

REIVINDICACIONES

1. Un ácido nucleico aislado que comprende al menos un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en:

5 SEC ID NO:1; el complemento de SEC ID NO:1; un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de SEC ID NO:1; el complemento de un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de SEC ID NO:1; una secuencia codificadora nativa de un organismo de *Diabrotica* que comprende la SEC ID NO:1; el complemento de
10 una secuencia codificadora nativa de un organismo de *Diabrotica* que comprende la SEC ID NO:1; una secuencia no codificadora nativa de un organismo de *Diabrotica* que se transcribe en una molécula de ARN nativa que comprende la SEC ID NO:1; el complemento de una secuencia no codificadora nativa de un organismo de *Diabrotica* que
15 se transcribe en una molécula de ARN nativa que comprende la SEC ID NO:1; un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de una secuencia codificadora nativa de un organismo de *Diabrotica* que comprende la SEC ID NO:1; el complemento de un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de una secuencia codificadora
20 nativa de un organismo de *Diabrotica* que comprende la SEC ID NO:1; un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de una secuencia no codificadora nativa de un organismo de *Diabrotica* que se transcribe en una molécula de ARN nativa que comprende la SEC ID NO:1; y el complemento de un fragmento de al menos 15
25 nucleótidos contiguos de una secuencia no codificadora nativa de un

organismo de *Diabrotica* que se transcribe en una molécula de ARN nativa que comprende la SEC ID NO:1,

en donde el polinucleótido está ligado operativamente a un promotor heterólogo.

5 2. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el polinucleótido se selecciona del grupo que consiste en la SEC ID NO:1, SEC ID NO:3, SEC ID NO:46 y SEC ID NO:67.

3. Un vector de transformación de planta que comprende el polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 1.

10 4. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el organismo se selecciona del grupo que consiste en *D. v. virgifera* LeConte; *D. barberi* Smith y Lawrence; *D. u. howardi*; *D. v. zaeae*; *D. balteata* LeConte; *D. u. tenella*; *D. speciosa* Germar; y *D. u. undecimpunctata* Mannerheim.

15 5. Una molécula de ácido ribonucleico (ARN, por sus siglas en inglés) transcrita del polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 1.

6. Una molécula de ácido ribonucleico de cadena doble producida a partir de la expresión del polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 1.

20 7. La molécula de ácido ribonucleico de cadena doble de acuerdo con la reivindicación 6, en donde el contacto de la secuencia de polinucleótidos con una plaga de coleópteros inhibe la expresión de una secuencia de nucleótidos endógena
25 específicamente complementaria con el polinucleótido.

8. La molécula de ácido ribonucleico de cadena doble de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el contacto de dicha molécula de ribonucleótido con una plaga de coleópteros mata o inhibe el crecimiento, reproducción y/o alimentación de la plaga.

5 9. El ARN de cadena doble de acuerdo con la reivindicación 6, que comprende un primer, un segundo y un tercer segmento de ARN, en donde el primer segmento de ARN comprende el polinucleótido, en donde el tercer segmento de ARN se une al primer segmento de ARN mediante la segunda secuencia de polinucleótidos,
10 y donde el tercer segmento de ARN es sustancialmente el complemento inverso del primer segmento de ARN, de modo que el primer y el tercer segmentos de ARN se hibridan cuando se transcriben en un ácido ribonucleico para formar el ARN de cadena doble.

15 10. El ARN de acuerdo con la reivindicación 5, seleccionado del grupo que consiste en una molécula de ácido ribonucleico de cadena doble y una molécula de ácido ribonucleico de cadena simple de entre aproximadamente 15 y aproximadamente 30 nucleótidos de longitud.

20 11. Un vector de transformación de planta que comprende el polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el promotor heterólogo es funcional en una célula de planta.

12. Una célula transformada con el polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 1.

25 13. La célula de acuerdo con la reivindicación 12, en donde

la célula es una célula procariótica.

14. La célula de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la célula es una célula eucariótica.

15. La célula de acuerdo con la reivindicación 14, en donde
5 la célula es una célula de planta.

16. Una planta transformada con el polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 1.

17. Una semilla de la planta de acuerdo con la reivindicación 16, en donde la semilla comprende el polinucleótido.

10 18. Un producto básico producido a partir de la planta de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el producto básico comprende una cantidad detectable del polinucleótido.

19. La planta de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el al menos un polinucleótido se expresa en la planta como una
15 molécula de ácido ribonucleico de cadena doble.

20. La célula de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la célula es una célula de *Zea mays*.

21. La planta de acuerdo con la reivindicación 16, en donde la planta es *Zea mays*.

20 22. La planta de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el al menos un polinucleótido se expresa en la planta como una molécula de ácido ribonucleico, y la molécula de ácido ribonucleico inhibe la expresión de un polinucleótido endógeno que es específicamente complementario con al menos un polinucleótido
25 cuando una plaga de coleópteros ingiere una parte de la planta.

23. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 1, que además comprende al menos un polinucleótido adicional que codifica una molécula de ARN que inhibe la expresión de un gen de la plaga endógeno.

5 24. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 23, en donde el polinucleótido adicional codifica una molécula de ARNi que produce un fenotipo de ARNi parental.

25. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 24, en donde el polinucleótido adicional codifica una molécula de ARNi que
10 inhibe la expresión de un gen *hunchback* o *kruppel*.

26. El polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 23, en donde el polinucleótido adicional codifica una molécula de ARNi que produce disminución del crecimiento y/o desarrollo y/o mortalidad en una plaga de coleópteros que se pone en contacto con la molécula
15 de ARNi (ARNi letal).

27. Un vector de transformación de planta que comprende el polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 23, en donde los polinucleótidos adicionales están unidos operativamente a un promotor heterólogo funcional en una célula de planta.

20 28. Un método para controlar una población de la plaga de coleópteros, el método que comprende proporcionar un agente que comprende una molécula de ácido ribonucleico (ARN, por sus siglas en inglés) que actúa después del contacto con la plaga de coleópteros para inhibir una función biológica dentro de la plaga de
25 coleópteros, en donde el ARN se puede hibridar específicamente con

un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en cualquiera de las SEC ID NOs:70-73; el complemento de cualquiera de las SEC ID NOs:70-73; un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de cualquiera de las SEC ID NOs:70-73; el complemento de un
5 fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de cualquiera de las SEC ID NOs:70-73; un transcripto de cualquiera de las SEC ID NOs:1, 3 y 67; el complemento de un transcripto de cualquiera de las SEC ID NOs:1, 3 y 67; un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de un transcripto de cualquiera de las SEC ID NOs:1, 3 y
10 67; y el complemento de un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de un transcripto de cualquiera de las SEC ID NOs:1, 3 y 67.

29. El método de acuerdo con la reivindicación 28, en donde el agente es una molécula de ARN de cadena doble.

15 30. Un método para controlar una población de la plaga de coleópteros, el método que comprende:

introducir en una plaga de coleópteros, una molécula de ácido ribonucleico (ARN, por sus siglas en inglés) que actúa después del contacto con la plaga de coleópteros para inhibir una función
20 biológica dentro de la plaga de coleópteros, en donde el ARN se puede hibridar específicamente con un polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en cualquiera de las SEC ID NOs:70-73,

el complemento de cualquiera de las SEC ID NOs:70-73,

un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de
25 cualquiera de las SEC ID NOs:70-73,

el complemento de un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de cualquiera de las SEC ID NOs:70-73,

un transcripto de cualquiera de las SEC ID NOs:1, 3, y 67,

el complemento de un transcripto de cualquiera de las SEC ID
5 NOs:1, 3, y 67,

un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de un transcripto de cualquiera de las SEC ID NOs:1, 3, y 67, y

el complemento de un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de un transcripto de cualquiera de las SEC ID NOs:1, 3, y
10 67,

de este modo se produce una plaga de coleópteros que tiene un fenotipo pARNi.

31. El método de acuerdo con la reivindicación 30, en donde el ARN se introduce en una plaga de coleópteros macho.

15 32. El método de acuerdo con la reivindicación 30, en donde el ARN se introduce en una plaga de coleópteros hembra, el método que además comprende liberar la plaga de coleópteros hembra que tiene el fenotipo pARNi en la población de plaga, en donde el apareamiento entre la plaga de coleópteros hembra que tiene el
20 fenotipo pARNi y las plagas macho de la población produce menos crías viables que el apareamiento entre otras plagas hembra y plagas macho de la población.

33. Un método para controlar una población de la plaga de coleópteros, el método que comprende:

25 proporcionar un agente que comprende una primera y una

segunda secuencia de polinucleótidos que actúa después del contacto con la plaga de coleópteros para inhibir una función biológica dentro de la plaga de coleópteros, en donde la primera secuencia de polinucleótidos comprende una región que exhibe de
5 aproximadamente 90% a aproximadamente 100% de identidad de secuencia con de aproximadamente 19 a aproximadamente 30 nucleótidos contiguos de la SEC ID NO:70, y en donde la primera secuencia de polinucleótidos se hibrida específicamente con la segunda secuencia de polinucleótidos.

10 34. El método de acuerdo con la reivindicación 33, en donde la molécula de ácido ribonucleico es una molécula de ácido ribonucleico de cadena doble.

 35. El método de acuerdo con la reivindicación 33, en donde la población de la plaga de coleópteros está reducida con respecto a
15 una población de la misma especie de plaga que infesta una planta anfitrión de la misma especie anfitrión que carece de la célula de planta transformada.

 36. Un método para controlar una población de la plaga de coleópteros, el método que comprende:

20 proporcionar en una planta anfitrión de una plaga de coleópteros una célula de planta transformada que comprende el polinucleótido de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el polinucleótido se expresa para producir una molécula de ácido ribonucleico que actúa después del contacto con una plaga de
25 coleópteros perteneciente a la población para inhibir la expresión de

una secuencia diana dentro de la plaga de coleópteros y produce
disminución de la reproducción de la plaga de coleópteros o
población de plagas, con respecto a la reproducción de la misma
especie de plaga en una planta de la misma especie de planta
5 anfitrión que no comprende el polinucleótido.

37. El método de acuerdo con la reivindicación 36, en donde
la molécula de ácido ribonucleico es una molécula de ácido
ribonucleico de cadena doble.

38. El método de acuerdo con la reivindicación 36, en donde
10 la población de la plaga de coleópteros está reducida con respecto a
una población de la plaga de coleópteros que infesta una planta
anfitrión de la misma especie que carece de la célula de planta
transformada.

39. Un método de controlar la infestación de plaga de
15 coleópteros en una planta, el método que comprende proporcionar en
la dieta de una plaga de coleópteros un ácido ribonucleico (ARN, por
sus siglas en inglés) que se puede hibridar específicamente con un
polinucleótido seleccionado del grupo que consiste en:

SEC ID NOs:70-73,
20 el complemento de cualquiera de las SEC ID NOs:70-73,
un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de
cualquiera de las SEC ID NOs:70-73,
el complemento de un fragmento de al menos 15 nucleótidos
contiguos de cualquiera de las SEC ID NOs:70-73,
25 un transcripto de cualquiera de las SEC ID NOs:1, 3, y 67,

el complemento de un transcripto de cualquiera de las SEC ID NOs:1, 3, y 67,

un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de un transcripto de cualquiera de las SEC ID NOs:1, 3, y 67, y

5 el complemento de un fragmento de al menos 15 nucleótidos contiguos de un transcripto de cualquiera de las SEC ID NOs:1, 3, y 67.

40. El método de acuerdo con la reivindicación 39, en donde la dieta comprende una célula de planta transformada para expresar el polinucleótido.

41. El método de acuerdo con la reivindicación 39, en donde el ARN que se puede hibridar específicamente está comprendido en una molécula de ARN de cadena doble.

42. Un método para mejorar el rendimiento de un cultivo de maíz, el método que comprende:

introducir el ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 1 en una planta de maíz para producir una planta de maíz transgénica; y

20 cultivar la planta de maíz para permitir la expresión de al menos un polinucleótido; donde la expresión de al menos un polinucleótido inhibe la reproducción o crecimiento de la plaga de coleópteros y pérdida de rendimiento debido a la infección de la plaga de coleópteros.

43. El método de acuerdo con la reivindicación 42, en donde la expresión del al menos un polinucleótido produce una molécula de

ARN que suprime al menos un primer gen diana en una plaga de coleópteros que se ha puesto en contacto con una porción de la planta de maíz.

44. Un método para producir una célula de planta transgénica, el método que comprende:

transformar una célula de planta con un vector que comprende el ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 1;

cultivar la célula de planta transformada en condiciones suficientes para permitir el desarrollo de un cultivo de célula de planta que comprende una pluralidad de células de planta transformadas;

seleccionar las células de planta transformadas que han integrado el al menos un polinucleótido en sus genomas;

analizar las células de planta transformadas para la expresión de una molécula de ácido ribonucleico (ARN, por sus siglas en inglés) codificado por al menos un polinucleótido; y

seleccionar una célula de planta que expresa el ARN.

45. El método de acuerdo con la reivindicación 44, en donde la molécula de ARN es una Molécula de ARN de cadena doble.

46. Un método para proporcionar la protección contra una plaga de coleópteros a una planta transgénica, el método que comprende:

proporcionar la célula de planta transgénica producida por el método de acuerdo con la reivindicación 44; y

regenerar una planta transgénica a partir de la célula de planta

transgénica, en donde la expresión de la molécula de ácido ribonucleico codificado por al menos un polinucleótido es suficiente para modular la expresión de un gen diana en una plaga de coleópteros que se pone en contacto con la planta transformada.

5 47. Un método para producir una célula de planta transgénica, el método que comprende:

transformar una célula de planta con un vector que comprende un medio para proteger una planta de una plaga de coleópteros;

10 cultivar la célula de planta transformada en condiciones suficientes para permitir el desarrollo de un cultivo de célula de planta que comprende una pluralidad de células de planta transformadas;

15 seleccionar las células de planta transformadas que han integrado el medio para proteger una planta de una plaga de coleópteros en sus genomas;

analizar las células de planta transformadas para la expresión de un medio para inhibir la expresión de un gen diana en una plaga de coleópteros; y

20 seleccionar una célula de planta que expresa el medio para inhibir la expresión de un gen diana para inhibir la expresión de un gen diana en una plaga de coleópteros.

48. Un método para producir una planta transgénica protegida de la plaga de coleópteros, el método que comprende:

25 proporcionar la célula de planta transgénica producida por el método de acuerdo con la reivindicación 47; y

regenerar una planta transgénica de la célula de planta transgénica, en donde la expresión del medio para inhibir la expresión de un gen diana en una plaga de coleópteros es suficiente para modular la expresión de un gen blanco en una plaga de coleópteros que se pone en contacto con la planta transformada.

49. El ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 1, que además comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido de *Bacillus thuringiensis*.

50. El ácido nucleico de reivindicación 49, en donde el polipéptido de *B. thuringiensis* se selecciona de un grupo que comprende Cry1B, Cry1I, Cry2A, Cry3, Cry7A, Cry8, Cry9D, Cry14, Cry18, Cry22, Cry23, Cry34, Cry35, Cry36, Cry37, Cry43, Cry55, Cyt1A, y Cyt2C.

51. La célula de acuerdo con la reivindicación 15, en donde la célula comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido de *Bacillus thuringiensis*.

52. La célula de acuerdo con la reivindicación 51, en donde el polipéptido de *B. thuringiensis* se selecciona de un grupo que comprende Cry1B, Cry1I, Cry2A, Cry3, Cry7A, Cry8, Cry9D, Cry14, Cry18, Cry22, Cry23, Cry34, Cry35, Cry36, Cry37, Cry43, Cry55, Cyt1A, y Cyt2C.

53. La planta de acuerdo con la reivindicación 16, en donde la planta comprende un polinucleótido que codifica un polipéptido de *Bacillus thuringiensis*.

54. La planta de acuerdo con la reivindicación 53, en donde

el polipéptido de *B. thuringiensis* se selecciona de un grupo que comprende Cry1B, Cry1I, Cry2A, Cry3, Cry7A, Cry8, Cry9D, Cry14, Cry18, Cry22, Cry23, Cry34, Cry35, Cry36, Cry37, Cry43, Cry55, Cyt1A, y Cyt2C.

5 55. El método de acuerdo con la reivindicación 42, en donde la célula de planta transformada comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un polipéptido de *Bacillus thuringiensis*.

 56. El método de acuerdo con la reivindicación 55, en donde el polipéptido de *B. thuringiensis* se selecciona de un grupo que
10 comprende Cry1B, Cry1I, Cry2A, Cry3, Cry7A, Cry8, Cry9D, Cry14, Cry18, Cry22, Cry23, Cry34, Cry35, Cry36, Cry37, Cry43, Cry55, Cyt1A, y Cyt2C.