGCAG GAAGCTATTCCTCAACCACAAATTCCTAATCCTACACA TGTCGTTGCAATGCAACCACCACCACCTGCTGTAGCG TCTGCCCCAGCTCCCGTCTCTTCACCAGCCACTCCTC GTCCTGCGTTACCTGCCCCAGCGCCTGCTGCCACGT CAGCTAAGCCATCACTTCCACCTCTCAAGAGCCCTAT GTCAGGCACATTCTACCGTAGTCCAGCTCCTGGCGAG CCGCCTTTCGTGAAGGTaagtgtatacccctttttagtgttgtatttctgt gttatatcaatttttgcattttgtgaagctgaaaataaatctttcattttccatAGGT TGGAGATAAAGTTAAGAAAGGACAAGTCATATGCATTA TCGAGGCTATGAAGTTGATGAATGAAATCGAGGtacgtat gttattgctttaaacttcatgccttaggccgtgaagtt	

ALS1	acaaaaagcacaaattcaataatatactctttaagtttgtttatcttctaattagttcg gttaaaacggttccccactttcttctccgactctcacaattatcttcccctattcatttttt cttccaccctctctaatggcggctGTTTCCTTCAATATCAATGGTG GAAAGATTGGAACTTTATGTTCAAGACACGAATTCGTT TGTGGGTTTGTAAGAAAATTTCATTTTAGAACTCATAC TTCTATATTTGAAAAACATATGCCAAAAACTTCAAGGTT TAAAGCAATGGAAGTTTCTGCAAATGCAACAGTAAATA TAGTTCCTGTTTCAGCTCATTCTAGGtaattttatttctcgaaaat ttccgatttacaattaaattaatcttgttttgtaggtaatgaattgcagaagaaatag atggattcttatttgtttattggtatttgtttataaatttttgtttatattagtttctgaattgtg attattctgattgtatgtcaaggtttaggttgttattaataaatgtaaattggattgattg aagttgcaataaggtgatggcgtgatgctgattgttgtaaatttt	230
ALS2	caacaatgagaatttagaatccatatcaatcttgatattcaagggtatttaagtaat taaagaacaaccattgttaagcgcctccactatcttcttccttctcattctccattctc gcttagctttcctctcgcactAATTACCTCCATTTGCAACCTTTCA AGCTTTCAACAATGGCGTCCACTTCTTCAAACCCACCA TTTTCCTCTTTTACTAAACCTAACAAAATCCCTAATCTG CAATCATCCATTTACGCTATCCCTTTGTCCAATTCTCTT AAACCCACTTCTTCTTCTTCAATCCTCCGCCGCCCCCT TCAAATCTCATCATCTTCTTCTCAATCACCTAAACCTAA ACCTCCTTCCGCTACTATAACTCAATCACCTTCATCTC TCACCGATGATAAACCCTCTTCTTTTGTTTCCCGATTT AGCCCTGAAGAACCCAGAAAAGGTTGCGATGTTCTCG TTGAAGCTCTTGAACGTGAAGGTGTTACCGATGTTTTT GCTTACCCTGGTGGAGCATCCATGGAAATCCATCAAG CTCTTACTCGTTCTAATATCATTAGAAATGTTCTTCCTC GACATGAACAAGGTGGGGTTTTCGCTGCTGAAGGCTA CGCTCGTGCTACTGGACGCGTTGGAGTTTGTATTGCC ACTTCTGGTCC	231
EPSPS1	atttggataacttttccttgattcgaatcggattattttaatacagtattatgaactg atttaatgaaagtggaggaagtttcaatttttaaagttgtaggtgtaatgttttctcatt ttggatatgaaagtggaggaagtttcaatttcgaatcatgtttgccagttgattcaat gaatgctcttggaaatgaccaagagttcaaggcttcttgttataaaacatttcaatt ttgatctaagaatgaactatttagaacttaaagtaattaaattattagttataacttat aaaaaaattcaattttaaccttaaatttataaattatgaccttaaaaagatcaagta	232

	ttgaacgcatatttagaaaaattataattcggcttatcagtctcatattgagacggt ctcgtccaagacaagttgtatcatttatataatcaaatataattatgagtgtattcat gtaggtttcaactttaaagcctaggtgaaagatatgttgtagcatctttgtgaaagt cagcctataacttggttctaaaattttgaagcataaccatatagtccctcgaattca ttcaagttgtccaatttacttttttatacttgccgagacaacatttaaacccttaatattt ctaattaatcttaattaaaaattatgaaaatttgatattaataatctttgtattgaaac gaatttaacaagatctcacatgactatgttttaacttatagattaaaaaaaaatac aaattaagagtgataagtgaatagtgccccaaaacaaatgggacaacttagat gaattggaggtaatattaggtagcaagtgatcactttaacatcaaaattgatcact tataggttcaaattgaaacttttacttttaattgatatgtttaaatactactttaaattga aattgatatttttaaggtcaaaattgaaacctttaagattataattgaaaattggca gaagaaaaacaaagagaaagaatataagacacgcaaattgtaccgatctac tcttatttcaatttgagacggtctcgcccaagactagatgttcggtcatcctacacc aaccccaaaaaattcaacaacaaagtcttataatgattccctctaatctactaca gtctacaccaacccactttctctttgcccaccaaaactttggtttggtaagaactaa gccctcttctttcccttctctctctcttaaaagcctgaaaaatccacctaacttttttta agccaacaaacaacgccaaattcagagaaagaataATGGCTCAAGC TACTACCATCAACAATGGTGTCCAAACTGGTCAATTGC ACCATACTTTACCCAAATCCCAGTTACCCAAATCTTCA AAAACTCTTAATTTTGGATCAAACTTGAGAATTTCTCCA AAGTTCATGTCTTTAACCAATAAAAAAGAGTTGGTGGG CAATCATTCAATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTTG CTGCTGCAGCTGAGAAACCTTCATCTGTCCCAGAAAT TGTGTTACAACCCATCAAAGAGATCTCTGGTACTGTTC AATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTT CTTTTAGCTGCTTTGTCTGAGGtatttatttctcaactgcgaaaac aatctctatttgatattggaatttatattacatactccatcttgttgtaattgcattagta gatacttatgttttgaccttttgttcatttgtttgttgaattggtagtgttgagaatttgaat gtaattatttgtttttccatgtgaatttaatctgattaaatccacttcttatttatgttaagtt gcaatgatgtttgccaaatggttatcattgaaggataagtttgcctacttttgaccct cccaacttcgcggtggtagagccattttatgttattgggggaaattagaaagattt atttgttttgcctttcgaaatagtagcgttcgtgattctgatttgggtgtctttatagatat gatatatgggttattcatgtaatgtgtaggtttatgcattatgttggatgcatgtctggt gttattgctgtaaatggatgaatgttgttatttggagacatttttttcattcatttttttccctttt ttaattggaactggaagagggaaagttattgggagtaattaaaaggttgtgagtt	

	cgatacactgcatcaaagacgaagaacttgacatagatgttgaaggctaatcct tatcactgcttgaattcaatatgtatctgaaaattttacccctctatatgcatctgttttt gctaataaagtgtttttggactatcatgttttgtgatgcttaagagggtgatattactg agataaatggaaatatcaaaataacatctattgtgaagt	
EPSPS2	CAAGCTTCAATTATCGTTTTCAAAATAAGTATTTCAAAG TCTATAAAGATATTGTATAAGTTTTAGTTCAAATTTAAT AAGttTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAAAATCCAAA TTGAATAAGTTAATARTTAAATTATGACATATAATTATG ACATATAATTTGACCATGATATTTTACAATCTAACTTAA TTTTGAACTTATTATTTCTAATATTCAATTATCGTTCTAA AAATAAGTATTTAAATTGTATAGATATATTGTATAACAT TTAGTTCAAATTTAATTATTGATAGTTTTATTGACTATTT ATTTGGKGTTTGAAATTCATCCATAGAATGATAGAATA ACACCATTTTTTATATAACTTCGTTCTAAAATTTTGAAG CATAACCATATACTCCCTCCAATTCATCCAAGTTGTCC AATTTACTTTTTCATACTTGCCGAGGCAACATTTAAAC CCTTAATATTTCTAATTAATGTTAATTAAAAATTATGAA AATTTGATATTAATAATCCTTGTATTGAAACAAATCTAA CAAGATCCCACATGACTATGTTTTAACTTATAGATTAA GAATAAAATACAAATTAAGAGTAATAAGTGAATAGTGT CCCAAAACAAATAGGACAACTTGGATGAATTGGAGGT AGTATTAGGTAGCAAGTGATCACTTTAACATCAAAATT GATCAGTTACAGGTTCAAATTGAAACTTTTACTTTAATT GATATGTTTAAATACTACTTTAAATTGAAATTGATATTC TTAAGGTCAAAATTGAAAACTTTAAGATTATAATTGAAA AATGCCCAGAAGATGAAAAAACAGAGAGAAAGCATGT AAGACACGCAAATTGAACCAGTCTACTCTTGTTTCAAT TTGAGACGGTCTCGCCCAAGACCAGATGTTCAGTCAT CCTACACCAACCCCAAAAAATTCAACAACAAACTCTTA TAATGATTCCCTCTAATCTACTAGAGTCTACACCAACC CACTTTCTCTTTGCCCACCAAAACTTTGGTTTGGTGAG AACTAAGCCCTCTTCTTTCCCTTCTCTCTCTTAAAAGC CTAAAACCCACCAACTTTTTCAGCCAAGAAACAACGC GAAATTCAGAGGAAGAATAATGGCTCAAGCTACTACC ATCAACAATGGTGTCCATACTGGTCAATTGCACCATAC	233

	TTTACCCAAAACCCAGTTACCCAAATCTTCAAAAACTC TTAATTTTGGATCAAACTTGAGAATTTCTCCAAAGTTCA TGTCTTTAACCAATAAAAGAGTTGGTGGGCAATCATCA ATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTTGCTGCTGCAGC TGAGAAACCTTCATCTGTCCCAGAAATTGTGTTACAAC CCATCAAAGAGATCTCTGGTACTGTTCAATTGCCTGG GTCAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTTCTTTTAGCTG CTTTGTCTGAGGGCACAACAGTGGTCGACAACTTGCT GTATAGTGATGATATTCTTTATATGTTGGACGCTCTCA GAACTCTTGGTTTAAAAGTGGAGGATGATAGTACAGC CAAAAGGGCAGTCGTAGAGGGTTGTGGTGGTCTGTTT CCTGTTGGTAAAGATGGAAAGGAAGAGATTCAACTTTT CCTTGGTAATGCAGGAACAGCGATGCGCCCATTGACA GCTGCGGTTGCCGTTGCTGGAGGAAATTCAAGTTATG TGCTTGATGGAGTACCAAGAATGAGGGAGCGCCCCAT TGGGGATCTGGTAGCAGGTCTAAAGCAACTTGGTTCA GATGTAGATTGTTTTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGT TCGGGTCAATGCTAAAGGAGGCCTTCCAGGGGGCAA GGTCAAGCTCTCTGGATCGGTTAGTAGCCAATATTTAA CTGCACTTCTCATGGCTACTCCTTTGGGTCTTGGAGA CGTGGAGATTGAGATAGTTGATAAATTGATTTCTGTAC CGTATGTTGAAATGACAATAAAGTTGATGGAACGCTTT GGAGTATCCGTAGAACATAGTGATAGTTGGGACAGGT TCTACATTCGAGGTGGTCAGAAATACAAATCTCCTGG AAAGGCATATGTTGAGGGTGATGCTTCAAGTGCTAGC TACTTCCTAGCCGGAGCCGCCGTCACTGGTGGGACT GTCACTGTCAAGGGTTGTGGAACAAGCAGTTTACAGgt ataatgttaacccttacccttcacattgttctgctaaattctagaggacccttcaatt ctgggtgggataagcacggcaatttgaccgcaaaaaaattgcaaaattattctg ctgatagaacatctcgagatgagatcatattgagttttggcgtcaacataaacct aatcaaataatgaaaaatacaaacatcatatggtttcttttgtctttatgactagac actctctattattccttgattgggatcttatttgaaattgctgtgtagcctacacctcat gttcagattttgttcgtataccagacttttcttgattgggatcttatttgtcccctggatttt gcatagGGTGATGTAAAATTTGCCGAAGTTCTTGAGAAG ATGGGTTGCAAGGTCACCTGGACAGAGAATAGTGTAA	

	CTGTTACTGGACCACCCAGGGATTCATCTGGAAAGAA ACATCTGCGTGCTATCGACGTCAACATGAACAAAATG CCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGCCTTGTA TGCAGATGGGCCCACCGCCATCAGAGATGTGGCTAG CTGGAGAGTGAAGGAAACCGAACGGATGATTGCCATT TGCACAGAACTGAGAAAGCTTGGGGCAACAGTTGAG GAAGGATCTGATTACTGTGTGATCACTCCGCCTGAAA AGCTAAACCCCACCGCCATTGAAACTTATGACGATCA CCGAATGGCCATGGCATTCTCTCTTGCTGCCTGTGCA GATGTTCCCGTCACTATCCTTGATCCGGGATGCACCC GTAAAACCTTCCCGGACTACTTTGATGTTTTAGAAAAG TTCGCCAAGCATTGA	
GS3	tcttaatttgtattttattattaatctataagttaaaacatagtcaagtgagatcttgttt gattcgtctctatgcaaggattttcatatcaacttttcataatttttgattatacacaatt acaaatattaacgaacgaataagtgcattaaaaagagtgcaaaaagcaaat gggacacttgtgttgaataggagggagtatacattaagatgaatctaacgagat ctcacatggatataatttgtcttctatatatgtctaaaaaatcttgatcaaatttctcttt ccaaaatagaatattctaaatgggaagaacattaagaaacggagggagtact tataagttaagatagttgggggtatttaggtaaaaaaatctatgccaaaagtaga aagtggacaattagagtgactttactaaataaggaaagtggacatttaaaatga atcggagggagcatattaactttattttcaaagtgtgaaacataatcatatttaggt aaaaaaattatcaatttaacgtcaaaattgatcacaaataggttaaaattgaaat tttttatgttaattgatctattgttcactttaaattgaaattgatatcctttaaggttaaaa ttaatacctctaaaattaaaattattaaaggcccagaaaataaaaaaaaaaga agacaggctattagtaaaattattaagtatgtaaggttgatacacgcgcgaattg agccggcccacttttagtttcaatttgaaacagtctcaatcaagaccaattatttatt attttattattttattgttttaagctcaatgggttggacttgataaattatattttgaggag acgggctattagtaaaattaatagttggaatctttttgatatactataaaaagagg tATCTGGTGGAGCCTTAAATCTGCGCAATTGAAGTCCT CAATACACATCTCGCTCTTCTTATTCTCTTTCATCTATT TCCTCCTTTGATCAAACTACGCCATGTCTCTCTTAAAT GATCTCGTTAACCTTAATCTCTCTGAAACTACCGATAA GATTATCGCTGAATACATATGGtaatacaacaatccttcctctttttc attt	234

GS5	aaaaaaccgtcttatttgtagaaaataaaaaactaaaaagtagtatcaactttta gactagtcataagtgagtggcatcaaacttgttctataaaaagggaagagttcct caacttgagattcatatttttgtgatttctaaatAGAAGAACATACTCAT CTTCCACTTCTCTTATTCATCAAATTTTATTTGTTCCCC AAAAAAACATGTCTCTTCTTACAGATCTCATCAATCTTA ATCTTTCTGACTCCACTGAGAAGATCATTGCTGAAtacat atggtcagttttcatccctttttttaccttaatcccacttttgtttttacccaccatttttt catctattttctcttaaagattttaacttttactttttgtgtatataacattcatttttcaat tgggtaggttagaaaatttctataaataaataaataaatnnnnnnnnntaccttа atcccacttttgtttctacccaccatttttttcatcaatttttcttaaagattttaacttttttt aacttttcttggtttttgtgtatataccaatcatttatttttcactagtgtaggttaaaaaa tatctaaaaataaataaaatagaataaaaatgtaatcactagattaacccatga attatttcccttgtttttactcaaacttttacccttgttaaaaaaataatgatataaata aatttttgagggtttgttaaacccatatgtaatctatatcgaaaaaattagatagcg ggttttgttgtggacaaactaaataacaaatttaggaataaacttttgagggtttatt gaaaaaataacccatatttaatctatatcgaaaaaatgatagcgagctttgtata gat	235
HPPD	cgtcgaagtagaagacgcggaagctgcttttaacatcagcgtttcgcatggggc tattccctgtgtttctcctattcaattggaaaacggtgtcgttttatctgaggttcatttat atggggatgttgtgcttcggtatgtaagctacggaaatgaatgtggggatgtgtttt ttcttcctgggtttgaggaaatgccggaggaatcatcgtttagaggacttgattttg gcattcgaaggttggatcatgctgtagggaatgtccctgagttggctcctgcaatt gcttatttgaagaagtttactgggtttcatgagtttgctgagtttacagctgaagatgt tgggacgagtgaaagtggattgaattcagccgtattggcaaacaatgatgaaat ggtgttgtttccgatgaatgaacctgtgtatgggacaaaaaggaagagccaaat tcaaacttatttggagcataatgaaggggctggtgtaCAGCATTTGGCT TTGATGAGTGAAGACATATTTTGGACTTTAAGGGAGAT GAGGAAGAGAAGTGTTCTTGGTGGGTTTGAGTTTATG CCGTCGCCGCCTCCGACTTATTACCGGAATTTGAGGA ACAGAGCTGCTGATGTATTGAGTGAGGAGCAGATGAA GGAGTGTGAAGAGTTGGGGATTTTGGTGGATAAAGAT GATCAGGGCACTTTGCTTCAAATCTTCACCAAACCTAT TGGAGACAGGtaaattttaatcttgctttcaattgcttttgcttgatggattgact agcaaatttgatcgcattttgttgcttatatgacttgatgatacttcctctgtttcgaaa tactcgctacattcgctacattttgttttgtgcactattcatcgttcaagcttattttacat	236

	attgcgactaatgtgtaactaaaaatatagtcaagtgggatcttgtttgaatcgtct aatggcatactttcatcatattaaatttttataattttagattagtgtagtttaagatatt aatgctcaaaattgtgcattggattgcgtaaaaaagtgaaatgtagcaagtatta tgaaa	
PDS	aaaaccaaaggaaataagttataggtaggaaaaattgttattgaagttaatgta gtaaactagtaacttaaactgtgataccccggatttagcttaaaaagagattgat agactactcatatcaacaaggtgcatcttcttttctagggagcccatttgctaaga actctacagttaagcgtgcttggtggggagcaatcttaggatgggtgacctcctg ggaagttttcctgggtgcgcacgggtgaggccaaagtgcgttaaaaagacttgt gttggtctgtggggcttgtctacagtctccatgagtagtcaccggcggtacgaga ggccggggtgttacataaacagactcaaaggcgctaagccaagtagccaata gcaacatgtgtggcctgcggacagtcacaaaaacacacaatttcttatttttactc tcttttatctcttttaggctttagccatcaacaataaaacaacaTGATAAAGC AATTCATTTACTGCTAAATTCCAACAATTTGGTCCCTTT TTCCTGTTCTTTCAGTTTCACATACCCTCTTATCAATCT ATATCCAAAACTATTTCATTTTCCAAACTCTTTTAAACC CAAAAATCAAAACTTTTGATTGAAGAACAAACTTTGGG GGTTTTGGAAAATGAGTCATTTTGGATATGCTTGTGCT ACTCAATCCACATCAAGATATGTTCTTTTAGGAAATTC AAATAACCCCACTTCAATTTCATCTATTGGAAGTGATT TTTTGGGTCATTCTGTGAGAAATTTCAGT	237
PPOX	tggtacctaccctgtttacattttcaatttccccctttttttctctactactcctactttattg attcttatccatgtgtgttctatgggaattgacattaattgttcaggtgtgtatgctggt gatccttctaagttgagtatgaaagctgcatttggaaaggtctggaccttagagc aaaagggtggtagtatcattgccggtacactcaaaactattcaggaaaggaag aataatcctccaccgcctcgagacccgtccgtaatcaccattactcattgctttcct tcaccttgtatcttaccttaatatacatgtatttaattgataatgtcacattgcctcattt gcagccgccttcctaaacctaagggccagactgttggatcctttaggaaaggg ctcattatgttacctaccgccattgctgctaggtatcttttgactctcaaatcttaaat atttctcatcttctccttctgctaatactagtatgtttaccatctttttatttttTAGGCT TGGCAGTAAAGTCAAACTATCGTGGACACTTTCTAATA TTGATAAGTCGCTCAATGGTGAATACAATCTCACTTAT CAAACACCCGATGGACCGGTTTCTGTTAGGACCAAAG CGGTTGTCATGACTGTCCCTTCATACATTGCAAGTAG CCTGCTTCGTCCGCTCTCagtgagtatcattctttccttcatttcttttcgt	238

	ttattgttgtccaatgtcttgttaaacaccagtttggccttgtgctcgtgaattatggct acaatgttaactgattcaggcactgtgggagatgcctaagtttctaaaacctctgc gcataatgtttgtttggatgttaggaattgcattgaaaaattgcttttgtgatgttgatg ttaataccaattacaagtgtgttcttcaacttctgcaataccttgttcgagtgagcttg agggggtttagattagtgtccaatgtgaaactagcaaatgaactccaagcgctg ggataggtccttgggatggagcccctgatacccaagacagtattcaaaccctct aagtagagtgagagatcaaggaaagaaactgggtggttcctcaaatcgtaaa aaatgaatacagtgtcatgattgctaatcttatcacaaatcgtaaaaaatgaatta tggtcgattttggactatttttgggtcattttgagtgaatctcgaacttaaaaagcga gtcttctagcagttcttgttacagcggggcatacataggtaggaatttggtttttact atttgagccttttgactgttgtggccggtaatatggaatagtctagcacttctgcgtg tgtacaactagtatttattgtaattatgtgatcgcacttaactctcagataaaacctt aagcactaacattttgttttggttgaaggaatcaggaggaaagaaaattgaggg atttgttggtatatagattcctttgtttggataacaaaattggagtggagagatttgg aaggaagaattttatagggattagttcccattacacttatgttgattacaaaatttct ccaaaagtggaaagattttgagtgaaaatgttttttatttctcttcctctccctttctttc cctcttaaacaaacaaggaaagttaatcttatcattccgtaccttccccttctgttctt ttttttctctccaaaattcttatcctaacgtagtgttattgtcactgtcttatgaacgaga attcttttcttcctaatactgcttgtgttgcacagtcaatgatttagctagatcatctttg gttagctactcaaaatatttacataaaatacttgtagaaataaataccaataggtc ttgtcaagaagtagtttcaatgctataagttttaaccaatcctcaaaatttacaccat ggagatatctgcggataagaactagtaactgtagcagctgtaactgttgcaatc agttttatggtttgccttgcaaatcaaactttggatgttgtttgccttacaatttgttact attacgtgaagtttagtgttcgcccttcacattgtactttggtttttgttttccttgcaattt gctctttgaagtataaagtgctgagtgctgagtgctgagtgctgacctttcctgctc agGATGTTGCTGCAGATTCTCTTTCTCAATTTTACTATC CACCAGTCGCAGCAGTGTCCCTTTCTTATCCCAAAGA AGCAATTAGACCAGAATGCTTGATCGATGGAGAACTA AAAGGATTCGGGCAATTGCATCCTCGCAGCCAGGGT GTGGAAACCTTGGGtatatgctcccattcaactatatctcaatttttatga gtatttttctttctctgaattattcaatttggtgacgttaaattttgattgtactcgacaG GAACAATTTATAGTTCATCTCTTTTCCCTGGTCGAGCA CCACCTGGTAGGACCTTGATCTTGAGCTACATTGGAG GTGCTACAAATGTTGGCATATTACAAAAGgcaagtcatttata caattatatctgttgtatcctcaaataagtgggtatcaatcctgacgacatgcttgct	

	tgtatcgatgcagagtgaagatga	

Ejemplo 31

205) Este ejemplo ilustra una secuencia polinucleotídica que regula la expresión génica en más de una especie vegetal. Se identificaron dos regiones altamente conservadas en secuencias de EPSPS de diferentes especies de malezas y se muestran como las secuencias “Región 1” y “Región 2” en la Tabla 23.

Tabla 23

Especie/genero secuencia consenso	Región 1	SEQ ID NO:	Región 2	SEQ ID NO:
Euphorbia_heterophylla_1Contig1	AGTTTACAGGGAGATGTAAAGTT	239	TCGATGTGAACATGAACAAAATGCCAGATGTCGCTATGACATTGGCTGTGGTTG	251
Euphorbia_heterophylla_2Contig1	AGTTTGCAGGGAGATGTGAAATT	240	TCGATGTGAATATGAACAAAATGCCAGATGTTGCTATGACATTAGCTGTGGTTGC	252
Ambrosia_trifida_1Contig1	AGTTTACAGGGGGATGTAAAGTT	241	TCGATGTTAACATGAACAAAATGCCAGATGTTGCCATGACGCTTGCAGTCGTTGC	253
velvetleaf_1Contig1	AGTTTGCAGGGTGATGTAAAATT	242	TTGATGTCAACATGAACAAAATGCCAGATGTTGCCATGACTCTCGCTGTTGTTGC	254
Xanthium_strumarium_2Contig1	AGTTTGCAGGGTGATGTGAAATT	243	TTGATGTCAACATGAACAAAATGCCTGATGTCGCAATGACTCTTGCTGTGGTTGC	255
Ipomoea_hederacea_1Contig1	AGTTTACAGGGGGATGTTAAGTT	244	TTGATGTCAACATGAACAAAATGCCAGATGTTGCCATGACTCTTGCTGTAGTTGC	256
Chenopodium_album_1Contig1	AGTTTACAGGGTGATGTAAAATT	245	TTGATGTCAACATGAACAAAATGCCAGATGTCGCAATGACTCTTGCTGTTGTTGC	257
Digitaria_san	AGTTTGCAGGG	246	TTGACGTCAACATGAACAAA	258

guinalis_1Contig1	TGATGTGAAATT		ATGCCTGATGTCGCAATGACTCTTGCTGTGGTTGC	
Senna_obtusifolia_1Contig3	AGTTTACAGGGAGATGTAAAATT	247	TTGATGTCAACATGAACAAGATGCCAGATGTTGCCATGACGCTTGCTGTAGTTGC	259
Waterhemp_EPSPS	AGTTTACAGGGTGATGTAAAATT	248	TCGACGTCAACATGAATAAAATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGC	260
Palmer_EPSPS	AGTTTACAGGGTGATGTAAAATT	249	TCGACGTCAACATGAACAAAATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGC	261
palmer_1Contig1	AGTTTACAGGGTGATGTAAAATT	250	TCGACGTCAACATGAACAAAATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGC	262

206) La Tabla 24 muestra secuencias de polinucleótidos de ARNbc de 21, 22, 24, 35, 45 y 55 mer diseñadas en base a la secuencia consenso de EPSPS para la región 2, TNGANGTcAAcATGAAcAAaATGCCaGATGTNGCNATGACNcTtGCNGTNGTTGC (SEQ ID NO:263).

Tabla 24

Nombre	Secuencia	SEQ ID NO:
Consenso_21mer ARNbc	Sentido: AACAUGAACAAAAUGCCAGAU Antisentido: AUCUGGCAUUUUGUUCAUGUU	264 265
Consenso_22mer ARNbc	Sentido: AACAUGAACAAAAUGCCAGAUG Antisentido: CAUCUGGCAUUUUGUUCAUGUU	266 267
Consenso_24mer ARNbc	Sentido: CAACAUGAACAAAAUGCCAGAUGU Antisentido: ACAUCUGGCAUUUUGUUCAUGUUG	268 269
Consenso_35mer ARNbc	Sentido: UCGACGUCAACAUGAACAAAAUGCCAGAUGUUGCU Antisentido: AGCAACAUCUGGCAUUUUGUUCAUGUUGACGUCGA	270 271
Consenso_45mer ARNbc	Sentido: UCGACGUCAACAUGAACAAAAUGCCAGAUGUUGCUAUGACUCUUG Antisentido: CAAGAGUCAUAGCAACAUCUGGCAUUUUGUUCAUGUUGACGUCGA	272 273
Consenso_55mer ARNbc	Sentido: UCGACGUCAACAUGAACAAAAUGCCAGAUGUUGCUAUGACUCUUGCAGUUGUUGC Antisentido: GCAACAACUGCAAGAGUCAUAGCAACAUCUGGCAUUUUGUUCAUGUUGACGUCGA	274 275

207) Los polinucleótidos de ARNbc de consenso de EPSPS se sintetizaron mediante trancripción in vitro y se aplicaron tópicamente como preparaciones de ARN en bruto. Las malezas resistentes de glifosato (palmera amaranto de 16 copias e hierba de caballo) se trataron con los seis ARNbc consenso individuales (21, 22, 24, 35, 45, 55 mer); las malezas no resistentes a glifosato (hierba de caballo, palo zorrillo, digitaria, bejuco, quínoa

blanca, poinsettia salvaje) se trataron con los tres ARNbc consenso individuales más cortos (21, 22, 24 mer). Luego del tratamiento con polinucleótidos las plantas resistentes a glifosato se trataron con glifosato (1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®) y las plantas no reisstentes a glifosato se trataron con glifosato (105 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®). A los 7 días después del tratamiento se descubrió que los seis polinucleótidos de ARNbc consenso de región 2 de EPSPS proporcionan 100% de control (plantas muertas) de palmera amaranto resistente a glifosato; plantas de palmera amaranto testigo tratadas solo con glifosato no muerieron. A los 7 días después del tratamiento, se descubrió que los tres polinucleótidos de ARNbc consenso de región 2 de EPSPS más cortos (21, 22, 24 mer) evaluados individualmente proporcionan 95%, 80% y 65% de control (combinación de plantas muertas y lesionadas), respectivamente, de amaranto tuberculoso; las plantas de amaranto tuberculoso tratadas solo con glifosato propocionaron aproximadamente 40% de control (combinación de plantas muertas y lesionadas); y una mezcla de los tres polinucleótidos de ARNbc consenso de región 2 de EPSPS más cortos (21, 22, 24 mer) proporcionó aproximadamente el mismo control que el glifosato solo. Los polinucleótidos de ARNbc consenso de región 2 de EPSPS no provocaron un efecto observable sobre las otras especies de malezas (hierba de caballo, palo zorrillo, digitaria, bejuco, quínoa blanca, poinsettia salvaje) evaluadas.

Ejemplo 32

208) Este ejemplo ilustra el uso de un tratamiento con polinucleótidos tópico para silenciar trasitoriamente un gen en una planta para producir un fenotipo deseado. El silenciamiento de polifenol oxidasa en tejidos vegetales inhibe el amarronamiento de los tejidos vegetales cortados o lesionados, una rasgo valorable para frutas y verduras donde la resistencia al amarronamiento es un rasgo deseable.

209) Se diseñaron oligonucleótidos de ADN antisentido con las secuencias que se muestran en la Tabla 25 para dirigirlos a tres genes de polifenol oxidasa (PPO1, PPO2 y PPO3) de lechuga; el texto subrayado indica la secuencia T7 que se incluyó en los polinucleótidos antisentido.

Tabla 25

Oligo-nucleótido antisentido	Secuencia (5'-3')	SEQ ID NO.	Longitud
HH07	TAATACGACTCACTATAGGGCTTTATTGAATTTAGCTATGTAATC	276	45
HH09	TAATACGACTCACTATAGGGTTTATCAACCAAATGTGCAGC	277	41
HH11	TAATACGACTCACTATAGGGTTGTCTGTACATAATTGTGAGATTTGTGG	278	49

210) Se trataron plantas de lechuga de tres semanas (variedad SVR3603 L4) de la siguiente forma. Se pretrataron dos hojas fuente (hojas que son más viejas y tiene un ~60% de su tamaño en la madurez) en cada planta con 0,1% (v/v) de Silwet-L-77 y se dejaron secar (~15 minutos). A cada hoja se aplicaron en pequeñas gotas 20 microlitros de una mezcla de los polinucleótidos antisentido de polifenol oxidasa en una solución de 0,01% (v/v) de Silwet L-77 y 2% (p/v) de sulfato de amonio en 5 milimolares de fosfato de sodio, pH 6,8; cada planta se trató con 6,7 nanomoles de cada uno de los tres polinucleótidos HH07, HH09 y HH11 (para un total de 20 nanomoles por planta). Las plantas testigo se trataron con un polinucleótido HH02-05 no relacionado (antisentido para fitoeno desaturasa) o solo con solución amortiguadora (0,01% (v/v) de Silwet L-77 y 2% (p/v) de sulfato de amonio en 5 milimolares de fosfato de sodio, pH 6,8).

211) Aproximadamente 3 semanas después del tratamiento con polinucleótidos tópico, las hojas de lechuga " no tratadas" (es decir, las que no fueron tratadas con los polinucleótidos tópicos) se cortaron de la cabeza de la lechuga bajo agua y se incubaron en un recipiente con 1,33 milimolares de jasmonato de metilo en 5% de etanol. Las hojas se inspeccionaron para determinar el amarronamiento de las nervaduras centrales y se fotografiaron cada 24 horas. Se tomaron muestras de las plantas restantes y se congelaron para análisis de ARN pequeño y ARNm.

212) Las plantas tratadas con los polinucleótidos antisentido de polifenol oxidasa HH07, HH09 y HH11 exhibieron reducción considerable en el amarronamiento en las nervaduras centrales después del tratamiento con jasmonato de metilo. Las plantas tratadas con HH02-05 (antisentido para fitoeno desaturasa) como testigo exhibieron una leve reducción

en el amarronamiento de las nervaduras centrales en comparación con las tratadas con solución amortiguadora.

Ejemplo 33

213) Este ejemplo ilustra una composición herbicida adaptada para revestimiento tópico sobre la superficie exterior de una planta en crecimiento que comprende tensioactivo y al menos un agente letal para plantas, la mejora en donde el agente letal para plantas incluye polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o complementaria a la secuencia de un gen vegetal o a la secuencia del ARN transcrito del gen vegetal, produciendo los polinucleótidos la supresión sistémica del gen vegetal. Más específicamente, este ejemplo ilustra una composición herbicida adaptada para revestimiento tópico sobre la superficie exterior de una planta en crecimiento que comprende tensioactivo y al menos un agente letal para plantas, la mejora en donde el agente letal para plantas incluye polinucleótidos que producen la supresión de los genes endógenos de fitoeno desaturasa (PDS), 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) o ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCO) de Nicotiana benthamiana. Este ejemplo también ilustra el uso de polinucleótidos aplicados tópicamente para suprimir un gen expresado altamente (ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa) en una planta.

214) Se diseñó un polinucleótido antisentido con la secuencia CATCTCCTTTAATTGTACTGC (SEQ ID NO:34) para el gen endógeno de fitoeno desaturasa (PDS) de Nicotiana benthamiana, que tiene los fragmentos de secuencia de ADNc

ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAATTCAGCTT
ATCTTTGGAGCTCGAGGTCTTCGTTGGGAACTGAAAGTCAAGATGTTTGCTTGCAAAG
GAATTTGTTATGTTTTGGTAGTAGCGACTCCATGGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACT
CCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGACAAAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCA
TTGATTATCCAAGACCAGAGCTAGACAATACAGTTAACTATTTGGAGGCGGCGTTATT
ATCATCATCGTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGAGATTGTTATTGCTG
GTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGTCACAAAC
CGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGCTGCATGGAAAGATG
ATGATGGAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATAT
GCAGAACCTGTTTGGAGAACTAGGGATTGATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTC
AATGATATTTGCGATGCCTAACAAGCCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAA
GCTCTTCCTGCGCCATTAAATGGAATTTTGGCCATACTAAAGAACAACGAAATGCTTA

CGTGGCCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGCAATGCTTGGAGGGC
AATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGAGAAAGCAAGG
TGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATGTCAAAGGCACTTAACTTC
ATAAACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCATTTTGATTGCTTTGAACAGATTTCTTCA
GGAGAAACATGGTTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGC
ATGCCGATTGTGGAACATATTGAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAA
TAAAAAAGATCGAGCTGAATGAGGATGGAAGTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATGG
CAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCCAGTGGATATCTTGAAGCTT
CTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAAGTTGGAGAAGCTAGTGG
GAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTGACAGAAAACTGAAGAACACATCTGA
TAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCGTTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACA
TGTAAGGAATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAG
AAGAGTGGATAAATCGTAGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGC
GAAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGGCAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTAT
CATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAACTGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTC
GGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTATTTAGCTGGTGACTACACGAAACA
GAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGCTGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCACAAGCT
ATTGTACAGGATTACGAGTTACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCA
AGCGTAGTTAGCATAGTGAACTAA (SEQ ID NO:38). Se diseñaron polinucleótidos antisentido con las secuencias CTGTGATCATCATATGTATCA (SEQ ID NO:279), CCTTAACTCTCCAGCTAGCAA (SEQ ID NO:280), CAGCCCGCAAATGTTTCATTC (SEQ ID NO:281), GCCGTCAATGGCCGCATTGCT (SEQ ID NO:282), TCCTTCCCTCAGAAAGGGCAG (SEQ ID NO:283) y TTGCCTCATGCTGCTAATCTG (SEQ ID NO:284) para el gen endógeno de 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) de Nicotiana benthamiana, en base a la secuencia de ADNc de EPSPS de Nicotiana benthamiana

CTTATATGTGCTTAAGCCTAACGTGCACCCGGCCCCTTAACCCCAGCAGTTTTCAATC
TACCTACCGTCTCTACCATTTTCTTCTAGTTGGTGAAAATTTCTAACTTTGAGAAAACA
AGCCAAAGTTTTTGTTTCTAAGAACGCAAAATGAGTGAAATTTTTTGCAGCAATGGCAC
AGATTAGCAGCATGAGGCAAGGGATACAGACCCCTAATCTTAATTCCTATTTTCCTAA
AACCCAAAAGGTTCCTCTTTTTTCGCATTCTATCTTCTTTGGATCAAAGAAAATAACCC
AAAATTCAGCAAAATCTTTGTGGGTGTGTAAGAAAGATTCAGTTTTGAGGGTGGCAAA
GTCACCTTTTAGGATTTGTGCATCAGTGGCCACTGCACAGAAGCCCAACGAGATTGT
GCTGCAACCCATCAAAGATATATCAGGCACTGTTAAATTGCCTGGTTCTAAATCCCTTT
CCAACCGTATTCTCCTTCTTGCTGCCCTTTCTGAGGGAAGGACTGTTGTTGACAATTT

ACTGAGTAGTGATGACATTCATTACATGCTTGGTGCGTTGAAAACACTTGGACTTCAT
GTAGAAGATGACAATGAAAACCAACGAGCAATTGTGGAAGGTTGTGGTGGGCAGTTT
CCTGTCGGCGAGAAGTCTGAGGAAGAAATCCAACTATTCCTTGGAAATGCAGGAACA
GCAATGCGGCCATTGACGGCAGCAGTTACTGTAGCTGGAGGACATTCAAGATATGTA
CTTGATGGAGTTCCTAGGATGAGAGAGAGACCGAT (SEQ ID NO:285),
CACTGACGTTGGATTAGAGGTAGGCTCCTTATATGTGCTTAAGCCTAACGTGCAGCC
GGCCCCCAACCCCAGCAGTTTTCAATCTACCTACCGTCTCTACCATTTTCTTATAGTA
GTTGAAAATTTCTAACTTTGAGAAAACAAGCCAAAGTTTTGTTTCTAAGAACACAAAGG
GAGTGAAATTTTTTGCAGCAATGGCACAGATTAGCAGCATGAGGCAAGGGATACAGA
CCCCTAATCTTAATTCCTATTTTCCTAAAACCCAAAAGGTTCCTCTTTTTTCGCATTCTA
TCTTCATTGGATCAAAGAAAATAACCCAAAATTCAGCAAAATCTTTGTGGGTGTGTAAG
AAAGATTCAGTTTTGAGGGTGGCAAAGTCACCTTTTAGGATTTGTGCATCAGTGGCCA
CTGCACAGAAGCCTAACGAGATTGTGCTGCAACCTATCAAAGATATATCAGGCACTGT
TAAATTACCTGGTTCTAAATCCCTTTCCAATCGTATTCTCCTTCTTGCTGCCCTTTCTG
AGGGAAGGACTGTTGTTGACAATTTACTGAGTAGTGATGACATTCATTACATGCTTGG
TGCATTGAAAACACTTGGACTTCATGTAGAAGATGACAATGAAAACCAACGAGCAATC
GTAGAAGGTTGTGGTGGGCAGTTTCCTGTCGGCAAGAAGTCTGAGGAAGAAATCCAA
CTATTCCTTGGAAATGCAGGAACAGCAATGCGGCCATTGACGGCAGCAGTTACTGTA
GCTGGTGGACATTCTAGATATGTACTTGATGGAGTTCCTAGGAT (SEQ ID NO:286) y
AAATTCTTGGTTCGAGGAGGTCAGAAGTACAAGTCTCCTGGAAAAGCATATGTTGAAG
GAGATGCCTCAAGTGCTAGCTACTTTTTGGCGGGTGCAGCTGTCACAGGTGGAACTG
TCACTGTTGAAGGTTGTGGAACAAGCAGTTTACAGGGGGATGTTAAGTTTGCTGAGG
TCCTCGAAAAGATGGGGGCAGAAGTTACATGGACAGAGAACAGTGTCACGGTTAAAG
GACCTCCAAGGAACTCTTCTGGAATGAAACATTTGCGGGCTGTTGACGTTAACATGAA
CAAAATGCCAGATGTTGCCATGACTCTTGCTGTAGTTGCACTTTTTGCTGATAGTCCT
ACTGCCATAAGAGATGTTGCTAGCTGGAGAGTTAAGGAAACTGAGCGGATGATTGCC
ATATGCACAGAACTTAGGAAGTTGGGTGCAACAGTTGTAGAAGGGCCAGACTACTGC
ATAATCACTCCACCTGAAAAGTTAAAAGTAGCGGAAATTGATACATATGATGATCACA
GAATGGCCATGGCTTTCTCTCTTGCGGCTTGTGCTGATGTTCCAGTCACCATTAAGGA
CCCCGGTTGTACTCGCAAAACCTTCCCCAACTACTTTGACGTTCTCCAGCAGTATTCC
AAGCATTAAACCACTTTCCATTAAGAATTTTGAAAAAGAGAGACTTTGACAACAATGGT
GTCATACCGGAAGAGAAAAGCTTTGATCCAAGCTTTCAACTCCTTTTCATTTGTCATGT
GATGATCATTGTATTTGTTGAAGTTGAGCTGCTTTTCTTTTGTCCAGAAGACATGTATG
GATACTATTACTATATAGTTAAGGTGAACTCAGCA (SEQ ID NO:287). Se diseñaron
polinucleótidos antisentido con las CCACATGGTCCAGTATCTGCC (AK195, RBCS_1-2-

3-4, SEQ ID NO:288), CAAGCAAGGAACCCATCCATT (AK196, RBCS_1-2-3-4, SEQ ID NO:289), GGCCACACCTGCATGCATTGC (AK197, RBCS_1-2-3-4, SEQ ID NO:290), GTGTTCACGGTAGACAAATCC (AK198, RBCS_1-2, SEQ ID NO:291), TGCACTGCACTTGACGCACGT (AK199, RBCS_1-2, SEQ ID NO:292), AACTGATGCATTGCACTTGAC (AK200, RBCS_3-4, SEQ ID NO:293), CAAATCAGGAAGGTATGAGAG (AK201, RBCS_3-4, SEQ ID NO:294) y TGTCAAGGTTTTGTTTCCTGG (AK202, RBCS_3-4, SEQ ID NO:295) para el gen endógeno de ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa oxigenasa (RuBisCO) de Nicotiana benthamiana , en base a los fragmentos de secuencia de ADNc 2A de cadena pequeña de RuBisCO cloroplástico de Nicotiana benthamianas GCAATGGCTTCCTCAGTTCTTTCCTCAGCAGCAGTTGCCACCCGCAGCAATGTTGCT CAAGCTAACATGGTTGCACCTTTCACAGGTCTTAAGTCTGCTGCCTCATTCCCTGTTT CAAGAAAGCAAAACCTTGACATCACTTCCATTGCCAGCAACGGCGGAAGAGTGCAAT GCATGCAGGTGTGGCCACCAATTAACATGAAGAAGTATGAGACTCTCTCATACCTTCC CGATTTGAGCCAGGAGCAATTGCTCTCCGAAATTGAGTACCTTTTGAAGAATGGATGG GTTCCTTGCTTGGAATTCGAGACTGAGAAAGGATTTGTCTACCGTGAACACCACAAGT CACCAGGATACTATGATGGCAGATACTGGACCATGTGGAAGCTACCTATGTTCGGAT GCACTGATGCCACCCAAGTGTTGGCTGAGGTGGGAGAGGCGAAGAAGGAATACCCA CAGGCCTGGGTCCGTATCATTGGATTTGACAACGTGCGTCAAGTGCAGTGCATCAGT TTCATTGCCTCCAAGCCTGACGGCTAC (SEQ ID NO:296), ACAATGGCTTCCTCAGTTCTTTCCTCAGCAGCAGTTGCCACCCGCAGCAATGTTGCTC AAGCTAACATGGTTGCACCTTTCACTGGTCTTAAGTCAGCTGCCTTTTTCCCTGTTTCA AGGAAGCAAAACCTTGACATCACTTCCATTGCCAGCAACGGCGGAAGAGTGCAATGC ATGCAGGTGTGGCCACCAATTAACAAGAAGAAGTACGAGACTCTCTCATACCTTCCTG ATCTGAGCGTGGAGCAATTGCTTAGCGAAATTGAGTACCTCTTGAAAAATGGATGGGT TCCTTGCTTGGAATTCGAGACTGAGCGCGGATTTGTCTACCGTGAACACCACAAGTC ACCGGGATACTATGACGGCAGATACTGGACCATGTGGAAGTTGCCTATGTTCGGATG CACTGATGCCACCCAAGTGTTGGCCGAGGTGGAAGAGGCGAAGAAGGCATACCCAC AGGCCTGGATCCGTATTATTGGATTCGACAACGTGCGTCAAGTGCAGTGCATCAGTTT CATTGCCTACAAGCCAGAAGGCTAC (SEQ ID NO:297), CAAGCCAACATGGTTGCACCCTTCACTGGCCTCAAGTCCGCCTCCTCCTTCCCTGTTA CCAGGAAACAAAACCTTGACATTACCTCCATTGCTAGCAATGGTGGAAGAGTTCAATG CATGCAGGTGTGGCCACCAATTAACATGAAGAAGTACGAGACACTCTCATACCTTCCT GATTTGAGCCAGGAGCAATTGCTTAGTGAAGTTGAGTACCTTTTGAAAAATGGATGGG TTCCTTGCTTGGAATTCGAGACTGAGCGTGGATTCGTCTACCGTGAACACCACAACTC

ACCAGGATACTACGATGGCAGATACTGGACCATGTGGAAGTTGCCCATGTTCGGGTG
CACTGATGCCACTCAGGTGTTGGCTGAGGTCGAGGAGGCAAAGAAGGCTTACCCAC
AAGCCTGGGTTAGAATCATTGGATTCGACAACGTCCGTCAAGTGCAATGCATCAGTTT
TATCGCCTCCAAGCCAGAAGGCTAC (SEQ ID NO:298) y
GGCTCAGTTATGTCCTCAGCTGCCGCTGTTTCCACCGGCGCCAATGCTGTTCAAGCC
AGCATGGTCGCACCCTTCACTGGCCTCAAGGCCGCCTCCTCCTTCCCGGTTTCCAGG
AAACAAAACCTTGACATTACTTCCATTGCTAGAAATGGTGGAAGAGTCCAATGCATGC
AGGTGTGGCCGCCAATTAACAAGAAGAAGTACGAGACACTCTCATACCTTCCTGATTT
GAGCGTGGAGCAATTGCTTAGCGAAATTGAGTACCTTTTGAAAAATGGATGGGTTCCT
TGCTTGGAATTCGAGACTGAGCATGGATTCGTCTACCGTGAACACCACCACTCACCA
GGATACTACGATGGCAGATACTGGACGATGTGGAAGTTGCCCATGTTCGGGTGCACC
GATGCCACTCAGGTCTTGGCTGAGGTAGAGGAGGCCAAGAAGGCTTACCCACAAGC
CTGGGTCAGAATCATTGGATTCGACAACGTCCGTCAAGTGCAATGCATCAGTTTCATC
GCCTACAAGCCCGAAGGCTAT (SEQ ID NO:299).

215) Las plantas de Nicotiana benthamiana se trataron utilizando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 12. La solución polinucleotídica (o de polinucleótidos mezclados en el caso de EPSPS y RuBisCO) se preparó en 0,01% (v/v) de Silwet L-77 y 2% (p/v) de sulfato de amonio en 5 milimolares de fosfato de sodio, pH 6,8. Se sumergieron dos hojas completamente expandidas por planta en una solución de 0,1% de Silwet L-77 preparada recientemente con H2O bidestilada durante pocos segundos y se dejaron secar. Aproximadamente 30 minutos después, se aplicaron 20 microlitros de solución polinucleotídica a cada una de las dos hojas pretratadas. Para PDS, cada una de las 5 plantas recibió 25 nanomoles del polinucleótido antisentido de PDS (SEQ ID NO:34); para EPSPS, cada una de las 5 plantas recibió 50 nanomoles de cada polinucleótido antisentido de EPSPS (SEQ ID NOS:279-284); y para RuBisCO, cada una de las 5 plantas recibió 50 nanomoles de cada polinucleótido antisentido de RuBisCO (SEQ ID NOS:288-295). Las plantas testigo apareadas se trataron con solución amortiguadora (0,01% (v/v) de Silwet L-77 y 2% (p/v) de sulfato de amonio en 5 milimolares de fosfato de sodio, pH 6,8). Los resultados se midieron como la altura de la planta a los 12 días (PDS y EPSPS) o 10 días (RuBisCO) después del tratamiento y se muestran en las Figuras 36A – 36B. Las plantas tratadas con el polinucleótido antisentido de PDS exhibieron enanismo grave (Figura 36A) y blanqueado. Las plantas tratadas con el polinucleótido antisentidos de EPSPS exhibieron enanismo grave (Figura 36B) y lesión severa en los tejidos del meristemo y el tallo. Las plantas tratadas con el polinucleótido antisentidos de RuBisCO exhibieron enanismo grave (Figura 36C) y tejidos apicales deformes.

216) Se diseñó un segundo conjunto de experimentos para investigar los efectos del silenciamiento de un componente de la vía de silenciamiento de iARN endógeno en una planta. Las proteínas Argonauta (AGO) son componentes del complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC) que une pequeños ARN en el proceso de silenciamiento de iARN. Se esperaría que la supresión de Argonauta redujera el efecto fenotípico observado provocado por un proceso de silenciamiento con iARN. Se diseñaron polinucleótidos antisentido de AGO1 con las secuencias ggaggcaaaatacgagcctca (HL510, SEQ ID NO:300), cactaatcttaataccaaact (HL511, SEQ ID NO:301), tATGggtcattagcataggcattAT (HL512, SEQ ID NO:302), tctcaagaatatcacgctccc (HL513, SEQ ID NO:303), cccttggggacgctggcaggtcac (HL514, SEQ ID NO:304), taatacgactcactatagggggagagagctagatcttttg (HL515, SEQ ID NO:305), taatacgactcactataggcacagtatttcttcctccaacc (HL516, SEQ ID NO:306), TTGCTCATCTTAAATACATGT (HL517, SEQ ID NO:307), TCATCTTAAATACATGTTTTGTCA (HL518, SEQ ID NO:308), ttatcttcagggatacattagc (HL519, SEQ ID NO:309), aatactgcttgctcatcttaaata (HL520, SEQ ID NO:310), gacaattccaagttcagtttc (HL521, SEQ ID NO:311), ccgttttagatcaccataaagaga (HL522, SEQ ID NO:312), ttgtctggtaatatcacaatc (HL523, SEQ ID NO:313) para el gen endógeno de Argonaute-1 (AGO1) de Nicotiana benthamiana,en base a dos secuencias de ADNc parcial de AGO1-2 de Nicotiana benthamiana,

ATGGTGAGGAAGAGGAGAACTGAGTTACCTGGTTCTGGTGAGAGCTCTGGGTCTCAA
GAAACTGGCGGACAGGGTCGTGGCCAGCATCCACAGCAGCTGCACCAAGCTACCTC
CCAGACTCCATATCAAACTGCAATGACTACTCAGCCAATACCTTATGCAAGACCAACT
GAAACATCCTCCGAAGCTGGTTCCTCATCTCAGCCACCTGAGCAGGCAGCTCTACAA
GTGACACAACAGTTCCAGCAACTTGCTTTGCAACAAGAAGCGGCTACAACGCAAGCA
GTTCCACCTGCATCAAGCAAATTACTAAGGTTTCCCCTGCGTCCAGGGAAGGGGAGC
AATGGTATGAGATGCATAGTCAAAGCCAATCACTTCTTCGCAGAGCTGCCTGACAAAG
ACTTGCACCAGTATGATGTCACAATTTCTCCAGAGGTGTCATCACGTGGCGTCAACCG
TGCTGTCATGGCGCAACTGGTGAAGCTGTACCAAGAATCTCATCTTGGGAAGAGACT
TCCAGCATATGATGGAAGGAAAAGTCTATACACTGCAGGGCCCCTTCCATTTGTTCAA
AAAGACTTCAAAATAACTCTTATTGATGATGAGGATGGGCCTGGTGGTGCTAGAAGG
GAAAGGGAATTTAAAGTTGTGATCAAATTGGCTGCCCGTGCTGATCTTCATCACTTGG
GAATGTTTTTAGAAGGGAAACAGGCTGATGCACCTCAAGAGGCGCTTCAAGTTCTGG
ATATTGTTCTGCGTGAGTTGCCAACATCTAGGTTTTGTCCTGTGGGTCGTTCTTTCTAT
TCCCGTGATTTAGGGCGAAAGCAACCATTGGGTGAAGGTTTAGAAAGTTGGCGTGGG
TTCTATCAAAGCATTCGCCCCACACAAATGGGCTTATCACTGAACATCGATATGTCTT

CCACTGCATTCATTGAGCCACTGCCAGTCATTGATTTTGTGACACAGCTTCTGAACCG
AGATGTGCCATCTAGACCACTGTCTGATGCTGGCCGTGTAAAGATAAAAAAAGCTCTG
AGAGGTGTGAAGGTGGAGGTTACTCATCGTGGAAATATGCGGAGGAAGTACCGCATT
TCGGGTTTAACATCTCAAGCAACAAGAGAGTTGACCTTCCCTGTTGATGAAAATGGTA
CAGTGAAATCTGTAATTGAGTATTTTCGAGAAACATATGGGTTTGTAATTCAGCATACT
CAGTGGCCTTGTCTACAAGTTGGAAATCAGCAGAGACCTAATTACTTGCCAATGGAAG
TCTGCAAGATTGTGGAGGGACAAAGGTACTCAAAGCGCTTGAATGAGAGACAGATTA
CTGCACTTCTGAAAGTGACCTGCCAGCGTCCCCAAGGGAGGGAGCGTGATATTCTTG
AGACCGTACATCATAATGCCTATGCTAATGACCCATATGCCAAGGAGTTTGGTATTAA
GATTAGTGACAAGTTGGCACAAGTTGAGGCTCGTATTTTGCCTCCACCTCGGCTTAAA
TATCATGATAACGGTCGAGAAAAGGACTGCCTGCCACAAGTTGGCCAATGGAATATG
ATGAATAAGAAAATGGTAAATGGAGGGACGGTGAACAATTGGATCTGCATAAACTTCT
CTCGCAATGTGCAAGATAGTGTTGCTCATGGGTTTTGCTCTGAGCTTGCACAAATGTG
CCAGATATCTGGCATGAATTTCAATCCAAATCCTGTTCTGCCACCTTCGAGTGCACGC
CCTGATCAGGTCGAAAGAGTATTGAAAACTCGATTTCATGATGCTATGACTAAGTTGC
AGCTGCATGGGAGAGAGCTTGATTTGCTAGTTGTCATCTTGCCAGACAATAATGGATC
TCTTTATGGTGATCTGAAGCGCATTTGTGAGACTGAACTAGGAGTCGTCTCACAGTGC
TGTTTGACAAAACATGTATTTAAGATGAGCAAACAGTATCTAGCCAATGTAGCGCTGA
AAATCAATGTGAAGGTGGGAGGGAGAAACACTGTGCTTGTTGATGCAATATCGAGGC
GAATTCCTCTTGTCAGCGACCGGCCTACCATCATTTTTGGTGCAGATGTCACCCACCC
TCACCCTGGGGAGGACTCTAGCCCATCCATTGCCGCGGTGGTTGCTTCTCAAGATTG
GCCTGAGATTACAAAGTATGCTGGTCTAGTTTCTGCTCAAGCCCATAGGCAAGAGCTT
ATTCAGGATCTGTACACGACTAGGCAAGATCCTGTTAAGGGGACAGTTGCTGGTGGA
ATGATTAAGGACTTACTTATATCCTTCCGAAGAGCTACTGGACAAAAGCCCCAGAGAA
TAATTTTCTATAGGGATGGTGTTAGTGAAGGACAATTTTATCAAGTGCTTCTGTTCGAA
CTTGATGCGATCCGCAAAGCATGTGCGTCTTTGGAGCCAAATTATCAGCCCCCAGTC
ACATTTGTTGTGGTTCAGAAACGACATCACACAAGGCTTTTTGCCAATAACCACCGTG
ACAGAAATGCAGTTGACAGGAGCGGGAACATTATACCTGGTACTGTTGTAGATTCAAA
GATATGCCACCCGACAGAGTTTGATTTCTATCTTTGTAGCCATGCCGGCATACAGGGT
ACGAGCCGTCCAGCTCACTACCATGTTCTATGGGACGAGAACAAATTCACAGCCGAT
GCGCTGCAGTCTTTGACCAACAACCTCTGCTATACATATGCAAGGTGCACGCGTTCC
GTCTCCATCGTTCCCCCTGCATATTATGCACATTTGGCAGCTTTCCGTGCTCGATTTT
ATATGGAGCCGGAGACATCTGACGGTGGTTCAGTAACAAGTGGGGCTGCTGGTGGC
AGAGGGGGTGGTGCAGGAGCTGCTGGAAGGAACACCCGAGCCCCAAGTGCTGGTG
CTGCTGTTAGACCTCTTCCTGCGCTCAAGGATAATGTGAAGAGGGTTATGTTCTACTG

C (SEQ ID NO:314) y

CACCTATCACTCTCTTTCTCTCTCTACAAACATATCGTGCCGTTTCTCTCTCGGCCTCT
CTTCGTGTTTTAGGGCACCGTGGTGGTTGGTATCCAGGCGGCGGTTTTGAGTTATTA
CCATGGTGCGGAAGAAGAGGACTGATGTTCCTGGTGGTGCTGAGAGTTTTGAGTCCC
ATGAAACTGGAGGGGCACGAGGTGGTGCCCAACGCCCATCACAGCAGCAGCAACAT
CAGCATCAGCAAGGCGGAGGAAGAGGCTGGGCACCTCAGCATGGAGGACATGGTG
GCCGTGGTGGTGGGGGAGCTCCACGTGGTGGAATGGCCCCTCAACAATCCTATGGT
GGACCTCCTGAATACTACCAACAGGGCAGGGGAACTCAACAGTATCAACGAGGTGGA
GGACAACCCCAGCGCCGTGGTGGCATGGGGGGCCGTGGGGCACGGCCACCAGTAC
CCGAGCTGCACCAAGCAACCCAGACTCCACATCAGCCTGTACCATATGGAAGACCAT
CAGAAACATACTCAGAGGCTGGTTCCTCGTCTCAGCCACCTGAACCAACGACACAGC
AAGTGACTCAGCAATTCCAGCAACTTGTTGTGCAGCCAGAAGCAGCTGCAACCCAAG
CAATACAACCAGCATCGAGCAAGTCGATGAGGTTTCCACTCCGGCCAGGAAAGGGTA
GTACTGGTATTAGATGCATAGTTAAGGCCAATCACTTCTTTGCCGAGTTACCTGACAA
AGATCTGCACCAGTATGATGTTTCAATTACTCCTGAGGTCGCCTCTCGGGGTGTCAAC
CGGGCCGTCATGGAGCAGCTGGTGAAGCTTTATAGAGAATCCCATCTTGGGAAGAGG
CTTCCAGCCTATGACGGAAGAAAAAGTCTATACACAGCAGGGCCCCTCCCTTTTGTTC
AAAAGGATTTTAAAATCACTCTAATTGATGATGATGATGGACCTGGTGGTGCTAGGAG
GGAAAGAGAGTTTAAAGTTGTGATCAAGCTGGCGGCTCGTGCTGATCTTCATCACTTG
GGGATGTTCTTACAAGGGAGACAGGCTGATGCACCGCAAGAAGCACTTCAGGTGCTG
GATATTGTGCTACGTGAGTTGCCAACATCTAGGTATTGTCCTGTGGGCCGCTCTTTCT
ATTCCCCTCATTTAGGACGAAGACAACCACTGGGTGAAGGTTTAGAGAGCTGGCGTG
GCTTCTATCAAAGTATTCGTCCTACACAGATGGGATTATCCCTGAATATTGATATGTCT
TCCACGGCTTTCATTGAGCCACTGCCGATTATTGACTTCGTGAGCCAGCTTCTGAATC
GGGATATCTCTTCTAGACCACTGTCTGATGCTGACCGCGTTAAGATAAAGAAGGCACT
GAGAGGTGTAAAGGTGGGGGTCACTCATCGTGGAAATATGCGGAGGAAGTATCGCAT
TTCTGGCTTGACGTCTCAAGCAACAAGAGAGTTGACTTTTCCTGTCGATGAAAGGGGT
ACGATGAAAGCTGTTGTGGAATATTTTCGGGAAACCTATGGTTTTGTCATTCGGCATA
CCCAGTGGCCTTGTCTTCAAGTTGGAAATACGCAGAGGCCAAATTACTTGCCAATGG
AAGTATGTAAGATTGTAGAGGGACAGAGATACTCAAAGCGCTTGAATGAGAGGCAGA
TAACAGCACTTCTAAAAGTGACCTGCCAACGTCCTCAAGAGAGAGAACGTGATATTCT
TCAGACTGTTCATCACAATGCTTATGCTGATGACCCATATGCGAAGGAGTTTGGTATT
AAGATCAGTGAGGAGCTTGCTCAAGTTGAGGCTCGCGTTTTGCCTGCACCTTGGCTT
AAATACCATGATACAGGTCGAGAGAAAGACTGTCTGCCACAAGTGGGCCAGTGGAAT
ATGATGAATAAGAAAATGGTTAATGGAGGAACAGTGAACAACTGGATCTGTGTAAACT

TTTCTCGCAATGTGCAAGACACAGTTGCACGTGGATTTTGTTCCGAGCTTGCACAAAT
GTGCATGATATCCGGAATGAACTTCAATCCCAATCCTGTTCTACCACCAGTGAGTGCT
CGCCCTGATCAAGTTGAGAGAGTCTTGAAAACTCGATTTCACGATGCTATGACAAAGT
TGCAGCCAAATGGGAGAGAGCTAGATCTTTTGATTGTGATATTACCAGACAATAACGG
CTCTCTTTATGGTGATCTAAAACGGATTTGTGAAACTGAACTTGGAATTGTCTCACAAT
GCTGCTTGACAAAACATGTATTTAAGATGAGCAAGCAGTATTTAGCTAATGTATCCCT
GAAGATAAATGTGAAGGTTGGAGGAAGAAATACTGTGCTGGTTGATGCGCTCTCTAG
ACGAATTCCCCTTGTCAGCGACCGCCCAACTATCATTTTTGGTGCAGATGTCACCCAT
CCCCACCCTGGGGAGGATTCTAGCCCGTCAATTGCTGCGGTGGTTGCTTCTCAAGAT
TGGCCTGAAATTACAAAGTATGCTGGTTTGGTTTCTGCTCAAGCGCATAGGCAAGAGC
TTATACAAGATCTGTACAAGACTTGGCAAGATCCAGTTAGAGGACCTGTGACTGGTGG
CATGATAAAGGAATTACTTATTTCCTTCCGTCGAGCAACTGGACAGAAGCCGCAGAGA
ATTATATTCTACAGAGATGGTGTTAGTGAAGGACAATTTTACCAAGTTCTTCTTTTTGA
ACTTGATGCAATCCGCAAGGCATGTGCATCTTTAGAACCCAACTATCAGCCCCCGGTT
ACGTTTGTTGTGGTCCAGAAACGGCATCATACTAGGTTGTTTGCCAATAACCACCACG
ACAGAAATGCAGTTGATCGGAGTGGGAACATTTTGCCTGGTACCGTTGTAGATTCAAA
GATATGCCACCCTACTGAATTTGATTTCTATCTCTGTAGCCATGCCGGCATACAGGGT
ACTAGCCGCCCAGCTCATTATCATGTTCTGTGGGATGAGAACAATTTTACTGCTGACG
CCCTGCAGTCTTTGACTAACAATCTTTGCTATACATATGCTAGGTGTACTCGTTCTGTC
TCCATTGTTCCACCAGCATATTATGCACATTTGGCAGCTTTCCGTGCTCGGTTTTACAT
GGAGCCAGAGACATCTGATAATGGATCAGTCACAAGCGCAGCTGCTTCAAACAGAGG
AGGTTTAGGAGCTATGGGAAGGAGCACGCGAGCACCAGGTGCTGGTGCTGCTGTAA
GGCCCCTTCCTGCTCTCAAGGAGAATGTTAAGAGGGTTATGTTTTATTGT (SEQ ID NO:315).

217) Las plantas de Nicotiana benthamiana se trataron utilizando un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 12. La solución polinucleotídica (o de polinucleótidos mezclados en el caso de AGO1) se preparó en 0,01% (v/v) de Silwet L-77 y 2% (p/v) de sulfato de amonio en 5 milimolares de fosfato de sodio, pH 6,8. Se sumergieron dos hojas completamente expandidas por planta en una solución de 0,1% de Silwet L-77 preparada recientemente con H2O bidestilada durante pocos segundos y se dejaron secar. Aproximadamente 30 minutos después, se aplicaron 20 microlitros de solución polinucleotídica a cada una de las dos hojas pretratadas. Para PDS, cada una de las 5 plantas recibió 25 nanomoles del polinucleótido antisentido de PDS (SEQ ID NO:34); para AGO1, cada una de las 5 plantas recibió 50 nanomoles de cada uno de los 14 polinucleótidos antisentido de AGO1 (SEQ ID NOS:300-313); para los tratamientos

combinados con PDS y AGO, cada una de las 5 plantas recibió 25 nanomoles del polinucleótido antisentido de PDS (SEQ ID NO:34) y nanomoles de cada uno de los 14 polinucleótidos antisentido de AGO1 (SEQ ID NOS:300-313) aplicados en hojas separadas. Las plantas testigo apareadas se trataron con solución amortiguadora (0,01% (v/v) de Silwet L-77 y 2% de (p/v) de sulfato de amonio en 5 milimolares de fosfato de sodio, pH 6,8). No se observaron diferencias entre las plantas tratadas con los polinucleótidos antisentido de AGO1 y las plantas tratadas solo con solución amortiguadora . Las plantas tratadas con el polinucleótido antisentido de PDS exhibieron blanqueado sistémico. Las plantas tratadas con el polinucleótido antisentido de PDS y los polinucleótidos antisentido de AGO1 aplicados por separado no exhibieron blanqueado sistémico, indicando que la supresión de AGO1 bloqueó la expansión sistémica de la señal de silenciamiento.

Ejemplo 34

218) Este ejemplo ilustra un método para inducir la regulación sistémica de un gen objetivo endógeno en una planta en crecimiento que comprende revestir tópicamente sobre hojas de dicha planta en crecimiento, polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en dicho gen objetivo endógeno o en el ARN mensajero transcrito a partir de dicho gen objetivo endógeno, con lo cual dichos polinucleótidos permean el interior de dicha planta en crecimiento e inducen la regulación sistémica de dicho gen objetivo endógeno. Más específicamente, este ejemplo ilustra el uso de una composición que comprende tensioactivo y polinucleótidos para inducir al menos transitoriamente la regulación sistémica del gen endógeno de 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) de Zea mays.

219) Se identificó una secuencia genómica del gen endógeno de 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS) de Zea mays como

ACCTACTTCCCCCTCGCCCCTCTCATGGTCTCTCTCGCGCCCAGATCTGCTACTAGA
CGGCACCGCTGCAGCGCGTCGTGTCGCGGGGGTTGGTGGCAGGCAGCGAGAGCTT
GCCGTTCCTCTCTCTCAGTTGTCAGGTCCTAGGCTCACCTCACCGGCTCCCAGCCCG
CTTCTATTTCTTCCTCCCCGACCCCGTGCAGGTGGCAGTCCAGTCCACGCCACCAAC
CGCGAGGCGAACCAAACCAACCCACTCTCCCCAACCCCGCGCGCCCAGGCCGCCC
GCCCTACCAACCATCGGCGTCGGCAATGGCGGCCATGGCGACCAAGGCCGCCGCG
GGCACCGTGTCGCTGGACCTCGCCGCGCCGCCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCG
GTGCAGGCGGGTGCCGAGGAGATCGTGCTGCAGCCCATCAAGGAGATCTCCGGCAC

CGTCAAGCTGCCGGGGTCCAAGTCGCTTTCCAACCGGATCCTCCTGCTCGCCGCCC
TGTCCGAGGTGAGCGATTTTGGTGCTTGCTGCGCTGCCCTGTCTCACTGCTACCTAA
ATGTTTTGCCTGTCGAATACCATGGATTCTCGGTGTAATCCATCTCACGATCAGATGC
ACCGCATGTCGCATGCCTAGCTCTCTCTAATTTGTCTAGTAGTTTGTATACGGATTAAT
ATTGATAAATCGGTACCGCAAAAGCTAGGTGTAAATAAACACTAGAAAATTGGATGTT
CCCCTATCGGCCTGTACTCGGCTACTCGTTCTTGTGATGGCATGCTGTCTCTTCTTGG
TGTTTGGTGAACAACCTTATGAAATTTGGGCGCAAAGAACTCGCCCTCAAGGGTTGAT
CTTATGCCATCGTCATGATAAACAGTGGAGCACGGACGATCCTTTACGTTGTTTTTAA
CAAACTTTGTCAGAAAACTAGCATCATTAACTTCTTAATGACGATTTCACAACAAAAAA
AGGTAACCTCGCTACTAACATAACAAAATACTTGTTGCTTATTAATTATATGTTTTTTAA
TCTTTGATCAGGGGACAACAGTGGTTGATAACCTGTTGAACAGTGAGGATGTCCACTA
CATGCTCGGGGCCTTGAGGACTCTTGGTCTCTCTGTCGAAGCGGACAAAGCTGCCAA
AAGAGCTGTAGTTGTTGGCTGTGGTGGAAAGTTCCCAGTTGAGGATTCTAAAGAGGA
AGTGCAGCTCTTCTTGGGGAATGCTGGAACTGCAATGCGGCCATTGACAGCAGCTGT
TACTGCTGCTGGTGGAAATGCAACGTATGTTTCCTCTCTTTCTCTCTACAATACTTGCT
GGAGTTAGTATGAAACCCATGGGTATGTCTAGTGGCTTATGGTGTATTGGTTTTTGAA
CTTCAGTTACGTGCTTGATGGAGTACCAAGAATGAGGGAGAGACCCATTGGCGACTT
GGTTGTCGGATTGAAGCAGCTTGGTGCAGATGTTGATTGTTTCCTTGGCACTGACTG
CCCACCTGTTCGTGTCAATGGAATCGGAGGGCTACCTGGTGGCAAGGTTAGCTACTA
AGGGCCACATGTTACATTCTTCTGTAAATGGTACAACTATTGTCGAGCTTTTGCATTTG
TAAGGAAAGCATTGATTGATCTGAATTTGATGCTACACCACAAAATATCCTACAAATGG
TCATCCCTAACTAGCAAACAATGAAGTAATACTTGGCATGTGTTTATCAAATTAATTTC
CATCTTCTGGGGCATTGCCTGTTTTCTAGTCTAATAGCATTTGTTTTTAGCATTAATTA
GCTCTTACAATTGTTATGTTCTACAGGTCAAGCTGTCTGGCTCCATCAGCAGTCAGTA
CTTGAGTGCCTTGCTGATGGCTGCTCCTTTGGCTCTTGGGGATGTGGAGATTGAAAT
CATTGATAAATTAATCTCCATTCCCTACGTCGAAATGACATTGAGATTGATGGAGCGTT
TTGGTGTGAAAGCAGAGCATTCTGATAGCTGGGACAGATTCTACATTAAGGGAGGTC
AAAAATACAAGTAAGCTCTGTAATGTATTTCACTACTTTGATGCCAATGTTTCAGTTTTC
AGTTTTCCAAACAGTCGCATCAATATTTGAATAGATGCACTGTAGAAAAAAAATCATTG
CAGGGAAAAACTAGTACTGAGTATTTTGACTGTAAATTATTTTACCAGTCGGAATATAG
TCAGTCTATTGGAGTCAAGAGCGTGAACCGAAATAGCCAGTTAATTATCCCATTATAC
AGAGGACAACCATGTATACTATTGAAACTTGGTTTATAAGAGAATCTAGGTAGCTGGA
CTCGTAGCTGCTTGGCATGGATACCTTCTTATCTTTAGGAAAAGACACTTGATTTTTTT
TTTCTGTGGCCCTCTATGATGTGTGAACCTGCTTCTCTATTGCTTTAGAAGGATATATC
TATGTCGTTATGCAACATGCTTCCCTTAGCCATTTGTACTGAAATCAGTTTCATAAGTT

CGTTAGTGGTTCCCTAAACGAAACCTTGTTTTTCTTTGCAATCAACAGGTCCCCTAAAA
ATGCCTATGTTGAAGGTGATGCCTCAAGCGCAAGCTATTTCTTGGCTGGTGCTGCAAT
TACTGGAGGGACTGTGACTGTGGAAGGTTGTGGCACCACCAGTTTGCAGGTAAAGAT
TTCTTGGCTGGTGCTACAATAACTGCTTTTGTCTTTTTGGTTTCAGCATTGTTCTCAGA
GTCACTAAATAACATTATCATCTGCAAATGTCAAATAGACATACTTAGGTGAATTCATG
TAACCGTTTCCTTACAAATTTGCTGAAACCTCAGGGTGATGTGAAGTTTGCTGAGGTA
CTGGAGATGATGGGAGCGAAGGTTACATGGACCGAGACTAGCGTAACTGTTACTGGC
CCACCGCGGGAGCCATTTGGGAGGAAACACCTCAAGGCGATTGATGTCAACATGAAC
AAGATGCCTGATGTCGCCATGACTCTTGCTGTGGTTGCCCTCTTTGCCGATGGCCCG
ACAGCCATCAGAGACGGTAAAACATTCTCAGCCCTACAACCATGCCTCTTCTACATCA
CTACTTGACAAGACTAAAAACTATTGGCTCGTTGGCAGTGGCTTCCTGGAGAGTAAAG
GAGACCGAGAGGATGGTTGCGATCCGGACGGAGCTAACCAAGGTAAGGCTACATAC
TTCACATGTCTCACGTCGTCTTTCCATAGCTCGCTGCCTCTTAGCGGCTTGCCTGCGG
TCGCTCCATCCTCGGTTGCTGTCTGTGTTTTCCACAGCTGGGAGCATCTGTTGAGGA
AGGGCCGGACTACTGCATCATCACGCCGCCGGAGAAGCTGAACGTGACGGCGATCG
ACACGTACGACGACCACAGGATGGCCATGGCCTTCTCCCTTGCCGCCTGTGCCGAG
GTCCCCGTGACCATCCGGGACCCTGGGTGCACCCGGAAGACCTTCCCCGACTACTT
CGATGTGCTGAGCACTTTCGTCAAGAATTAATAAAGCGTGCGATACTACCACGCAGCT
TGATTGAAGTGATAGGCTTGTGCTGAGGAAATACATTTCTTTTGTTCTGTTTTTTCTCT
TTCACGGGATTAAGTTTTGAGTCTGTAACGTTAGTTGTTTGTAGCAAGTTTCTATTTCG
GATCTTAAGTTTGTGCACTGTAAGCCAAATTTCATTTCAAGAGTGGTTCGTTGGAATAA
TAAGAATAATAAATTACGTTTCAGTGGCTGTCAAGCCTGCTGCTACGTTTTAGGAGAT
GGCATTAGACATTCATCATCAACAACAATAAAACCTTTTAGCCTCAAACAATAATAGTG
AAGTTATTTTTTAGTCCTAAACAAGTTGCATTAGGATATAGTTAAAACACAAAAGAAGC
TAAAGTTAGGGTTTAGACATGTGGATATTGTTTTCCAT (SEQ ID NO:316), con una región en 5’ sin traducir ubicada en las posiciones nucleotídicas 1 – 306 y una región en 3’ sin traducir ubicada en las posiciones nucleotídicas 3490 – 3907. La secuencia de ADNc de EPSPS se identificó como
ACCTACTTCCCCCTCGCCCCTCTCATGGTCTCTCTCGCGCCCAGATCTGCTACTAGA
CGGCACCGCTGCAGCGCGTCGTGTCGCGGGGGTTGGTGGCAGGCAGCGAGAGCTT
GCCGTTCCTCTCTCTCAGTTGTCAGGTCCTAGGCTCACCTCACCGGCTCCCAGCCCG
CTTCTATTTCTTCCTCCCCGACCCCGTGCAGGTGGCAGTCCAGTCCACGCCACCAAC
CGCGAGGCGAACCAAACCAACCCACTCTCCCCAACCCCGCGCGCCCAGGCCGCCC
GCCCTACCAACCATCGGCGTCGGCAATGGCGGCCATGGCGACCAAGGCCGCCGCG
GGCACCGTGTCGCTGGACCTCGCCGCGCCGCCGGCGGCGGCAGCGGCGGCGGCG

GTGCAGGCGGGTGCCGAGGAGATCGTGCTGCAGCCCATCAAGGAGATCTCCGGCAC
CGTCAAGCTGCCGGGGTCCAAGTCGCTTTCCAACCGGATCCTCCTGCTCGCCGCCC
TGTCCGAGGGGACAACAGTGGTTGATAACCTGTTGAACAGTGAGGATGTCCACTACA
TGCTCGGGGCCTTGAGGACTCTTGGTCTCTCTGTCGAAGCGGACAAAGCTGCCAAAA
GAGCTGTAGTTGTTGGCTGTGGTGGAAAGTTCCCAGTTGAGGATTCTAAAGAGGAAG
TGCAGCTCTTCTTGGGGAATGCTGGAACTGCAATGCGGCCATTGACAGCAGCTGTTA
CTGCTGCTGGTGGAAATGCAACTTACGTGCTTGATGGAGTACCAAGAATGAGGGAGA
GACCCATTGGCGACTTGGTTGTCGGATTGAAGCAGCTTGGTGCAGATGTTGATTGTTT
CCTTGGCACTGACTGCCCACCTGTTCGTGTCAATGGAATCGGAGGGCTACCTGGTGG
CAAGGTCAAGCTGTCTGGCTCCATCAGCAGTCAGTACTTGAGTGCCTTGCTGATGGC
TGCTCCTTTGGCTCTTGGGGATGTGGAGATTGAAATCATTGATAAATTAATCTCCATTC
CCTACGTCGAAATGACATTGAGATTGATGGAGCGTTTTGGTGTGAAAGCAGAGCATTC
TGATAGCTGGGACAGATTCTACATTAAGGGAGGTCAAAAATACAAGTCCCCTAAAAAT
GCCTATGTTGAAGGTGATGCCTCAAGCGCAAGCTATTTCTTGGCTGGTGCTGCAATTA
CTGGAGGGACTGTGACTGTGGAAGGTTGTGGCACCACCAGTTTGCAGGGTGATGTG
AAGTTTGCTGAGGTACTGGAGATGATGGGAGCGAAGGTTACATGGACCGAGACTAGC
GTAACTGTTACTGGCCCACCGCGGGAGCCATTTGGGAGGAAACACCTCAAGGCGATT
GATGTCAACATGAACAAGATGCCTGATGTCGCCATGACTCTTGCTGTGGTTGCCCTCT
TTGCCGATGGCCCGACAGCCATCAGAGACGTGGCTTCCTGGAGAGTAAAGGAGACC
GAGAGGATGGTTGCGATCCGGACGGAGCTAACCAAGCTGGGAGCATCTGTTGAGGA
AGGGCCGGACTACTGCATCATCACGCCGCCGGAGAAGCTGAACGTGACGGCGATCG
ACACGTACGACGACCACAGGATGGCCATGGCCTTCTCCCTTGCCGCCTGTGCCGAG
GTCCCCGTGACCATCCGGGACCCTGGGTGCACCCGGAAGACCTTCCCCGACTACTT
CGATGTGCTGAGCACTTTCGTCAAGAATTAATAAAGCGTGCGATACTACCACGCAGCT
TGATTGAAGTGATAGGCTTGTGCTGAGGAAATACATTTCTTTTGTTCTGTTTTTTCTCT
TTCACGGGATTAAGTTTTGAGTCTGTAACGTTAGTTGTTTGTAGCAAGTTTCTATTTCG
GATCTTAAGTTTGTGCACTGTAAGCCAAATTTCATTTCAAGAGTGGTTCGTTGGAATAA
TAAGAATAATAAATTACGTTTCAGTGGCTGTCAAGCCTGCTGCTACGTTTTAGGAGAT
GGCATTAGACATTCATCATCAACAACAATAAAACCTTTTAGCCTCAAACAATAATAGTG
AAGTTATTTTTTAGTCCTAAACAAGTTGCATTAGGATATAGTTAAAACACAAAAGAAGC
TAAAGTTAGGGTTTAGACATGTGGATATTGTTTTCCAT (SEQ ID NO:317). Se diseñó un polinucleótido de ARN bicatenario de 240 pares de bases con una cadena correspondiente a la secuencia de ADN
TACTTGAGTGCCTTGCTGATGGCTGCTCCTTTGGCTCTTGGGGATGTGGAGATTGAA
ATCATTGATAAATTAATCTCCATTCCGTACGTCGAAATGACATTGAGATTGATGGAGC

GTTTTGGTGTGAAAGCAGAGCATTCTGATAGCTGGGACAGATTCTACATTAAGGGAG GTCAAAAATACAAGTCCCCTAAAAATGCCTATGTTGAAGGTGATGCCTCAAGCGCAAG CTATTTCTTG (SEQ ID NO:318) que corresponde a un segmento de 240 nucleótidos ubicado en las posiciones nucleotídicas 937 – 1176 de la secuencia de ADNc de EPSPS.

220) Se germinaron semillas de Zea mays (Gaspe) sobre papel de germinación. Las plántulas se transfirieron a macetas de 4 oulgadas y las plantas se cultivaron en una cámara de cultivo. Se trataron tópicamente con polinucleótidos 3 plantas de 17 días y tres plantas se usaron como testigos. Dos hojas inferiores de cada planta se marcaron y luego se pretrataron sumergiéndolas en una solución de 0,1% de Silwet L-77. Aproximadamente 30 minutos después del pretratamiento con tensioactivo, se aplicaron 20 microlitros de solución de tratamiento sobre el lado superior de cada una de las dos hojas pretratadas. La solución de tratamiento consistía en una mezcla de 100 microlitros de 2X solución amortiguadora, 90 microlitros de agua, 10 microlitros de una solución de 4,6 microgramos/microlitro de ARNbc de EPSPS (con una cadena correspondiente a la SEQ ID NO:318); la 2X solución amortiguadora era una mezcla de 200 microlitros de 0,1% de Silwet L-77, 200 microlitros de 50 milimolares de fosfato de sodio, 146 microlitros de 34% de fosfato de amonio y 454 microlitros de agua . A los 8 días después del tratamiento, dos de las tres plantas tratadas con polinucleótidos presentaban enanismo con hojas apicales muertas o dañadas (similar al fenotipo observado en plantas de Nicotiana benthamiana tratadas de forma similar con polinucleótidos de EPSPS), mientras que las tres plantas testigo presentaban crecimiento y morofología normales (Figura 37).

Ejemplo 35

221) Se investigó la eficacia de diferentes sustancias (incluidas sales, un agente quelante, un humectante y poliaminas) como agentes de transferencia de polinucleótidos o como potenciadores de agentes de transferencia de polinucleótidos conocidos. Anteriormente el sulfato de amonio había demostrado que potenciaba la permeabilidad de las plantas a polinucleótidos (ver, por ejemplo, Ejemplo 13). La Tabla 26 muestra el efecto sobre la actividad herbicida (presentada como un pocentaje del control/muerte de malezas y como la altura de la planta) del sulfato de amonio y de EDTA como aditivos para soluciones de pulverización 1% de Silwet L-77 de polinucleótidos aplicados tópicamente (ARN) sobre plantas de palmera amaranto resistentes al glifosato. En este experimento específico, se descubrió que el ácido etilenodiaminatetraacético (EDTA) a 0,004% actúa de forma similar al 2% de sulfato de amonio en la solución de pulverización, mejorando la eficacia de los polinucleótidos y potenciando la actividad herbicida del glifosato.

Tabla 26

Tratamiento	Control de palmera (%)	Altura de palmera (cm)
Sin adición	0	7,5
+ 2% de sulfato de amonio	43	1,8
+ 0,004% de EDTA	45	1,0

222) La Tabla 27 muestra el efecto sobre la actividad herbicida (presentada como un porcentaje de control/muerte de la maleza y como la altura de la planta) de varias sales incluidas sales inorgánicas (cloruro de sodio, sulfato de sodio, sulfato de amonio, cloruro de amonio) y sales orgánicas (cloruro de tetrametilamonio, cloruro de tetraetilamonio, bromuro de tetrapropilamonio y bromuro de tetrabutilfosfonio) como aditivos para soluciones de 1% de Silwet L-77 para pulverización de polinucleótidos aplicados tópicamente (ARN) sobre plantas de palmera amaranto resistentes al glifosato. En este experimento específico, se descubrió que el cloruro de amonio y el bromuro de tetrabutilfosfonio actúan de forma similar al sulfato de amonio en la solución de pulverización, mejorando la eficacia de los polinucleótidos y potentiaciando la actividad herbicida del glifosato.

Tabla 27

Tratamiento	Control de palmera (%)	Altura de palmera (cm)
Sin adición	0	16,0
+ 2% de cloruro de sodio	15	15,0
+ 2% de sulfato de sodio	7	17,0
+ 2% de sulfato de amonio	54	9,3
+ 2% de cloruro de amonio	52	10,3
+ 2% de cloruro de tetrametilamonio	19	15,0
+ 2% de cloruro de tetraetilamonio	27	12,0
+ 2% de bromuro de tetrapropilamonio	34	11,0
+ 2% de bromuro de tetrabutilfosfonio	19	13,3
+ 2% de bromuro de tetrabutilfosfonio	55	5,3

223) La Tabla 28 muestra el efecto del humectante glicerina sobre la actividad herbicida (presentada como un porcentaje del control/muerte de la maleza y como la altura de la planta) de polinucleótidos aplicados tópicamente (ARN) sobre plantas de palmera amaranto resistentes al glifosato. Se descubrió que la glicerina mejora la eficacia de los polinucleótidos, potenciando la actividad herbicida del glifosato.

Tabla 28

Tratamiento	Control de palmera (%)	Altura de palmera (cm)
Sin adición	0	16.0
Silwet L-77/AMS (sin glicerina)	54	9.3
Silwet L-77/AMS + 0,5% de glicerina	57	6.3

224) La Figura 38 muestra el efecto de la variación de los contraiones de glifosato sobre la actividad herbicida (presentada como un porcentaje del control/muerte de la maleza y

como la altura de la planta) de polinucleótidos aplicados tópicamente (ARN) sobre plantas de palmera amaranto resistentes al glifosato. Se preparó una mezcla de polinucleótidos de EPSPS (IDT [1] (SEQ ID NO:83-84), IDT [2] (SEQ ID NO:85-86), IDT [3] (SEQ ID NO:87-88) y IDT [4] (SEQ ID NO:89-90)) en 0,5% de Silwet L-77, 2% de sulfato de amonio en 10 milimolares de solución amortiguadora de fosfato de sodio, pH 6,8 con 0,2% de portador Roundup® WeatherMax® (MON56151 tensioactivo de amina de cebo mezcla de amina de cebo (16-18C) y cocoamina (12-14C) en la relación de 55:45) y 1682 g de equivalente ácido por hectárea de una de las sales de glifosato; K+ glifosato, isopropilamonio+ glifosato o monoetanolamonio+ glifosato a 215 litros/acre mediante pulverizador Milli en 3 repetición de palmera amaranto resistente a glifosato de 4-6 pulgadas que contenían 16 copias de EPSPS. La altura de la planta se puntuó a los 21 días después del tratamiento con glifosato. Los resultados (presentados como un porcentaje del control/muerte de la maleza y como la altura de la planta) se proporcionan en la Tabla 29. Las sales de isopropilamonio y monoetanolamonio de glifosato proporcionaron mejor actividad herbicida en comparación con la sal de potasio.

Tabla 29

Tratamiento	Control de palmera (%)	Altura de palmera (cm)
Sin adición	0	16
K+ glifosato	23	12,3
K+ glifosato + polinucleótidos de EPSPS	32	10,8
IPA+ glifosato	9	14,5
IPA+ glifosato + polinucleótidos de EPSPS	66	5,5
MEA+glifosato	9	14,5
MEA+ glifosato + polinucleótidos de EPSPS	66	5,5

225) Se investigó el efecto de los cationes de poliamina de espermina (N,N'-bis(3-aminopropil)butano-1,4-diamina) y espermidina (N-(3-aminopropil)butano-1,4-diamina) sobre la actividad herbicida de polinucleótidos aplicados tópicamente (ARN) sobre plantas de palmera amaranto resistentes al glifosato. Las soluciones polinucleotídicas se prepararon utilizando una mezcla de cantidades iguales de las cuatro moléculas de ARNbc "corto" de tamaño de oligonucleótido descritas en el Ejemplo 1, que tienen una

cadena antisentido diseñada para hibridar con el ARNm transcrito a partir del gen de EPSPS palmera amaranto (SEQ ID NO:1) en las posiciones 14-38 (ARNbc-1 corto), posiciones 153-177 (ARNbc-2 corto), 345-369 (ARNbc-3 corto) y 1105-1129 (ARNbc-4 corto) tal como se indica mediante los nucleótidos subrayados en la Figura 1; los ARNbc tenían un excedente de dos nucleótidos en el extremo 3' de la cadena antisentido y tenían dos desoxinucleótidos como los nucleótidos terminales en el extremo 3' de la cadena sentido. Las soluciones de polinucleótidos de ARNbc se prepararon con 1 o 10 milimolares de espermina o espermidina o 2% de sulfato de amonio, en solución amortiguadora de 10 milimolares de fosfato de sodio (pH 6,8). Las soluciones testigo (sin polinucleótidos) se prepararon con 1 o 10 milimolares de espermina o espermidina o 2% de sulfato de amonio, en solución amortiguadora de 10 milimolares de fosfato de sodio (pH 6,8). Las plantas de palmera amaranto resistentes a glifosato (33, 36 o 57 copias de EPSPS) se prepulverizaron con 1% de Silwet L-77. Las soluciones de polinucleótido de ARNbc (11,6 gramos/acre) o las soluciones amortiguadoras se aplicaron como gotas en cuatro hojas inferiores completamente expandidas de palmera amaranto de resistente a glifosato mediante pipeteo. Dos días después del tratamiento con polinucleótidos las plantas se pulverizaron con glifosato (3360 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®). Las plantas se fotografiaron a los 14 días después del tratamiento con glifosato; los resultados se muestran en la Figura 39. El tratamiento con ARNbc y 10 milimolares de espermina con posterior tratamiento con glifosato mató a la palmera amaranto resistente a glifosato con 33 copias de EPSPS y lesionó gravemente y produjo enanismo en la palmera amaranto resistente a glifosato con 36 copias de EPSPS. El tratamiento con 10 mM de espermidina sola produjo enanismo en la palmera amaranto resistente a glifosato con 33 copias. En este experimento específico, ni espermina ni espermidina a 1 o 10 milimolares tuvieron el mismo rendimiento que el 2% de sulfato de amonio.

Ejemplo 36

226) Se evaluó la eficacia de diferentes tensioactivos como agentes de transferencia de polinucleótidos en soluciones de polinucleótidos para pulverización aplicadas a palmera amaranto resistente a glifosato. Se adquirieron tensioactivos Break-Thru de Evonik Industries; y tensioactivos Silwet de Momentive. Las soluciones para pulverización se prepararon el mismo día de la pulverización. Se agregó una mezcla de polinucleótidos de EPSPS (IDT [1] (SEQ ID NO:83-84), IDT [3] (SEQ ID NO:87-88) y IDT [4] (SEQ ID NO:89-90)) a soluciones para pulverización 15 a 50 minutos antes de la pulverización y se

aplicaron 1 a 2 mililitros utilizando un pulverizador común de bajo volumen muerto (“milli”) a plantas de palmera amaranto resistentes a glifosato de una a cuatro pulgadas (R-22) cultivadas a partir de cortes. Se aplicaron entre 10 y 225 microgramos de polinucleótidos totales a cada planta, dependiendo del experimente; típicamente se aplicaron 23 microgramos de polinucleótidos totales por planta. Las plantas tratadas se colocaron en un invernadero con una programación fijada de temperatura de 26,7/21,1 grados Celsius o 29,4/21,1 grados Celsius durante 14/10 horas y luz complementaria. 2 a 3 días después, la plantas se pulverizaron con glifosato (“2X Wmax” o 1682 g de equivalente ácido por hectárea de herbicida marca Roundup® WeatherMAX®) mediante pulverizador común (10 galones/acre) y se volvieron a colocar en el invernadero. La cantidad de control (lesión visual) con respecto a los tratamientos sin pulverización, la altura de las plantas y las fotografías de la palmera amaranto se tomaron a diferentes intervalos de tiempo de hasta 21 días después del tratamiento con glifosato. El peso fresco del material vegetal por encima del suelo se recogió en el último punto de tiempo. Se otorgó una puntuación general de lesión de la planta 0 y 3 a cada tratamiento en base al análisis combinado de Control, Altura, Peso fresco y Fenotipo vegetal visual, donde “3“es actividad herbicida intensa, “2” es actividad moderada, “1” es actividad leve y “0” es sin actividad observada después de la corrección para cualquier lesión observada provocada por el tratamiento solo con glifosato; los resultados se muestran en la Tabla 30.

227) Las propiedades físicas de los diferentes tensioactivos también se investigaron y se muestra en la Tabla 30. Se prepararon setenta mililitros de solución de tensioactivo (0,5% de tensioactivo en solución acuosa que contenía 2% de sulfato de amonio, solución amortiguadora (20 milimolares de fosfato de potasio, pH 6,8), con o sin un polinucleótido de EPSPS (IDT [2] (SEQ ID NO:85-86), 0,09 miligramos/mililitro) agregados, el mismo día de la medición. La tensión superficial dinámica se midió a temperatura ambiente (22 a 23 grados Celsius) en un tensiómetro Kruss BP100 utilizando el método de presión máxima de burbuja con gráfica de tensión superficial con respecto a edad de la superficie. El instrumento se programó para detectar automáticamente la superficie e sumergir el capilar hasta una profundidad de 10 mm. Se registraron las mediciones de tensión superficial para tres edades de superficie (aproximadamente 20, 500 y 1250 ms). La tensión superficial en dinas por cm se indicó en el intervalo de 1250 ms como una aproximación de la tensión superficial estática y el cambio entre 20 y 500 ms se indicó como una estimación de la tensión superficial dinámica. Los valores de balance hidrófilo-lipófilo balance (HLP) para los tensioactivos se obtuvieron a partir de referencias de tensioactivo e información del producto.

Tabla 30

Nombre de tensioactivo	Número CAS	Composición química	Tipo de tensioactivo	Clase de tensioactivo	Puntuación de lesión de palmera	Tensión superficial		delta 20 - 500 ms	HLB
						bibliografía	1250 ms		
Break-Thru S 321	nc	polisiloxano modificado con poliéter	organosilicona	no iónico	3	nc	22,7	27,1	40,0
Break-Thru S 200	67674-67-3	polisiloxano modificado con poliéter	organosilicona	no iónico	3	22	26,9	23,0	
Break-Thru OE 441	68937-55-3	polisiloxano modificado con poliéter	organosilicona	no iónico	1	nc	43,8	2,9	40,0
Break-Thru S 278	27306-78-1	polisiloxano modificado con poliéter	organosilicona	no iónico	2	21	24,2	23,4	
Break-Thru S	nc	polisiloxano modificado	organosilicona	no iónico	2	47	50,3	7,7	16,7

243		con poliéter							
Silwet L-77	27306-78-1	trisiloxano; polimetilsiloxano modificado con óxido de polialquileno	organosilicona	no iónico	3	20,5	26,4	23,4	13,5
Silwet HS 429	nc	siliciona hidrolíticamente estable	organosilicona	no iónico	3	32-40	40,1	12,1	
Silwet HS 312	nc	silicona	organosilicona	no iónico	3	26,7	29,5	11,3	
Break-Thru S 233	134180-76-0	trisiloxano	organosilicona	no iónico	3	23	26,1	10,0	

REIVINDICACIONES

1. Un método para regular la expresión de un gen endógeno objetivo en plantas u órganos vegetales en crecimiento que incluye revestir tópicamente plantas u órganos vegetales en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en dicho gen endógeno objetivo o en el ARN mensajero transcrito a partir de dicho gen endógeno objetivo y una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que el al menos un polinucleótido permee el interior de dichas plantas u órganos vegetales en crecimiento, con lo cual el al menos un polinucleótido regula la expresión de dicho gen endógeno objetivo.

2. Un método para potenciar la actividad de un herbicida en plantas en crecimiento que comprende:
(a) revestir tópicamente la superficie de dichas plantas en crecimiento con una composición polinucleotídica que comprende:
(i) al menos un polinucleótido que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de 18 o más nucleótidos contiguos en un gen endógeno de dichas plantas crecientes, en donde dicho gen endógeno expresa una proteína que interactúa con un herbicida y
(ii) una cantidad eficaz de un agente de transferencia para permitir que dichos polinucleótidos permeen el interior de dichas plantas en crecimiento y
(b) aplicar dicho herbicida a dichas plantas en crecimiento;
con lo cual dicho al menos un polinucleótido permea el interior de dichas plantas en crecimiento e induce la supresión de dicho gen endógeno, potenciando así la actividad dicho herbicida en dichas plantas en crecimiento.

3. En un composición herbicida líquida adaptada para revestimiento tópico sobre la superficie exterior de plantas en crecimiento que comprende tensioactivo y al menos un agente letal para plantas, donde la mejora de dicho agente letal para plantas comprende polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen vegetal o a la secuencia del ARN transcrito de dicho gen vegetal, produciendo dochos polinucleótidos la producción sistémica de ARN pequeños que hibridan con una sonda para dicho gen vegetal.

4. En una composición herbicida líquida que comprende un herbicida no polinucleotídico, la mejora en donde dicha composición comprende además polinucleótidos que tienen una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a una secuencia de una planta vegetal o a una secuencia del ARN transcrito de dicho gen vegetal.

5. Una composición que consiste esencialmente en

(a) una solución de polinucleótidos de ADN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de dicho gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dicha planta con dicho gen endógeno o dicho ARN transcrito a partir de dicho gen endógeno para producir el silenciamiento de dicho gen endógeno; y

(b) transferir un agente eficaz para facilitar la transferencia de dichos polinucleótidos de ADN bicatenario desde la superficie de dicha planta hacia las células de dicha planta.

6. Una composición que consiste esencialmente en

(a) una solución de polinucleótidos de ADN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de dicho gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ADN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dicha planta con dicho gen endógeno o dicho ARN transcrito a partir de dicho gen endógeno para producir el silenciamiento de dicho gen endógeno; y

(b) transferir un agente eficaz para facilitar la transferencia de dichos polinucleótidos de ADN monocatenario desde la superficie de dicha planta hacia las células de dicha planta.

7. Una composición que consiste esencialmente en

(a) una solución de polinucleótidos de ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de dicho gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dicha planta con dicho gen endógeno o dicho ARN transcrito a partir de dicho gen endógeno para producir el silenciamiento de dicho gen endógeno; y

(b) transferir un agente eficaz para facilitar la transferencia de dichos polinucleótidos de ARN bicatenario desde la superficie de dicha planta hacia las células de dicha planta.

8. Una composición que consiste esencialmente en

(a) una solución de polinucleótidos de ARN monocatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de dicho gen endógeno; en donde los polinucleótidos de ARN monocatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dicha planta con dicho gen endógeno o dicho ARN transcrito a partir de dicho gen endógeno para producir el silenciamiento de dicho gen endógeno; y

(b) transferir un agente eficaz para facilitar la transferencia de dichos polinucleótidos de ARN monocatenario desde la superficie de dicha planta hacia las células de dicha planta.

9. Una composición que consiste esencialmente en

(a) una solución de polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario no transcribible que tiene una secuencia esencialmente idéntica o esencialmente complementaria a la secuencia de un gen endógeno de una planta o a la secuencia de ARN transcrita a partir de dicho gen endógeno; en donde los polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario son capaces de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dicha planta con dicho gen endógeno o dicho ARN transcrito a partir de dicho gen endógeno para producir el silenciamiento de dicho gen endógeno; y

(b) transferir un agente eficaz para facilitar la transferencia de dichos polinucleótidos de híbrido de ADN/ARN bicatenario desde la superficie de dicha planta hacia las células de dicha planta.

10. Un método para controlar selectivamente plantas espontáneas resistentes a herbicidas objetivo en un campo de cultivos resistentes a herbicidas que comprende aplicar sobre las hojas de las plantas espontáneas una composición que comprende oligómeros polinucleotídicos que proporcionan en células de las plantas espontáneas ARN monocatenario sistémico que es capaz de hibridar en condiciones fisiológicas en células de dichas plantas espontáneas con ARN mensajero que se transcribe a partir de un gen endógeno que (i) es un gen esencial para mantener el crecimiento o la vida de la planta espontánea, (ii) codifica una proteína que proporciona

resistencia a herbicidas a dicha planta espontánea o (iii) se transcribe en un agente regulador de ARN.

11. Un método para investigar la genética inversa modulando un gen endógeno en una planta, comprendiendo dicho método aplicar tópicamente sobre tejido de una planta viva una composición de acuerdo con la reivindicación 1.

12. Una composición herbicida que comprende una solución acuosa de (a) un agente para acondicionar una planta para la permeación de oligómeros polinucleotídicos y (b) oligómeros polinucleotídicos que comprenden al menos una cadena polinucleotídica que comprende al menos un segmento de 18 o más nucleótidos contiguos de un gen endógeno de dicha planta en dirección antisentido o sentido, en donde el gen endógeno codifica una proteína que proporciona a dicha planta resistencia a un herbicida químico o es un gen esencial.

13. Una planta que comprende ADN o ARN exógeno para suprimir un gen endógeno, donde el ADN exógeno no está integrado en un cromosoma de dicha planta y dicho ARN exógeno no se transcribe a partir de ADN integrado en un cromosoma de dicha planta y en donde el gen endógeno se suprime mediante aplicación tópica de un polinucleótido en dicha planta después que la planta ha emergido de una semilla.

14. Un método para administrar un polinucleótido en el interior de una célula vegetal mediante aplicación tópica del polinucleótido en el exterior de la célula vegetal, compreendiendo dicho método combinar dicho polinucleótido con un tensioactivo de organosilicona.

15. Un método de cualquiera de las reivindicaciones 1, 2, 10, 11 o 14
en donde dicha expresión de dicho gen endógeno objetivo se regula en células vegetales distintas a las revestidas tópicamente;
en donde dicho gen endófeno objetivo se regula sistémicamente en al menos un órgano vegetal;
en donde dicho gen endógeno objetivo codifica una proteína seleccionada del grupo que consiste en 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX

oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-transferasa (GST), una proteína D1 de fotosistema II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina, una RUBISCO, un factor de iniciación de traducción, una fitoeno desaturasa y una adenosina tripolifosfatasa (ddATP) de ADN bicatenario;

en donde los polinucleótidos se dirigen a diferentes segmentos de un gen endógeno o a diferentes genes endógenos;

en donde la permeación de dichos polinucleótidos desde la superficie de una planta hacia las células utiliza un agente de transferencia que comprende una organosilicona;

en donde la permeación de dichos polinucleótidos desde la superficie de una planta hacia las células utiliza un agente de transferencia que comprende una sal de amonio;

en donde dichas plantas se cultivan en un campo abierto;

en donde dichas plantas se cultivan en un invernadero;

en donde dichas plantas también se pulverizan con un herbicida no polinucleotídico;

o una combinación de uno o más de estos.

16. Una composición de cualquiera de las reivindicaciones 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 12

en donde dicho agente de transferencia se selecciona del grupo que consiste en un tensioactivo y una sal;

en donde dicho tensioactivo es un tensioactivo de organosilicona;

en donde dicho tensioactivo de organosilicona es un copolímero de poliester y silicona;

en dicho copolímero de poliester y silicona es un copolímero de heptametil trisiloxano modificado con óxido de polialquileno y aliloxipolipropilenglicol metiléter (disponible como tensioactivo Silwet® L-77);

comprendiendo además una molécula herbicida no polinucleotídica;

en donde dicho gen vegetal codifica una proteína que proporciona tolerancia a herbicidas y es una 5-enolpiruvilshiquimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), una ácido acetohidroxi sintasa o una acetolactato sintasa (ALS), una acetil-coenzima A carboxilasa (ACCasa), una dihidropteroato sintasa, una fitoeno desaturasa (PDS), una protoporfirina IX oxigenasa (PPO), una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), una para-aminobenzoato sintasa, una glutamina sintasa (GS), una 1-desoxi-D-xilulosa 5-fosfato (DOXP) sintasa, una dihidropteroato (DHP) sintasa, una fenilalanina amoníaco liasa (PAL), una glutatión S-

transferasa (GST), una proteína D1 de fotosistema II, una mono-oxigenasa, un citocromo P450, una celulosa sintasa, una beta-tubulina, una RUBISCO, un factor de iniciación de traducción, una fitoeno desaturasa y una adenosina tripolifosfatasa (ddATP) de ADN bicatenario;

o una combinación de estas.

RESUMEN

La presente invención proporciona moléculas polinucleótídicas y métodos para regular genes en plantas, por ejemplo, proporcionando ARN para la regulación sistémica de genes. Varios aspectos de la invención proporcionan moléculas polinucleotídicas y métodos para regular genes y transgenes endógenos en una célula vegetal y moléculas polinucleotídicas.

.

Figura 1

ATGGCTCAAGCTACT**ACCATCAACAATGGTGTCCATACTGGTCAATTGCACCATACTTTACCCAAAA**
CCCAGTTACCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATTTTGGATCAAACTTGAGAATTTCTCCAAAGTTCAT
GTCTTTAACCAATAAAAGAGTTGGTGGGCAATCATCAATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTTGCT
GCTGCAGCTGAGAAACCTTCATCTGTCCCAGAAATTGTGTTACAACCCATCAAAGAGATCTCTGGTA
CTGTTCAATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTTCTTTTAGCTGCTTTGTCTGAGGG
CACAACAGT**GGTCGACAACTTGCTGTATAGTGAT**GATATTCTTTATATGTTGGACGCTCTCAGAACT
CTTGGTTTAAAAGTGGAGGATGATAGTACAGCCAAAAGGGCAGTCGTA**GAGGGTTGTGGTGGTCTGT**
TTCCTGTTGGTAAAGATGGAAAGGAAGAGATTCAACTTTTCCTTGGTAATGCAGGAACAGCGATGCG
CCCATTGACAGCTGCGGTTGCCGTTGCTGGAGGAAATTCAAGTTATGTGCTTGATGGAGTACCAAGA
ATGAGGGAGCGCCCCATTGGGGATCTGGTAGCAGGTCTAAAGCAACTTGGTTCAGATGTAGATTGTT
TTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGTTCGGGTCAATGCTAAAGGAGGCCTTCCAGGGGGCAAGGTCAA
GCTCTCTGGATCGGTTAGTAGCCAATATTTAACTGCACTTCTCATGGCTACTCCTTTGGGTCTTGGA
GACGTGGAGATTGAGATAGTTGATAAATTGATTTCTGTACCGTATGTTGAAATGACAATAAAGTTGA
TGGAACGCTTTGGAGTATCCGTAGAACATAGTGATAGTTGGGACAGGTTCTACATTCGAGGTGGTCA
GAAATACAAATCTCCTGGAAAGGCATATGTTGAGGGTGATGCTTCAAGTGCTAGCTACTTCCTAGCC
GGAGCCGCCGTCACTGGTGGGACTGTCACTGTCAAGGGTTGTGGAACAAGCAGTTTACAGGGTGATG
TAAAATTTGCCGAAGTTCTTGAGAAGATGGGT**TGCA**AGGTCACCTGGACAGAGAATAGTGTAACTGT
TACTGGACCACCCAGGGATTCATCTGGAAAGAAACATCTGCGTGCTATCGACGTCAACATGAACAAA
ATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGCCTTGTATGCAGATGGGCCCACCGCCATCAGAG
ATGTGGCTAGCTGGAGAGTGAAGGAAACCGAACGGATGATTGCCATTTGCACAGAACTGAGAAAGCT
TGGGGCAACAGTTGAGGAAGGATCTGATTACTGTGTGATCACTCCGCCTGAAAAGCTAAACCCCACC
GCCATTGAAACTTATGACGATCACCGAATGGCCATGGCATTCTCTCTTGCTGCCTGTGCAGATGTTC
CCGTCACTATCCTTGATCCGGGATGCACCCGTAAAACCTTCCCGGACTACTTTGATGTTTTAGAAAA
GTTCGCCAAGCATTGA

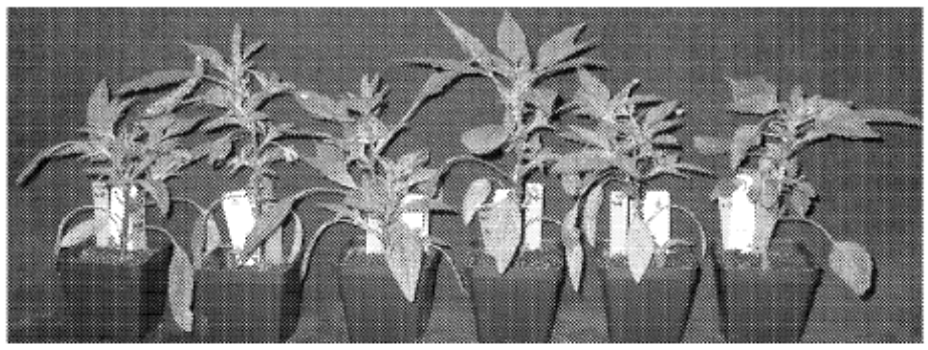
SEQ ID NO:1

Figura 2

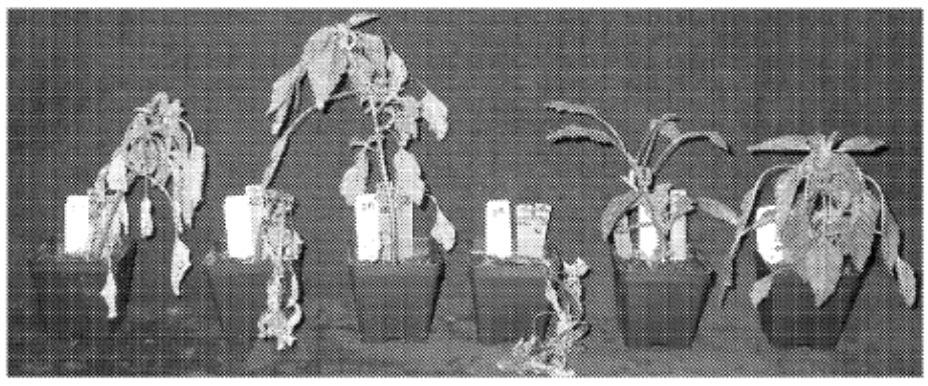
GGCCCATAGGCCTTTTTCTAAAATAGGCCCATTTAAGCTATTAACAATCTTCAAAAGTACCACATCG
CTTAGGTAAAGAAAGCAGCTGAGTTTATATATGGTTAGAGACGAAGTAGTGATTGCGACGAGCGACG
TCTCGCCCTCATCGCAATCCACGCCATTGAGCTTGAGGCCATTGGCGACGGCCGAGAGGCGGTCGCT
TAAGATTAGCATGTCCTTGACGCGGAGTTCTTCCAGACCGTTCATCACGGTCGCCCCTTCCGCGAAG
GCGGCGGCGACAGCGAGAATCGGATATTCGTCGATCATCGAAGGCGCGCGGTCTTCCGGCACCGTGA
CGCATAAAcacggtgccggaagaccgcgcgccttcgatgatcgacgaatatccgattctcgctgtcg
ccgccgccttcgcggaaggggcgaccgtgatgaacggtctggaagaactccgcgtcaaggaaagcga
ccgcctctcggccgtcgccaatggcctcaagctcaatggcgtggattgcgatgagggcgagacgtcg
ctcgtcgTTTTTTTTGGCAAAAA

SEQ ID NO:3

Figura 3



3A



3B



3C

Figura 4

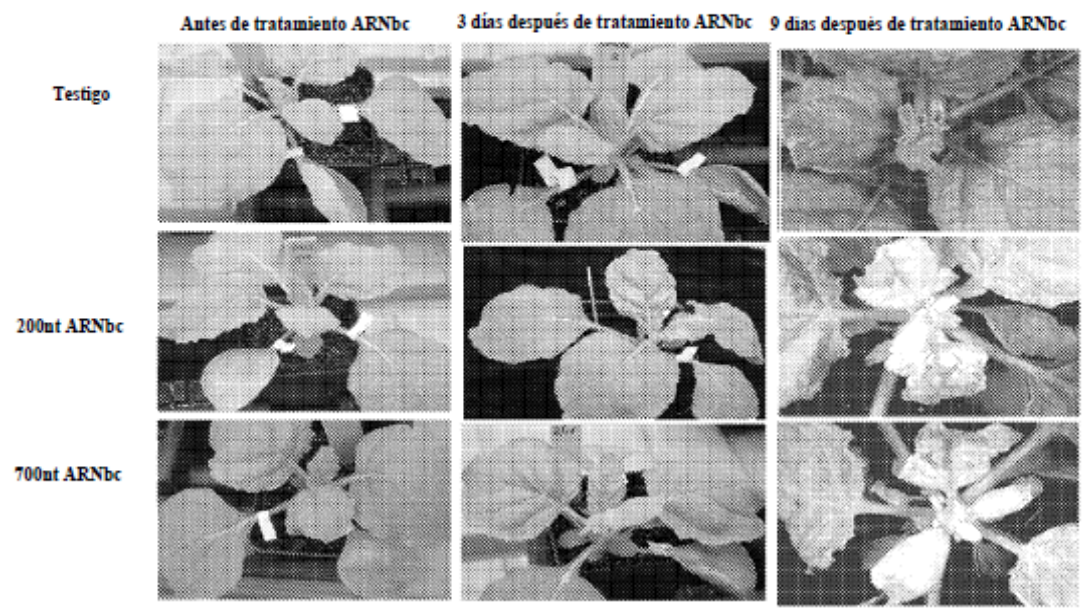
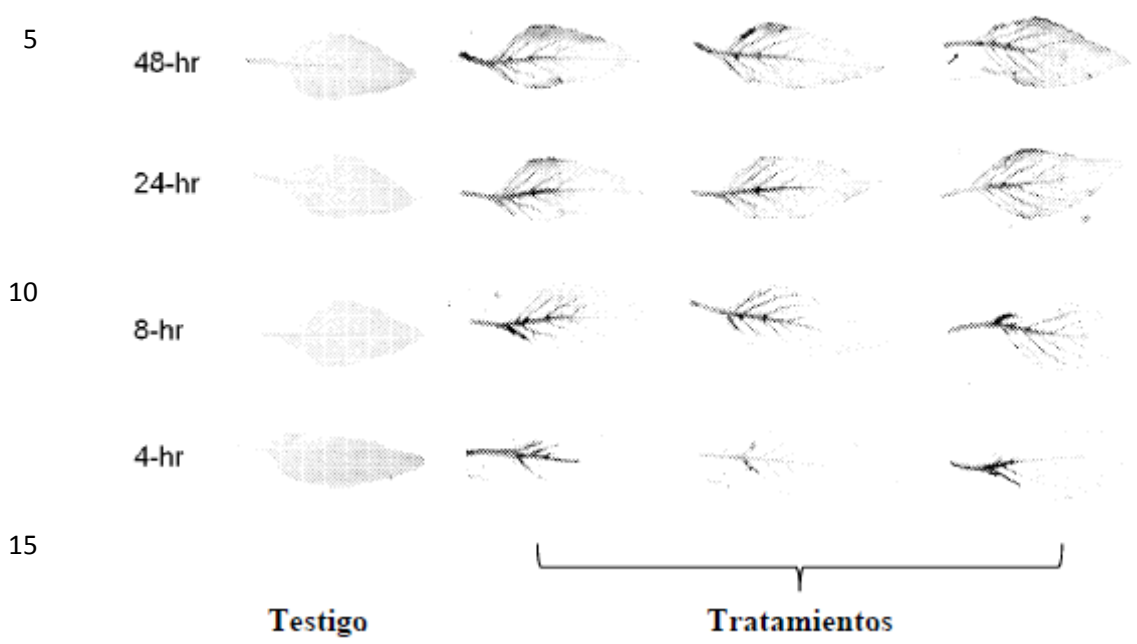

Antes de tratamiento ARNbc
3 días después de tratamiento ARNbc
9 días después de tratamiento ARNbc
Testigo
200nt ARNbc
700nt ARNbc

Figura 5

ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAATTCAGCTTATCTTTGGA
GCTCGAGGTCTTCGTTGGGAACTGAAAGTCAAGATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTGG
TAGTAGCGACTCCATGGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGACA
AAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCAGAGCTAGACAATACAGTTA
ACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATCGTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGA
GATTGTTATTGCTGGTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGTCAC
AAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGCTGCATGGAAAGATGATGATG
GAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAACCTGTTTGG
AGAACTAGGGATTGATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATGCCTAACAAG
CCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGCCATTAAATGGAATTTTGGCCA
TACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGGCCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGC
AATGCTTGGAGGGCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGAGAAAG
CAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATGTCAAAGGCACTTAACTTCATAA
ACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCATTTTGATTGCTT**T**GA**ACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGG**
TTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTGGAACATATT
GAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAAGATCGAGCTGAATGAGGATGGAA
GTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATGGCAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCC
AGTGGATATCTTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAAGTTGGAG
AAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTGACAGAAAACTGAAGAACACATCTG
ATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCGTTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGA
ATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGATAAATCGT
AGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCGAAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGG
CAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAAC
TGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTATTTAGCTGGT
GACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGCTGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCAC
AAGCTATTGTACAGGATTACGAGTTACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGT
AGTTAGCATAGTGAACTAA

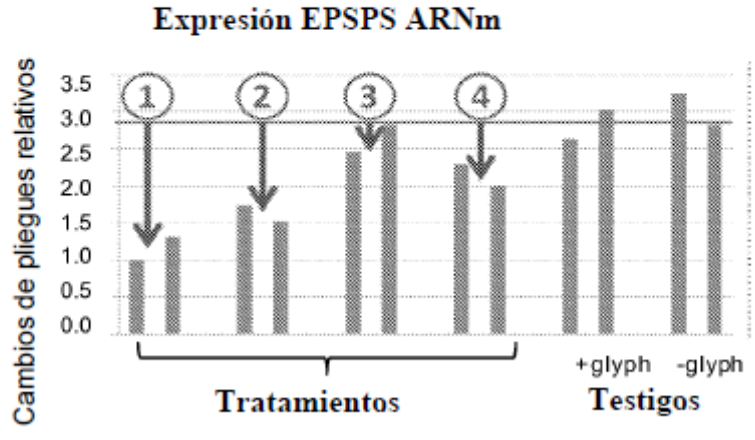
SEQ ID NO:2

Figura 6



7/42

Figura 7


Expresión EPSPS ARNm
Cambios de pliegues relativos
3.5
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
1
2
3
4
+glyph
-glyph
Tratamientos
Testigos

8/42

Figura 8

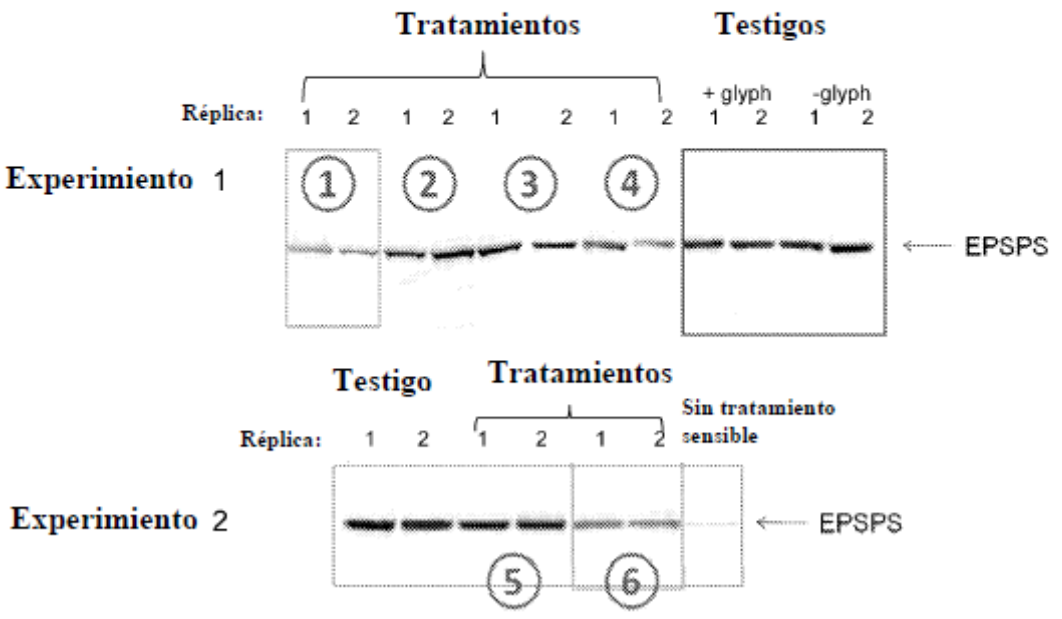

Tratamientos
Testigos
Réplica: 1 2 1 2 1 2 1 2
+ glyph
-glyph
1 2 1 2
Experimiento 1
1
2
3
4
EPSPS
Testigo
Tratamientos
Sin tratamiento sensible
Réplica: 1 2 1 2 1 2
Experimiento 2
EPSPS
5
6

Figura 9

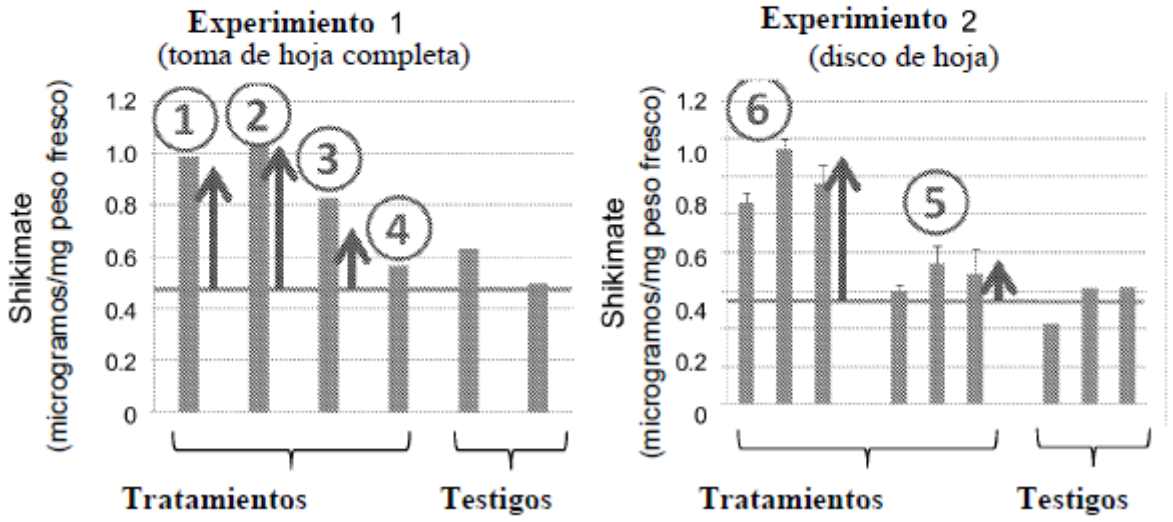

Experimiento 1
(toma de hoja completa)
Shikimate
(microgramos/mg peso fresco)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
1
2
3
4
Tratamientos
Testigos
Experimiento 2
(disco de hoja)
Shikimate
(microgramos/mg peso fresco)
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
6
5
Tratamientos
Testigos

Figura 10

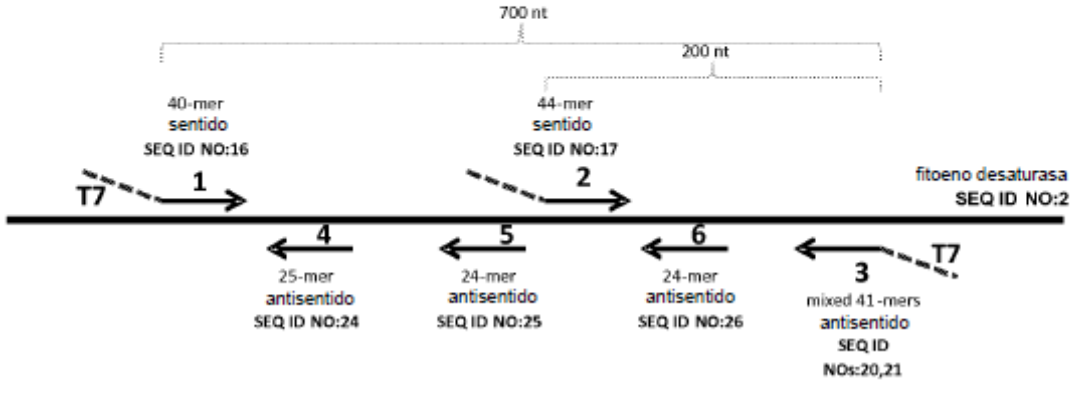
>gi|93117609|gb|DQ469932.1| Nicotiana benthamiana ARNm fitoeno desaturasa, cds completo

ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAATTCAGCTTATCTTTGGA
GCTCGAGGTCTTCGTTGGGAACTGAAAGTCAAGATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTGG
TAGTAGCGACTCCATGGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGACA
AAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCAGAGCTAGACAATACAGTTA
ACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATCGTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGA
GATTGTTATTGCTGGTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGTCAC
AAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGCTGCATGGAAAGATGATGATG
GAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATATTCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAACCTGTTTGG
AGAACTAGGGATTGATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATGCCTAACAAG
CCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGCCATTAAATGGAATTTTGGCCA
TACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGGCCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGC
AATGCTTGGAGGGCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGAGAAAG
CAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATGTCAAAGGCACTTAACTTCATAA
ACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCATTTTGATTGCTTTGA**ACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGG**
TTCAAAAATGGCCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTGGAACATATT
GAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAAGATCGAGCTGAATGAGGATGGAA
GTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATGGCAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCC
AGTGGATATCTTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAAGTTGGAG
AAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTGACAGAAAACTGAAGAACACATCTG
ATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCGTTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGA
ATATTACAACCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGATAAATCGT
AGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCGAAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGG
CAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATTGAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAAC
TGTGCCAGGTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTATTTAGCTGGT
GACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGCTGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCAC
AAGCTATTGTACAGGATTACGAGTTACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGT
AGTTAGCATAGTGAACTAA

SEQ ID NO:2

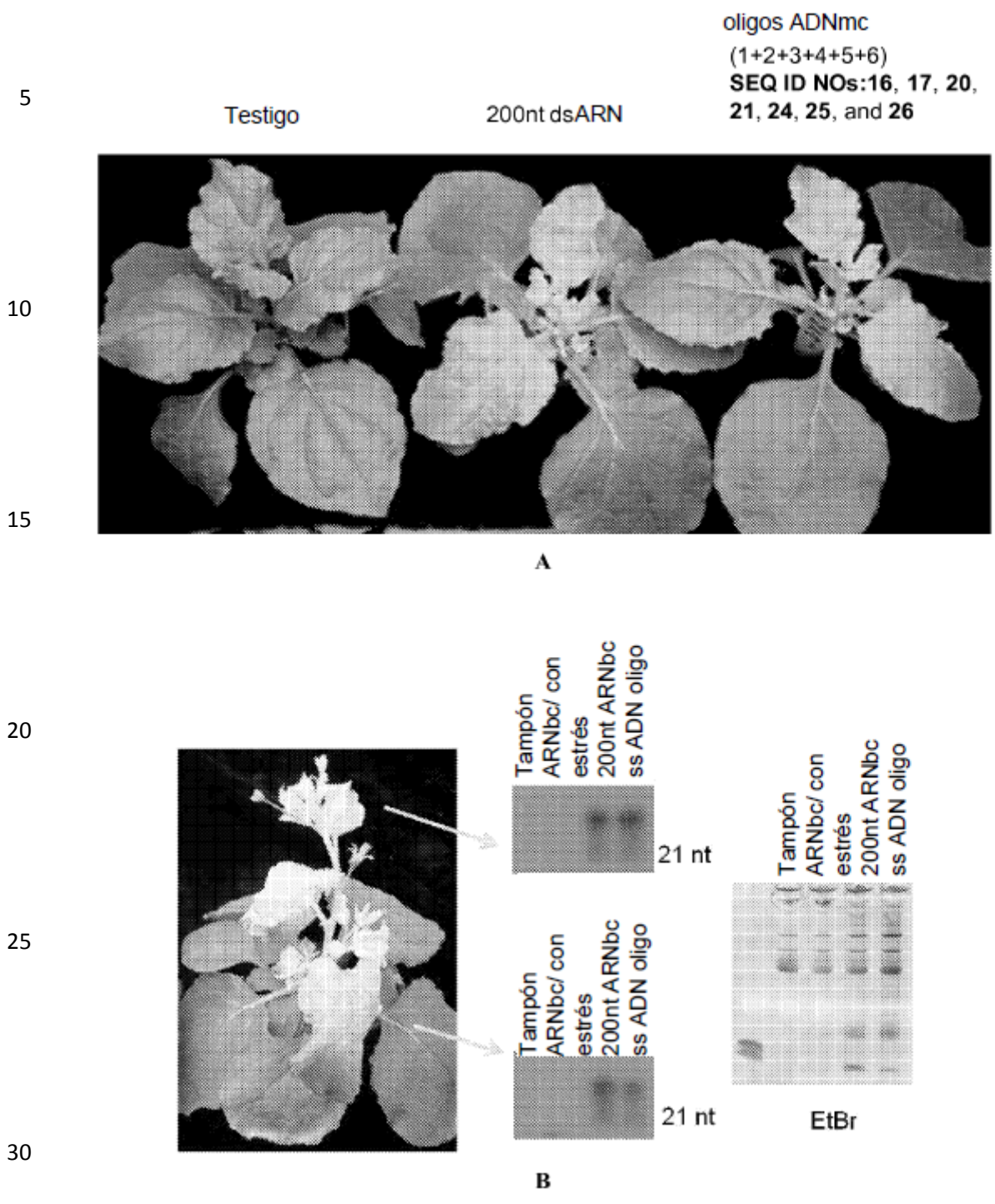
11/42

Figura 11



12/42

Figura 12



13/42

Figura 13

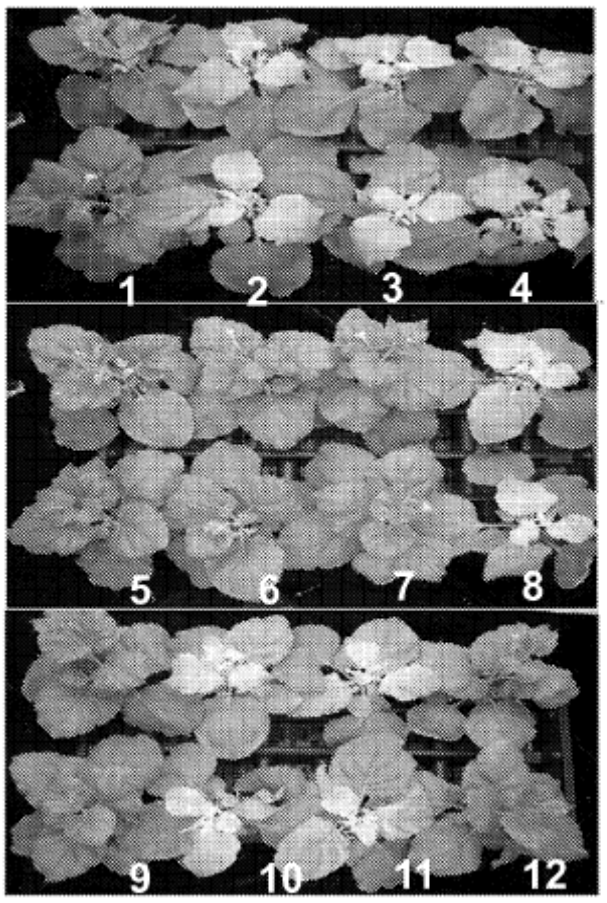


Figura 14

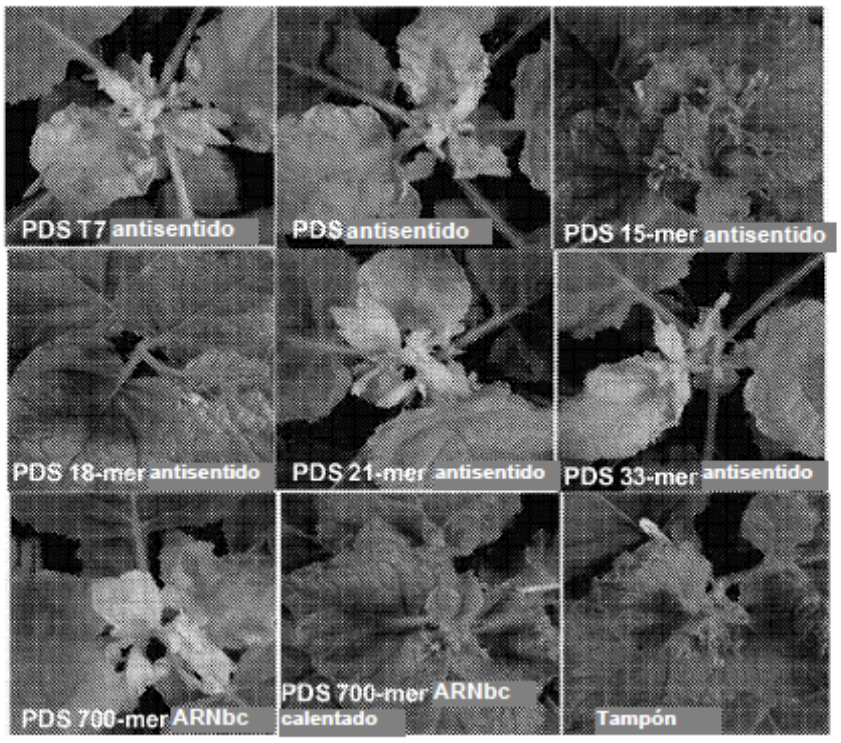

PDS T7 antisentido
PDS antisentido
PDS 15-mer antisentido
PDS 18-mer antisentido
PDS 21-mer antisentido
PDS 33-mer antisentido
PDS 700-mer ARNbc
PDS 700-mer ARNbc calentado
Tampón

Figura 15

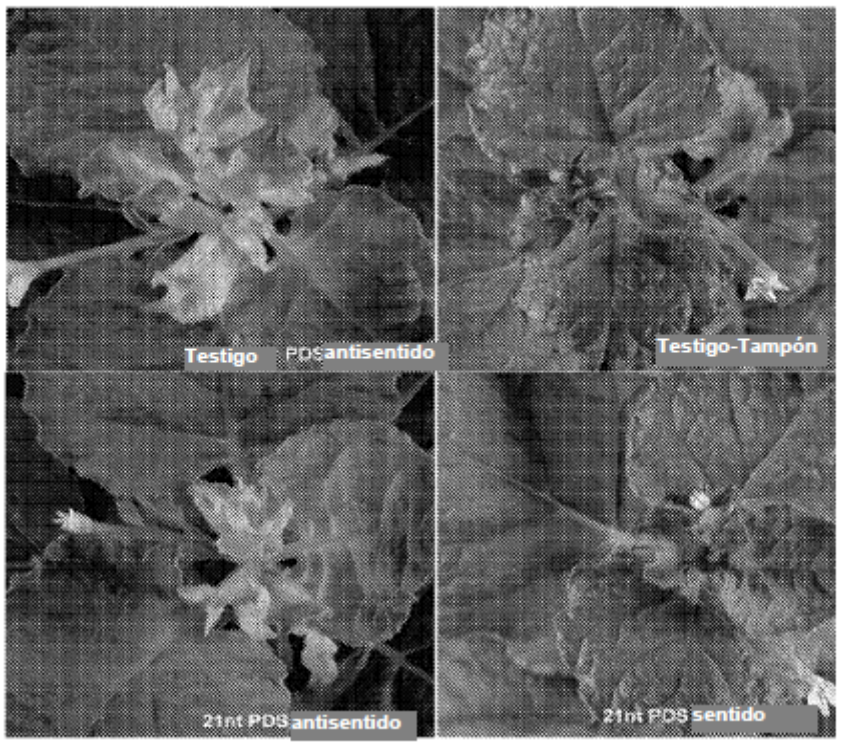

Testigo
PDS antisentido
Testigo-Tampón
21nt PDS antisentido
21nt PDS sentido

Figura 16

```
                                10                        20
Palmer      T-----CAA-------TTTCATCT-------ATTGGA-------AGTGAT  SEQ ID NO:37
                  :::       ::  ::::       ::: ::       ::  :
Benthamiana ATGCCCCAAATCGGACTTGTATCTGCTGTTAATTTGAGAGTCCAAGGTAA  SEQ ID NO:38
                  10        20        30        40        50

                       30                40        50
Palmer      TT---------TTTGG--------GTCATTCTGTGAGAAATTTCAGTG--
            ::         :::::         ::: :::  :: ::: :   :::
Benthamiana TTCAGCTTATCTTTGGAGCTCGAGGTC-TTCGTTGGGAACTGAAAGTCAA
                  60        70         80        90

                                60
Palmer      --------------------TTAGTAAAGTTT----------------AT
                                :: :: : ::::                ::
Benthamiana GATGTTTGCTTGCAAAGGAATTTGTTATGTTTTGGTAGTAGCGACTCCAT
          100       110       120       130       140

           70         80        90
Palmer      GGAGCA-AAGCAAAGAAATGGGC-----ACTGCC----------------
            :: ::: :::  ::: : : :       : ::::
Benthamiana GGGGCATAAGTTAAGGATTCGTACTCCAAGTGCCACGACCCGAAGATTGA
          150       160       170       180       190

                     100       110       120       130
Palmer      ---------------CTTTAAAGGTTGTTTGTATAGATTATCCTAGGCCA
                           :::::::::: :: :: :: :::::::: :: :::
Benthamiana CAAAGGACTTTAATCCTTTAAAGGTAGTCTGCATTGATTATCCAAGACCA
          200       210       220       230       240

                140       150       160       170       180
Palmer      GAGCTTGAAAGTACATCCAATTTCTTGGAAGCCGCCTACTTATCTTCTAC
            ::::: :: : ::::   :: :  ::::: :: :: :  ::::: ::  :
Benthamiana GAGCTAGACAATACAGTTAACTATTTGGAGGCGGCGTTATTATCATCATC
          250       260       270       280       290

                190       200       210       220       230
Palmer      TTTTCGGAATTCGCCTCGTCCTCAGAAGCCATTAGAAGTTGTAATTGCTG
             ::::: : :::  : :: ::    :: ::::: ::  :::: :::::::
Benthamiana GTTTCGTACTTCCTCACGCCCAACTAAACCATTGGAGATTGTTATTGCTG
          300       310       320       330       340

                240       250       260       270       280
Palmer      GAGCAGGTTTGGCTGGTCTATCCACGGCAAAGTATTTAGCTGATGCAGGT
            : :::::::::: :::: : :: :: ::::: ::: : :: ::::: :::
Benthamiana GTGCAGGTTTGGGTGGTTTGTCTACAGCAAAATATCTGGCAGATGCTGGT
              350       360       370       380       390

                290       300       310       320       330
Palmer      CACAAACCCATATTGTTGGAAGCACGAGATGTTTTAGGAGGAAAGGTTGC  SEQ ID NO:37
            :::::::: :::::: :::: ::: :::::::  :::: :: ::::: ::
Benthamiana CACAAACCGATATTGCTGGAGGCAAGAGATGTCCTAGGTGGGAAGGTAGC  SEQ ID NO:38
          400       410       420       430       440
```

Figura 16 (continuación)

```
                340       350       360       370       380
Palmer      AGCGTGGAAGGATGAGGATGGTGACTGGTATGAGACTGGGCTACATATAT  SEQ ID NO:37
             :: ::::: ::::: ::::: :: ::::: ::::::::: : :: ::::
Benthamiana TGCATGGAAAGATGATGATGGAGATTGGTACGAGACTGGGTTGCACATAT  SEQ ID NO:38
          450       460       470       480       490

                390       400       410       420       430
Palmer      TCTTTGGGGCATATCCAAATGTCCAAAATCTATTTGGAGAACTTGGTATA
            :::::::::: :: ::::::: : :: :: :: :::::::::: :: ::
Benthamiana TCTTTGGGGCTTACCCAAATATGCAGAACCTGTTTGGAGAACTAGGGATT
          500       510       520       530       540

                440       450       460       470       480
Palmer      AATGACCGACTGCAATGGAAGGAGCACTCTATGATTTTTGCAATGCCCAG
             :::: ::  :::: ::::::::: :: :: ::::: ::::: ::::: :
Benthamiana GATGATCGGTTGCAGTGGAAGGAACATTCAATGATATTTGCGATGCCTAA
         550       560       570       580       590

                490       500       510       520       530
Palmer      CAAGCCCGGTGAATTCAGTCGCTTTGATTTTCCCGAAATCCTGCCTGCAC
            :::::: :: :: ::::: :::::::::::::: :::   :: ::::: :
Benthamiana CAAGCCAGGGGAGTTCAGCCGCTTTGATTTTCCTGAAGCTCTTCCTGCGC
          600       610       620       630       640

                540       550       560       570       580
Palmer      CATTAAATGGCATATGGGCAATCCTAAGAAATAATGAAATGCTAACCTGG
            :::::::::: :: : ::: :: ::::  :: :: :::::::: :: :::
Benthamiana CATTAAATGGAATTTTGGCCATACTAAAGAACAACGAAATGCTTACGTGG
          650       660       670       680       690

                590       600       610       620       630
Palmer      CCAGAAAAAATCAAGTTTGCCATTGGCTTGTTGCCTGCTATGGCAGGCGG
            :: :: ::: :::: ::::: :::::  : ::::: :: :::   :: ::
Benthamiana CCCGAGAAAGTCAAATTTGCTATTGGACTCTTGCCAGCAATGCTTGGAGG
          700       710       720       730       740

                640       650       660       670       680
Palmer      ACAGTCATATGTTGAAGCACAAGATGGTTTGAGTGTCCAAGAGTGGATGA
             :: :: :::::::::::: ::::: ::::: :::::  : :: :::::::
Benthamiana GCAATCTTATGTTGAAGCTCAAGACGGTTTAAGTGTTAAGGACTGGATGA
          750       760       770       780       790

                690       700       710       720       730
Palmer      GAAAACAAGGAGTACCCGATCGTGTAACTGATGATGTGTTTATTGCCATG
            :::: ::::: :: :: ::: : :: :: ::::: ::::: :::::::::
Benthamiana GAAAGCAAGGTGTGCCTGATAGGGTGACAGATGAGGTGTTCATTGCCATG
          800       810       820       830       840

                740       750       760       770       780
Palmer      TCAAAGGCACTGAACTTCATAAATCCCGATGAACTTTCAATGCAGTGCAT  SEQ ID NO:37
            :::::::::::: :::::::::::: :: :: :: ::::: ::::::::::
Benthamiana TCAAAGGCACTTAACTTCATAAACCCTGACGAGCTTTCGATGCAGTGCAT  SEQ ID NO:38
          850       860       870       880       890
```

Figura 16 (continuación)

```
                  790       800       810       820       830
Palmer       CTTGATTGCTCTGAACCGATTCCTGCAGGAGAAACATGGTTCTAAGATGG  SEQ ID NO:37
             ::::::::: ::::: :::: :: ::::::::::::::::: :: ::::
Benthamiana TTTGATTGCTTTGAACAGATTTCTTCAGGAGAAACATGGTTCAAAAATGG  SEQ ID NO:38
          900       910       920       930       940

                  840       850       860       870       880
Palmer       CCTTCCTAGACGGAAACCCTCCAGAGAGGCTGTGCATGCCTATTGTTAAA
             ::::  :::: :: ::::::::: ::::: :: ::::::::: :::::  ::
Benthamiana CCTTTTTAGATGGTAACCCTCCTGAGAGACTTTGCATGCCGATTGTGGAA
          950       960       970       980       990

                  890       900       910       920       930
Palmer       CACATCGAGTCACTAGGTGGTGAAGTTAAACTTAACTCTCGTATACAAAA
             :: :: ::::::  ::::::  :::: : ::: ::::: :: ::: ::::
Benthamiana CATATTGAGTCAAAAGGTGGCCAAGTCAGACTAAACTCACGAATAAAAAA
         1000      1010      1020      1030      1040

                  940       950       960       970       980
Palmer       GATTCAGTTGGACCAGAGTGGAAGCGTGAAGAGTTTTTTGCTAAATAACG
             :::  :: :: :  ::  :::::: :: ::  ::::: : :: ::::: :
Benthamiana GATCGAGCTGAATGAGGATGGAAGTGTCAAATGTTTTATACTGAATAATG
         1050      1060      1070      1080      1090

                  990      1000      1010      1020      1030
Palmer       GGAGGGAAATACGAGGAGATGCCTATGTTTTTGCCACCCCAGTTGACATC
             : ::   :::   ::::::::: : ::: :::::::: ::::: :: :::
Benthamiana GCAGTACAATTAAAGGAGATGCTTTTGTGTTTGCCACTCCAGTGGATATC
         1100      1110      1120      1130      1140

                 1040      1050      1060      1070      1080
Palmer       TTGAAGCTGTTACTACCTGATACTTGGAAGGAAATCTCATACTTCAAAAA
             ::::::::  :  : :::::    ::::: :: ::: :::: ::: ::::
Benthamiana TTGAAGCTTCTTTTGCCTGAAGACTGGAAAGAGATCCCATATTTCCAAAA
         1150      1160      1170      1180      1190

                 1090      1100      1110      1120      1130
Palmer       ACTTGAGAAATTAGTGGGCGTTCCTGTGATTAATGTTCACATATGGTTTG
               : :::::  ::::::: :::::::::::: ::::: :: ::::::::::
Benthamiana GTTGGAGAAGCTAGTGGGAGTTCCTGTGATAAATGTCCATATATGGTTTG
         1200      1210      1220      1230      1240

                 1140      1150      1160      1170      1180
Palmer       ACAGAAAATTAAAGAATACATATGACCATCTACTCTTCAGCAGGAGTCCT
             :::::::: : ::::: :::: :::  :::: :::::::::::: :: ::
Benthamiana ACAGAAAACTGAAGAACACATCTGATAATCTGCTCTTCAGCAGAAGCCCG
         1250      1260      1270      1280      1290

                 1190      1200      1210      1220      1230
Palmer       CTTTTGAGTGTCTATGCTGATATGTCGGAGACATGCAAGGAATATAAGGA  SEQ ID NO:37
             :  : ::::: :: ::::: ::::: :  ::::: ::::::::: :  :
Benthamiana TTGCTCAGTGTGTACGCTGACATGTCTGTTACATGTAAGGAATATTACAA  SEQ ID NO:38
         1300      1310      1320      1330      1340
```

Figura 16 (continuación)

```
                1240      1250      1260      1270      1280
Palmer      TCCAAATAGATCCATGCTGGAATTGGTTTTTGCACCCGCGGAGGAATGGA  SEQ ID NO:37
             :: :::   :: ::: :::::::::: :::::::::::: :: :: ::::
Benthamiana CCCCAATCAGTCTATGTTGGAATTGGTATTTGCACCCGCAGAAGAGTGGA  SEQ ID NO:38
         1350      1360      1370      1380      1390

                1290      1300      1310      1320      1330
Palmer      TTTCACGAAGCGACACTGATATTATAGAGGCAACAATGAAAGAGCTTGCC
            :    :: :: ::: : :: ::::: :: :: :::::::: :: :: ::
Benthamiana TAAATCGTAGTGACTCAGAAATTATTGATGCTACAATGAAGGAACTAGCG
         1400      1410      1420      1430      1440

                1340      1350      1360      1370      1380
Palmer      AAGCTTTTCCCGGATGAAATCGCTGCCGATGGAAGCAAGGCCAAGATCCT
            :::::::::::: ::::::::  : :: :::   ::::: :: :: ::  :
Benthamiana AAGCTTTTCCCTGATGAAATTTCGGCAGATCAGAGCAAAGCAAAAATATT
         1450      1460      1470      1480      1490

                1390      1400      1410      1420      1430
Palmer      CAAATATCATGTCGTCAAAACTCCAAGGTCGGTTTATAAGACTGTACCGG
             :: :::::::: :::::::: :::::::: :::::::: ::::: :: :
Benthamiana GAAGTATCATGTTGTCAAAACCCCAAGGTCTGTTTATAAAACTGTGCCAG
         1500      1510      1520      1530      1540

                1440      1450      1460      1470      1480
Palmer      ATTGTGAACCTTGTCGGCCGCTGCAAAGATCACCAATAGAGGGTTTCTAT
             ::::::::: :::::::  :::::::::: :: ::::::::::: :::
Benthamiana GTTGTGAACCCTGTCGGCCCTTGCAAAGATCCCCTATAGAGGGTTTTTAT
         1550      1560      1570      1580      1590

              1490      1500      1510      1520      1530
Palmer      TTAGCTGGTGATTACACAAAACAAAAATATTTGGCTTCTATGGAAGGTGC
           :::::::::::: ::::: ::::: :: :: :::::::: ::::::::::
Benthamiana TTAGCTGGTGACTACACGAAACAGAAGTACTTGGCTTCAATGGAAGGTGC
        1600      1610      1620      1630      1640

              1540      1550      1560      1570      1580
Palmer      TGTCTTATCTGGGAAGCTTTGTGCACAGGCTATCGTACAGGATTATGA--
           ::::::::: :: ::::::::::::::: ::::: :::::::::::: ::
Benthamiana TGTCTTATCAGGAAAGCTTTGTGCACAAGCTATTGTACAGGATTACGAGT
        1650      1660      1670      1680      1690

                                1590        1600       1610
Palmer      ----TCT--GCTG--------AGTTCTCG--AGCACAAAGAGAA-TTGGC
            :::  :: :         :: : : :  :: :  ::: : : :: ::
Benthamiana TACTTCTTGGCCGGAGCCAGAAGATGTTGGCAGAAGCAAGCGTAGTTAGC
        1700      1710      1720      1730      1740


Palmer      G-----------  SEQ ID NO:37

Benthamiana ATAGTGAACTAA  SEQ ID NO:38
        1750      1760
```

Figura 17

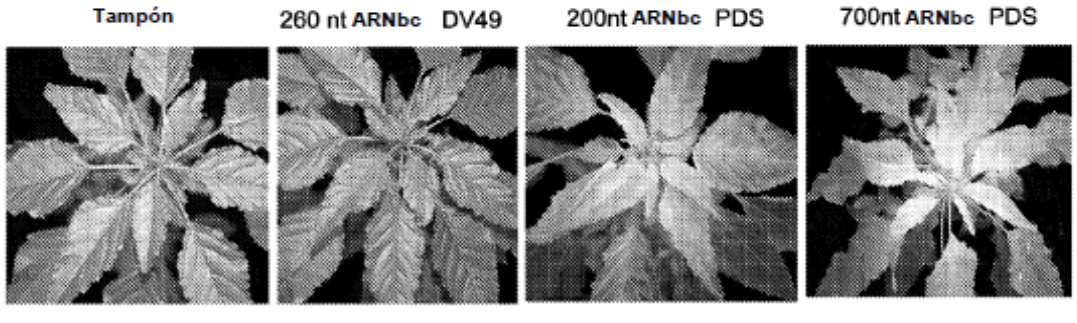
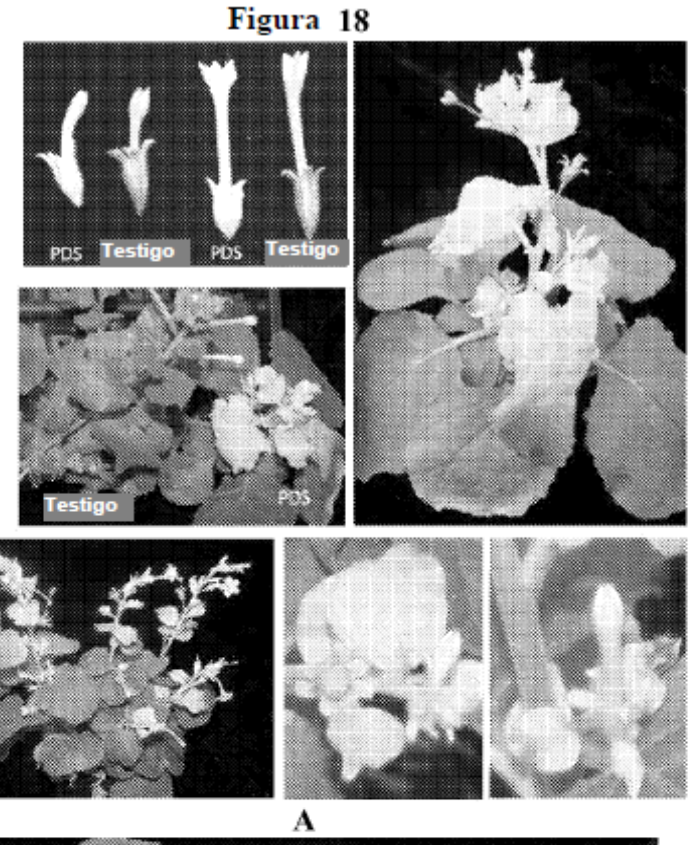
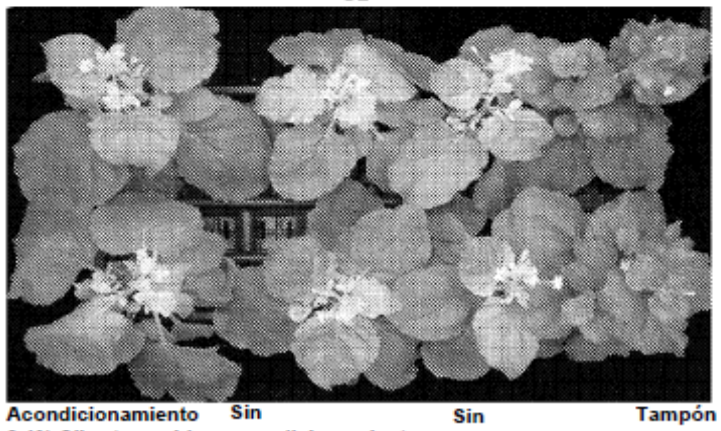


Figura 18



A



Acondicionamiento 0,1% Silwet seguido de 1 nanomol PDS ADNmc + 0,01% SIlwet

Sin acondicionamiento Silwet; Infiltrado 1 nanomol PDS ADNmc + 0,01% SIlwet

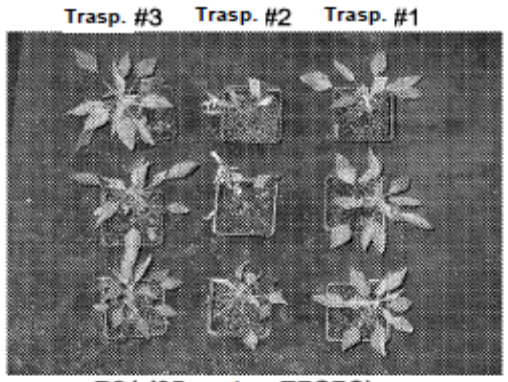
Sin acondicionamiento Silwet; Infiltrado 1 nanomol PDS ADNmc (sin SIlwet)

Tampón

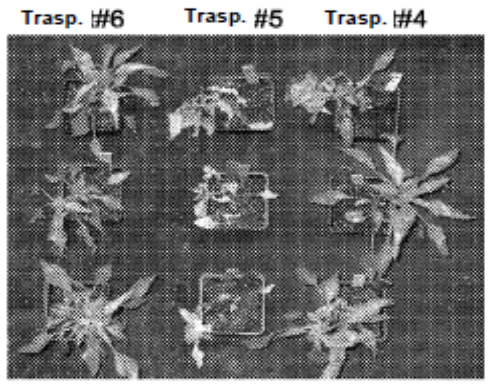
B

22/42

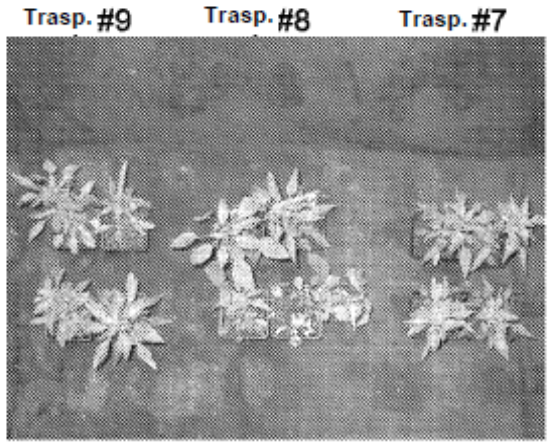
Figura 19



R31 (35 coplas EPSPS)



R34 (57 coplas EPSPS)



R28 (87 coplas EPSPS)

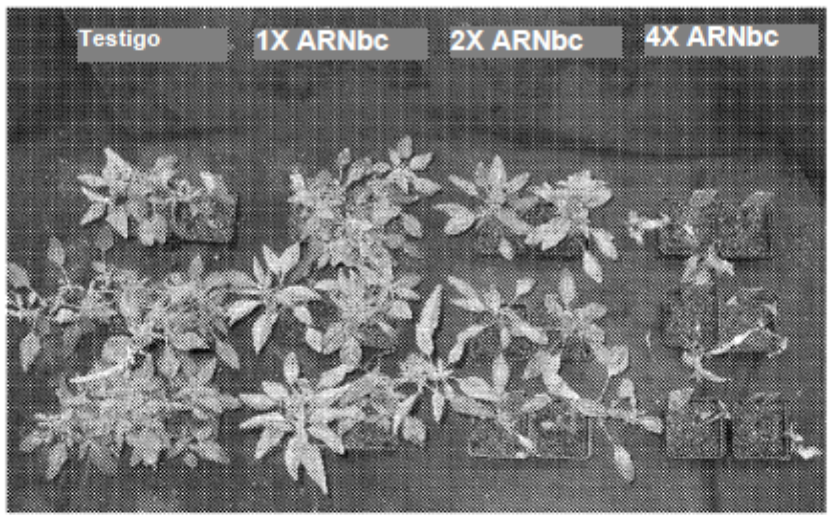
23/42

Figura 20

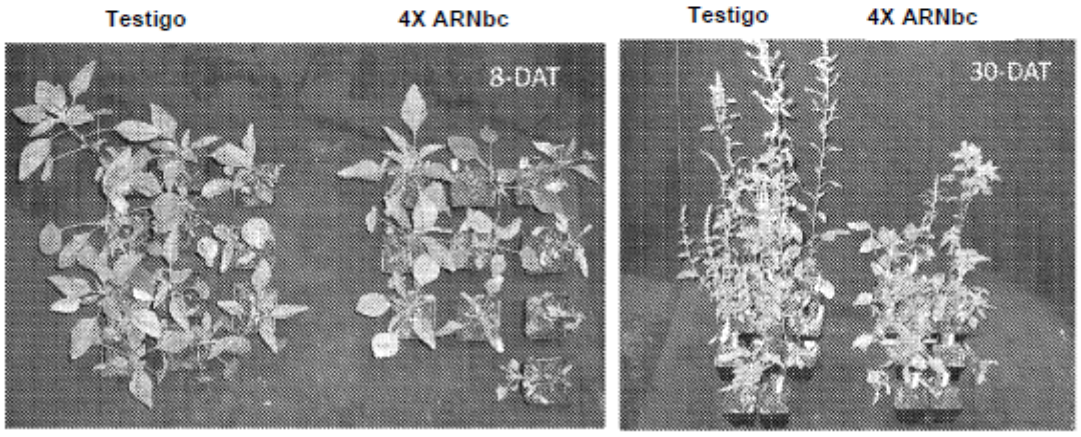
ATGGCTCAAGCTACT**ACCATCAACAATGGTGTCCATAC**TGGTCAATTGCACCATACTTTACCCAAAA
CCCAGTTACCCAAATCTTCAAAAACTCTTAATTTTGGATCAAACTTGAGAATTTCTCCAAAGTTCAT
GTCTTTAACCAATAAAAGAGTTGGTGGGCAATCATCAATTGTTCCCAAGATTCAAGCTTCTGTTGCT
GCTGCAGCTGAGAAACCTTCATCTGTCCCAGAAATTGTGTTACAACCCATCAAAGAGATCTCTGGTA
CTGTTCAATTGCCTGGGTCAAAGTCTTTATCCAATCGAATCCTTCTTTTAGCTGCTTTGTCTGAGGG
CACAACAGTGGTCGACAACTTGCTGTATAGTGATGATATTCTTTATATGTTGGACGCTCTCAGAACT
CTTGGTTTAAAAGTGGAGGATGATAGTACAGCCAAAAGGGCAGTCGTA**GAGGGTTGTGGTGGTCTGT**
TTCCTGTTGGTAAAGATGGAAAGGAAGAGATTCAACTTTTCCTTGGTAATGCAGGAACAGCGATGCG
CCCATTGACAGCTGCGGTTGCCGTTGC*TGGAGGAAATTCAAGTTATGTGCTT*GATGGAGTACCAAGA
ATGAGGGAGCGCCCCATTGGGGATCTGGTAGCAGGTCTAAAGCAACTTGGTTCAGATGTAGATTGTT
TTCTTGGCACAAATTGCCCTCCTGTTCGGGTCAATGCTAAAGGAGGCCTTCCAGGGGGCAAGGTCAA
GCTCT*CTGGATCGGTTAGTAGCCAATATTT*AACTGCACTTCTCATGGCTACTCCTTTGGGTCTTGGA
GACGTGGAGATTGAGATAGTTGATAAATTGATTTCTGTACCGTATGTTGAAATGACAATAAAGTTGA
TGGAACGCTTTGGAGTATCCGTAGAACATAGTGATAGTTGGGACAGGTTCTACATTCGAGGTGGTCA
GAAATACAAATCTCCTGGAAAGGCATATGTTGAGGGTGATGCTTCAAGTGCTAGCTACTTCCTAGCC
GGAGCCGCCGTCACTGGTGGGACTGTCACTGTCAAGGGTTGTGGAACAAGCAGTTTACAGGGTGATG
TAAAATTTGCCGAAGTTCTTGAGAAGATGGGTTGCA**AGGTCACCTGGACAGAGAATAGTGTAACTGT**
TACTGGACCACCCAGGGATTCATCTGGAAAGAAACATCTGCGTGCTATCGACGTCAACATGAACAAA
ATGCCAGATGTTGCTATGACTCTTGCAGTTGTTGCCTTGTATGCAGATGGGCCCACCGCCATCAGAG
ATGTGGCTAGCTGGAGAGTGAAGGAAACCGAACGGATGATTGCCATTTGCACAGAACTGAGAAAGCT
TGGGGCAACAGTTGAGGAAGGATCTGATTACTGTGTGATCACTCCGCCTGAAAAGCTAAACCCCACC
GCCATTGAAACTTATGACGATCACCGAATGGCCATGGCATTCTCTCTTGCTGCCTGTGCAGATGTTC
CCGTCACTATCCTTGATCCGGGATGCACCCGTAAAACCTTCCCGGACTACTTTGATGTTTTAGAAAA
GTTCGCCAAGCATTGA

SEQ ID NO:40

Figura 21


Testigo
1X ARNbc
2X ARNbc
4X ARNbc

A


Testigo
4X ARNbc
8-DAT
Testigo
4X ARNbc
30-DAT

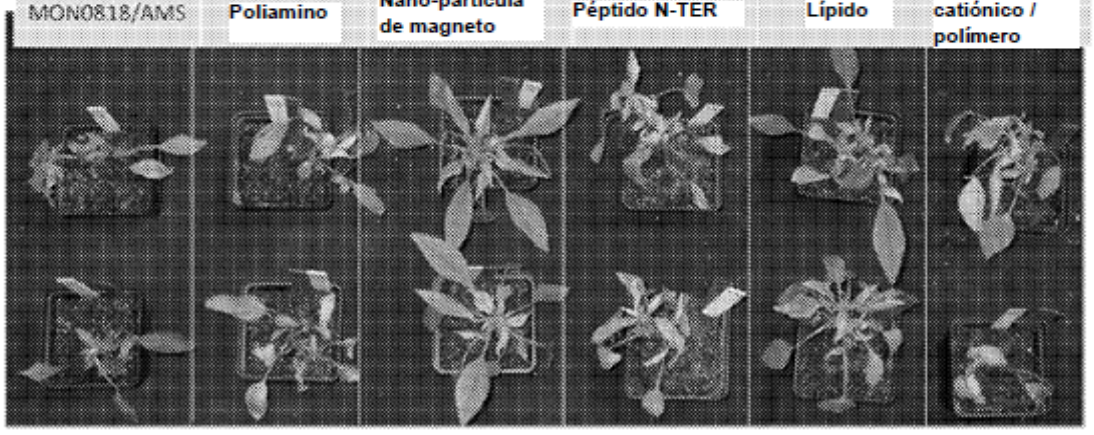
B

Figura 22

Prueba de cinco reactivos de transfección

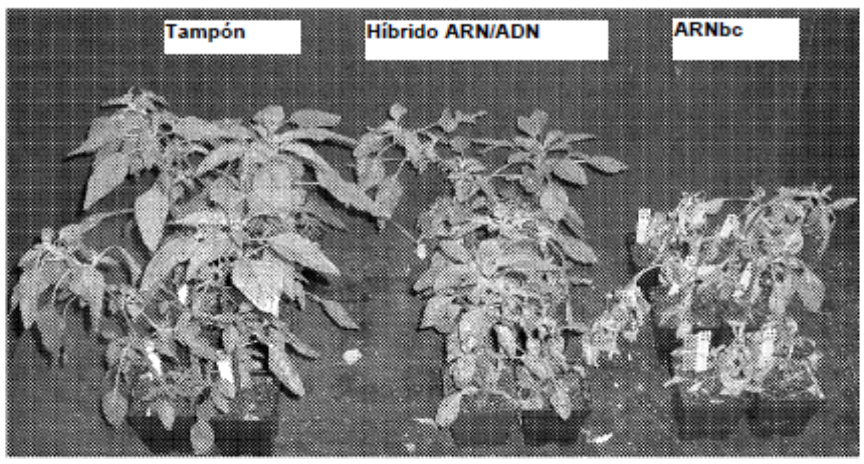
(ARNbc el 18 de junio, 4X WM el 21 de junio; Calific. 7-DAT)

Etapa 1: ARNbc colocado a mano			Etapa 2: Spray	Etapa 3:	
10X ARNbc formulado en reactivo de transfección			1% Silwet	4X WM (72-hr)	
	jetPRIME (Polyplus)	SilenceMag (OZ Biosciences)	Nano-particle (Sigma-Aldrich)	sPORT NeoFX (Ambion)	TransIT (Mirus Bio)
MON0818/AMS	Poliamino	Nano-partícula de magneto	Péptido N-TER	Lípido	Lípido catiónico / polímero



Palmera con 35 copias EPSPS; 10X ARNbc

Figura 23


Tampón
Híbrido ARN/ADN
ARNbc

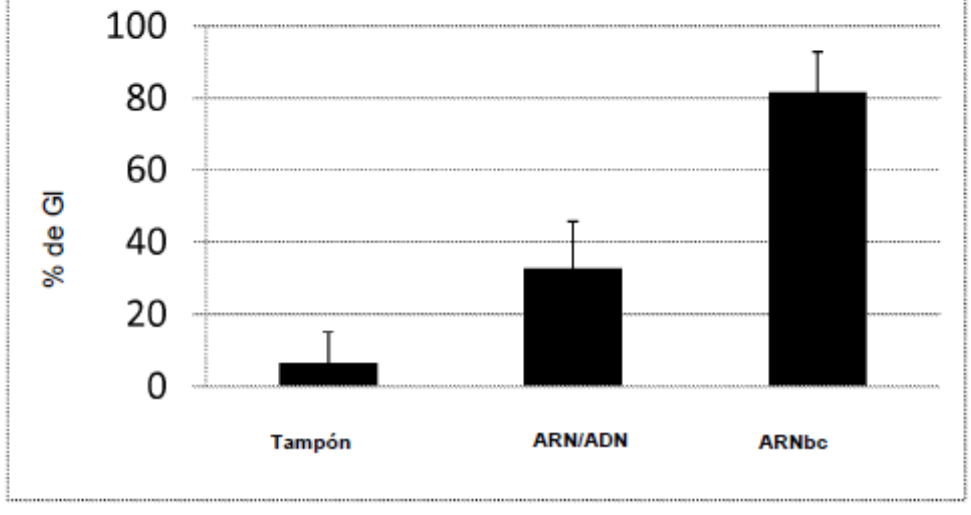
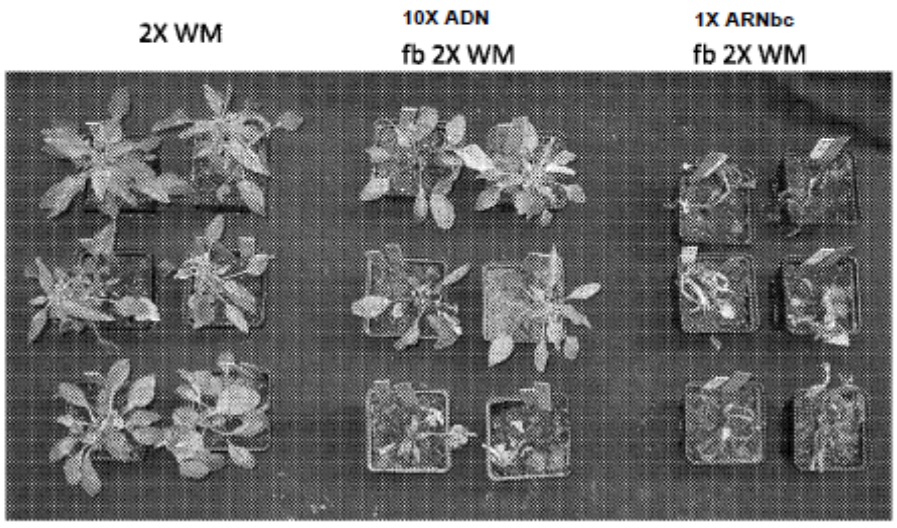

100
80
60
40
20
0
% de GI
Tampón
ARN/ADN
ARNbc

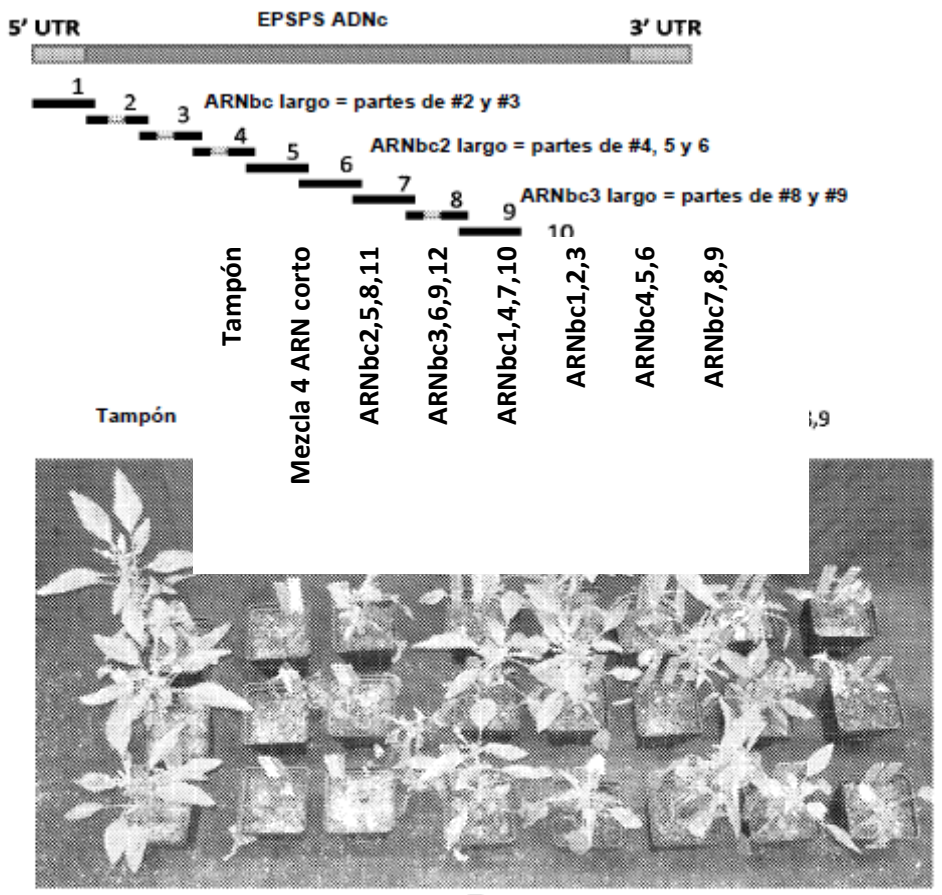
Figura 24

Etapa 1:	Etapa 2: ARNbc formulado en	Etapa 3:
1% Silwet	1X ARNbc o 10X ADN con 2% AMS (colocado a mano)	2X WM (48-hr)



Palmera con 16-copias EPSPS)

Figura 25


5' UTR
EPSPS ADNc
3' UTR
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
ARNbc largo = partes de #2 y #3
ARNbc2 largo = partes de #4, 5 y 6
ARNbc3 largo = partes de #8 y #9
Tampón
Mezcla 4 ARN corto
ARNbc2,5,8,11
ARNbc3,6,9,12
ARNbc1,4,7,10
ARNbc1,2,3
ARNbc4,5,6
ARNbc7,8,9
Tampón
,9

B

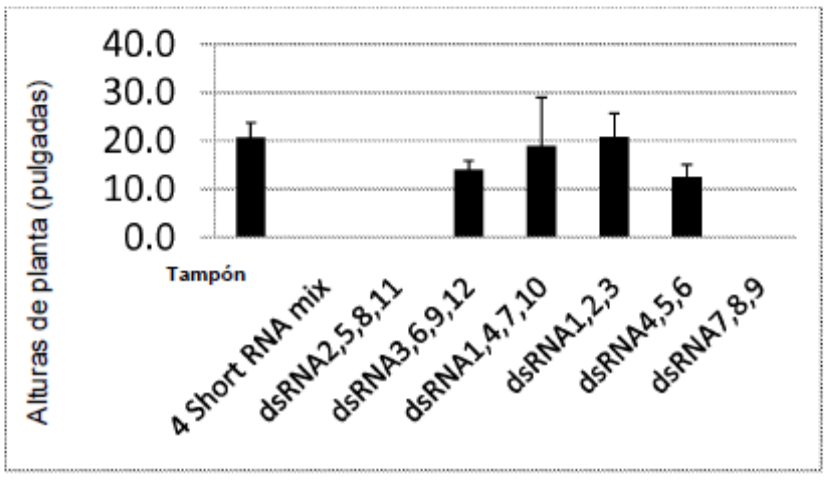

Alturas de planta (pulgadas)
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
Tampón
4 Short RNA mix
dsRNA2,5,8,11
dsRNA3,6,9,12
dsRNA1,4,7,10
dsRNA1,2,3
dsRNA4,5,6
dsRNA7,8,9

Figura 26

Etapa 1	Etapa 2 y Etapa 3 (2 hr o 24 hr más tarde)
2X WeatherMax	1% Silwet spray fb 1X dsRNA

30/42

Figura 27

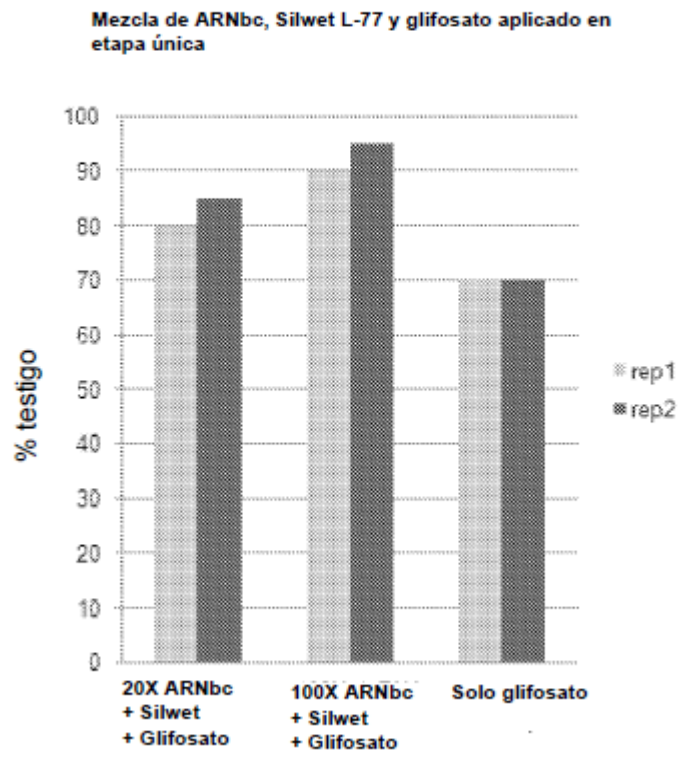


Figura 28

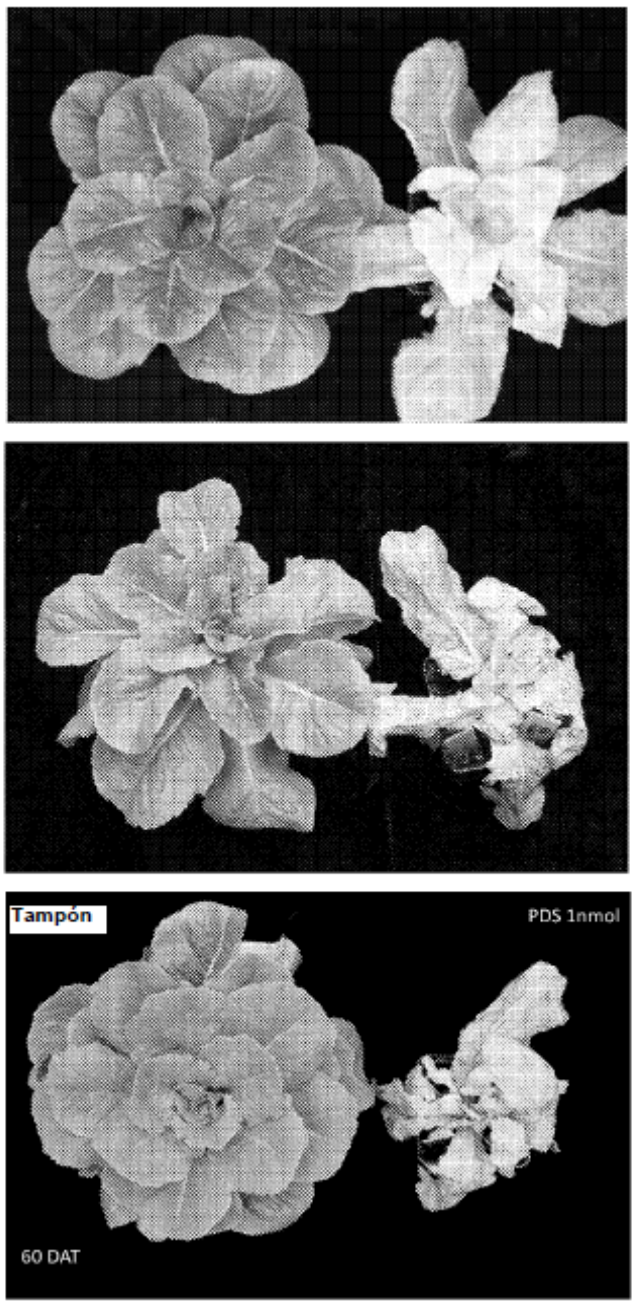
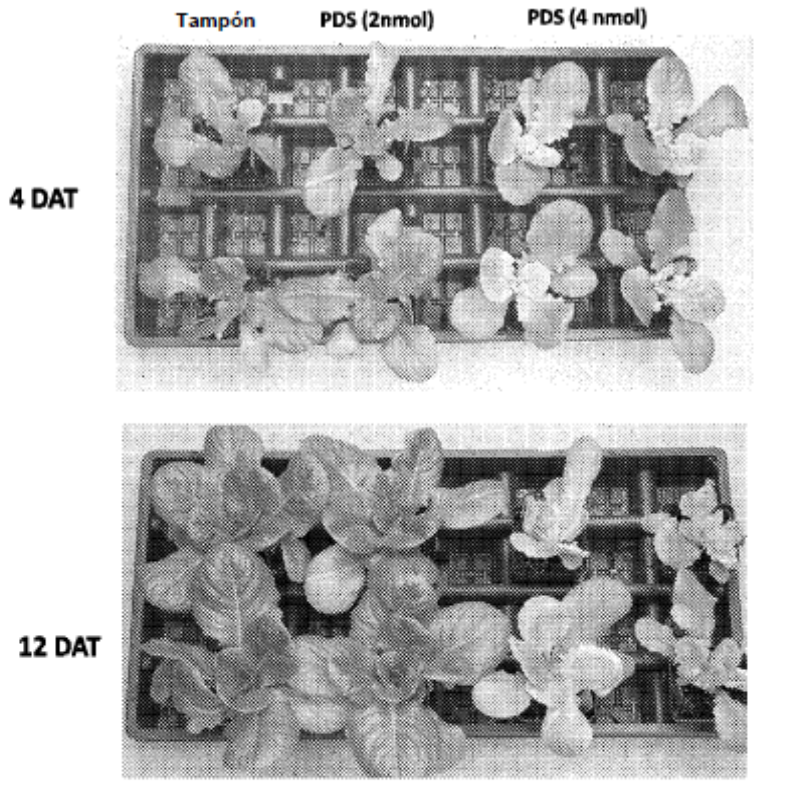
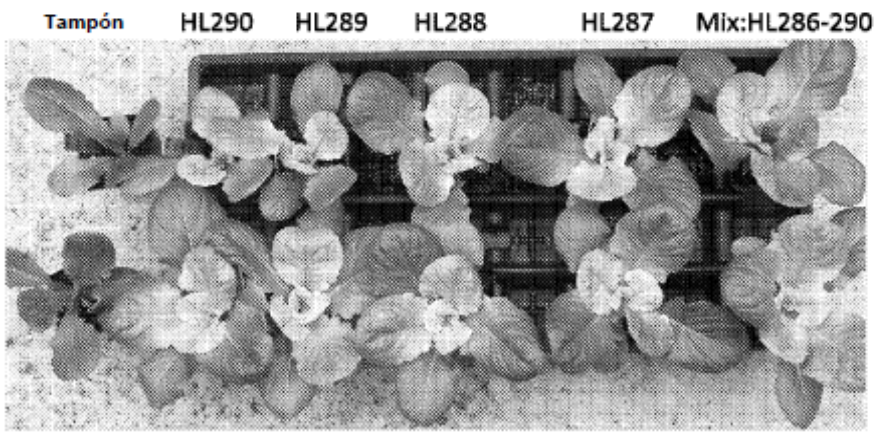


Figura 29


Tampón
PDS (2nmol)
PDS (4 nmol)
4 DAT
12 DAT

A


Tampón
HL290
HL289
HL288
HL287
Mix:HL286-290

B

Figura 30

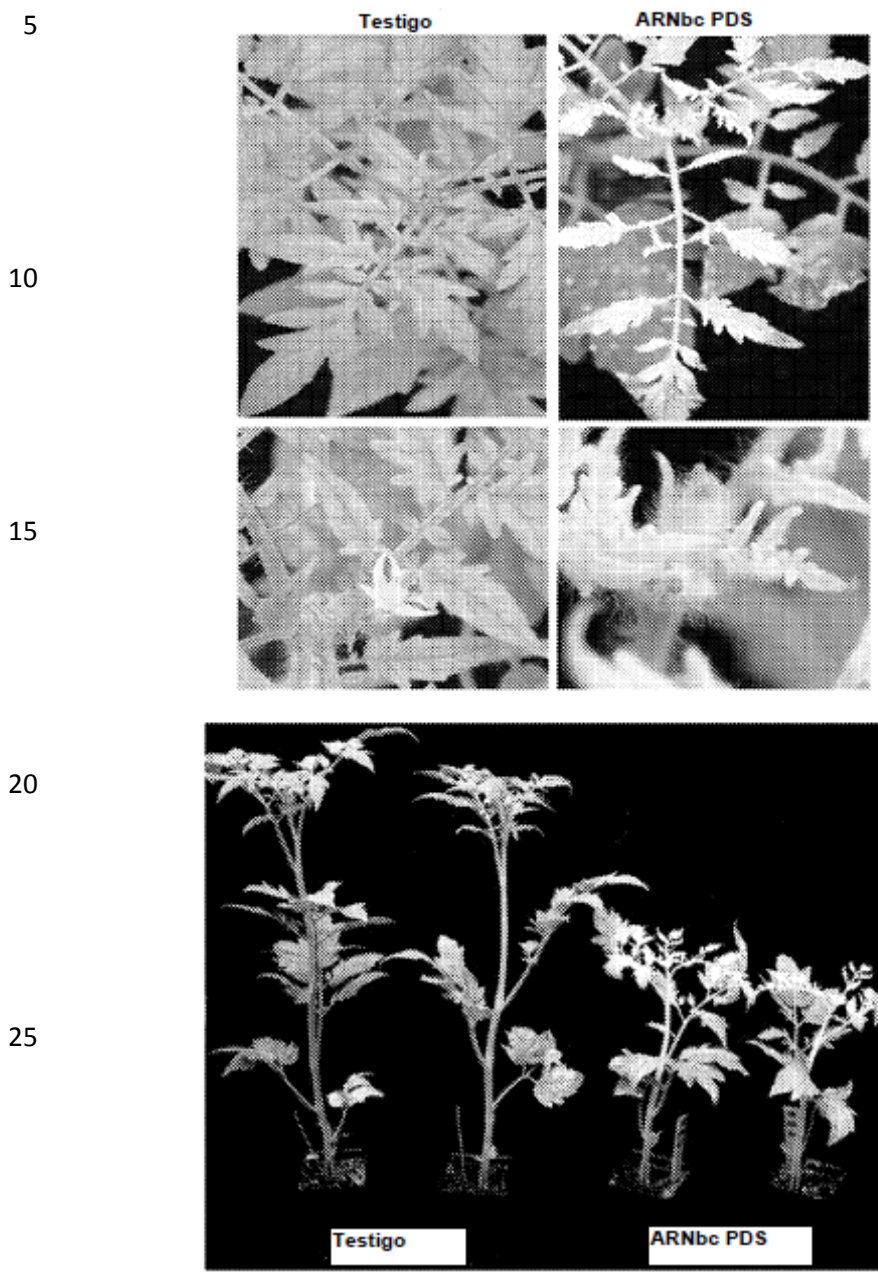
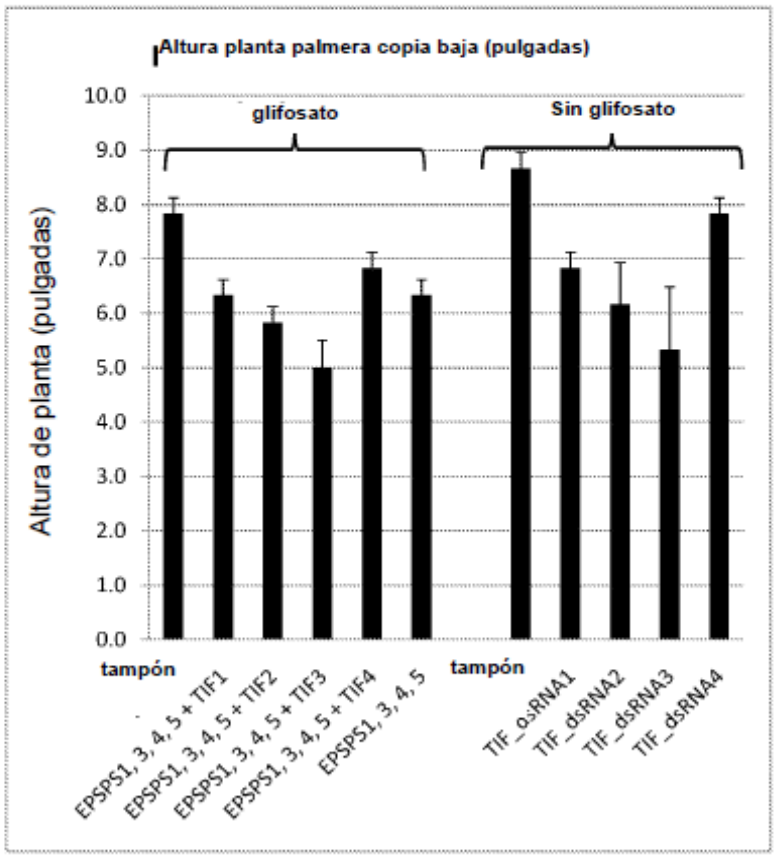
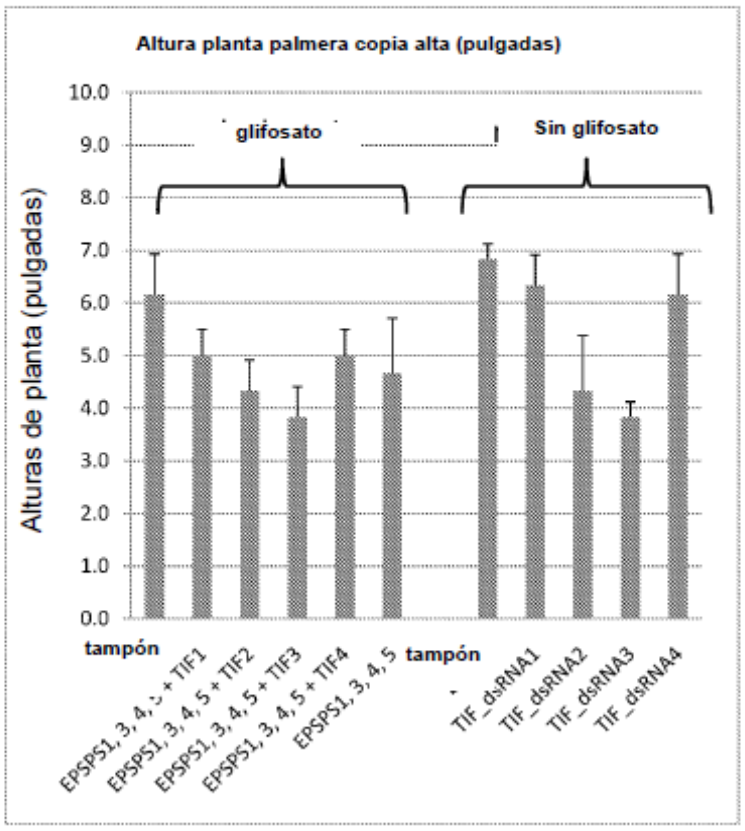


Figura 31


Altura planta palmera copia baja (pulgadas)
glifosato
Sin glifosato
Altura de planta (pulgadas)
10.0
9.0
8.0
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
tampón
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF1
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF2
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF3
EPSPS1, 3, 4, 5 + TIF4
EPSPS1, 3, 4, 5
tampón
TIF_dsRNA1
TIF_dsRNA2
TIF_dsRNA3
TIF_dsRNA4

35/42

Figura 32



36/42

Figura 33

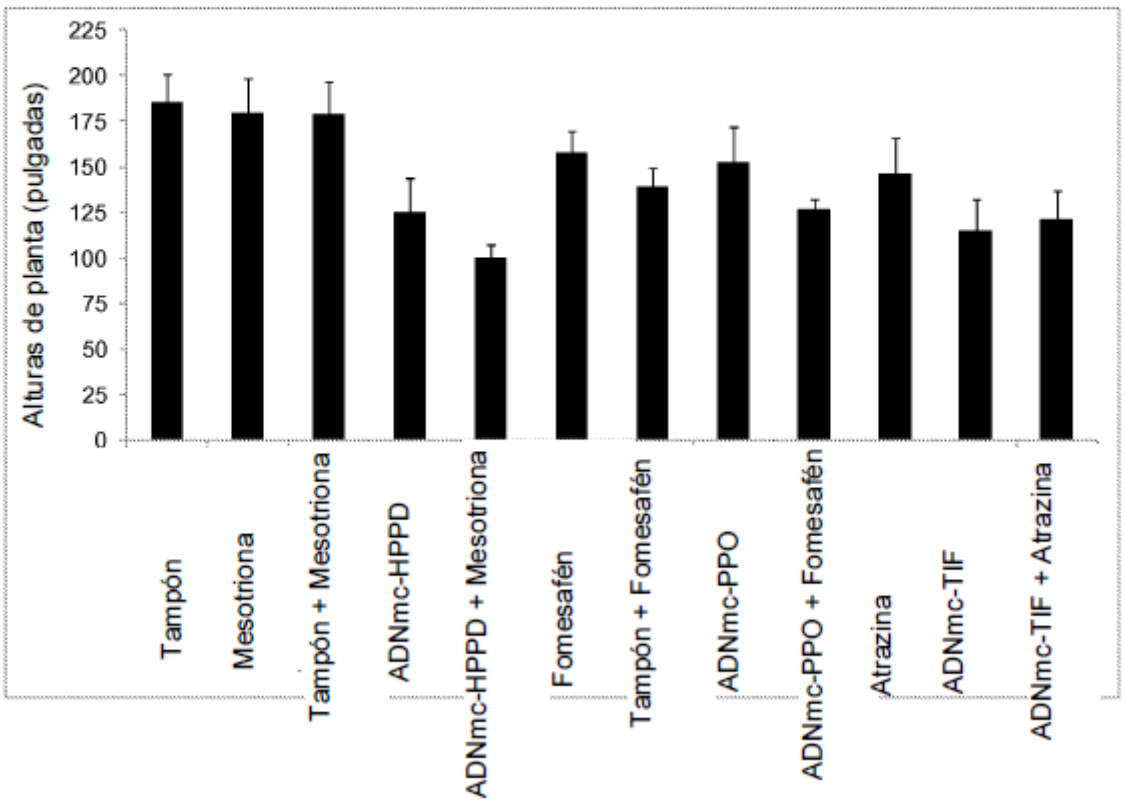


Figura 34

```
       810       820       830       840       850           860
PDS-2_ GTATGAACTTTCAGAATATTATACCGGATCAATATATTATGCT--GAAATATT--TTTCG
                                     |||| ||||  ||  || ||| |  ||||
PDS-1_ GCTGTATCATATCTTCTTCTTTAGAACACTAATAAATTAAACTTCGAGATAATGATTTCT
              330       340       350       360       370       380
                870       880       890       900       910
PDS-2_ GAC-----TTTAAATAATTTCTT-TATTTAAATTTATTTTTATACAAAAATAACTAAATT
       |||     | |||| || | | | |||  | ||||    || | ||||||      ||||
PDS-1_ GACAAGAGTATAAACAAGTGCATCTATGAAGATTTGAGGTTGTCCAAAAAAGTGACAATT
              390       400       410       420       430       440
       920       930           940       950       960       970
PDS-2_ TCAATTACTTTTAAA----ATTATGATTATTTTTCAATTACCACT-TATACATCCTGC--
       |    | | | ||||    |||   |||||| || | || | ||| || | ||  |
PDS-1_ TTGGGTTCCTATAAACTGTATTTACATTATTGTT-ATTTGCAACTATAAAAATTTTAGAT
              450       460       470       480       490
              980               990       1000      1010
PDS-2_ TATTTTGAAT---------TTCACCCGAAA-GAAC-TACTACTATACGTGGATC---CTC
       |||||  ||          |||| |  ||| |||  ||  |||  |  |  |||   |||
PDS-1_ TATTTCCAAGCTCAGTTTCTTCAACTTAAATGAAGGTAGCACTTGAATTTCATCAGCCTC
     500       510       520       530       540       550
       1020      1030      1040      1050      1060      1070
PDS-2_ AATGACCCAGTAACCCAAGTGGGAGATGTGTGCAAAGTGGTCAAATCTTAGAAGGAATGA
        |||||||||||||||| |||||||||| | ||||||||||||||  ||||||||||
PDS-1_ TATGACCCAGTAACCCATGTGGGAGATGGGAGCAAAGTGGTCAAACTTTAGAAGGAAT
     560       570       580       590       600       610
```

PDS-1 secuencia de promotor (SEQ ID NO:319)
y
PDS-2 secuencia de promotor (SEQ ID NO:320)

38/42

Figura 35

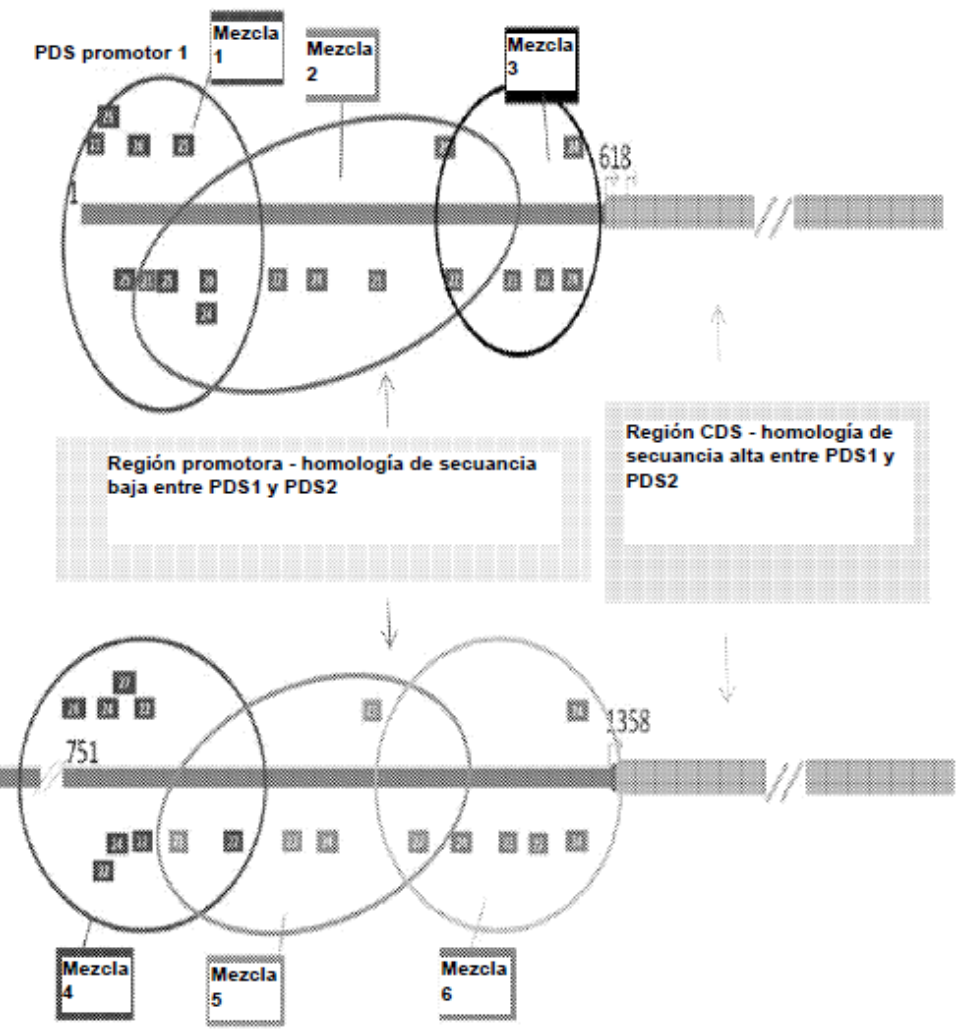


Figura 36

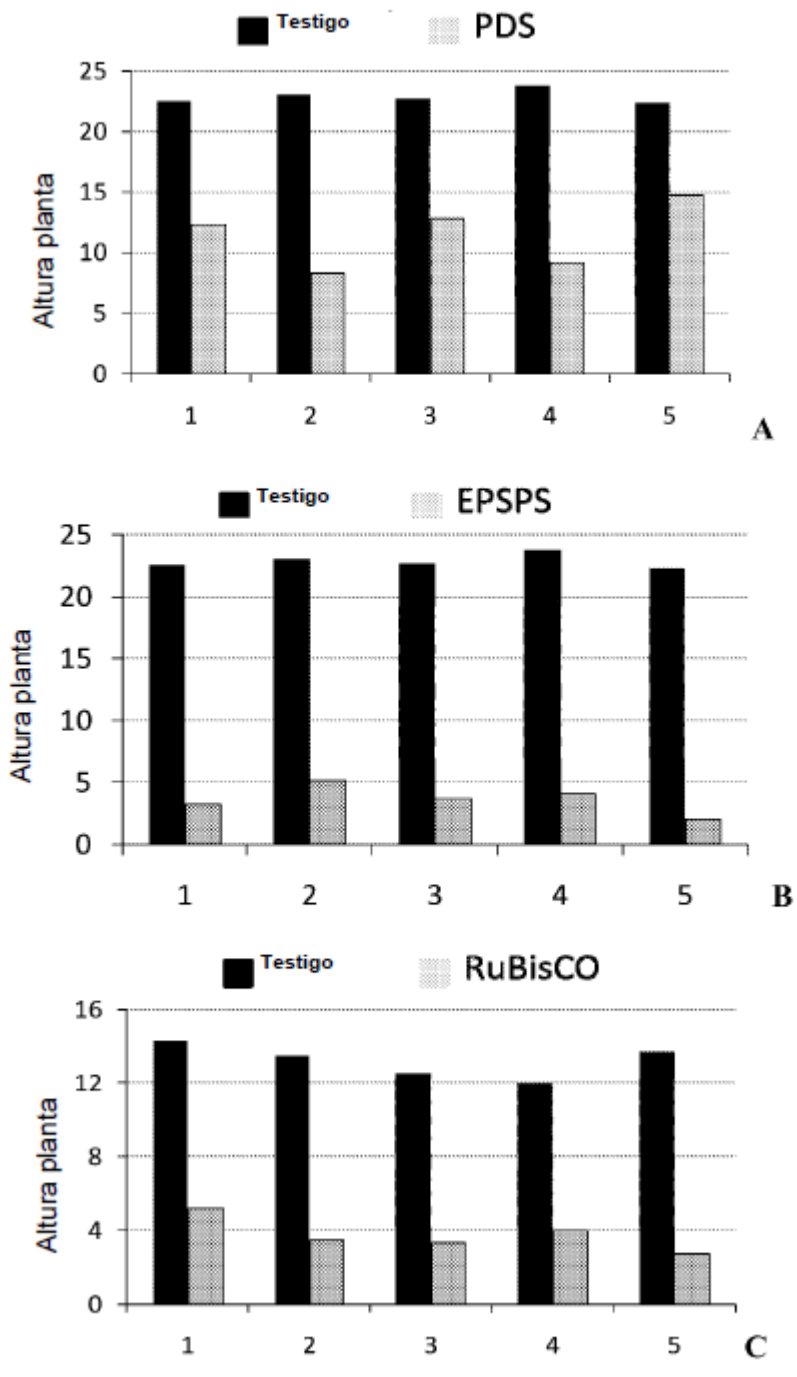

Testigo
PDS
Altura planta
25
20
15
10
5
0
1
2
3
4
5
A
Testigo
EPSPS
Altura planta
25
20
15
10
5
0
1
2
3
4
5
B
Testigo
RuBisCO
Altura planta
16
12
8
4
0
1
2
3
4
5
C

Figura 37

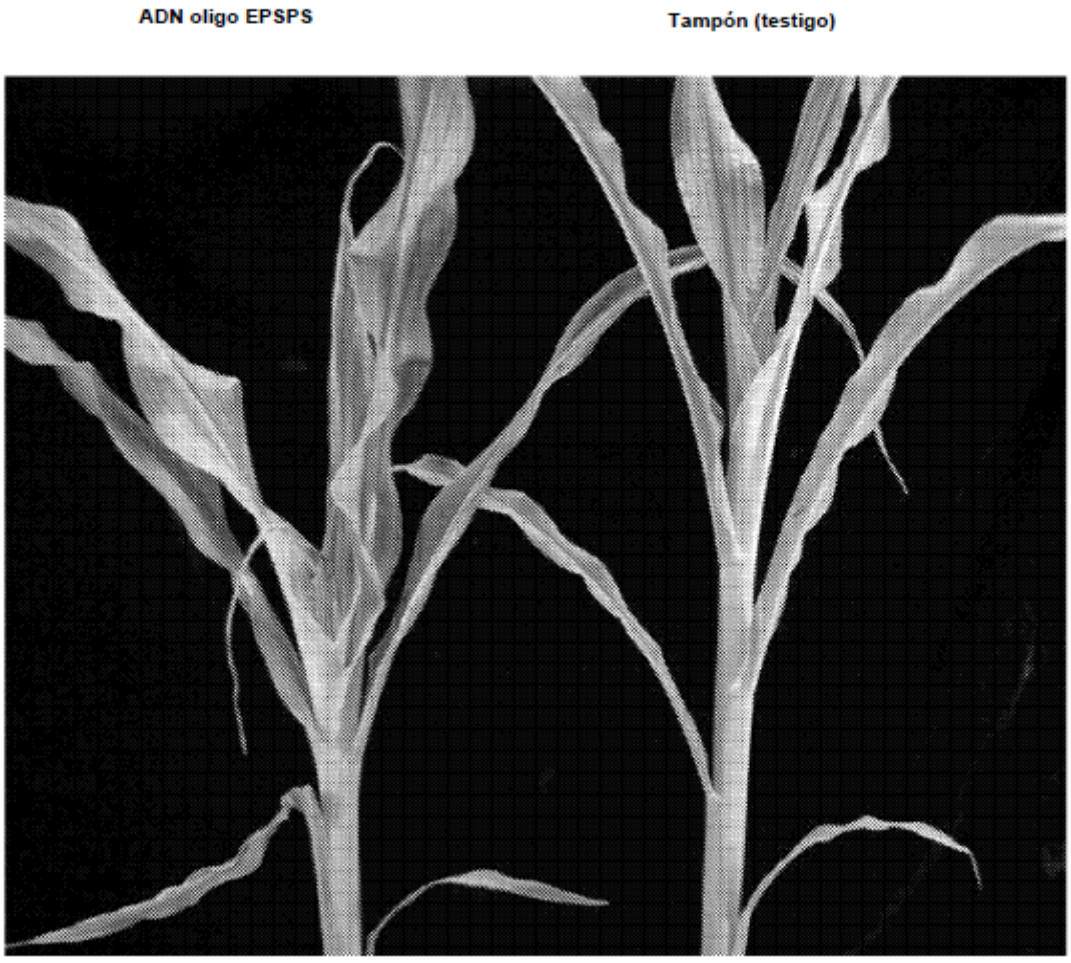
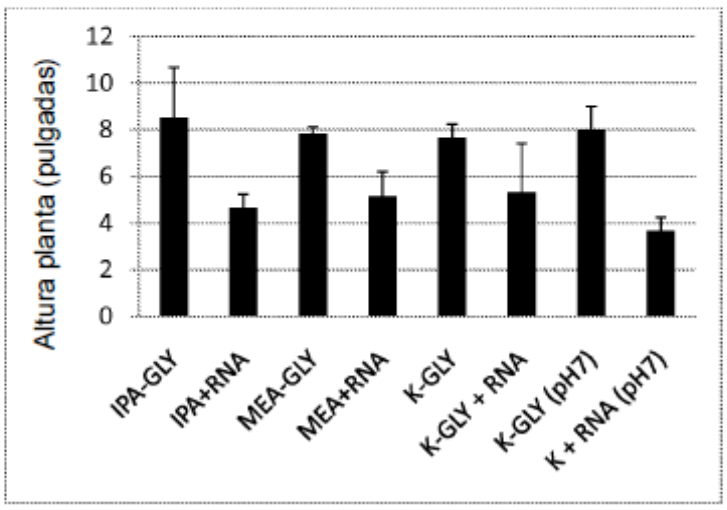
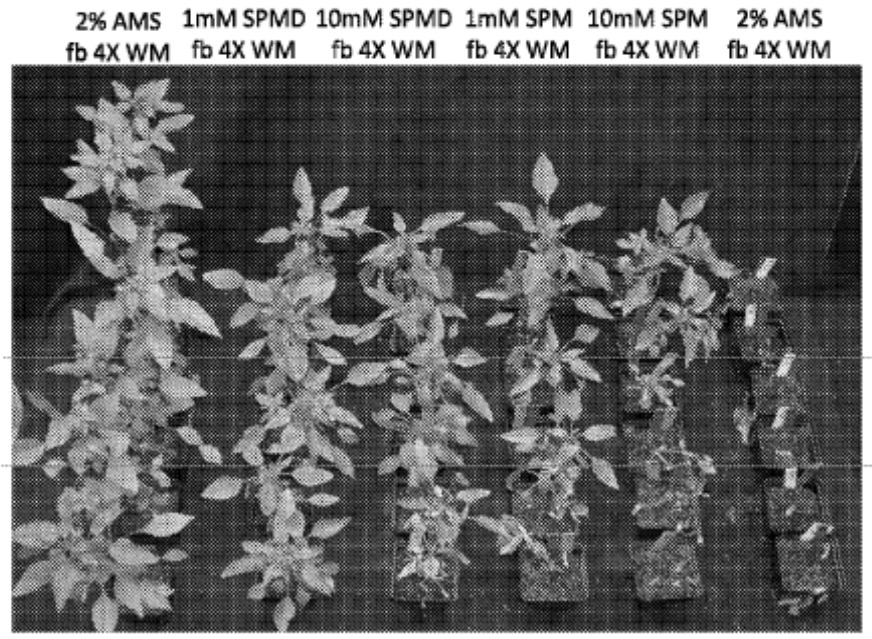


Figura 38


Altura planta (pulgadas)
12
10
8
6
4
2
0
IPA-GLY
IPA+RNA
MEA-GLY
MEA+RNA
K-GLY
K-GLY + RNA
K-GLY (pH7)
K + RNA (pH7)

42/42

Figura 39



Comparación de espumina (SPM), espirmidina (SPMD), sulfato de amonio (AMS)