

Señor Director

NUEVAS CREACIONES

Superintendencia de Industria y Comercio

E. S. D.

Referencia : Expediente No. **13.113.107**

Asunto : Solicitud de patente para: **“GEN RESTAURADOR RF4 TIPO C DE
ESTERILIDAD CITOPASMÁTICA MASCULINA EN MAÍZ (CMS) Y
MARCADORES MOLECULARES DE LOS MISMOS”**

Solicitante : DOW AGROSCIENCES LLC

Fecha de solicitud : 06 de Mayo de 2013

RESPUESTA A EXAMEN DE PATENTABILIDAD

ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI, identificado como aparece al pie de mi firma, en mi condición de apoderado de la sociedad solicitante de la patente de la referencia, doy respuesta al Oficio 7232, notificado por fijación en lista el 21 de junio de 2016, para lo cual solicité plazo adicional el 27 de septiembre de 2016.

I. MODIFICACIONES AL PLIEGO REIVINDICATORIO

En respuesta al examen de patentabilidad, el solicitante decide aportar un nuevo capítulo reivindicatorio conformado por **10** reivindicaciones en las que se han incluido las siguientes modificaciones:

1. Las columnas de secuenciamiento PCR y marcadores KASPar™ se eliminaron de las reivindicaciones 1 y 9.
2. Las reivindicaciones 1 y 9 se modificaron para reemplazar la expresión “Captura de NimbleGen™” con “marcador”. Adicionalmente, se eliminaron las referencias a la marca KASPar™.
3. Las antiguas reivindicaciones 1, 4, 5, 7 y 9 se modificaron para aclarar que la secuencia de nucleótidos es seleccionada del alelo variante XJH58 de los marcadores recitados.

“EXCELENCIA LEGAL EN UN MUNDO SIN FRONTERAS”

BOGOTÁ - Edificio Siski - Carrera 4 No. 72 - 35 - Código Postal 110221 - Tel. (57-1) 347 3611 - Fax (57-1) 211 8650 - Fax In U.S.A.: (1-305) 875 7743 - COLOMBIA
MEDELLÍN - San Fernando Plaza - Carrera 43 A No. 1 - 50 - Torre Protección Oficina B52 - Código Postal 050021 - Tel: (57-4) 520 4760 / (57-4) 326 0769 / (57) 317 365 8663 / (57) 318 532 2365 - COLOMBIA
BARRANQUILLA - Calle 84 No. 60-20 - Oficina 201 - Código Postal 080092 - Barrio El Prado - Tel. (57-5) 3 51 64 40 - COLOMBIA

www.cavelier.com
cavelier@cavelier.com

4. La expresión “o equivalente de la misma” se eliminó del pliego reivindicatorio.
5. Las antiguas reivindicaciones 2 y 11 se eliminaron del pliego reivindicatorio.
6. La antigua reivindicación 3 se modificó para aclarar que las moléculas aisladas de ácido nucleico son moléculas de ADN genómico.
7. La antigua reivindicación 6 se modificó para aclarar que la secuencia de nucleótidos se selecciona del grupo con polimorfismo ID nos. 1-3, 10, 11, 20, 21, 25-27, 39, 40, 44-49, 51-53, 55, 56, 59, 61-64, 68, 74, 78 y 83.
8. La expresión “y/o” se reemplazó por el término “y” en las reivindicaciones 1 y 9.
9. Se incluyeron los marcadores específicos con ID no. 21, 27, 40, 46-50, 83 y 84 en la columna de marcadores de las antiguas reivindicaciones 1 y 9.
10. El método de las antiguas reivindicaciones 9 a 12 se modificó para aclarar que el organismo anfitrión es una planta de florecimiento.
11. El método de las antiguas reivindicaciones 1 y 9 se modificó para agregar claridad a los pasos de detectar, identificar y aislar ADN genómico contenidos en dicho método.
12. La antigua reivindicación 9 se modificó para aclarar que el ADN es específicamente hibridizable con un marcador *Rf4*.
13. Las reivindicaciones restantes se reenumeraron y subordinaron como corresponde.

Estas modificaciones se ajustan al artículo 34 de la Decisión 486 de 2000 y no constituyen una ampliación de la protección que correspondería a la divulgación contenida en la solicitud inicial.

A pesar de eliminar materia del pliego reivindicatorio originalmente presentado, mi representada no renuncia a la protección que pueda obtener sobre dicha materia y se reserva el derecho de presentar una solicitud divisional que la contenga durante el trámite de la presente solicitud.

II. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE CLARIDAD

1. En respuesta a las objeciones a la reivindicación 1 por mencionar resultados a alcanzar, la reivindicación 1 ha sido modificada para representar mejor la etapa de detección como un paso activo. De hecho, es la detección de las variantes alélicas de los marcadores recitados que identifican a la planta como una que comprende el gen restaurador. Además, se ha modificado la Tabla que describe los marcadores 1-106 para eliminar la recitación de marcas y secuenciamiento PCR, consolidando de esta forma todos los marcadores en una sola columna. Se resalta que las reivindicaciones se dirigen específicamente a variante alélica de XJH58, la cual es determinante en el método reivindicado (XJH58 es la línea del restaurador utilizada en el cruzamiento según lo descrito a través de la presente solicitud). Así, el método reivindicado especifica de manera clara las características estructurales y funcionales que contribuyen a la obtención del efecto deseado, por lo tanto, se superan las objeciones.

2. En cuanto a las objeciones a la reivindicación 1 referentes al uso de marcas y la expresión “equivalentes”, las referencias a marcas (™) y la expresión “o equivalente de la misma” se ha eliminado del pliego reivindicatorio. Por lo tanto, se superan las objeciones relacionadas con la reivindicación 1.

3. En respuesta a las objeciones a la antigua reivindicación 3, respetuosamente discrepamos y señalamos que la solicitud describe el aislamiento de moléculas de ADN genómico. Para agregar claridad a la reivindicación, la antigua reivindicación 3 se modificó para aclarar que las moléculas aisladas de ácido nucleico son moléculas de ADN genómico. En este respecto, aclaramos que los marcadores por definición son regiones polimórficas de ADN genómico. Por lo tanto, para una persona versada en la materia es clara la naturaleza de las sondas de oligonucleótidos que tienen las SEQ ID NOs recitadas y las secuencias dentro del ADN genómico que son detectadas por tales sondas. De esta forma, la reivindicación 3 es clara y se superan las objeciones.

4. Con respecto a las objeciones a la antigua reivindicación 9, nuevamente expresamos nuestro desacuerdo y respetuosamente señalamos que un experto en el campo técnico puede deducir empíricamente qué sondas son específicamente hibridizables con las secuencias recitadas. En este punto aclaramos que la hibridación es una función de la identidad de secuencia, la longitud de la sonda, la temperatura y las condiciones del buffer; estas relaciones se expresan mediante fórmulas empíricas conocidas y ampliamente utilizadas en el campo técnico, como se explica en la descripción de la presente solicitud, en las páginas 25-

27. De hecho, el lenguaje que se utiliza en las reivindicaciones es la única manera adecuada y conocida para describir este tema, ya que la recitación de una secuencia particular puede resultar en una sonda que no se hibrida en determinado conjunto de condiciones. De esta forma se concluye que la antigua reivindicación 9 (nueva reivindicación 8) es suficientemente clara, y por lo tanto, se superan las objeciones.

5. En respuesta a las objeciones a la antigua reivindicación 11, el método reivindicado se modificó para restringir el método aclarando que es aplicable en plantas de florecimiento en función del gen Rf4. Adicionalmente, la antigua reivindicación 11 fue eliminada del pliego reivindicatorio. Por lo tanto, se superan las objeciones.

III. ESTADO DE LA TÉCNICA

Su Despacho determinó tres documentos relevantes para realizar el análisis de patentabilidad de la presente solicitud de patente:

1. D5¹, referido al documento titulado *"Identification and mapping of Rf-I an inhibitor of the Rf5 restorer gene for Cms-C in maize (Zea mays L.)"*, el cual divulga cruces entre líneas estériles, líneas restauradas y retrocruces de población para investigar la restauración Cms tipo C.

2. D6², referido al documento titulado *"Single nucleotide polymorphisms: A new paradigm for molecular marker technology and DNA polymorphism detection with emphasis on their use in plants"*, el cual divulga nuevas generaciones de marcadores moleculares, conocidos como polimorfismos de nucleótidos simples (SNPs).

3. D7³, referido al documento US 5530191, titulado *"Method for producing cytoplasmic male sterility in plants and use thereof in production of hybrid seed"*, el cual divulga sistemas para proveer plantas con esterilidad masculina citoplasmática (CMS) basado en la modificación de genomas plastídicos.

¹<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16791701>

²<http://www.iisc.ernet.in/currsci/feb252001/524.pdf>

³<http://www.google.ch/patents/US5530191>

IV. EN CUANTO A LA SUPUESTA FALTA DE NIVEL INVENTIVO

Mi representada respetuosamente discrepa con la consideración del Examinador referente a la falta de nivel inventivo de la presente invención argumentando que:

1. El análisis de nivel inventivo a las actuales reivindicaciones no reconocen la complejidad del estado de la técnica en el momento de la invención. La anterior afirmación se evidencia por el hecho de que mientras que algunos grupos encontraron que *Rf4* es suficiente para restaurar la fertilidad en la esterilidad masculina citoplasmática de tipo C (CMS-C), por ejemplo, Khey-Pour *et al.* (1981),⁴ otros grupos habían publicado de una manera igualmente convincente información completamente contradictoria a estas conclusiones. Por ejemplo, se había publicado que la restauración de la fertilidad es la acción combinada de *Rf4* y *Rf5* (Josephson & Morgan (1978), "*Genética y herencia de la restauración de fertilidad de citoplasmas masculinos estériles en maíz*"),⁵ y en otros casos, que es la acción combinada de *Rf4*, *Rf5* y *Rf6* (Vidakovic (1988); Vidakovic *et al.* (1997); Vidakovic *et al.* (1997)).^{6,7,8} Este complejo problema se describe y explica en el primer párrafo de la introducción de D5. D5 concluye que "los mecanismos de restauración de la fertilidad de la CMS-C permanecen sin resolver y, en la práctica, es difícil seleccionar líneas restauradoras para algunas líneas genotípicas estériles" (D5, página 357).

2. D5 no resuelve la complejidad del problema anteriormente expuesto. En su lugar, añade a la misma mayor complejidad debido a la caracterización de un nuevo gen, *Rf-I*, el cual es un inhibidor de *Rf5*. La presente solicitud es la primera divulgación que se hace de un intento exitoso de hacer una buena cartografía genética o mapeo fino genético (*fine gene mapping*) de *Rf4*, identificándolo como un factor de transcripción de *bHLH*, y proporcionando marcadores ligados con frecuencias de enlace que son empíricamente derivables de su distancia o ubicación en el mapa genético del locus del gen finamente mapeado.

3. Adicionalmente, si los métodos reivindicados fueran obvios, se debería explicar por qué los expertos en el campo técnico tardaron de 1978 a 1981 (año de la identificación del locus *Rf4*) para realizar el mapeo fino y así descubrir el gen *Rf4*. La única conclusión razonable

⁴Khey-Pour *et al.* (1981) *Genetics* 98: 379-88

⁵Josephson & Morgan (1978), "Genetics and inheritance of fertility restoration of male sterile cytoplasms in corn," in Proceedings of the 33rd corn and sorghum research conference 7:13

⁶Vidakovic (1988) *Maydica* 33:51-65

⁷Vidakovic *et al.* (1997) *Maize Genet. Coop. News Lett.* 71:10

⁸Vidakovic *et al.* (1997) *Maydica* 42:313-6

es que buscar una solución para restablecer la fertilidad en los sistemas CMS-C usando este enfoque o estrategia no era evidente en absoluto, particularmente debido a la creciente complejidad en este campo. Por lo tanto, los métodos reivindicados por la presente tienen nivel inventivo a la luz de los conocimientos del estado de la técnica.

V. PETICIÓN

Puesto que se ha dado respuesta a todas las objeciones formuladas por la Dirección de Nuevas Creaciones, se solicita proceder al otorgamiento de la solicitud de patente.

VI. ANEXOS

1. Nuevo pliego reivindicatorio conformado por **10** reivindicaciones.

Señor Director,


ANDRÉS RINCÓN USCÁTEGUI

C.C. 79.780.910 de Bogotá

T.P. 114.908

COLO-10975-0841-0152-3
CBB\CBB\ID-291735\WPC10975
No. M-2016-291735\CBB

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

1. Un método para seleccionar una planta que comprende un gen restaurador funcional para esterilidad citoplasmática masculina tipo C en maíz, el método comprende:

aislar las moléculas de ácido nucleico de una planta;
detectar en las moléculas de ácido nucleico aisladas una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NOs: 1-197 y el alelo variante XJH58 de los marcadores denominados como polimorfismo ID nos. 1-106, en donde el polimorfismo ID nos. 1-106 comprende polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) y polimorfismos de inserción/eliminaciones (InDel) entre CMS (BE4207) y línea restauradora (XJH58),

ID	Posición de B73		Marcador
	Crom. 8		
	Inicio	Parada	BE4207/XJH58
1	8885	8885	T/C
2	11684	11684	A/G
3	11883	11883	A/C
4	12831	12831	T/C
5	13168	13168	T/A
6	13171	13171	T/C
7	13179	13179	C/T
8	13191	13191	T/G
9	14191	14191	G/A
10	15309	15309	G/A
11	15639	15639	C/T
12	15735	15735	C/T
13	15744	15744	G/A

ID	Posición de B73		Marcador
	Crom. 8		
	Inicio	Parada	BE4207/XJH58
14	15790	15790	G/A
15	17395	17395	C/T
16	18749	18749	C/T
17	18796	18796	C/T
18	18798	18799	CT/GC
19	19119	19119	T/A
20	22230	22230	C/T
21	22266	22266	T/C
22	41082	41082	G/C
23	41335	41335	G/C
24	41944	41944	C/T
25	44285	44285	G/C
26	44387	44387	C/T
27	45202	45202	A/-
28	46136	46136	G/A
29	46447	46447	A/G
30	46912	46912	C/T
31	46957	46957	G/A
32	46959	46959	C/T
33	46973	46973	T/C
34	46975	46975	G/A
35	46989	46989	T/G
36	47001	47001	T/C

ID	Posición de B73		Marcador
	Crom. 8		
	Inicio	Parada	BE4207/XJH58
37	47026	47026	G/A
38	65062	65063	AT/-
39	65438	65438	-/GGT
40	66993	66993	A/-
41	79739	79739	G/A
42	82093	82093	C/T
43	85155	85155	G/A
44	85667	85667	T/A
45	85782	85784	CGG/-
46	86079	86079	C/A
47	86097	86097	-/TC
48	86113	86113	G/T
49	86247	86247	-/T
50	86653	86653	T/-
51	96248	96248	C/T
52	97087	97087	C/A
53	97177	97177	-/GCC
54	97337	97338	AC/TT
55	97341	97341	C/G
56	97371	97371	A/G
57	97382	97382	-/GGCGTACTTGCGCG CGGAC (SEQ ID NO:212)
58	97405	97405	-/GTC

ID	Posición de B73		Marcador
	Crom. 8		
	Inicio	Parada	BE4207/XJH58
59	97411	97411	T/C
60	97421	97433	GTAAAAAATTAA (SEQ ID NO:213)/-
61	97452	97452	-/GTT
62	97673	97673	C/T
63	97827	97827	T/C
64	97962	97962	C/T
65	97964	97964	-/ATGCATTACTT (SEQ ID NO:214)
66	97973	97973	-/GTGCTATACTACCTA ACCTA (SEQ ID NO:215)
67	97989	97989	T/C
68	98188	98188	C/A
69	98323	98326	ATAT/-
70	98335	98335	-/A
71	98350	98350	T/C
72	98359	98359	T/C
73	98367	98369	AAT/-
74	98393	98393	G/T
75	98403	98403	C/T
76	98426	98430	CGGAT/-
77	98468	98468	C/TGGTTTCT
78	98489	98489	T/G

ID	Posición de B73		Marcador
	Crom. 8		
	Inicio	Parada	BE4207/XJH58
79	98533	98533	A/C
80	98540	98540	G/A
81	98552	98552	G/T
82	98557	98566	CCCCTGAACC (SEQ ID NO:216)/-
83	98660	98660	-/T
84	98679	98679	-/A
85	98735	98735	G/A
86	98811	98811	A/C
87	98857	98857	-/ATAT
88	98906	98906	T/C
89	98927	98927	T/A
90	98935	98935	A/G
91	99026	99026	C/T
92	99027	99027	C/G
93	99037	99037	C/-
94	99074	99074	T/C
95	99079	99079	G/A
96	99089	99089	C/G
97	99091	99091	C/T
98	99137	99137	-/ATATT
99	99298	99298	G/A
100	99418	99418	A/C

ID	Posición de B73		Marcador
	Inicio	Parada	
			BE4207/XJH58
101	99443	99443	C/T
102	99447	99447	T/A
103	99491	99491	A/G
104	99622	99622	-/CTAATGGT
105	99925	99925	T/A
106	99962	99962	A/G

de este modo se identifica la planta como una que comprende un gen restaurador funcional para esterilidad citoplasmática masculina tipo C en maíz; y seleccionar la planta que comprende dicha secuencia de nucleótidos.

- 2. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde las moléculas de ácido nucleico aisladas son moléculas de ADN genómico.
- 3. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde se detectan en las moléculas de ácido nucleico aisladas una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID NOs: 1-197 y el alelo variante XJH58 de los marcadores denominados como polimorfismo ID nos. 1-106, se realiza utilizando reacción de cadena polimerasa específica de alelo competitivo.
- 4. El método de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la secuencia de nucleótidos se selecciona del grupo que consiste de SEQ ID NOs: 6-9; SEQ ID NO: 105; SEQ ID NO: 109; SEQ ID NO: 111; SEQ ID NO: 115; SEQ ID NOs: 118-120; SEQ ID NO: 123; SEQ ID NO: 126; SEQ ID NO: 134; SEQ ID NO: 135; SEQ ID NO: 137; SEQ ID NO: 138; SEQ ID NO: 144; SEQ ID NO: 149; SEQ ID NO: 151 ; SEQ ID NO: 160; SEQ ID NO: 163; SEQ ID NO: 164; SEQ ID NO: 167; SEQ ID NO: 173; SEQ ID NO: 177; SEQ ID NO: 178; SEQ ID NO: 183; SEQ ID NOs: 189-191 ; SEQ ID NO: 197; y el alelo variante XJH58 de los marcadores denominados como polimorfismo ID nos. 1-106.

- 5. El método de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la secuencia de nucleótidos se selecciona del grupo que consiste de SEQ ID NO: 8 y el polimorfismo ID nos. 1-3, 10, 11, 20, 21, 25-27, 39, 40, 44-49, 51-53, 55, 56, 59, 61-64, 68, 74, 78 y 83.
- 6. El método de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la secuencia de nucleótidos se selecciona del grupo que consiste de SEQ ID NO: 105, SEQ ID NO: 109, SEQ ID NO: 111, SEQ ID NO: 115, SEQ ID NO: 118, SEQ ID NO: 119, SEQ ID NO: 120, SEQ ID NO: 123, SEQ ID NO: 126, y SEQ ID NO: 134, y el alelo variante XJH58 de los marcadores denominados como polimorfismo ID nos. 1-106.
- 7. El método de acuerdo con la reivindicación 1, que comprende adicionalmente determinar el genotipo de la planta para cada uno de los marcadores denominados como polimorfismo ID nos. 1-106.
- 8. Un método para introducir el gen de maíz Rf4-bHLH en una planta de florecimiento anfitrión mediante transformación genética, el método comprende:

aislar de un segmento de ADN genómico de una planta que hibridiza específicamente con al menos una sonda que es específicamente hibridizable a un marcador Rf4-bHLH ligado que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste de SEQ ID Nos: 1-197 y el alelo variante XJH58 de los marcadores denominados como polimorfismo ID nos. 1-106, en donde el polimorfismo ID nos. 1-106 comprende polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) y polimorfismos de inserción/eliminaciones (InDel) entre CMS (BE4207) y la línea restauradora (XJH58),

ID	Posición de B73 Crom. 8		Marcador
	Inicio	Parada	
			BE4207/XJH58
1	8885	8885	T/C
2	11684	11684	A/G

ID	Posición de B73		Marcador
	Crom. 8		
	Inicio	Parada	BE4207/XJH58
3	11883	11883	A/C
4	12831	12831	T/C
5	13168	13168	T/A
6	13171	13171	T/C
7	13179	13179	C/T
8	13191	13191	T/G
9	14191	14191	G/A
10	15309	15309	G/A
11	15639	15639	C/T
12	15735	15735	C/T
13	15744	15744	G/A
14	15790	15790	G/A
15	17395	17395	C/T
16	18749	18749	C/T
17	18796	18796	C/T
18	18798	18799	CT/GC
19	19119	19119	T/A
20	22230	22230	C/T
21	22266	22266	T/C
22	41082	41082	G/C
23	41335	41335	G/C
24	41944	41944	C/T
25	44285	44285	G/C

ID	Posición de B73		Marcador
	Crom. 8		
	Inicio	Parada	BE4207/XJH58
26	44387	44387	C/T
27	45202	45202	A/-
28	46136	46136	G/A
29	46447	46447	A/G
30	46912	46912	C/T
31	46957	46957	G/A
32	46959	46959	C/T
33	46973	46973	T/C
34	46975	46975	G/A
35	46989	46989	T/G
36	47001	47001	T/C
37	47026	47026	G/A
38	65062	65063	AT/-
39	65438	65438	-/GGT
40	66993	66993	A/-
41	79739	79739	G/A
42	82093	82093	C/T
43	85155	85155	G/A
44	85667	85667	T/A
45	85782	85784	CGG/-
46	86079	86079	C/A
47	86097	86097	-/TC
48	86113	86113	G/T

ID	Posición de B73		Marcador
	Crom. 8		
	Inicio	Parada	BE4207/XJH58
49	86247	86247	-/T
50	86653	86653	T/-
51	96248	96248	C/T
52	97087	97087	C/A
53	97177	97177	-/GCC
54	97337	97338	AC/TT
55	97341	97341	C/G
56	97371	97371	A/G
57	97382	97382	-/GGCGTACTTGCGCG CGGAC (SEQ ID NO:212)
58	97405	97405	-/GTC
59	97411	97411	T/C
60	97421	97433	GTAAAAAATTAA (SEQ ID NO:213)/-
61	97452	97452	-/GTT
62	97673	97673	C/T
63	97827	97827	T/C
64	97962	97962	C/T
65	97964	97964	-/ATGCATTACTT (SEQ ID NO:214)
66	97973	97973	-/GTGCTATACTACCTA ACCTA (SEQ ID NO:215)
67	97989	97989	T/C

ID	Posición de B73		Marcador
	Crom. 8		
	Início	Parada	BE4207/XJH58
68	98188	98188	C/A
69	98323	98326	ATAT/-
70	98335	98335	-/A
71	98350	98350	T/C
72	98359	98359	T/C
73	98367	98369	AAT/-
74	98393	98393	G/T
75	98403	98403	C/T
76	98426	98430	CGGAT/-
77	98468	98468	C/TGGTTTCT
78	98489	98489	T/G
79	98533	98533	A/C
80	98540	98540	G/A
81	98552	98552	G/T
82	98557	98566	CCCCTGAACC (SEQ ID NO:216)/-
83	98660	98660	-/T
84	98679	98679	-/A
85	98735	98735	G/A
86	98811	98811	A/C
87	98857	98857	-/ATAT
88	98906	98906	T/C
89	98927	98927	T/A

ID	Posición de B73		Marcador
	Crom. 8		
	Inicio	Parada	BE4207/XJH58
90	98935	98935	A/G
91	99026	99026	C/T
92	99027	99027	C/G
93	99037	99037	C/-
94	99074	99074	T/C
95	99079	99079	G/A
96	99089	99089	C/G
97	99091	99091	C/T
98	99137	99137	-/ATATT
99	99298	99298	G/A
100	99418	99418	A/C
101	99443	99443	C/T
102	99447	99447	T/A
103	99491	99491	A/G
104	99622	99622	-/CTAATGGT
105	99925	99925	T/A
106	99962	99962	A/G

;

introducir el segmento aislado de ADN genómico dentro de la planta de florecimiento anfitrión; y

detectar en el ADN de la planta de florecimiento anfitrión los marcadores *Rf4-bHLH* ligados con sondas que son específicamente hibridables a los marcadores, de esta forma identificando al gen *Rf4-bHLH* en la planta de florecimiento anfitrión.

9. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en donde el segmento aislado de ADN genómico se integra establemente dentro del genoma del organismo anfitrión.
10. El método de acuerdo con la reivindicación 8, en donde la planta de florecimiento anfitrión es *Zea mays*.

CBB\CBB\ID-469344\WPC10975