COMPOSICIONES Y MÉTODOS PARA ALTERAR LA FLORACIÓN Y ARQUITECTURA DE PLANTA PARA MEJORAR EL POTENCIAL DE RENDIMIENTO

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

[1] La presente solicitud reivindica el beneficio de la prioridad de las solicitudes provisionales estadounidenses n.º 62/410,355, presentada el 19 de octubre de 2016 y la Solicitud provisional estadounidense n.° 62/411,408, presentada el 21 de octubre de 2016, las cuales se incorporan a la presente en su totalidad mediante referencia.

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[2] La presente invención se refiere a composiciones y métodos para modular el desarrollo floral y el crecimiento vegetativo mediante modificación genética de plantas de cultivo para aumentar el rendimiento.

INCORPORACIÓN DE LISTADO DE SECUENCIAS

Un listado de secuencias en el archivo denominado P34461WO00_SEQ.txt, con 177,799 bytes (medido en MS-Windows®) y creado el 18 de octubre de 2017, que comprende 110 secuencias de nucleótidos, se presenta de manera electrónica junto a la presente y se incorpora en su totalidad mediante referencia.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La transición del crecimiento vegetativo a la floración es un proceso crucial durante el desarrollo de la planta que es necesario para la producción de rendimiento de grano en plantas de cultivo. Existen varias vías principales que controlan el tiempo de floración en las plantas terrestres que responden a las señales ambientales o de desarrollo, incluyendo el fotoperiodismo (es decir, duración del día), la vernalización (es decir, la respuesta al frío invernal) y las hormonas vegetales (por ejemplo, Giberelinas o GA), además de las vías autónomas (ambientalmente independientes). Las redes moleculares que controlan el tiempo de floración en las plantas implican las rutas de vernalización y fotoperiodo. En condiciones fotoperiódicas inductivas, la actividad de *CONSTANS* (CO) en las hojas

fuente aumenta la expresión de *FLOWERING LOCUS T* (FT), que se transloca al meristemo para activar la expresión de genes activadores florales posteriores, que incluyen *LEAFY* (LFY), *APETALA1* (AP1) y *SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO 1* (SOC1). Otros genes, como *FLOWERING LOCUS C* (FLC) y *TERMINAL FLOWER 1* (TFL1), actúan para inhibir la expresión o actividad de estos genes.

A excepción de las plantas neutrales de duración diurna, la mayoría de las plantas con flores responde a ciclos fotoperiódicos diarios y se clasifican como plantas de día corto (SD) o día largo (LD) en función de las condiciones de fotoperiodo requeridas para inducir la floración. El fotoperiodo se refiere a la duración relativa o duración de los períodos de luz y oscuridad dentro de un ciclo de 24 horas. En general, las plantas de día largo tienden a florecer cuando la duración del día supera un umbral de fotoperíodo (por ejemplo, a medida que los días se alargan en primavera), mientras que las plantas de día corto tienden a florecer cuando la duración del día cae por debajo de un umbral de fotoperiodo (por ejemplo, ya que los días se acortan después del solsticio de verano). En otras palabras, las plantas SD florecen a medida que los días se hacen más cortos, mientras que las plantas LD florecen a medida que los días se hacen más largos. La soya es un ejemplo de una planta de día corto (SD) en la que la floración se induce cuando las plantas están expuestas a condiciones de luz diurna más cortas.

Los cultivadores de plantas siempre están buscando nuevos métodos para manipular el rendimiento de una planta, especialmente para mejorar el rendimiento de semilla de cultivos agronómicamente importantes. Por lo tanto, existe una necesidad continua en la técnica de composiciones y métodos mejorados para aumentar los rendimientos de diversas plantas de cultivo. Actualmente se propone que los rendimientos mejorados de las cosechas se pueden lograr mejorando los rasgos agronómicos relacionados con la floración y el desarrollo reproductivo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

De acuerdo con un aspecto, la presente descripción proporciona un constructo de ADN recombinante que comprende un primer casete de expresión y un segundo casete de expresión, en el que el primer casete de expresión comprende una secuencia de

polinucleótidos que codifica una proteína FT florigénica unida operativamente a un primer promotor expresable de la planta, y el segundo casete de expresión comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que comprende una secuencia de dirección que es al menos 80% complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de la secuencia de polinucleótidos de la primera casete de expresión, y en donde la secuencia de ADN transcripcional está unida operativamente a un segundo promotor expresable de plantas.

De acuerdo con un aspecto, la presente descripción proporciona un constructo de ADN recombinante que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT florigénica unida operativamente a un promotor expresable en plantas, en donde la secuencia de polinucleótidos comprende una secuencia que codifica un sitio o sensor objetivo en un ARNm transcrito codificado por la secuencia de polinucleótidos, y en donde el sitio objetivo del transcrito de ARNm es al menos 80% complementario a una molécula de ARN endógeno, tal como un ARNmi endógeno o una molécula de ARNsi.

De acuerdo con un aspecto, la presente descripción proporciona un constructo de ADN recombinante que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que comprende una secuencia de dirección que es al menos 80% complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de una secuencia polinucleotídica que codifica una FT florigénica proteína, en donde la secuencia de ADN transcribible está operativamente unida al promotor expresable de la planta.

De acuerdo con un aspecto, la presente descripción proporciona plantas transgénicas, células vegetales, tejidos de plantas y partes de plantas que comprenden una inserción de un constructo de ADN recombinante de la presente descripción en el genoma de tales plantas, células vegetales, tejidos vegetales y partes de la planta.

De acuerdo con un aspecto, la presente descripción proporciona métodos para producir una planta transgénica que comprende (a) transformar al menos una célula de un explante con un constructo de ADN recombinante de la presente descripción; y (b) regenerar o desarrollar la planta transgénica del explante transformado. Los métodos pueden comprender además (c) seleccionar una planta transgénica que tenga uno o más de los

siguientes rasgos o fenotipos: floración temprana, duración reproductiva o floración más prolongada, mayor número de flores por nodo, mayor número de racimos florales por nodo, mayor cantidad de vainas, cápsulas, silicuas, frutos o frutos secos por nodo, y un mayor número de semillas por nodo, en comparación con una planta de control que no tiene la constructo de ADN recombinante.

De acuerdo con un aspecto, la presente descripción proporciona métodos para plantar una planta de cultivo transgénica, que comprende plantar la planta de cultivo transgénica en una densidad más alta en el campo, donde la planta de cultivo transgénica comprende una inserción de un constructo de ADN recombinante del instante revelación.

De acuerdo con un aspecto, la presente descripción proporciona una planta transgénica que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT florigénica unida operativamente a un primer promotor expresable de planta, y el segundo casete de expresión comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica un ARN molécula que comprende una secuencia de dirección que es al menos 80% complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de la secuencia de polinucleótidos de la primera casete de expresión, y en donde la secuencia de ADN transcribible está operativamente unida a un segundo promotor expresable de la planta. De acuerdo con un aspecto, la presente descripción proporciona una planta transgénica que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que comprende una secuencia de dirección que es al menos 80% complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT florigénica, en donde la secuencia de ADN transcripcional está unida operativamente al promotor expresable de la planta.

De acuerdo con un aspecto, la presente divulgación proporciona una planta transgénica que puede tener más semillas, vainas, cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o tubérculos en promedio por nodo que una planta de control no transgénica, tal como un promedio de al menos 1 %, al menos 2 %, al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 100 %, al menos 125 %, al menos 150 %, al menos 175 %, al menos 200 %,

al menos 250 %, al menos 300 %, al menos 350 %, o al menos 400 % más de semillas, vainas, cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o tubérculos por nodo que una planta de control no transgénica. De acuerdo con un aspecto, una planta transgénica puede tener un promedio de al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9 o al menos 10 más de semillas, vainas, cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o tubérculos por nodo que una planta de control no transgénica. De acuerdo con un aspecto, una planta transgénica puede tener un promedio de 2 a 10, 2 a 9, 2 a 8, 2 a 7, 2 a 6, 2 a 5, 2 a 4, 2 a 3, 3 a 10, 3 a 9, 3 a 8, 3 a 7, 3 a 6, 3 a 5, 3 a 4, 4 a 10, 4 a 9, 4 a 8, 4 a 7, 4 a 6 o 4 a 5 más semillas, vainas, cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o tubérculos por nodo que una planta de control no transgénica. De acuerdo con un aspecto, una planta transgénica puede tener un promedio de al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9 o al menos 10 más semillas, vainas, cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o tubérculos por nodo en comparación con una planta de control no transgénica o de tipo salvaje. De acuerdo con un aspecto, una planta transgénica puede florecer al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40 o al menos 45 días antes que una planta de control no transgénica.

De acuerdo con un aspecto, la presente descripción proporciona una planta transgénica que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT florigénica unida operativamente a un promotor de etapa vegetativa, en donde la expresión de la proteína FT florigénica se suprime en una etapa vegetativa tardía y/o tejido reproductivo.

De acuerdo con un aspecto, la presente descripción proporciona un constructo de ADN recombinante que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT florigénica y está operativamente unida a un promotor de etapa vegetativo, y al menos una secuencia que codifica una secuencia de dirección de ARN que es complementaria a al menos una porción de la secuencia de polinucleótidos.

De acuerdo con un aspecto, la presente descripción proporciona una planta transgénica que comprende una secuencia de polinucleótido recombinante que codifica una proteína

FT florigénica unida operativamente a un promotor de etapa vegetativo, en donde la expresión de la secuencia de polinucleótido está restringida espacial y temporalmente por una molécula de ARN pequeña.

De acuerdo con un aspecto, la presente descripción proporciona un constructo de ADN recombinante que comprende un casete de expresión, en el que el casete de expresión comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT florigénica unida operativamente a un promotor, en donde el promotor comprende una secuencia polinucleotídica que es al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95% , al menos 96%, al menos 97%, al menos 98%, al menos 99% o 100% idéntico a una secuencia de polinucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 39, 40, 41, 42, 43, 44 , 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53 o 54, o una porción funcional del mismo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La figura 1A proporciona un cuadro de matriz que muestra una comparación de las secuencias de nucleótidos para cada combinación de los diversos genes FT, incluyendo su porcentaje de identidad.

La figura 1B proporciona un cuadro de matriz que muestra una comparación de secuencias de proteínas para cada combinación de las diversas proteínas FT, incluyendo su porcentaje de identidad.

La figura 1C proporciona una alineación de secuencia múltiple CLUSTAL 2.0.9 de varias proteínas FT identificadas como Gm.FT2a con la SEQ ID NO: 2, Gm.FT2b con SEQ ID NO: 6, Le.FT con SEQ ID NO: 12, Pt.FT con SEQ ID NO: 20, Os.HD3a con SEQ ID NO: 18, At.FT con SEQ ID NO: 14, At. TSF con la SEQ ID NO: 16, Nt.FT con la SEQ ID NO: 10, Gm.FT5a con la SEQ ID NO: 4 y Zm.ZCN8 con la SEQ ID NO: 8.

La figura 2 muestra los niveles totales de transcripción de FT en los tejidos de la hoja de soya y ápice recolectados a los 1, 3 y 5 días después de un tratamiento con luz corta de un día o de un día largo.

Las figuras 3A a 3O y las figuras 4A a 4O muestran el patrón de expresión del promotor

pAt.Erecta mediante el monitoreo de la actividad de GUS durante el desarrollo temprano de la soya. Las figuras 3A a 3O son un conjunto de imágenes en blanco y negro de tejidos teñidos, y las imágenes en las figuras 4A a 4O corresponden a las figuras 3A a 3O pero se filtran para la tinción azul de GUS. Las figuras 3A a 3C y 4A a 4C muestran expresión en una planta de germinación de 3 días de edad; Las figuras 3D a 3I y 4D a 4I muestran expresión en un brote vegetativo de 10 días de edad (crecido en fotoperiodo de 14 horas de luz/10 horas de oscuridad); Las figuras 3J a 3L y 4J a 4L muestran expresión en un brote reproductivo de 16 días; y las figuras 3M a 3O y 4M a 4O muestran expresión en las 30as viejas hojas maduras e inmaduras del brote reproductivo. Las barras son de 100µm.

Las figuras 5A a 5F y las Figuras 6A a 6F muestran el patrón de expresión GUS con el promotor *pAT.Erecta* durante R1 y las etapas florales de desarrollo (35-40 días después de la germinación). Las figuras 5A a 5F son un conjunto de imágenes en blanco y negro de tejidos teñidos, y las imágenes en las Figuras 6A a 6F corresponden a las Figuras 5A a 5F pero se filtran para la tinción azul de GUS. Las figuras 5A y 6A muestran expresión en los tallos o pedicelos de la inflorescencia (flechas), y las Figuras 5B y 6B muestran la expresión en el pedúnculo floral (flechas). La expresión también se muestra en las células de la vasculatura y el parénquima (Figuras 5C y 6C), en filamentos de estambre (Figuras 5D y 6D; flecha), y en óvulos no polinizados (Figuras 5E, 5F, 6E y 6F; flechas). Las barras son de 1 mm.

La figura 7 muestra imágenes de la sección del meristemo apical del brote (SAM) de tipo silvestre frente a las plantas transgénicas que expresan GmFT2a a los 7 días después de la siembra usando el análisis de microscopía electrónica de barrido (eSEM).

La figura 8 muestra microscopía de barrido electrónico (eSEM) de un primordio de inflorescencia axilar de una planta de tipo silvestre (recolectada a los 27 días después de la siembra), en comparación con un primordio de inflorescencia axilar de un evento transgénico que expresa Gm.FT2a (recolectado a los 9 días después de la siembra).

Las figuras 9A a 9C muestran los efectos de la expresión Gm.FT2a impulsada por el promotor *At.Erecta* en soya. La figura 9A representa un segregante nulo que muestra yemas axilares normales, mientras que la FIG. 9B y la figura 9C (correspondientes a

plantas homocigóticas o hemizigotas para el transgén *Gm.FT2a*, respectivamente) muestran cada vez mayor floración y vainas aumentadas por nodo en relación con el segregante nulo.

La figura 10 muestra una imagen de planta completa de un segregante nulo de tipo silvestre junto a plantas hemizigóticas y homocigóticas para el transgén *Gm.FT2a* como se indica.

La figura 11 muestra imágenes del tronco principal de plantas que son homocigóticas o hemizigóticas para el transgén *pAt.Erecta-Gm.FT2a* en comparación con un segregante nulo como se indica.

La figura 12 muestra imágenes de plantas completas de plantas transformadas con *pAt.Erecta::Gm.FT2a* o *pAt.Erecta::Gm.FT2a/pAP1::ARNmi-FT2a::T-Apx*.

La figura 13 muestra imágenes de plantas completas de plantas transformadas con *pAt.Erecta::Gm.FT2a* solo o *pAt.Erecta::Gm.FT2a* + sitio objetivo miR172.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

El objetivo de mejorar el rendimiento es común a todos los cultivos en la agricultura. La presente invención incluye métodos y composiciones para mejorar el rendimiento en plantas de floración (angiospermas) o semilleras mediante la modificación de rasgos asociados con el tiempo de floración, el desarrollo reproductivo y el crecimiento vegetativo para mejorar uno o más rasgos o fenotipos relacionados con el rendimiento y la floración , como el número de flores, semillas y/o vainas por planta y/o el número de flores, semillas y/o vainas por nodo (y/o por tallo principal) de la planta. Sin estar vinculados por ninguna teoría, las composiciones y los métodos de la presente invención pueden operar para mejorar el rendimiento de una planta al aumentar el número de meristemos florales, aumentando la sincronización de la liberación de meristemo lateral y/o extendiendo el período de tiempo para el desarrollo de la vaina o la semilla La planta (por ejemplo, duración reproductiva).

Anteriormente, se descubrió que las plantas de día corto que crecían, tales como la soya, bajo condiciones de día largo (por ejemplo, aproximadamente 14-16 horas de luz por día) y luego sometían brevemente esas plantas a condiciones de crecimiento de día corto (por

ejemplo, aproximadamente 9-11 horas de luz por día durante aproximadamente 3-21 días) antes de devolver las plantas a las condiciones de crecimiento del día largo (no inductoras), plantas producidas que tienen un mayor número de vainas/semillas por planta (y vainas/semillas por nodo y/o por rama). Véanse, por ejemplo, la patente de E.U.A. No. 8,935,880 y la Publicación de solicitud de patente de E.U.A. No. 2014/0259905, cuyos contenidos completos y descripciones se incorporan aquí como referencia. Los tratamientos con luz inductiva artificial temprana de "día corto" durante las etapas de desarrollo vegetativo revelaron que no solo el tiempo de floración podría alterarse de manera que altera uno o más rasgos o fenotipos relacionados con el rendimiento (por ejemplo, causando un aumento en el número de vainas o semillas por nodo en una planta), sino también que el efecto de estos tratamientos dependía de la dosis con el número de flores, semillas y/o vainas por planta (y/o por nodo de la planta) dependiendo de (i) la duración de la exposición al día corto (es decir, la dosis de señal de inducción floral) y (ii) la duración de los fotoperíodos después del día corto en condiciones de día largo (es decir, la dosis o longitud de la señal inductora de crecimiento vegetativo después de la señal de inducción de día corto). Las plantas de soya que experimentaron un tratamiento de inducción corta temprana (eSDI) más baja o menos prolongada (antes de regresar a las condiciones de crecimiento de un día largo) tenían más flores, vainas y semillas por planta con mayor altura y madurez normal de plantas, mientras que las plantas de soya expuestas a mayor o un tratamiento de eSDI más prolongado produjo plantas cortas más tempranas, con menos vainas y semillas por planta (aunque quizás con un mayor número de vainas y/o semillas por nodo).

Este fenotipo de inducción de día corto en soya se usó para identificar genes que tenían expresión alterada en estas plantas a través del perfil transcripcional. Estos estudios identificaron varios genes con expresión alterada en estas plantas de soya tratadas, incluyendo un gen de FT endógeno, *Gm.FT2a*, que tiene una expresión aumentada en respuesta al tratamiento de inducción de día corto. Por lo tanto, se propone que la expresión de FT transgénica se pueda usar en lugar de la inducción de día corto para aumentar el rendimiento de semilla, alterar rasgos reproductivos o fenotipos en plantas, o ambos. La expresión ectópica de un transgén Gm.FT2a u otra secuencia de FT, o un

fragmento funcional, homólogo u ortólogo del mismo, en una planta de floración o semilla puede usarse para aumentar el rendimiento de semilla y/o alterar uno o más fenotipos o rasgos reproductivos, que puede implicar un aumento en el número de vainas/semillas por planta (y/o el número de vainas/semillas por nodo o tallo principal de la planta). Como se explica más adelante a continuación y dependiendo de la especie de planta particular, estos fenotipos o rasgos relacionados con el rendimiento o la reproducción también pueden aplicarse a otras estructuras botánicas análogas a las vainas de plantas leguminosas, tales como cápsulas, silicuas, frutas, nueces, tubérculos, etc., una planta que expresa ectópicamente una secuencia FT puede tener un número incrementado de cápsulas, silos, frutas, nueces, tubérculos, etc., por nodo (s), tallo principal y/o rama (s) de la planta y/o un mayor número de cápsulas, silicuas, frutas, nueces, tubérculos, etc., por planta.

Los genes *Flowering Locus T* (FT) desempeñan un papel clave en plantas superiores y funcionan para integrar rutas florales. Se ha demostrado que las proteínas FT funcionan como una señal móvil o florígeno que se transporta desde las hojas hasta el ápice del brote apical, donde desencadena el inicio del desarrollo reproductivo en diversas especies. Véase, por ejemplo, Jaeger, K.E. et al., "Interlocking feedback loops govern the dynamic behavior of the floral transition in *Arabidopsis*," *The Plant Cell*, 25:820-833 (2013); Corbesier, L et al., "FT protein movement contributes to long distance signaling in floral induction of *Arabidopsis*," *Science* 316: 1030-1033 (2007); Jaeger, KE et al., "FT protein acts as a long range signal in *Arabidopsis*," *Curr Biol* 17: 1050-1054 (2007); y Amasino, R.M. et al., "The Timing of Flowering," *Plant Physiology*, 154(2):516-520 (2010), todo el contenido y descripción de los cuales se incorporan aquí como referencia. En *Arabidopsis*, la proteína FT se une a 14-3-3 y a las proteínas *Flowering Locus D* (FD) en el meristemo para formar una activación desencadenante compleja en floración de los genes clave de identidad de meristemo floral, como *APETATAL1* (AP1) y SOC1 en el ápice del brote. Véase, por ejemplo, Taoka, K. et al., "14-3-3 protein act as intracellular receptors for rice Hd3a florigen." *Nature* 476:332-335 (2011). El gen TERMINAL FLOWER 1 (TFL1) es un represor clave de los objetivos FT que mantiene el centro del meristemo apical del brote (SAM) en estado vegetativo. TFL1 actúa reprimiendo los genes LEAFY (LFY) y AP1. Por

lo tanto, las concentraciones relativas de FT y TFL1 en los tejidos objetivo actúan competitivamente para controlar el momento de la transición reproductiva de los meristemos desde un estado vegetativo que puede terminar con un crecimiento vegetativo adicional. Véase, por ejemplo, Abe, M et al., *Science* 309:1052-1055 (2005); and McGarry, RC et al., *Plant Science* 188/189: 71-81 (2012).

Se han identificado genes FT de muchas especies diversas, y se ha informado que la expresión de FT ectópica induce la floración temprana. Véase, por ejemplo, Kong, F. et al., "Two Coordinately Regulated Homologs of *Flowering Locus T* Are Involved in the Control of Photoperiodic Flowering in Soybean," *Plant Physiology* 154: 1220-1231 (2010); Turck, F. et al., "Regulation and identity of florigen: *Flowering Locus T* moves center stage," *Ann Rev Plant Biol* 59: 573-594 (2008); Blackman, BK et al., "The role of recently derived FT paralogs in sunflower domestication," *Curr Biol* 20: 629-635 (2010); Lifschitz, E. et al., "The tomato FT orthologs triggers systemic signals that regulate growth and flowering and substitute for diverse environmental stimuli," *PNAS* 103: 6398-6403 (2006); Trankner, C. et al., "Over-expression of an FT-homologous gene of apple induces early flowering in annual and perennial plants," *Planta* 232: 1309-1324 (2010); and Xiang, L. et al., "Functional analysis of Flowering Locus T orthologs from spring orchid (Cymbidium goeringii Rchb. f.) that regulates the vegetative to reproductive transition," *Plant Cell & Biochem* 58: 98-105 (2012), todo el contenido y las descripciones se incorporan aquí como referencia. Sin embargo, estudios previos con expresión de transgenes de FT usaron promotores constitutivos o específicos de tejidos que produjeron fenotipos muy severos, fenotipos autónomos (sistémicos) no celulares o fenotipos específicos de hojas autónomas con plantas o plántulas que florecen antes que los controles y terminan en etapas tempranas de desarrollo. Teniendo en cuenta estos hallazgos, la expresión ectópica de FT no se consideró generalmente como un enfoque viable para aumentar el rendimiento en las plantas induciendo flores o alterando el tiempo de floración.

Sin estar vinculado por la teoría, una señal florigénica temprana (por ejemplo, días cortos para la soya y otras plantas SD) puede desencadenar una transición vegetativa a reproductiva temprana en las plantas, pero también puede causar la terminación de un subconjunto de sus meristemos primarios. Sin embargo, al devolver esas plantas a

condiciones de crecimiento no inductoras (por ejemplo, días largos para plantas SD) después de la señal SD inicial, las reservas meristemáticas restantes de la planta pueden conservarse para permitir el crecimiento vegetativo continuo de la planta. Por lo tanto, un mayor número de flores productivas, vainas y/o semillas por nodo (y/o por planta) pueden desarrollarse durante la fase reproductiva extendida. Con la inducción floral temprana, también se puede crear una mayor superposición entre el desarrollo reproductivo y el crecimiento vegetativo de la planta, lo que puede promover o coincidir aún más con una duración reproductiva y/o floración extendida. Como se usa aquí, la "duración reproductiva" se refiere al tiempo desde el inicio de la floración hasta el final del desarrollo y/o llenado de la semilla/vaina, mientras que "la duración de la floración" o "duración de la floración" se refiere al tiempo desde la aparición de la primera flor abierta hasta que se cierre la última flor abierta. Al regresar a las condiciones de crecimiento no inductivo después de la inducción floral temprana, pueden disponerse de recursos más abundantes y dirigirse hacia la producción de un mayor número de flores, vainas y/o semillas por planta sincronizadas y exitosas (es decir, no abortantes) anteriores, a diferencia del desarrollo floral normal en plantas de día corto, que más tarde puede coincidir con la disminución de los recursos vegetales debido a la terminación del crecimiento meristemático y la maduración de la planta.

Sin embargo, como se menciona anteriormente, una señal de inducción floral (por ejemplo, condiciones tempranas de día corto) también puede causar la terminación anticipada de la planta además de la floración temprana. Por lo tanto, se propone que se necesite una dosis y cronometraje óptimos de la señal de inducción floral para maximizar el rendimiento equilibrando (i) la transición vegetativa a reproductiva temprana y/o la sincronización de la floración con la señal de inducción floral temprana (que conduce a un rendimiento potencial ganancias en cada nodo de la planta) contra (ii) terminación de crecimiento anterior (que conduce a plantas más pequeñas con menos entrenudos, menos ramificación y menos nodos y/o flores por planta). Las dosis más bajas de una señal floral de inducción pueden ser suficientes para inducir la floración mientras se disminuye o se minimiza la terminación anterior de la planta, de modo que se producen plantas más grandes con un mayor número de flores, vainas y/o semillas por nodo (y/o por planta). Por

otro lado, las dosis más altas de una señal de inducción floral pueden causar la terminación anticipada de la planta (además de la floración temprana) para producir plantas más pequeñas con un número relativamente menor de flores, vainas y/o semillas por planta debido al tamaño más pequeño de la planta con menos entrenudos y/o ramas por planta, a pesar de tener quizás un mayor número de flores, vainas y/o semillas por nodo (y/o por planta) en relación con las plantas de tipo silvestre o de control en condiciones normales de crecimiento. Como se indicó anteriormente, estos efectos de la expresión ectópica de FT también pueden incluir un mayor número de cápsulas, silicuas, frutos, nueces, tubérculos, etc., por nodo (y/o por planta), dependiendo de la especie de planta en particular.

El fenotipo de inducción de luz de "día corto" mencionado anteriormente en soya se usó para seleccionar genes que tenían expresión alterada en esas plantas a través del perfil transcripcional, lo que condujo a la identificación de un gen FT endógeno, *Gm.FT2a*, que tenía una expresión aumentada en respuesta al tratamiento de inducción de día corto. En consecuencia, se propone que la expresión de un transgén FT florigénico, tal como *Gm.FT2a*, se pueda usar como una señal de inducción floral para provocar la floración temprana y el aumento de las flores, vainas y/o semillas por nodo (y/o por planta) relativa a un tipo silvestre o planta de control que no tiene el transgén FT. De acuerdo con las modalidades de la presente invención, se puede usar un control apropiado del momento, la ubicación y la dosificación de la expresión de FT florigénica durante las etapas de desarrollo vegetativo para inducir la floración y producir plantas que tienen flores, vainas y/o semillas incrementadas por nodo con relación a un silvestre tipo o planta de control que no tiene el transgén FT. En lugar del tratamiento con luz eSDI, el FT se puede expresar a un bajo nivel en el meristemio vegetativo para proporcionar la señal de inducción floral temprana. En consecuencia, se seleccionó un promotor del gen Erecta (*pErecta o pEr*) con expresión meristémica más baja durante las etapas de desarrollo vegetativo para la prueba inicial con un transgén *Gm.FT2a*. Sin embargo, dado que estudios previos mostraron que la expresión de FT constitutiva producía plantas que tenían un fenotipo severo de terminación temprana, y además que el sitio de acción para FT producida periféricamente y translocada desde las hojas estaba en el meristemo, era

posible que la expresión meristemática directa de FT podría producir fenotipos aún más potentes y severos (y/o plantas no viables) en relación con la expresión constitutiva de FT.

Los efectos de la sobreexpresión de Gm.FT2a con el promotor *pErecta* se observaron inmediatamente en plantas de soya transformadas con R_0, que tenían un floración temprana, un rendimiento de semilla reducido (por ejemplo, solo unas 8 semillas/planta) y una terminación muy temprana, lo que sugiere que El equilibrio entre la inducción floral y la represión floral/crecimiento vegetativo fue fuertemente favorable a la floración y la terminación anticipada. Sin embargo, se recuperó suficiente semilla de R1 de estas plantas para permitir la modalidad de experimentos adicionales. Se propuso que el cultivo de semillas de soya R_1 bajo condiciones de fotoperiodo de día largo (floral represivo) en el invernadero podría retrasar los primeros fenotipos de floración y terminación observados en las plantas R_0. Dada la respuesta de dosificación teórica, se propuso además que las plantas segregantes FT2a homocigóticas, hemicigóticas y nulas de soya podrían probarse juntas en el invernadero para evaluar la respuesta de dosificación resultante de la sobreexpresión de FT. En estos experimentos (como se describe más adelante), se observó que las plantas segregadoras tenían diferentes fenotipos: las plantas nulas eran similares a las plantas de tipo silvestre en términos de arquitectura de planta y vainas por nodo (y por planta), mientras que las plantas homocigóticas terminaron temprano con un fenotipo enano severo (aunque posiblemente con un mayor número de vainas por nodo). Sin embargo, las plantas hemicigóticas fueron más grandes y más similares a las plantas nulas o de tipo silvestre, pero exhibieron el fenotipo de floración incrementada con un mayor número de vainas por nodo (y/o por planta). Estos hallazgos muestran que la etapa vegetativa y/o la expresión meristemática de un transgén FT florigénico pueden usarse para producir una planta de alto rendimiento (similar al tratamiento con eSDI) y que el efecto de la expresión de FT puede ser dependiente de la dosificación ya que las plantas de soya hemicigóticas el transgén FT2a bajo el control de un promotor meristemático débil mostró el fenotipo de alto rendimiento de las vainas incrementadas por nodo sin los fenotipos de terminación temprana más severa y corta altura de planta observados con plantas FT2a homocigóticas cuando crecieron bajo condiciones de día largo (vegetativo).

En consecuencia, la expresión de etapa vegetativa de un transgén FT en el nivel de

dosificación apropiado puede usarse para inducir la floración temprana y producir plantas que tienen flores aumentadas, cápsulas de vainas, silicuas, frutas, nueces, tubérculos y/o semillas por nodo con relación a un tipo silvestre o planta de control que no tiene el transgén FT. El nivel de dosificación apropiado de FT se puede lograr en base al promotor seleccionado para conducir la expresión del transgén FT. Se puede usar un nivel de expresión más débil o más bajo del transgén FT en el meristemo vegetativo para proporcionar la señal de inducción floral temprana mientras se mantiene o prolonga la duración del desarrollo reproductivo y/o floral y no se produce la terminación del desarrollo de la planta demasiado temprano. Nuevamente, el promotor del gen Erecta (*pErecta o pEr*) con baja expresión meristemática durante las etapas de desarrollo vegetativo se seleccionó para la prueba inicial con un transgén *Gm.FT2a* en plantas de soya. Como se describe más adelante, otros promotores con patrones y niveles de expresión similares en el meristemo vegetativo tuvieron efectos similares en las plantas de soya, como la floración temprana y/o las vainas incrementadas por nodo. Por separado o además de la selección del promotor para afectar el nivel de expresión del transgén, se pueden usar diferentes transgenes de FT de soya u otras especies, lo que puede reducir la "dosis" de la señal de FT temprana que se entrega al meristemo vegetativo dependiendo del nivel de actividad de la proteína FT transgénica en una célula vegetal. De hecho, varios transgenes de FT de soya y otras especies de plantas fueron probados y se demostró que tienen efectos variables en la floración y otros rasgos reproductivos cuando se expresan transgénicamente en plantas de soya.

Sin limitarse a la teoría, se propone además que un mayor número de vainas por nodo en las plantas de FT transgénicas puede resultar al menos en parte de un aumento en el número de inflorescencias y meristemos florales inducidos por los meristemos axilares y axilares de vástago vegetativo en cada uno de los nodos afectados, que puede dar lugar a un mayor número de flores y/o racimos florales liberados en esos nodos. Tal aumento en el número de meristemos florales inducidos en cada nodo de la planta en respuesta a la sobreexpresión de FT puede operar a través de uno o más mecanismos o vías, que pueden ser independientes del tiempo de floración y/o la duración reproductiva. Sin embargo, los cambios meristemáticos pueden ser microscópicos al principio y, por lo tanto,

no se observa que causen "floración temprana" en dicha etapa mediante una inspección visual simple, aunque los cambios reproductivos en el meristemo pueden haber comenzado a ocurrir. La expresión vegetativa temprana del FT puede causar que se formen más meristemos reproductivos y se desarrollen antes de lo normal en uno o más nodos de la planta transgénica. Estos meristemos reproductivos pueden permitir o provocar la formación de un mayor número de racimos florales y alargarse con flores en cada nodo. Sin estar limitado por la teoría, se teoriza además que la expresión posterior de FT durante las etapas reproductivas puede funcionar para reprimir el desarrollo floral adicional en cada nodo. Por lo tanto, las flores que se desarrollan más tarde dentro del respectivo racimo pueden terminar y, por lo tanto, más recursos de la planta pueden dirigirse a las flores en desarrollo y las estructuras reproductivas más tempranas dentro del racimo para producir de manera más efectiva vainas de tamaño completo. La señal de inducción floral temprana también puede causar que una mayor proporción del potencial de meristemo existente se vuelva reproductiva y experimente un desarrollo floral. En consecuencia, se puede producir una mayor sincronización del desarrollo floral con un mayor número de vainas maduras que se forman por nodo de la planta.

Sin embargo, como se mencionó anteriormente, la señal de inducción floral también causa una terminación previa del desarrollo de la planta además de la floración temprana. Aunque las plantas de soya que expresan varios transgenes de FT con un promotor de meristemo en estado vegetativo, como el promotor *pErecta*, tienen vainas incrementadas por nodo en el tallo principal de la planta, muchas de estas plantas FT transgénicas todavía muestran una altura y/o planta reducida ramificación, lo que lleva a menos nodos por planta, tallo principal y/o rama (s). Por lo tanto, aunque el nivel de expresión de FT en la planta puede controlarse mediante la selección de un promotor de estado vegetativo particular para mitigar los tipos de desarrollo y aumentar el rendimiento retrasando la terminación temprana, las plantas de soya transgénicas que expresan FT pueden tener un número reducido de nodos de floración por planta, lo que puede disminuir el rendimiento general de la planta, a pesar del aumento del número de vainas por nodo existente en el tallo principal.

Por lo tanto, se propone actualmente que, a pesar del aumento de vainas por nodo

observado en plantas de soya con expresión de FT en etapa vegetativa, el nivel de expresión de transgenes FT puede necesitar ser más atenuado, controlado o limitado para mitigar estos fenotipos de terminación temprana y lograr un rendimiento más óptimo. Si se puede mantener el número incrementado de vainas (u otras estructuras botánicas, tales como cápsulas, silicuas, frutas, nueces, tubérculos, etc.) por nodo de la planta mientras se aumenta la cantidad de nodos por planta, por ejemplo, evitando o demorando terminación temprana, entonces el rendimiento general de la planta puede optimizarse o mejorarse aún más.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, se propone actualmente que el rendimiento de la planta se puede aumentar o mejorar atenuando o modificando el nivel y/o el momento de la expresión del transgén FT a través de la supresión. Como se describe más adelante, la cantidad y/o el patrón espacio-temporal del FT transgénico puede reducirse y/o refinarse a través de moléculas de ARN creadas artificialmente y/o artificialmente que se dirigen al FT transgénico para la supresión. Se teoriza que mientras la expresión de FT transgénica en meristemos axilares y apicales puede iniciar su transición a meristemos florales, la expresión continuada de FT, como durante las etapas reproductivas del desarrollo, puede causar la terminación temprana de los meristemos y un retraso en el crecimiento de la altura y ramificación de la planta en general. Aunque un promotor de etapa vegetativa para expresar el transgén FT puede seleccionarse y usarse para disminuir el fenotipo de terminación temprana y mantener o prolongar el crecimiento vegetativo y la duración reproductiva de la planta, la supresión adicional del transgén FT puede mitigar aún más el fenotipo de terminación temprana y mejorar o incrementar el crecimiento, desarrollo y duración reproductiva de la planta. De hecho, los presentes inventores han observado que la supresión del transgén FT en la soya puede dar como resultado una altura y ramificación de planta más normal con un mayor número de nodos por planta, en relación con la expresión de FT transgénica sola (es decir, sin supresión). Estas plantas de soya con la expresión/supresión combinada del transgén FT todavía mantienen un mayor número de vainas por nodo mientras mitigan aún más el fenotipo de terminación anterior con expresión de FT transgénica solo.

La supresión de un transgén FT se puede lograr de diferentes maneras. De acuerdo con

un primer enfoque, el transgén FT de un primer casete de expresión puede ser suprimido por un segundo casete de expresión que codifica una molécula de ARN que apunta al transgén FT para la supresión. La molécula de ARN puede codificarse mediante una secuencia de ADN transcribible unida operativamente a un promotor expresable en plantas, en donde la secuencia de ADN transcribible comprende una secuencia de dirección que corresponde a al menos una porción del transgén FT y/o a una secuencia complementaria de la misma. De acuerdo con un segundo enfoque, un transgén FT puede codificar un sitio objetivo para una molécula de ARN endógeno, en donde el sitio objetivo es complementario a la molécula de ARN endógeno, de modo que la molécula de ARN endógeno se dirige al transgén FT para la supresión. La molécula de ARN endógeno puede estar ocurriendo naturalmente en la célula de la planta en la que se expresa el transgén FT. De acuerdo con este enfoque, puede que no sea necesario un segundo casete de expresión para la supresión. Ambos enfoques de supresión también pueden usarse juntos. Por ejemplo, un transgén FT puede estar presente en un primer casete de expresión y usarse en combinación con un segundo casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que comprende una secuencia de dirección que corresponde a al menos una porción del transgén FT (y/o una secuencia complementaria de la misma) (es decir, un primer sitio objetivo), de modo que la molécula de ARN se dirija al transgén FT para su supresión, y en donde el transgén FT comprende además un segundo sitio objetivo para una molécula de ARN endógeno que también apunta al transgén FT para supresión. El primer y el segundo sitios objetivo pueden ser iguales o diferentes en secuencia y pueden estar presentes en la misma o diferentes ubicaciones dentro del transcrito de FT. De acuerdo con se usa en el presente documento, una primera secuencia o molécula de polinucleótido "corresponde" a una segunda secuencia o molécula de polinucleótido si la primera secuencia o molécula es similar, idéntica y/o complementaria a la segunda secuencia o molécula, tal como mayor que 30%, mayor que 40%, más del 50%, más del 60%, más del 70%, más del 80%, más del 90%, más del 95% o el 100% idéntica y/o complementaria.

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona un constructor, vector o molécula de ADN recombinante que comprende al menos dos casetes de

expresión que incluyen un primer casete de expresión y un segundo casete de expresión, en donde el primer casete de expresión comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT (es decir, un transgén FT) unido de forma operativa a un primer promotor de expresión de planta y en donde el segundo casete de expresión comprende una secuencia de ADN transcribible unida de forma operativa a un segundo promotor de expresión de planta, en donde la secuencia de ADN transcribible comprende una secuencia que corresponde al menos a una parte del transgén FT. La secuencia de ADN transcribible puede codificar una molécula de ARN que comprenda una secuencia diana complementaria a al menos una parte del pre-ARNm o ARNm maduro codificado por la secuencia de polinucleótidos que codifica la proteína FT (es decir, el transgén FT) del primer casete de expresión, de modo que la molécula de ARN funcione para suprimir el transgén FT. La "secuencia diana" de la molécula de ARN codificada por la secuencia de ADN transcribible puede comprender una parte o toda la molécula de ARN y es codificada por la secuencia de la secuencia de ADN transcribible que corresponde a al menos una parte del transgén FT y/o a una secuencia complementaria en este. Por lo tanto, una secuencia de ADN transcribible puede codificar una molécula de ARN que comprenda una secuencia diana complementaria a al menos una parte de una transcripción de ARNm de un transgén FT. En función del transgén FT y/o secuencia diana en particular de la molécula de ARN codificada por la secuencia de ADN transcribible, también se puede suprimir un gen FT endógeno mediante el segundo casete de expresión además del transgén FT, o se puede suprimir un gen FT endógeno mediante el segundo casete de expresión en lugar del transgén FT. Varios de los genes FT y secuencias de proteína pueden ser idénticos o similares a uno o más genes FT endógenos o naturales en una planta que se transforma y, por lo tanto, pueden constituir la base para diseñar las moléculas de ARN y las secuencias diana para la supresión de esos genes endógenos y naturales. Ya sea que una secuencia de ADN transcribible codifique una molécula de ARN que se dirija y suprima un transgén FT, un gen FT endógeno, o ambos, el nivel de expresión total y la actividad de los genes y transgenes FT pueden controlarse, limitarse o reducirse en uno o más tejidos de una planta transgénica. En un aspecto, una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia diana es capaz de hibridarse a una secuencia de ácido nucléico complementaria (por ejemplo, un sitio diana) para formar un

ácido nucleico de cadena doble (por ejemplo, ADNcd). En un aspecto, la hibridación de una secuencia diana de una primera molécula de ácido nucleico (por ejemplo, una supresión de molécula de ARN) a una secuencia de sitio diana de una segunda molécula de ácido nucleico (por ejemplo, una transcripción de ARNm de un transgén FT) puede conducir a la supresión de la segunda molécula de ácido nucléico. Por ejemplo, si la secuencia de polinucleótidos del transgén FT es natural a la planta en la que se expresa (o se encuentra estrechamente relacionada), entonces la molécula de ARN puede dirigirse adicionalmente al correspondiente gen FT nativo para suprimirlo, especialmente si la molécula de ARN se dirige a una secuencia codificante (exón) del transgén FT. En dichos casos, la supresión combinada de los genes FT naturales y transgénicos mediante la molécula de ARN codificada por la secuencia de ADN transcribible puede reducir adicionalmente la dosificación de la proteína FT en los tejidos pertinentes de la planta. Sin embargo, incluso con la expresión transgénica de un gen FT natural, las secuencias no codificantes de proteínas, tales como secuencias intrones, líderes, 5' UTR y/o 3' UTR, pueden variarse sin afectar la secuencia de la proteína FT codificada. Tal como se usa en la presente, una "secuencia de codificación de polinucleótido" o "secuencia de polinucleótido" de un transgén puede comprender no solamente las secuencias codificantes de proteínas (o exones), sino que también cualquier otra secuencia transcribible asociada a la secuencia codificante del transgén que pueda formar parte de la secuencia codificada de pre-ARNm o ARNm maduro, tales como las secuencias intrones, líderes, 5' UTR y/o 3' UTR. Por lo tanto, tal como se usa en la presente, una "secuencia de codificación de polinucleótido" de un transgén FT y una "secuencia de polinucleótido" que codifica una proteína FT pueden utilizarse indistintamente.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, el primer casete de expresión y el segundo casete de expresión pueden estar presentes en la misma molécula, vector o constructo de ADN recombinante, o el primer casete de expresión y el segundo casete de expresión pueden estar presentes en moléculas recombinantes separados, vectores y/o constructos de ADN. Por lo tanto, de acuerdo con algunas modalidades, se pueden proporcionar dos moléculas, vectores o constructos de ADN recombinante que comprenden una primera molécula, vector o constructo de ADN recombinante y una

segunda molécula, vector o constructo de ADN recombinante, en donde la primera molécula, vector o constructo de ADN recombinante comprende una primera casete de expresión que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT (es decir, un transgén FT) unida operativamente a un primer promotor expresable de la planta, y en donde la segunda molécula, vector o constructo de ADN recombinante comprende una segunda casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcribible operativamente unida a un segundo promotor expresable en plantas, en donde la secuencia de ADN transcribible corresponde a al menos una porción del transgén FT, y/o a una secuencia complementaria de la misma. La secuencia de ADN transcripta puede codificar una molécula de ARN que comprende una secuencia de dirección que es complementaria a al menos una porción del pre-ARNm o ARNm maduro codificado por el transgén FT del primer casete de expresión, de modo que la molécula de ARN funciona para suprimir el transgén FT.

Una molécula, vector o constructo de ADN recombinante que comprende un transgén FT como se proporciona aquí puede usarse en la transformación de la planta para generar una planta transgénica que comprende el transgén FT. De acuerdo con algunas modalidades, el transgén FT puede estar presente en un primer casete de expresión y usarse en combinación con un segundo casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que comprende una secuencia de dirección que corresponde a al menos una porción del transgén FT y/o una secuencia complementaria de la misma, en la que tanto la primera como la segunda casetes de expresión se transforman en una planta como el(los) mismo(s) evento(s) de transformación. De acuerdo con algunas modalidades, un transgén FT transformado en una planta puede comprender un sitio objetivo para una molécula de ARN endógeno que puede dirigir y activar la supresión del transgén FT.

La secuencia de codificación de polinucleótido de un transgén FT puede incluir *Gm.FT2a* (SEQ ID NO: 1) o cualquier secuencia de polinucleótido que codifique la proteína Gm.FT2a (SEQ ID NO: 2). La secuencia de codificación de polinucleótido de un transgén FT también puede corresponder a otros genes FT en la soja u otras plantas. Por ejemplo, otras secuencias de codificación de polinucleótido de la soja que puede utilizarse como un

transgén FT de acuerdo con las presentes modalidades incluyen: *Gm.FT5a* (SEQ ID NO: 3) o una secuencia de polinucleótido que codifique una proteína Gm.FT5a (SEQ ID NO: 4), o *Gm.FT2b* (SEQ ID NO: 5) o una secuencia de polinucleótido que codifique una proteína Gm.FT2b (SEQ ID NO: 6). Además, los ejemplos de las secuencias de codificación de polinucleótido de otras especies vegetales que pueden utilizarse incluyen: *Zm.ZCN8* (SEQ ID NO: 7) del maíz o una secuencia de polinucleótido que codifique la proteína Zm.ZCN8 (SEQ ID NO: 8), *similar a Nt.FT o Nt.FT4* (SEQ ID NO: 9) del tabaco o una secuencia de polinucleótido que codifique la proteína similar a Nt.FT o Nt.FT4 (SEQ ID NO: 10), *Le.FT o SFT* (SEQ ID NO: 11) del tomate o una secuencia de polinucleótido que codifique la proteína Le.FT o SFT (SEQ ID NO: 12), *At.FT* (SEQ ID NO: 13) de *Arabidopsis* o una secuencia de polinucleótido que codifique la proteína At.FT (SEQ ID NO: 14), *At.TSF* (SEQ ID NO: 15) de *Arabidopsis* o una secuencia de polinucleótido que codifique la proteína At.TSF (SEQ ID NO: 16), *Os.HD3a* (SEQ ID NO: 17) del arroz o una secuencia de polinucleótido que codifique la proteína Os.HD3a (SEQ ID NO: 18), o *Pt.FT* (SEQ ID NO: 19) de *Populustrichocarpa* o una secuencia de polinucleótido que codifique la proteína Pt.FT (SEQ ID NO: 20). Otros ejemplos de las secuencias de codificación de polinucleótido para las proteínas y transgenes FT que también pueden utilizarse incluyen los siguientes: *Gm.FT5b* (SEQ ID NO: 21) de la soja o cualquier secuencia de polinucleótido que codifique la proteína Gm.FT5b (SEQ ID NO: 22); *Gh.FT1* (SEQ ID NO: 23) del algodón o cualquier secuencia de polinucleótido que codifique la proteína Gh.FT1 (SEQ ID NO: 24); *Bn.FTA2a* (SEQ ID NO: 25) de la canola o cualquier secuencia de polinucleótido que codifique la proteína Bn.FTA2a (SEQ ID NO: 26); *Ta.FT3B1* (SEQ ID NO: 27) del trigo o cualquier secuencia de polinucleótido que codifique la proteína Ta.FT3B1 (SEQ ID NO: 28); o *Ps.FTa1* (SEQ ID NO: 29) del guisante o cualquier secuencia de polinucleótido que codifique la proteína Ps.FTa1 (SEQ ID NO: 30). También pueden utilizarse secuencias de codificación de polinucleótido para los transgenes FT que codifican otras proteínas FT de otras especias con secuencias de aminoácidos conocidas de acuerdo con las modalidades de la presente invención, las cuales pueden incluir, por ejemplo, las siguientes: Md.FT1 y Md.FT2 de la manzana (*Malus domestica*); Hv.FT2 y Hv.FT3 de la cebada (*Hordeum vulgare*); Cs.FTL3 del crisantemo; Ls.FT de la lechuga (*Lactuca sativa*); Pn.FT1 y Pn.FT2 del álamo de Lombardía (*Populusnigra*); Pa.FT del

plátano de Londres (*Platanusacerifolia*); Dl.FT1 del longán (*Dimocarpuslongan*); Ps.FTa1, Ps.FTa2, Ps.FTb1, Ps.FTb2, y Ps.FTc del guisante (*Pisumsativum*); Ac.FT de la piña (*Ananascomosus*); Cm-FTL1 y Cm-FTL2 de la calabaza (*Cucurbita maxima*); Ro.FT de la rosa; Cg.FT from orquídea de primavera (*Cymbidium*); Fv.FT1 de la fresa (*Fragariavesca*); Bv.FT2 de la remolacha azucarera (*Beta Vulgaris*); Ha.FT4 del girasol (*Helianthus annuus*); y Ta.FT o TaFT1 del trigo (*Triticumaestivum*), y secuencias que sean al menos 60 % idénticas, al menos 65 % idénticas, al menos 70 % idénticas, al menos 75 % idénticas, al menos 80 % idénticas, al menos 85 % idénticas, o al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o al menos 99 % idénticas a una o más de las secuencias de proteína y/o polinucleótido conocidas. Ver, por ejemplo, Wickland, DP et ál., "The *Flowering Locus T/Terminal Flower 1* Gene Family: Functional Evolution and Molecular Mechanisms", *Molecular Plant* 8: 983-997, 2015), cuyo contenido y descripción se incorporan a la presente mediante referencia.

A menos que se establezca de otro modo, las secuencias de ácido nucleico o polinucleótido descritas aquí se proporcionan (de izquierda a derecha) en la dirección 5' a 3', y las secuencias de aminoácidos o proteínas se proporcionan (izquierda a derecha) en el N-término a la dirección C-término. También se pueden usar genes FT y proteínas descubiertos o descubiertos más tarde de estas u otras especies de acuerdo con modalidades de la presente invención. Estos genes FT pueden ser conocidos o inferidos a partir de sus secuencias de nucleótidos y/o proteínas, que pueden determinarse mediante inspección visual o mediante el uso de una herramienta de búsqueda e identificación basada en computadora o software (y base de datos) basada en un algoritmo de comparación con FT conocida secuencias, dominios estructurales, etc., y de acuerdo con cualquier técnica de alineación de secuencia conocida, como BLAST, FASTA, etc.

De acuerdo con modalidades de la presente invención, un transgén FT de un constructo, vector o molécula de ADN recombinante puede comprender una secuencia de polinucleótidos que (cuando se encuentra alineada de manera óptima) sea la menos 60 % idéntica, al menos 65 % idéntica, al menos 70 % idéntica, al menos 75 % idéntica, al menos 80 % idéntica, al menos 85 % idéntica o al menos 90 % idéntica, al menos 91 %

idéntica, al menos 92 % idéntica, al menos 93 % idéntica, al menos 94 % idéntica, al menos 95 % idéntica, al menos 96 % idéntica, al menos 97 % idéntica, al menos 98 % idéntica, al menos 99 % idéntica o 100 % idéntica a una o más de las secuencias de codificación de polinucleótido de FT que se enumeran anteriormente (por ejemplo, SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27 o 29) o a cualquier otra secuencia de codificación florigénica de FT conocida. Los porcentajes de identidad de secuencia entre las secuencias de polinucleótido de las secuencias de codificación de longitud completa enumeradas anteriormente de los genes FT se presentan en la Figura 1A. Cada celda en la tabla en la Figura 1A muestra el porcentaje de identidad del gen FT en la fila correspondiente (secuencia de consulta) en comparación con el gen FT en la columna correspondiente (secuencia sujeto) dividido por la longitud total de la secuencia de consulta y el número en paréntesis es la cantidad total de bases idénticas entre las secuencias de consulta y sujeto. Tal como se muestra en esta figura, los porcentajes de identidad entre las secuencias de polinucleótidos para estos genes FT muestreados oscilan entre aproximadamente 60 % a aproximadamente 90 % de identidad. Por lo tanto, se puede utilizar una secuencia de polinucleótido que se encuentre en uno o más de estos intervalos de identidad de secuencia o tenga una mayor identidad de secuencia de acuerdo con las modalidades de la presente invención para inducir el florecimiento, aumentar el rendimiento y/o alterar uno o más rasgos reproductivos de una planta. Se pueden diseñar o elegirse secuencias de codificación de polinucleótido similares para FT en función de secuencias de proteína FT conocidas, dominios y residuos de aminoácidos conservados, la degeneración del código genético y toda optimización por codones conocida para transformar la especie vegetal en particular.

De acuerdo con modalidades de la presente invención, un transgén FT de una secuencia de polinucleótidos que codifique un aminoácido o una secuencia de proteína que (cuando se encuentra alineada de manera óptima) sea la menos 60 % idéntica, al menos 65 % idéntica, al menos 70 % idéntica, al menos 75 % idéntica, al menos 80 % idéntica, al menos 85 % idéntica o al menos 90 % idéntica, al menos 91 % idéntica, al menos 92 % idéntica, al menos 93 % idéntica, al menos 94 % idéntica, al menos 95 % idéntica, al menos 96 % idéntica, al menos 97 % idéntica, al menos 98 % idéntica, al menos 99 %

idéntica o 100 % idéntica a una o más de las secuencias de aminoácidos o de proteína FT que se enumeran anteriormente (por ejemplo, SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 o 30) o a cualquier otra secuencia florigénica de proteína FT conocida, o un fragmento funcional de esta. Dicho “fragmento funcional” se define como una proteína con una secuencia de polipéptido idéntica o extremadamente similar a una proteína FT de longitud completa, pero sin uno o más residuos, partes de aminoácidos, dominios de proteína, etc., de la proteína FT de longitud completa, siempre y cuando el fragmento se mantenga activo con uno o varios de los efectos o cambios fenotípicos similares a la proteína de longitud completa cuando se expresa de manera transgénica en una planta. Los porcentajes de identidad de secuencia entre las proteínas FT de longitud completa enumeradas anteriormente se presentan en la Figura 1B. Los porcentajes se calculan tal como se describió anteriormente con referencia a la Figura 1A en función de la cantidad de residuos idénticos de aminoácidos (en paréntesis) entre las secuencias de proteína FT de consulta y sujeto. También se muestra la alineación de múltiples secuencias de estas proteínas FT en la Figura 1C. Tal como se puede observar en estas figuras, los porcentajes de identidad entre las secuencias de proteína para estos genes FT oscilan entre aproximadamente 60 % a aproximadamente 90 % de identidad. Por lo tanto, se puede utilizar una secuencia de polinucleótido que codifique una secuencia de proteína o aminoácidos que se encuentre en uno o más de estos intervalos de identidad de secuencia o tenga una mayor identidad de secuencia de acuerdo con las modalidades de la presente invención para inducir el florecimiento, aumentar el rendimiento de semilla y/o alterar uno o más rasgos reproductivos de una planta. Estas secuencias de proteína FT codificadas por una secuencia de polinucleótido de la presente invención pueden diseñarse o elegirse en función de secuencias de proteínas FT conocinas y sus dominios y residuos de aminoácidos conservados.

Como se describe a continuación, un transgén FT que comprende una cualquiera de las secuencias codificantes anteriores puede incluir además uno o más elementos de expresión y/o regulador, tales como intensificadores, promotores, líderes, intrónes, etc., y un transgén FT puede comprender una secuencia genómica que codifica una proteína FT o una secuencia de aminoácidos, o un fragmento o parte del mismo.

Tal como se usa aquí, el término "identidad de secuencia" o "identidad porcentual" se refiere a la medida en que dos secuencias de ADN o proteína alineadas de manera óptima son idénticas. Se conocen en la técnica diversos algoritmos y programas de alineamiento de secuencias múltiples o múltiples, que pueden usarse para comparar la identidad o similitud de secuencia entre dos o más secuencias, tal como entre dos o más genes de FT o secuencias de proteínas o un gen FT (nucleótido) o secuencia de proteínas y otra secuencia de nucleótidos o proteínas. Por ejemplo, la identidad porcentual de una secuencia (consulta) a otra secuencia (sujeto) se puede calcular como se describió anteriormente en referencia a las Figuras 1A y 1B (es decir, con las secuencias óptimamente alineadas, dividen el número de bases o residuos idénticos por el número total de bases o residuos para la secuencia de consulta, y multiplíquense por 100%). Aunque se conocen otros métodos de alineación y comparación en la técnica, la alineación y la identidad porcentual entre dos secuencias (que incluyen los intervalos de identidad porcentual descritos anteriormente) pueden ser determinados por el algoritmo ClustalW, véase, por ejemplo, Chenna R. et al., “Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs,” *Nucleic Acids Research* 31: 3497-3500 (2003); Thompson JD et al., “Clustal W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice,” *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680 (1994); and Larkin MA et al., “Clustal W and Clustal X version 2.0,” *Bioinformatics* 23: 2947-48 (2007), cuyos contenidos y descripciones completos se incorporan aquí como referencia. Para fines de la presente invención, cuando dos secuencias están alineadas de manera óptima (con margen para espacios en su alineación), el "porcentaje de identidad" para la secuencia de consulta se calcula como se describe anteriormente con referencia a las Figuras 1A y 1B, es decir, Porcentaje de identidad =(Número de posiciones idénticas entre la consulta y las secuencias del asunto/Cantidad total de posiciones en la secuencia de consulta) x 100%, con cada secuencia compuesta por una serie de posiciones (bases de nucleótidos o residuos de aminoácidos) . Las dos secuencias alineadas de manera óptima también pueden describirse como un cierto porcentaje idéntico. Una identidad porcentual puede describirse opcionalmente en su lugar en referencia a una ventana de comparación definida (por ejemplo, una ventana de alineación) entre las dos secuencias, en cuyo caso el número de

posiciones idénticas dentro de la ventana de comparación se divide por la longitud de nucleótido de la ventana de comparación y multiplicado por 100%. Una ventana de alineación puede definirse como la región de identidad, similitud o superposición entre las dos secuencias.

Se puede aislar un vector, constructo o molécula de proteína o polinucleótido recombinante. Tal como se usa en la presente, el término “aislado” se refiere a la separación al menos parcial de una molécula de otras moléculas asociadas típicamente con ella en su estado natural. En una modalidad, el término “aislado” se refiere a una molécula de ADN que está separada de los ácidos nucleicos que normalmente flanquean la molécula de ADN en su estado natural. Por ejemplo, una molécula de ADN que codifica una proteína que está presente naturalmente en una bacteria es una molécula de ADN aislada si no se encuentra dentro del ADN de la bacteria en la cual la molécula de ADN que codifica la proteína se encuentra naturalmente. Por lo tanto, una molécula de ADN fusionada o unida de manera operativa a una o más moléculas de ADN adicionales con las cuales no estaría asociada en la naturaleza, por ejemplo, como resultado de técnicas de transformación de plantas o ADN recombinante, se considera aislada en la presente. Dichas moléculas se consideran aisladas incluso cuando se encuentran integradas al cromosoma de una célula hospedadora o presentes en una solución de ácido nucleico con otras moléculas de ADN.

Una secuencia de proteína FT codificada por una secuencia polinucleotídica o transgén de la presente invención también puede diseñarse o elegirse para que tenga una o más sustituciones de aminoácidos que sean químicamente y/o estructuralmente conservadoras (por ejemplo, reemplazar un aminoácido ácido con otro que tiene propiedades químicas o físicas similares, tales como hidrofobia, polaridad, carga, efecto estérico, química de ácido/base, grupo de cadena lateral similar, tal como hidroxilo, sulfhidrilo, amino, etc.) para evitar o minimizar los cambios estructurales en el ácido proteína que podría afectar su función. Por ejemplo, la valina es a menudo un sustituto conservador de la alanina, y la treonina puede ser un sustituto conservador de la serina. Ejemplos adicionales de sustituciones conservativas de aminoácidos en proteínas incluyen: valina/leucina, valina/isoleucina, fenilalanina/tirosina, lisina/arginina, ácido aspártico/ácido glutámico y

asparagina/glutamina. Una secuencia de proteína FT codificada por una secuencia polinucleotídica o transgén de la presente invención también puede incluir proteínas que difieren en uno o más aminoácidos de los de una proteína FT conocida o secuencia similar como resultado de supresión(es) y/o inserción(es) que involucra(n) uno o más aminoácidos.

Se pueden identificar diversos genes FT y proteínas de diferentes especies de plantas y se consideran homólogos de FT u ortólogos para usar en la presente invención si tienen una secuencia de proteína y/o ácido nucleico similar y comparten aminoácidos conservados y/o dominio(s) estructural(es) con al menos un gen o proteína conocido de FT. Como se usa aquí, el término "homólogo" en referencia a un gen o proteína FT pretende incluir colectivamente cualquier homólogo, análogo, ortólogo, parálogo, etc., del gen o proteína FT, y el término "homólogo" en referencia a se pretende que las secuencias de polinucleótidos o proteínas signifiquen secuencias similares o idénticas que incluyen secuencias de proteínas o polinucleótidos sintéticas, artificiales o manipuladas. Dicho homólogo FT también puede definirse como que tiene la misma o similar función biológica que los genes FT conocidos (por ejemplo, que actúan para influir de manera similar en la floración y/u otros rasgos o fenotipos reproductivos o relacionados con el rendimiento cuando se expresan ectópicamente en una planta).

El análisis de secuencia y la alineación de las secuencias de proteínas FT de diferentes especies de plantas revelan además una cantidad de residuos de aminoácidos conservados y al menos un dominio estructural conservado. Al someter las diversas secuencias de proteínas de FT alineadas (véase, por ejemplo, las Figuras 1B y 1C) a una herramienta de identificación de dominio de proteínas usando una base de datos Pfam (por ejemplo, Pfam versión 26.0, lanzada en noviembre de 2011 o versión posterior), estas proteínas FT han sido se descubrió que contenía y compartía al menos una porción de un supuesto dominio de proteína de unión a fosfatidil etanolamina (PEBP) (nombre de dominio Pfam: PBP_N; número de acceso: PF01161). Véase, por ejemplo, Banfield, MJ et al., “The structure of *Antirrhinum* centroradialis protein (CEN) suggests a role as a kinase inhibitor,” *Journal of Mol Biol.*, 297(5): 1159-1170 (2000), la totalidad contenidos y descripción de los cuales se incorporan aquí como referencia. Se encontró que este

dominio de PEBP se correspondía, por ejemplo, con los aminoácidos 28 a 162 de la proteína Gm.FT2a de longitud completa (véase el cuadro 5 a continuación). Por lo tanto, las proteínas FT abarcadas por modalidades de la presente invención pueden incluir las identificadas o caracterizadas por tener o contener al menos un dominio PEBP (número de acceso: PF01161) de acuerdo con el análisis de Pfam. Por consiguiente, la presente invención puede incluir además una secuencia o secuencias de polinucleótidos que codifican una proteína FT que tiene al menos un dominio PEBP. Como se conoce en la técnica, la base de datos "Pfam" es una gran colección de alineamientos de secuencias múltiples y modelos ocultos de Markov que cubren muchas familias de proteínas comunes y que contienen información sobre varias familias de proteínas y su(s) estructura(s) de dominio. Al identificar un(os) dominio(s) estructural(es) Pfam putativo para una secuencia de proteína dada, se puede inferir o determinar la clasificación y función de la proteína. Véase, por ejemplo, Finn, RD et al., “The Pfam protein families database,” *Nucleic Acids Research (Database Issue)*, 42:D222-D230 (2014), todo el contenido y descripción se incorporan aquí como referencia.

Las modalidades de la presente invención pueden incluir además secuencias de polinucleótidos que codifican proteínas de FT inductivas o florigénicas. Una proteína FT codificada por una secuencia de polinucleótidos puede ser "inductiva" o "florigénica" si la proteína FT, cuando se expresa ectópicamente en una planta, puede causar una floración temprana y/o una prolificidad incrementada en el número de flores, vainas, cápsulas, silicuas, frutas, nueces, tubérculos y/o semillas por uno o más nodos de la planta. Sin estar limitado por la teoría, tal aumento de la prolificidad en el número de flores, vainas, cápsulas, silicuas, frutos, nueces, tubérculos y/o semillas por nodo(s) de la planta puede resultar de un aumento en el número de meristemos en aquellos nodos que experimentan una transición vegetativa a reproductiva y producen flores. Tal proliferación incrementada en cada nodo debido a la expresión ectópica de un FT "florigénico" puede deberse a una sincronización incrementada de la liberación y al desarrollo floral de los primeros racimos y meristemos laterales en cada nodo. Aunque una proteína FT "florigénica" puede funcionar para inducir una floración temprana cuando se expresa ectópicamente en una planta, una proteína FT "florigénica" expresada transgénicamente puede aumentar la cantidad de

flores, vainas, cápsulas, silicuas, frutas, nueces, tubérculos y/o semillas por nodo(s) de una planta a través de una o más vías o mecanismos que son independientes de, o además de, cualquier efecto florígeno relacionado con el tiempo de floración y/o la duración reproductiva.

Los genes tipo FT florigénicos de varias especies de plantas están generalmente bien conservados. Sin embargo, muchas proteínas en la familia PEBP tienen secuencias de aminoácidos que son sustancialmente similares a las proteínas FT florigénicas, pero no se comportan como florígenas. Por ejemplo, los genes de la flor terminal (TFL) de varias especies de plantas tienen secuencias proteicas similares a los genes florigénicos de FT, pero en realidad retrasan la floración. Trabajos recientes han identificado residuos de aminoácidos específicos que generalmente no se comparten entre las proteínas FT florigénicas y otras proteínas de PEBP, como las TFL, y se ha demostrado que las sustituciones en muchas de estas posiciones convierten las proteínas FT florigénicas en proteínas represoras florales. Véase, por ejemplo, Ho and Weigel, *Plant Cell* 26: 552-564 (2014); Danilevskaya et al., *Plant Physiology* 146(1): 250-264 (2008); Harig et al., *Plant Journal* 72: 908-921 (2012); Hsu et al., *Plant Cell* 18: 1846-1861 (2006); Kojima et al., *Plant Cell Physiology* 43(10): 1096-1105 (2002); Kong et al., *Plant Physiology* 154: 1220-1231 (2010); Molinero-Rosales et al., *Planta* 218: 427-434 (2004); Zhai et al., *PLoS ONE*, 9(2): e89030 (2014), y Wickland DP et al. (2015), *supra*, todo el contenido y las descripciones se incorporan aquí como referencia. Por lo tanto, estos residuos de aminoácidos pueden servir como firmas para definir y distinguir aún más las proteínas FT florigénicas de la presente invención.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, una proteína FT "inductiva" o "florigénica" puede definirse o caracterizarse adicionalmente como que comprende uno o más de los siguientes residuos de aminoácidos (las posiciones de aminoácidos se refieren a los correspondientes u óptimos posiciones alineadas de la proteína FT de *Arabidopsis* de longitud completa, SEQ ID NO: 14): una prolina en la posición de aminoácido 21 (P21); una arginina o lisina en la posición de aminoácido 44 (R44 o K44); una glicina en la posición de aminoácido 57 (G57); un ácido glutámico o un ácido aspártico en la posición de aminoácido 59 (E59 o D59); una tirosina en la posición de aminoácido 85 (Y85); una

leucina en la posición de aminoácido 128 (L128); una glicina en la posición de aminoácido 129 (G129); una treonina en la posición de aminoácido 132 (T132); una alanina en la posición de aminoácido 135 (A135); un triptófano en la posición de aminoácido 138 (W138); un ácido glutámico o un ácido aspártico en la posición de aminoácido 146 (E146 o D146); y/o una cisteína en la posición de aminoácido 164 (C164). Las posiciones de aminoácidos correspondientes de otras proteínas FT se pueden determinar alineando con la secuencia de FT de *Arabidopsis* (véase, por ejemplo, Figura 1C). Un experto en la técnica sería capaz de identificar las posiciones de aminoácidos correspondientes de otras proteínas FT en función de su alineación de secuencias. Varios de estos residuos clave caen dentro de un dominio de bucle externo de proteínas similares a FT, definidas como los aminoácidos 128 a 145 de la secuencia FT de longitud completa de *Arabidopsis* (SEQ ID NO: 14) y las secuencias correspondientes de otras proteínas FT (véase, por ejemplo, Figura 1C). Por lo tanto, los polinucleótidos de la presente invención pueden codificar proteínas FT florigénicas que tienen uno o más de estos residuos de aminoácidos conservados.

Las proteínas FT florigénicas de la presente invención también pueden tener uno o más otros aminoácidos en una o más de las posiciones de residuos identificadas anteriormente. Por ejemplo, en referencia a las posiciones de aminoácidos anteriores de la secuencia de proteínas de *Arabidopsis* FT (At.FT) (SEQ ID NO: 14), una proteína FT florigénica puede tener alternativamente uno o más de los siguientes aminoácidos: una alanina (en lugar de la prolina) en la posición correspondiente a la posición 21 de la secuencia de la proteína At.FT (P21A), o posiblemente a otros residuos pequeños, no polares, tales como glicina o valina, en esta posición; una histidina (en lugar de lisina o arginina) en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 44 de la secuencia de la proteína At.FT, o posiblemente otros aminoácidos polares en esta posición; una alanina o cisteína (en lugar de glicina) en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 57 de la secuencia de la proteína At.FT, o posiblemente a otros residuos pequeños, no polares, tales como prolina o valina, en esta posición; una asparagina o serina (en lugar de ácido glutámico o ácido aspártico) en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 59 de la secuencia de la proteína At.FT, o posiblemente a otros residuos

pequeños, polares, tales como glutamina, cisteína o treonina, en este posición; una variedad de residuos no cargados polares y no polares (distintos de la tirosina) en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 85 de la secuencia de la proteína At.FT; un residuo no cargado no polar o hidrófobo no cargado (que no sea leucina), tal como isoleucina, valina o metionina, en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 128 de la secuencia de la proteína At.FT; una variedad de residuos no polares y no cargados más pequeños (que no sean glicina), tal como alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, etc., en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 129 de la secuencia de la proteína At.FT, aunque algunos residuos polares y cargados pueden ser tolerados en esta posición; un residuo polar no cargado (que no sea treonina) en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 132 de la secuencia de la proteína At.FT; una variedad de aminoácidos distintos de la prolina, como la treonina, en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 135 de la secuencia de la proteína At.FT; una variedad de otros aminoácidos voluminosos no polares o hidrofóbicos (en lugar de triptófano), tales como metionina o fenilalanina, en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 138 de la secuencia de la proteína At.FT; una variedad de otros aminoácidos polares o no cargados positivamente, tales como asparagina o serina, en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 146 de la secuencia de la proteína At.FT; y/o una variedad de otros aminoácidos polares o no polares (en lugar de cisteína, tal como isoleucina, en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 164 de la secuencia de la proteína At.FT. Un experto en la técnica podría identificar las correspondientes posiciones de aminoácidos y sustituciones de proteínas FT en función de su secuencia de alineación con la secuencia de la proteína FT de *Arabidopsis*. Además, otras sustituciones de aminoácidos químicamente conservadoras también se contemplan dentro del alcance de proteínas FT florigénicas basadas en el conocimiento de un experto en la técnica de En consecuencia, los polinucleótidos de la presente invención pueden codificar adicionalmente proteínas FT florigénicas que tienen una o más sustituciones de aminoácidos conservativas. De hecho, las proteínas FT florigénicas codificadas por polinucleótidos de la presente invención incluyen secuencias nativas y secuencias artificiales que contienen uno o más aminoácidos conservativos sustituciones, así como fragmentos funcionales de las mismas.

Las proteínas FT florigénicas de la presente invención también pueden definirse como excluyentes (es decir, que no tienen) una o más sustituciones de aminoácidos que pueden ser características de, o asociadas con, TFL u otras proteínas no florigénicas o anti-florigénicas. Por ejemplo, en referencia a las posiciones de aminoácidos de la secuencia de la proteína FT de *Arabidopsis* (SEQ ID NO: 14), una proteína FT florigénica puede excluir uno o más de los siguientes aminoácidos (es decir, en posiciones correspondientes o óptimamente alineadas de la proteína florigénica Proteína FT): una fenilalanina o serina en la posición correspondiente a la posición 21 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de prolina o alanina); una fenilalanina en la posición correspondiente a la posición 44 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de arginina o lisina); una histidina, ácido glutámico o ácido aspártico en la posición correspondiente a la posición 57 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de la glicina); una glicina o alanina en la posición correspondiente a la posición 59 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de ácido glutámico o ácido aspártico); una histidina en la posición correspondiente a la posición 85 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de la tirosina); una lisina, arginina, alanina o metionina en la posición correspondiente a la posición 109 de la secuencia de la proteína At.FT; una lisina o arginina en la posición correspondiente a la posición 128 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de la leucina); una glutamina o asparagina en la posición correspondiente a la posición 129 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de la glicina); una valina o cisteína en la posición correspondiente a la posición 132 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de la treonina); una lisina, arginina o alanina en la posición correspondiente a la posición 134 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de la tirosina); una prolina en la posición correspondiente a la posición 135 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de alanina o treonina); una serina, ácido aspártico, ácido glutámico, alanina, lisina o arginina en la posición correspondiente a la posición 138 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de triptófano o metionina); una lisina o arginina en la posición correspondiente a la posición 140 de la secuencia de la proteína At.FT; una lisina o arginina en la posición correspondiente a la posición 146 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de residuos polares ácidos o no cargados); una lisina o

arginina en la posición correspondiente a la posición 152 de la secuencia de la proteína At.FT; y/o una alanina en la posición correspondiente a la posición 164 de la secuencia de la proteína At.FT (por ejemplo, en lugar de cisteína o isoleucina). Un experto en la técnica sería capaz de identificar las posiciones de aminoácidos correspondientes y las sustituciones de otras proteínas FT en función de su alineación de secuencia. Por consiguiente, las modalidades de la presente invención pueden excluir polinucleótidos que codifican proteínas similares a FT que tienen una o más de las sustituciones de aminoácidos anteriores asociadas con TFL u otros anti-florígenos. Sin embargo, una proteína FT puede tolerar una o algunas de estas sustituciones de aminoácidos mientras se mantiene la actividad florigénica.

Una proteína FT florigénica de la presente invención también puede definirse como similar a una proteína FT conocida, además de tener uno o más de los residuos de aminoácidos conservados o distintivos. Por ejemplo, una proteína florigénica puede definirse con al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y 30, o un fragmento funcional de esta, además de uno o más de los siguientes residuos distintivos: una tirosina u otro residuo polar o no polar sin carga (por ejemplo, alanina, triptófano, metionina, leucina, treonina, cisteína, serina o asparagina) en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 85 de la secuencia de la proteína At.FT; una leucina u otro residuo hidrofóbico o no polar (por ejemplo, isoleucina, valina o metionina) en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 128 de la secuencia de la proteína At.FT; y/o tritófano u otro gran residuo hidrofóbico o no polar (por ejemplo, metionina o fenilalanina) en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 138 de la secuencia de proteína At.FT. Dicha proteína FT florigénica puede definirse adicionalmente con residuo/s de aminoácidos distintivo/s adicional/es, tales como uno o más de los siguientes: una glicina u otro residuo no polar y sin carga (por ejemplo, alanina, valina, leucina, isoleucina o metionina) en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 129 de la secuencia de proteína At.FT; y/o una

treonina en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 132 de la secuencia de proteína de At.FT.

Una proteína FT florigénica de la presente invención también puede definirse con al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y 30, o un fragmento funcional de esta, pero sin (es decir, excluyendo) uno o más residuos no florigénicos o antflorigénicos, tales como uno o más de los siguientes: una histidina en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 85 de la secuencia de proteína de At.FT; una lisina o arginina en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 128 de la secuencia de proteína At.FT; y/o una serina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina o arginina en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 138 de la secuencia de proteína At.FT. Dicha proteína FT florigénica puede definirse adicionalmente sin (es decir, excluyendo) uno o más residuos adicionales, tales como uno o más de los siguientes: una glutamina o asparagina en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 129 de la secuencia de proteína At.FT; y/o una valina o cisteína en la posición de aminoácido correspondiente a la posición 132 de la secuencia de proteína de At.FT.

De acuerdo con modalidades de la presente invención, se proporciona una molécula, vector o constructo de ADN recombinante que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT que está operativamente unida a uno o más promotores y/u otro(s) elemento(s) regulador(es) que son operables en una celda de planta para controlar o influir en el momento y/o la ubicación de la expresión de FT cuando se transforman en una planta. De acuerdo con algunas modalidades, el transgén FT puede estar presente en un primer casete de expresión y usarse con un segundo casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcripcional que corresponde a al menos una porción del transgén FT, y/o a una secuencia complementaria a la misma, y codifica una molécula de ARN que se dirige al transgén FT para la supresión. De acuerdo con algunas modalidades, el transgén FT puede comprender un sitio objetivo para una

molécula de ARN endógeno que puede dirigir y activar la supresión del transgén FT.

Como se entiende comúnmente en la técnica, el término "promotor" puede referirse generalmente a una secuencia de ADN que contiene un sitio de unión a ARN polimerasa, un sitio de inicio de transcripción y/o una caja de TATA y provoca, inicia, dirige, asiste y/o promueve la transcripción y expresión de una secuencia y/o gen (o transgén) de polinucleótidos transcribibles asociados. Un promotor puede producirse sintéticamente, manipularse, variarse y/o derivarse de una secuencia promotora conocida u obtenida naturalmente u otra secuencia promotora (por ejemplo, tal como se proporciona aquí). Un promotor también puede incluir un promotor quimérico que comprende una combinación de dos o más secuencias heterólogas. Por lo tanto, un promotor de la presente invención puede incluir variantes de secuencias promotoras que son similares en composición, pero no idénticas a otras secuencias promotoras conocidas o proporcionadas aquí. Como se usa en el presente documento, el término "unido operativamente" se refiere a un enlace funcional entre un promotor u otro elemento regulador y una secuencia de codificación o secuencia polinucleotídica transcripcional asociada de un gen (o transgén), de modo que el promotor, etc., opere para iniciar, ayudar, afectar, provocar, dirigir y/o promover la transcripción y expresión de la secuencia de polinucleótidos codificante o transcribible asociada, al menos en particular tejido(s), etapa(s) de desarrollo y/o en ciertas condición(es). Un "promotor expresable en plantas" se refiere a un promotor que puede usarse para expresar en una planta, célula vegetal y/o tejido vegetal una secuencia de codificación, transgén o secuencia de polinucleótidos transcribible asociada que está operativamente unida al promotor.

Un promotor se puede clasificar de acuerdo con una variedad de criterios relativos al patrón de expresión de una secuencia de codificación o gen (incluso un transgén) unido de manera operativa al promotor, tal como constitutivo, para el desarrollo, específico de tejido, inducible, etc. Los promotores que inician la transcripción en la mayoría o todos los tejidos de la planta se refieren como promotores “constitutivo”. Los promotores que inician la transcripción durante determinados períodos o fases de desarrollo se refieren como promotores “para el desarrollo”. Los promotores cuya expresión mejora en determinados tejidos de la planta con respecto a otros tejidos vegetales se refieren como promotores

“mejorados en tejido” o “preferidos del tejido”. Por lo tanto, un promotor “preferido del tejido” causa una expresión relativamente mayor o preferencial en uno o varios tejidos específicos de la planta, pero con niveles menores de expresión en otro u otros tejidos de la planta. Los promotores que se expresan en uno o varios tejidos específicos de la planta, con poca expresión o sin expresión en otros tejidos vegetales, se refieren como promotores “específicos de tejido”. Un promotor que se expresa en un determinado tipo celular de la planta se refiere como un promotor “específico al tipo celular”. Un promotor “inducible” es un promotor que inicia la transcripción en respuesta a un estímulo ambiental tal como el frío, la sequía, el calor o la luz, u otro estímulo, tal como lesiones o aplicación química. Un promotor también se puede clasificar en términos de su origen, tal como heterólogo, homólogo, quimérico, sintético, etc. El término “heterólogo” en referencia a un promotor u otra secuencia regulatoria con respecto a una secuencia de polinucleótido asociada (por ejemplo, una secuencia de ADN transcribible, una secuencia de codificación, gen o transgén) es un promotor o secuencia regulatoria que no se encuentra unida de manera operativa a dicha secuencia de polinucleótido asociada en la naturaleza, por ejemplo, el promotor o secuencia regulatoria tiene un origen diferente con respecto a su secuencia de polinucleótido asociada y/o no se transforma de manera natural en una planta vegenta con el promotor o secuencia regulatoria. El término “heterólogo” incluye de manera amplia una combinación de dos o más secuencias o moléculas de ADN cuando dicha combinación no se encuentra comúnmente en la naturaleza. Tal como se usa en la presente, la frase “no se encuentra comúnmente en la naturaleza” significa que no se encuentra en la natural sin la introducción por parte del hombre. Por ejemplo, una o más secuencias o moléculas de ADN serán heterólogas entre sí si se encuentran comúnmente en diferentes genomas o diferentes loci en el mismo genoma, o si no se encuentran combinados de manera idéntica en la naturaleza. De acuerdo con diversas modalidades, un promotor de expresión vegetal unido de manera operativa a una secuencia de polinucleótido que codifica una proteína FT es heteróloga con respecto a la secuencia de polinucleótido que codifica la proteína FT.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, se proporciona una molécula, vector o constructo de ADN recombinante que comprende un transgén FT florigénico o

una secuencia codificante unida operativamente a un promotor que funciona en una planta, que se puede introducir o transformar en una planta para hacer que la planta tenga un rasgo o fenotipo alterado en la floración, reproductivo y/o relacionado con el rendimiento. Las modalidades de la presente invención proporcionan una molécula de ADN recombinante que comprende un transgén FT o una secuencia codificante unida operativamente a un promotor de "etapa vegetativa" para provocar, cuando se introduce o transforma en una planta, la expresión del transgén FT antes en el desarrollo de la planta es decir, durante la fase de crecimiento vegetativo de la planta) para producir un mayor nivel de FT en los tejidos objetivo de lo que de otro modo ocurriría en una planta de tipo silvestre en la misma etapa de desarrollo. La expresión temporal del transgén FT durante la(s) etapa(s) vegetativa(s) de desarrollo puede ser importante para afectar uno o más rasgos o fenotipos reproductivos, floración y/o relacionados con el rendimiento al proporcionar una señal inductiva oportuna para la producción de un mayor número de meristemos florales y flores exitosas en uno o más nodos de la planta. La expresión de la etapa vegetativa puede ser necesaria para desencadenar la floración temprana y permitir rasgos o fenotipos mejorados de reproducción, floración y/o rendimiento, como aumento de flores, vainas, etc., por nodo de la planta. Sin estar obligado por ninguna teoría, la expresión de la etapa vegetativa de un transgén FT en una planta puede operar para sincronizar y/o aumentar la floración temprana en uno o más nodos para producir más flores por nodo de la planta. Los promotores descritos a continuación como parte de la presente invención proporcionan opciones para la expresión del tiempo de FT.

Como se usa aquí, un promotor de "etapa vegetativa" incluye cualquier promotor que inicie, provoque, impulse, etc., transcripción o expresión de su gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible durante una o más etapas vegetativas de la planta desarrollo, tal como durante uno o más de Ve, Vc, V1, V2, V3, V4, etc., y/o cualquiera o todas las etapas posteriores de desarrollo vegetativo (por ejemplo, hasta etapa Vn). En otras palabras, el término "etapa vegetativa" se refiere a la(s) etapa(s) de desarrollo vegetativo de la planta como un todo. Tal promotor de "etapa vegetativa" puede definirse además como iniciando, provocando, conduciendo, etc., transcripción o expresión de su gen/transgén asociado o secuencia de ADN transcribible en uno o más tejidos vegetativos

de una planta, tal como uno o más tejido(s) de meristemio vegetativo. Tal promotor de "etapa vegetativa" puede definirse además como un promotor de "etapa vegetativa preferida" que inicia, causa, impulsa, etc., transcripción o expresión de su gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible al menos preferencial o mayoritariamente, si no es así exclusivamente, durante una o más etapas vegetativas del desarrollo de la planta (en oposición a las etapas reproductivas). Sin embargo, un "escenario vegetativo" y un "promotor de etapa vegetativa preferida" pueden cada uno también permitir, permitir, provocar, conducir, etc., la transcripción o expresión de su gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible durante la(s) fase(s) reproductiva(s) o etapa(s) de desarrollo en una o más células o tejidos de la planta, como en uno o más tejidos florales o reproductivos. De hecho, un promotor de "etapa vegetativa" puede incluso iniciar, provocar, conducir, etc., la transcripción o expresión de su gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible en uno o más tejidos reproductivos o florales en un nivel o extensión mayor que en el vegetativo tejido (s), siempre que el promotor de la "etapa vegetativa" también inicie, cause, impulse, etc., transcripción o expresión de su gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible durante una o más etapas vegetativas de desarrollo de la planta.

Los rasgos y características asociadas con etapas de desarrollo vegetativo para una especie de planta dada se conocen en la técnica. Para las plantas dicotiledóneas, las características morfológicas vegetativas y las características de la planta durante las etapas de desarrollo vegetativo pueden incluir forma de cotiledón, meristemos vegetativos (apical, lateral/axilar y raíz), disposición foliar, forma foliar, margen foliar, venación foliar, pecíolos, estípulas, ocrea, hipocotilo y raíces. De acuerdo con las modalidades de la presente invención, un promotor de "etapa vegetativa" también puede definirse más por la etapa vegetativa particular durante la cual se transmite o se inicia la transcripción observable o pronunciado de su gen asociado (o transgén) primero, se inicia, etc. Por ejemplo, un promotor de la etapa vegetativa puede ser un promotor de la etapa Vc, un promotor de la etapa V1, un promotor de la etapa V2, un promotor de la etapa V3, etc. Como tal, un promotor de la "etapa Vc" se define como un promotor de la etapa vegetativa que primero inicia o provoca transcripción de su gen asociado, transgén o secuencia de

ADN transcribible durante la etapa de Vc del desarrollo de la planta, un promotor de "etapa V1" se define como un promotor de etapa vegetativo que primero inicia o causa la transcripción de su gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible durante Etapa V1 del desarrollo de la planta, un promotor de la "etapa V2" se define como un promotor de la etapa vegetativa que primero inicia o provoca la transcripción de su asociado d, transgénica o transcripcional de ADN durante la etapa V2 del desarrollo de la planta, y así sucesivamente, aunque la expresión del gen asociado, el transgén o la secuencia de ADN transcribible puede estar presente de forma continua o discontinua en uno o más tejidos durante etapas de desarrollo de fase vegetativa posterior (y/o reproductiva). Un experto en la materia podría determinar el momento de la expresión de un gen dado, transgén o secuencia de ADN transcribible durante el desarrollo de la planta usando diversos ensayos y técnicas moleculares conocidos en la técnica.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, un promotor de "etapa vegetativa" puede incluir un promotor constitutivo, preferido de tejido o específico de tejido. Por ejemplo, un promotor de etapa vegetativa puede conducir la expresión de su gen/transgén FT asociado o secuencia de ADN transcribible en uno o más tejidos de plantas, tal como en una o más raíces, tallos, hoja/hojas, meristemo(s), etc., durante una(s) etapa(s) vegetativa(s) de desarrollo de la planta. Sin embargo, dicho promotor de etapa vegetativa puede conducir preferiblemente la expresión de su transgén FT asociado o secuencia de codificación o secuencia de ADN transcribible en uno o más meristemo (es) de la planta. De acuerdo con muchas modalidades, un promotor de "etapa vegetativa" puede ser un promotor "específico de meristemo" o "preferido de meristemo" para provocar la expresión del transgén FT o la secuencia codificante o la secuencia transcripcional de ADN en el tejido meristemático. Se sabe que las proteínas FT operan en los meristemos de una planta para ayudar a desencadenar la transición del crecimiento vegetativo al reproductor luego de la translocación de la proteína FT de las hojas. Por el contrario, las modalidades de la presente invención proporcionan la expresión de un transgén FT directamente en el meristemo de una planta para inducir la floración y hacer que la planta adopte un rasgo o fenotipo alterado reproductivo y/o relacionado con el rendimiento. Por lo tanto, de acuerdo con las modalidades de la presente invención, se

proporciona una molécula, constructo o vector de ADN recombinante que comprende un transgén FT o una secuencia codificante unida operativamente a un promotor "específico de meristemo" o "preferido de meristemo " que impulsa la expresión del transgén FT al menos preferentemente en uno o más tejidos meristemáticos de una planta cuando se transforma en la planta. Tal como se usa en la presente memoria descriptiva, el "promotor preferido de meristemo" se refiere a promotores que preferentemente causan la expresión de un gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible en al menos un tejido meristemático de una planta con relación a otros tejidos vegetales, tal como en uno o más apical y/o meristemos axilares, mientras que un "promotor específico de meristemo" se refiere a promotores que causan la expresión de un gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible exclusivamente (o casi exclusivamente) en al menos un tejido meristemático de una planta.

De acuerdo con modalidades de la presente invención, se proporciona una molécula de ADN recombinante que comprende una secuencia de codificación de FT unida de manera operativa a un promotor de etapa vegetativa, el cual puede ser un promotor preferido del meristemo y/o específico al meristemo. Por ejemplo, el promotor puede incluir el promotor *pAt.Erecta* de *Arabidopsis* (SEQ ID NO: 31) o un fragmento funcional o parte de este. Se proporcionan dos ejemplos de una parte truncada del promotor *pAt.Erecta* de acuerdo con las modalidades de la presente invención como SEQ ID NO: 32 y SEQ ID NO: 48. Ver, por ejemplo, Yokoyama, R. et ál., “The Arabidopsis *ERECTA* gene is expressed in the shoot apical meristem and organ primordia,” *The Plant Journal* 15(3): 301-310 (1998). *pAt.Erecta* es un ejemplo de un promotor de etapa vegetativa que también es preferido del meristemo. Otros promotores de etapa vegetativa, preferidos del meristemo o específicos del meristemo se han identificado en función de su perfil de expresión caracterizado (ver, por ejemplo, Ejemplos 4 y 7 más adelante) que también pueden utilizarse para activa la expresión de FT de acuerdo con las modalidades de la presente invención. Por ejemplo, los promotores de los siguientes genes de cinasa similar al receptor de soja (RLK) que pueden utilizarse como promotores de etapa vegetativa, preferidos del meristemo: Glyma10g38730 (SEQ ID NO: 33), Glyma09g27950 (SEQ ID NO: 34), Glyma06g05900 (SEQ ID NO: 35), y Glyma17g34380 (SEQ ID NO: 36), y cualquier parte funcional de

estas. Los promotores de etapa vegetativa, preferidos del meristemo, de acuerdo con las modalidades de la presente invención, también pueden incluir promotores de gen de cinasa similar al receptor (RLK) de la papa: PGSC0003DMP400032802 (SEQ ID NO: 37) y PGSC0003DMP400054040 (SEQ ID NO: 38), y cualquier parte funcional de estas. Dado que la caracterización que se proporciona en la presente del promotor de *pAt.Erecta* que acciona la expresión de FT y los perfiles similares de expresión identificados para otros genes RLK, *Erecta* o *similar a Erecta* (*Erl*, por sus siglas en inglés), los promotores de etapa vegetativa, preferidos del meristemo o específicos del meristemo de la presente invención pueden comprender además toda secuencia promotora conocida o identificada más adelante de los genes RLK, *Erecta* o *similar a Erecta* (*Erl*) de otras especies de dicotiledóneos con patrón de expresión de etapa vegetativa en los meristemos de las plantas.

Los ejemplos adicionales de los promotores de etapa vegetativa, preferidos del meristemo o específicos del meristemo pueden incluir los de los siguientes genes de *Arabidopsis*: *Pinhead* (*At.PNH*) (SEQ ID NO: 39), *Angustifolia 3* o *At.AN3* (SEQ ID NO: 40), *At.MYB17* (*At.LMI2* o *Late Meristem Identity 2 [identidad tardía del meristemo]*; At3g61250) (SEQ ID NO: 41), *gen similar a la cinesina* (At5g55520) (SEQ ID NO: 42), genes similares a AP2/B3, que incluyen *At.REM17* (SEQ ID NO: 43) o *At.REM19*, y genes similares a Erecta 1 y 2, *At.Erl1* (SEQ ID NO: 44) y *At.Erl2* (SEQ ID NO: 45) y cualquier parte funcional de estos. Otro ejemplo es un promotor *At.AP1* (pAt.AP1 o pAP1) de *Arabidopsis* (SEQ ID NO: 49), o una parte funcional de estOs. Sin embargo, el promotor *pAT.AP1* puede considerarse más como un promotor de etapa reproductiva y vegetativa tardía. Dado el patrón tardío de la expresión de etapa reproductiva y vegetativa, el *pAt.AP1* y los promotores relacionados pueden ser útiles para activar la expresión de un transgén FT y/o de un elemento de supresión de FT. Otros ejemplos identificados de genes similares y/o genes con un patrón similar de expresión que el promotor pAt.AP1 en sus especies vegetales naturales pueden incluir un promotor de uno de los siguientes genes: AT1G26310.1 (SEQ ID NO: 50), AT3G30260.1 (SEQ ID NO: 51), o AT5G60910.1 (SEQ ID NO: 52) de *Arabidopsis*; Glyma01g08150 (SEQ ID NO:53), Glyma02g13420 (SEQ ID NO:54), Glyma08g36380 (SEQ ID NO:55), o Glyma16g13070 (SEQ ID NO:56) de la soja;

Solyc02g065730 (SEQ ID NO:57), Solyc02g089210 (SEQ ID NO:58), Solyc03g114830 (SEQ ID NO:59), o Solyc06g069430 (SEQ ID NO:60) del tomate; o GRMZM2G148693 (SEQ ID NO: 61), GRMZM2G553379 (SEQ ID NO: 62), GRMZM2G072582 (SEQ ID NO: 63), o GRMZM2G147716 (SEQ ID NO: 64) del maíz, o cualquier parte funcional de estos.

Un promotor de etapa vegetativo, que también puede ser un promotor específico de meristemo o meristemo específico, puede incluir promotores de etapa vegetativa temprana y tardía dependiendo de su patrón de expresión durante etapas de desarrollo vegetativo. Un promotor de "etapa vegetativa temprana" primero inicia o causa la transcripción o expresión observable o detectable de su gen/transgén asociado o secuencia de ADN transcribible durante una o más etapas vegetativas anteriores (es decir, etapas Ve a V5), mientras que una "etapa vegetativa tardía" primero inicia o causa una transcripción o expresión observable o detectable de su gen/transgén asociado o secuencia de ADN transcribible durante una o más etapas vegetativas posteriores (es decir, etapa V6 y posterior). Un promotor de etapa vegetativa temprana o tardía también puede ser un promotor preferido de etapa vegetativa temprana o tardía. Un promotor de "etapa temprana vegetativa preferida" inicia, causa, impulsa, etc., transcripción o expresión de su gen/transgén asociado o secuencia de ADN transcribible más predominantemente o en mayor medida durante una o más etapas vegetativas anteriores (es decir, etapas Ve a V5) en comparación con etapas posteriores de la vegetación. Del mismo modo, un promotor "tardío de la etapa vegetativa preferida" inicia, causa, impulsa, etc., transcripción o expresión de su gen/transgén asociado o secuencia de ADN transcribible más predominantemente o en mayor medida durante una o más etapas vegetativas posteriores (es decir, etapa V6 y posterior) en comparación con etapas vegetativas anteriores. De acuerdo con esto, un promotor de etapa vegetativa temprana también puede ser un promotor preferido de etapa vegetativa tardía si el promotor inicia primero o provoca la transcripción o expresión observable o detectable de su gen/transgén asociado o secuencia de ADN transcribible durante las etapas vegetativas anteriores, pero también inicia, unidades, etc., transcripción o expresión de su gen/transgén asociado o secuencia de ADN transcribible más predominantemente o en mayor medida durante etapas posteriores de la vegetación. Los ejemplos del promotor de la etapa vegetativa

enumerados anteriormente pueden incluir promotores de la etapa vegetativa temprana y tardía, que también pueden ser preferidos en la etapa vegetativa temprana preferida o etapa vegetativa tardía.

La secuencia de polinucleótido de un promotor de etapa vegetativa (o un fragmento funcional o parte de este) puede tener también una identidad de secuencia flexible con respecto a cualquiera de los promotores de etapa vegetativa que anteceden, mientras mantienen aún un patrón similar o idéntico de expresión de una secuencia de ADN transcribible asociada, gen o transgén unido de manera operativa al promotor. Por ejemplo, un promotor de etapa vegetativa puede comprender una secuencia de polinucleótido que sea al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o 99 % idéntica a una secuencia de polinucleótido seleccionada dentro las anteriores SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45,48,49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, o 64, o una parte funcional de estas. Una “parte funcional” de una secuencia promotora proporcionada o conocida se define como una o más partes continuas o discontinuas de la secuencia promotora proporcionada o conocida que puede activar, causar, promover, etc., de manera funcional, la expresión de su gen, transgén o secuencia de ADN transcribible asociados de una manera que sea idéntica o similar a la secuencia promotora proporcionada o conocida. En función de la presente descripción, un expertos en la técnica será capaz de determinar si un promotor que comprenda una o más partes de una secuencia promotora proporcionada o conocida, y/o con una secuencia más corta y/o una secuencia con una identidad de secuencia más flexible con respecto a una secuencia promotora proporcionada o conocida, provoca un patrón similar de expresión y/o efectos o fenotipos similares cuando su gen reportero o transgén FT se expresa en una planta en comparación con la secuencia promotora proporcionada o conocida.

De acuerdo con algunas modalidades, un promotor de “etapa reproductiva” (se define más adelante) puede estar unido de manera operativa y utilizarse para expresar un transgén FT o secuencia de codificación, siempre y cuando el promotor de etapa reproductiva proporcione (es decir, inicie, provoque, active, etc.) al menos algún nivel de expresión del

transgén FT durante una o varias etapas vegetativas del desarrollo de la planta para proporcionar una señal de inducción floral temprana. A continuación se proporcionan ejemplos de promotores de etapa reproductiva. Si un promotor determinado debe categorizarse como un promotor de etapa vegetativa y/o un promotor de etapa reproductiva temprana o tardía depende de la especie vegetal en particular en la cual se utilice el promotor. Un promotor con un patrón de expresión definido en una especie vegetal, tal como sus especies vegetales naturales, puede tener un patrón modificado, alterado o diferente de expresión cuando se expresa en una especie vegetal distinta (por ejemplo, de manera heteróloga en una especie vegetal distinta), si bien se anticipa que el patrón de expresión de un promotor determinado a menudo será similar (si no es idéntico o prácticamente idéntico) entre especies vegetales distintas. Por ejemplo, un promotor de etapa reproductiva en una especie vegetal puede funcionar como promotor de etapa vegetativa temprano cuando se utiliza para expresar un transgén o una secuencia de ADN transcribible en otra especie vegetal. Por lo tanto, un promotor de etapa reproductiva puede utilizarse de manera heteróloga en algunos casos para expresar un transgén FT e inducir un florecimiento temprano. Por ejemplo, el promotor de pAt.AP1 (SEQ ID NO: 49) tiene un patrón preferido de expresión más de etapa reproductiva en su especie vegetal natural *Arabidopsis*, pero puede activar un patrón de expresión de etapa vegetativa temprano en el meristemo cuando se utiliza de manera heteróloga en plantas de soja, además de activar la expresión de etapa reproductiva.

Como se ha indicado anteriormente, un constructo o vector de molécula de ADN recombinante de la presente invención puede comprender un casete de expresión que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT (es decir, un transgén FT) que está operativamente unida a un promotor de etapa vegetativo, que también puede ser un promotor específico de meristemo o meristemo específico. La secuencia codificadora de polinucleótidos del transgén FT o casete de expresión también puede estar unida operativamente a uno o más elementos reguladores adicionales, tales como un(os) potenciador(es), un líder, un sitio de inicio de la transcripción (TSS), un enlazador, región(es) no traducida(s) 5' y un 3', intrón(es), señal de poliadenilación, región o secuencia de terminación, etc., que son adecuados o necesarios para regular o permitir

la expresión del transgén FT o casete para producir efectivamente una proteína FT en una célula vegetal. Dichos elementos reguladores adicionales pueden ser opcionales y usarse para mejorar u optimizar la expresión del transgén. Para los fines de la presente invención, un "potenciador" puede distinguirse de un "promotor" en el sentido de que un intensificador carece típicamente de un sitio de inicio de la transcripción, una caja de TATA o una secuencia equivalente y, por lo tanto, es insuficiente solo para conducir la transcripción. Como se usa aquí, un "líder" puede definirse generalmente como la secuencia de ADN de la región 5 'no traducida (5' UTR) de un gen (o transgén) entre el sitio de inicio de la transcripción (TSS) y el sitio de inicio de la secuencia de codificación de la proteína.

Como se usa aquí en referencia a un polinucleótido, un "constructo" es un segmento o secuencia de polinucleótidos que comprende uno o más elementos de secuencia, tales como una secuencia de codificación o una secuencia de ADN transcripcional y uno o más elementos de expresión o reguladores, tales como un promotor, potenciador, etc. Un "casete de expresión" es un tipo de constructo que comprende una secuencia de codificación o una secuencia de ADN transcribible que puede expresar la secuencia de codificación o la secuencia de ADN transcribible en una célula huésped adecuada, tal como una célula vegetal o bacteriana, y uno o más promotores y/o elementos reguladores operativamente unidos a la secuencia de codificación o a la secuencia de ADN transcribible. Un "vector" es un polinucleótido o molécula de ADN que puede comprender uno o más constructos y/o casetes de expresión y que es adecuado para estabilidad, almacenamiento u otro uso o propósito, tal como administración, transformación y/o mantenimiento en, una planta o célula huésped. Un "vector" puede incluir un plásmido o una molécula de ADN circular, una molécula de ADN lineal, un vector de transformación adecuado para la transformación de una planta, etc. Una molécula o vector de ADN puede comprender uno o más constructos, casetes de expresión, seleccionables marcador(es), elemento(s) de replicación y/o mantenimiento, etc.

De acuerdo con modalidades de la presente invención, el término “recombinante” en referencia a un vector, constructo, proteína, molécula, etc., de polinucleótido (ADN o ARN) se refiere a una secuencia o molécula de proteína o polinucleótido que no se encuentra comúnmente en la naturaleza y/o está presente en un contexto en el cual no se encuentra

comúnmente en la naturaleza, que incluye un constructo, proteína, molécula, etc., de polinucleótido (ADN o ARN) que comprenda una combinación de dos o más secuencias de proteína o polinucleótido que normalmente no sucederían de manera contigua o cercana entre sí sin intervención humana, y/o un constructo, molécula, etc, de ADN que comprenda al menos dos secuencias de ADN que sean heterólogas entre sí. Un constructo, molécula, etc., de ADN recombinante puede comprender una o varias secuencias de ADN separadas de otra u otras secuencias de polinucleótido que existan cerca de dichas secuencias de ADN en la naturaleza, y/o una secuencia de ADN adyacente (o contigua) a otras secuencias de polinucleótidos que no se encuentran cerca comúnmente entre sí. Un constructo, molécula, etc., de ADN recombinante también puede referirse a una secuencia o molécula de ADN que haya sido genéticamente modificada y construida fuera de una célula. Por ejemplo, una molécula de ADN recombinante puede comprender cualquier vector, plásmido, etc., y puede incluir una molécula de ADN circular o lineal. Dichos plásmidos, vectores, etc., pueden contener diversos elementos de mantenimiento que incluyan un origen procariota de replicación y un marcado seleccionable, así como un transgén de expresión de FT o casete de expresión además quizás de un gen marcador seleccionable vegetal, etc.

De acuerdo con modalidades de la presente invención, se proporciona un segundo casete de expresión que comprende un polinucleótido transcripcional o una secuencia de ADN unida operativamente a un promotor expresable en plantas, en donde la secuencia de ADN transcribible comprende una secuencia que corresponde a al menos una parte de un FT transgén y/o una secuencia complementaria de la misma, y se dirige al transgén FT para la supresión. La secuencia de ADN transcripta puede codificar una molécula de ARN que comprende una secuencia de dirección que es complementaria a al menos una porción del pre-ARNm o ARNm maduro codificado por una secuencia de polinucleótido que codifica una proteína de FT (es decir, un transgén FT), de modo que el ARN La molécula suprime el transgén FT. De acuerdo con esto, se proporciona una molécula, constructo o vector de ADN recombinante para su transformación en una planta que comprende el segundo casete de expresión. Dicha molécula, constructo o vector de ADN recombinante puede comprender además un primer casete de expresión que comprende

una secuencia codificante de polinucleótido que codifica una proteína FT (es decir, un transgén FT) operativamente unida a un primer promotor expresable de planta, y en donde el segundo casete de expresión comprende el transcribible Secuencia de ADN unida operativamente a un segundo promotor expresable en plantas. Alternativamente, se pueden proporcionar dos moléculas, constructos o vectores de ADN recombinante para la transformación de plantas que comprende una primera molécula, constructo o vector de ADN recombinante y una segunda molécula, constructo o vector de ADN recombinante, en donde la primera molécula, constructo o vector de ADN recombinante comprende la primera el casete de expresión que comprende un transgén FT y la segunda molécula, constructo o vector de ADN recombinante comprende el segundo casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcripcional que incluye una secuencia que corresponde a al menos una porción del transgén FT y/o una secuencia complementaria de la misma. De acuerdo con algunas modalidades, un promotor expresable de la planta operativamente unido a una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN para la supresión de un gen o transgén FT es heterólogo con respecto a la secuencia de ADN transcribible.

Cualquier método conocido en la técnica para la supresión de un gen diana puede utilizarse para suprimir el transgén FT de acuerdo con las modalidades de la presente invención, incluso la expresión de ARN antisentido, ARN de cadena doble (ARNcd) o secuencias de ARN de repetición invertida o mediante la cosupresión o interferencia de ARN (ARNi) a través de la expresión de ARN interferente pequeño (ARNip), ARN de horquilla corta (ARNhc), ARN regulador en trans (ta-ARNip) o micro ARN (miARN). Ver, por ejemplo, publicación de solicitud de patente estadounidense n.º 2009/0070898, 2011/0296555, y 2011/0035839, cuyos contenidos y descripciones se incorporan a la presente mediante referencia. Por consiguiente, la molécula de ARN codificada por una secuencia de ADN transcribible puede ser un ARN antisentido, un ARN de cadena doble (ARNcd) o un ARN de repetición inversa, un ARN interferente pequeño (ARNip), un ARN de horquilla corta (ARNhc), un ARN regulador en trans (ta-ARNip) o un micro ARN (miARN), e incluso ARN precurso, tal como ARNip o miARN precursor, que puede procesarse o escindirse en una molécular de ARN maduro, tal como un ARNip o miARN

maduro. El término “supresión” tal como se usa en la presente se refiere a una disminución, reducción o eliminación del nivel de expresión del ARNm y/o la proteína codificada por el gen diana y/o transgén en una planta, célula vegetal o tejido vegetal, que puede limitarse a un tejido en particular y/o un estado del desarrollo de la planta que depende del promotor utilizado para expresar la molécula de ARN.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, se proporciona una molécula, constructo o vector de ADN recombinante que comprende una secuencia de ADN transcripcional y/o elemento o elementos de supresión que codifican una molécula de ARN o una secuencia que apunta a un transgén FT para supresión, en donde La secuencia de ADN transcripcional está unida operativamente a un promotor expresable en la planta. Dado que la molécula de ARN está destinada a la supresión, la molécula de ARN codificada por una secuencia de ADN transcribible puede ser una molécula de ARN no codificante. Para los fines de la presente invención, una "molécula de ARN no codificante" es una molécula de ARN que no codifica una proteína. De acuerdo con algunas modalidades, una molécula, constructo o vector de ADN recombinante puede comprender un primer casete de expresión que comprende un transgén FT y un segundo casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige al transgén FT para su supresión. Alternativamente, un primer casete de expresión que comprende un transgén FT y un segundo casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcribible para la supresión del transgén FT puede estar presente en dos moléculas, constructos o vectores de ADN recombinante diferentes.

La secuencia de ADN transcribible puede comprender un elemento de supresión que tiene al menos 15 nucleótidos de longitud, tal como de aproximadamente 15 nucleótidos de longitud a aproximadamente 27 nucleótidos de longitud, o 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 o 27 nucleótidos de longitud, en donde el elemento de supresión corresponde a al menos una porción del transgén FT objetivo a suprimir, y/oa una secuencia de ADN complementaria de la misma. En muchas modalidades, la secuencia de ADN transcripcional o el elemento de supresión puede ser al menos 17, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22 o al menos 23 nucleótidos (o más) de longitud (por

ejemplo, al menos 25 , al menos 30, al menos 50, al menos 100, al menos 200, al menos 300, al menos 500, al menos 1000, al menos 1500, al menos 2000, al menos 3000, al menos 4000 o al menos 5000 nucleótidos en longitud). Dependiendo de la longitud y secuencia de una secuencia de ADN transcripcional o elemento de supresión, uno o más desajustes de secuencia o bases no complementarias pueden tolerarse sin pérdida de supresión. De hecho, incluso los elementos de supresión de ARNi más cortos que van desde aproximadamente 15 nucleótidos hasta aproximadamente 27 nucleótidos de longitud pueden tener uno o más desajustes o bases no complementarias, y aun así ser eficaces para suprimir un transgén FT objetivo. De acuerdo con esto, un elemento de supresión sentido o antisentido puede comprender una secuencia que es al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98% , al menos 99%, al menos 99.5% o 100% idéntico o complementario a una secuencia correspondiente de al menos un segmento o porción del transgén FT objetivo, o su secuencia complementaria, respectivamente.

Una secuencia de ADN transcripcional de la presente invención para la supresión dirigida de un transgén FT puede incluir uno o más de los siguientes elementos de supresión y/o secuencia(s) de dirección: (a) una secuencia de ADN que incluye al menos una secuencia de ADN antisentido que es antisentido o complementario a al menos un segmento o porción del transgén FT objetivo; (b) una secuencia de ADN que incluye múltiples copias de al menos una secuencia de ADN antisentido que es antisentido o complementario a al menos un segmento o porción del transgén FT objetivo; (c) una secuencia de ADN que incluye al menos una secuencia de ADN de sentido que comprende al menos un segmento o porción del transgén FT objetivo; (d) una secuencia de ADN que incluye múltiples copias de al menos una secuencia de ADN de sentido que comprende cada una al menos un segmento o porción del transgén FT objetivo; (e) una secuencia de ADN que incluye una repetición invertida de un segmento o porción de un transgén FT objetivo y/o transcribe en ARN para suprimir el transgén FT objetivo mediante la formación de ARN bicatenario, en donde el ARN transcrito incluye al menos un anti-secuencia de ADN sensorial que es antisentido o complementario a al menos un segmento o porción del transgén FT objetivo y al menos una secuencia de ADN de sentido que comprende al

menos un segmento o porción del transgén FT objetivo; (f) una secuencia de ADN que se transcribe en ARN para suprimir el transgén FT objetivo formando un único ARN bicatenario e incluye múltiples secuencias de ADN antisentido en serie que son antisentido o complementarias a al menos un segmento o porción del transgén FT objetivo y las secuencias de ADN de sentido múltiple múltiples que comprenden cada una al menos un segmento o porción del transgén FT objetivo; (g) una secuencia de ADN que se transcribe en ARN para suprimir el transgén FT objetivo formando múltiples hebras dobles de ARN e incluye múltiples secuencias de ADN antisentido que son antisentido o complementarias a al menos un segmento o porción de transgenes objetivo de FT y secuencias de ADN de múltiples sentidos que comprenden cada uno al menos un segmento o porción del transgén FT objetivo, en el que los múltiples segmentos de ADN antisentido y segmentos de ADN de múltiples sentidos están dispuestos en una serie de repeticiones invertidas; (h) una secuencia de ADN que incluye nucleótidos derivados de un ARNmi, preferiblemente un ARNmi de planta; (i) una secuencia de ADN que incluye nucleótidos de un ARNsi; (j) una secuencia de ADN que se transcribe en un aptámero de ARN capaz de unirse a un ligando; y (k) una secuencia de ADN que se transcribe en un aptámero de ARN capaz de unirse a un ligando y ADN que se transcribe en un ARN regulador capaz de regular la expresión del transgén FT objetivo, en donde la regulación del transgén FT objetivo depende de la conformación del ARN regulador y la conformación del ARN regulador se ven alostéricamente afectados por el estado de unión del aptámero de ARN por el ligando. Una secuencia de ADN transcribible puede comprender uno o más de los elementos de supresión anteriores y/o secuencia(s) de dirección, que pueden corresponder a una o más secuencias del transgén FT y/o su secuencia complementaria.

Las secuencias de supresión de sentido y/o antisentido múltiple de una secuencia de ADN transcribible para más de una secuencia objetivo de transgén FT pueden estar dispuestas en serie en tándem o dispuestas en segmentos o repeticiones en tándem, tales como repeticiones invertidas en tándem, que también pueden ser interrumpido por una o más secuencias espaciadoras. Además, una secuencia sensorial o antisentido de una secuencia de ADN transcripcional o elemento de supresión puede no coincidir perfectamente o ser complementaria con la secuencia de transgén FT dirigida,

dependiendo de la secuencia y la longitud de la secuencia de ADN transcripcional o el elemento de supresión. De hecho, incluso los elementos de supresión de ARNi más cortos de aproximadamente 15 nucleótidos a aproximadamente 27 nucleótidos de longitud pueden tener uno o más desajustes o bases no complementarias dependiendo de la longitud del elemento de supresión o de la secuencia de dirección, como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 (o más) desajustes, y aun así son eficaces para suprimir el transgén FT objetivo. De acuerdo con esto, un elemento de supresión sentido o antisentido puede comprender una secuencia que es al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99%, al menos un 99.5% o 100% idéntica o complementaria a una secuencia correspondiente de al menos un segmento o porción del transgén FT objetivo, o su secuencia complementaria, respectivamente.

Para la supresión antisentido, una secuencia de ADN transcribible puede comprender una secuencia que es antisentido o complementaria a al menos una porción o segmento del transgén FT objetivo. La secuencia de ADN transcripcional y/o el(los) elemento(s) de supresión pueden comprender múltiples secuencias antisentido que son complementarias a una o más porciones o segmentos del transgén objetivo FT, o múltiples copias de una secuencia antisentido que es complementaria a un transgén objetivo FT. Una secuencia antisentido puede ser al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99%, al menos un 99.5 % o 100% idéntica a una secuencia de ADN que es complementaria a al menos un segmento o porción de un ARNm de transgén FT dirigido. En otras palabras, una secuencia antisentido puede ser al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98%, al menos un 99% , al menos 99.5% o 100% complementario a un transgén objetivo FT.

Los términos "porcentaje de complementariedad" o "porcentaje complementario", como se usa aquí en referencia a dos secuencias de nucleótidos, es similar al concepto de porcentaje de identidad, pero se refiere al porcentaje de nucleótidos de una secuencia que óptimamente se empareja o hibrida con nucleótidos una secuencia de referencia cuando las dos secuencias están dispuestas linealmente y se acoplan óptimamente a la base sin

estructuras de plegado secundarias, tales como bucles, tallos o horquillas, pero con tolerancia para los desajustes y huecos en el emparejamiento de bases entre las dos secuencias. Tal complementariedad porcentual puede estar entre dos cadenas de ADN, dos cadenas de ARN, o una cadena de ADN y una cadena de ARN. El "porcentaje de complementariedad" puede calcularse mediante (i) emparejar de forma óptima o hibridar las dos secuencias de nucleótidos en una disposición lineal y completamente extendida (es decir, sin plegado o estructuras secundarias) sobre una ventana de comparación (por ejemplo, ventana de alineación) (ii) determinar el número de posiciones que emparejan entre las dos secuencias a lo largo de la ventana de comparación para obtener el número de posiciones complementarias, (iii) dividir el número de posiciones complementarias por el número total de posiciones en la ventana de comparación, y (iv) multiplicar este cociente en un 100% para obtener el porcentaje de complementariedad de las dos secuencias. Para estos fines, una ventana de alineación se define como la región de complementariedad entre las dos secuencias. El emparejamiento de bases óptimo de dos secuencias se puede determinar en base a los emparejamientos conocidos de bases de nucleótidos, tales como G-C, A-T y A-U, a través de enlace de hidrógeno. Si el "porcentaje de complementariedad" se calcula en relación con una secuencia de referencia o consulta sin especificar una ventana de comparación particular, el porcentaje de identidad se determina dividiendo el número de posiciones complementarias entre las dos secuencias lineales por la longitud total de la secuencia de referencia. Para los propósitos de la presente invención, cuando dos secuencias (consulta y sujeto) están óptimamente emparejadas con base (con margen para huecos y desajustes o nucleótidos no emparejados por bases), el "porcentaje de complementariedad" para una secuencia de consulta (cuando una ventana de comparación no está definido) es igual al número de posiciones de emparejamiento de base entre las dos secuencias dividido por el número total de posiciones en la secuencia de consulta a lo largo de su longitud, que luego se multiplica por 100%.

Para la supresión de un transgén FT usando una repetición invertida o un ARNdc transcrito, una secuencia de ADN transcribible puede comprender una secuencia de sentido que comprende un segmento o porción de un transgén FT objetivo y una

secuencia antisentido que es complementaria a un segmento o porción del transgén FT objetivo, en el que las secuencias de ADN sentido y antisentido están dispuestas en tándem. Las secuencias sentido y/o antisentido, respectivamente, pueden ser cada una menos del 100% idénticas o complementarias a un segmento o porción del transgén FT objetivo tal como se describió anteriormente. Las secuencias de sentido y antisentido pueden estar separadas por una secuencia espaciadora, de tal manera que la molécula de ARN transcrita a partir de la secuencia de ADN transcribible forma una estructura de tallo, bucle o tallo-bucle entre las secuencias de sentido y antisentido. La secuencia de ADN transcribible puede comprender, en su lugar, múltiples secuencias sentido y antisentido que están dispuestas en tándem, que también pueden estar separadas por una o más secuencias espaciadoras. Una secuencia de ADN transcribible que comprende múltiples secuencias sentido y antisentido puede estar dispuesta como una serie de secuencias de sentido seguidas por una serie de secuencias antisentido, o como una serie de secuencias de sentido y antisentido dispuestas en tándem.

Para la supresión de un transgén FT utilizando un microARN (ARNmi), una secuencia de ADN transcribible puede comprender una secuencia de ADN derivada de una secuencia de ARNmi nativa de un virus o eucarionte, tal como un animal o planta, o modificada o derivada de tal una secuencia de ARNmi nativa. Dichas secuencias de ARNmi nativas o derivadas nativas pueden formar una estructura de plegamiento y servir como un armazón para el ARNmi precursor, y pueden corresponder a la región del tallo de una secuencia precursora de ARNmi nativo, tal como de una secuencia nativa (o derivada nativa) pri-ARNmi o pre-ARNmi. Sin embargo, además de estas secuencias de pre-procesamiento o armazón de ARNmi nativos o derivados de ARNmi, los ARNmi de ingeniería genética de la presente invención comprenden además una secuencia correspondiente a un segmento o porción del transgén FT objetivo. Por lo tanto, además de las secuencias pre-procesadas o de armazón, el elemento de supresión se puede diseñar adicionalmente para comprender una secuencia de sentido y/o antisentido que corresponde a un segmento o porción de un transgén FT objetivo, y/o una secuencia que es complementaria de la misma, aunque puede tolerarse una o más desajustes de secuencia.

Los ARNmi diseñador son útiles para la supresión génica dirigida con mayor especificidad.

Véase, por ejemplo, Parizotto et al., *Genes Dev*. 18:2237-2242 (2004), y las Publicaciones de Solicitud de Patente de E.U.A. 2004/0053411, 2004/0268441, 2005/0144669 y 2005/0037988, cuyos contenidos y descripciones se incorporan aquí como referencia. Los ARNmi son ARN no codificantes. Cuando se escinde una molécula precursora de ARNmi, se forma un ARNmi maduro que es típicamente de aproximadamente 19 a aproximadamente 25 nucleótidos de longitud (comúnmente de aproximadamente 20 a aproximadamente 24 nucleótidos de longitud en plantas), tales como 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 nucleótidos de longitud, y tiene una secuencia correspondiente al gen dirigido para la supresión y/o su complemento. El ARNmi maduro se hibrida para dirigir los transcritos de mARN y guía la unión de un complejo de proteínas a los transcritos objetivo, que pueden funcionar para inhibir la traducción y/o dar como resultado la degradación de la transcripción, regulando o suprimiendo negativamente la expresión del gen objetivo. Los precursores de ARNmi también son útiles en plantas para dirigir la producción en fase de ARNsis, ARNsis de acción trans (ta-ARNsis), en un proceso que requiere una ARN polimerasa dependiente de ARN para causar la supresión de un gen objetivo. Véase, por ejemplo, Allen et al., *Cell* 121:207-221 (2005), Vaucheret *Science STKE*, 2005:pe43 (2005), y Yoshikawa et al. *Genes Dev*., 19:2164-2175 (2005), cuyos contenidos y descripciones se incorporan aquí como referencia.

De acuerdo con modalidades de la presente invención, se proporciona un constructo o vector de molécula de ADN recombinante que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica un ARNmi o una molécula de ARNmi precursora para la supresión dirigida de un transgén FT. Dicha secuencia de ADN transcribible puede comprender una secuencia de al menos 19 nucleótidos de longitud que corresponde a un transgén FT y/o una secuencia complementaria al transgén FT, aunque pueden estar presentes uno o más desajustes de secuencia y/o nucleótidos no emparejados en la base pueden ser tolerados.

Un transgén FT también se puede suprimir usando uno o más pequeños ARN interferentes (ARNsis). La ruta de ARNsi implica la escisión no en fases de un intermedio de ARN bicatenario más largo ("doble ARN") en pequeños ARN interferentes (ARNsi). El tamaño o la longitud de los ARNsi típicamente oscila entre aproximadamente 19 y

aproximadamente 25 nucleótidos o pares de bases, pero las clases comunes de ARNsi incluyen las que contienen 21 pares de bases o 24 pares de bases. Por lo tanto, una secuencia de ADN transcripcional de la presente invención puede codificar una molécula de ARN que tiene una longitud de al menos aproximadamente 19 a aproximadamente 25 nucleótidos, tal como 19, 20, 21, 22, 23, 24 o 25 nucleótidos. Para la supresión del ARNsi, se proporciona un constructo o vector de molécula de ADN recombinante que comprende una secuencia de ADN transcripcional y/o un elemento de supresión que codifica una molécula de ARNsi para la supresión dirigida de un transgén FT.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, se proporciona una molécula, vector o constructo de ADN recombinante que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN no codificante que se une o se hibrida a una secuencia de un ARNm objetivo en una célula vegetal, como una secuencia de codificación (exón) y/o no traducida (UTR) del ARNm objetivo, en el que la molécula de ARNm objetivo codifica una proteína FT, y en donde la secuencia de ADN transcribible está operativamente unida a un promotor expresable en la planta. Además de dirigirse a una secuencia de ARNm madura, una molécula de ARN no codificante codificada por una secuencia de ADN transcribible puede dirigir una secuencia de intrón de un transgén FT o transcripción. De acuerdo con otras modalidades, se proporciona una molécula, vector o constructo de ADN recombinante que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN (precursora) no codificante que se escinde o transforma en una molécula de ARN no codificante madura que se une o se hibrida a un objetivo ARNm en una célula vegetal, en el que la molécula de ARNm objetivo codifica una proteína FT, y en donde la secuencia de ADN transcribible está operativamente unida a un promotor expresable en la planta, que puede ser un tejido específico, tisular, de desarrollo y/u otro tipo de promotor.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, se proporciona un constructo, vector o molécula de ADN recombinante que comprende una secuencia de ADN transcribible que codifica una molécula de ARN no codificante, en donde la molécula de ARN no codificante es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 %

complementaria a al menos un segmento o parte de una molécula de ARNm (i) expresada a partir de un transgén FT y/o (ii) que codifica una proteína FT en una planta o célula vegetal, en donde la secuencia de ADN transcribible está unida de manera operativa a un promotor de expresión vegetal. Una molécula de ARN no codificante puede dirigirse a una secuencia pre-ARNm o ARNm, una región no traducida 5' o 3' (UTR), una secuencia de codificación (exón) y/o una secuencia intrónica o intrón de una transcripción o transgén FT. De acuerdo con algunas modalidades, la molécula de ARN no codificante se dirige a un transgén FT para su supresión y es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % complementaria a al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, al menos 25, al menos 26 o al menos 27 nucleótidos consecutivos de una secuencia (de codificación) de polinucleótido que codifica una proteína FT (por ejemplo, SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, o 29), o cualquier otra secuencia de codificación de FT florigénica conocida. De acuerdo con otras modalidades, la molécula de ARN no codificante es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 %, o 100 % complementaria a al menos 15, al menos 16, al menos 17, al menos 18, al menos 19, al menos 20, al menos 21, al menos 22, al menos 23, al menos 24, al menos 25, al menos 26, o al menos 27 nucleótidos consecutivos de una molécula de ARNm que codifica una proteína FT que es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 %, o 100 % idéntica a SEQ ID NO:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, o 30, o a cualquier otra proteína FT florigénica, o un fragmento funcional de estas. Tal como se usa en la presente, el término "consecutivo" con referencia a una secuencia de proteína o polinucleótido significa sin eliminaciones o huecos en la secuencia. De acuerdo con las modalidades de la presente invención, una molécula de ARN no codificante codificada por una secuencia de ADN transcribible de un constructo, vector o molécula de ADN recombinante que se proporciona en la presente puede ser un miARN o ARNip maduro, o un miARN o ARNip precursor que puede procesarse o escindirse en una célula vegetal para formar un miARN o ARNip maduro.

De acuerdo con algunas modalidades de la presente invención, la secuencia de ADN transcribible puede comprender una secuencia que codifique una secuencia diana de una molécula de ARN complementaria y/o se hibride a un ARNm de transgén o gen *Gm.FT2a* en particular para suprimir el transgén o gen *Gm.FT2a*. La secuencia de ADN transcribible puede comprender una secuencia (por ejemplo, SEQ ID NO: 65) que codifique una secuencia diana (por ejemplo, SEQ ID NO: 66) de una molécula de ARN codificada por, y transcrita desde, la secuencia de ADN transcribible. La secuencia diana de la molécula de ARN puede ser cualquier secuencia de longitud suficiente que sea complementaria a un segmento o parte del ARNm codificado por el transgén FT, y la secuencia de ADN transcribible puede comprender una secuencia que codifique, o se transcriba a, la secuencia diana de la molécula de ARN. Por ejemplo, una secuencia de ADN transcribible que codifica un miARN precursor puede comprender la SEQ ID NO: 67, que puede procesarse a un miARN maduro que comprende la SEQ ID NO: 67, que se dirige a la eliminación de un transgén o gen *Gm.FT2a*. El ARNm codificado por el transgén o gen FT diana puede comprender un sitio diana para una molécula de ARN codificada por la secuencia de ADN transcribible. Dicho sitio diana en el ARNm del transgén FT puede comprender, por ejemplo, SEQ ID NO: 68, que puede estar codificada por una secuencia (por ejemplo, SEQ ID NO: 69) del transgén o gen FT. Por lo tanto, la secuencia de codificación de polinucleótido del transgén FT puede comprender una secuencia que codifique el sitio diana para la molécula de ARN.

Además de un promotor expresable en plantas, una molécula de ADN recombinante, constructo, vector o casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN no codificadora para la supresión de un transgén FT también puede estar operativamente unida a uno o más(s) elemento(s) regulador(es), como potenciador(es), sitio de inicio de transcripción (TSS), enlazador, señal de poliadenilación, escalas 5' y/o 3' o secuencias de esqueleto, región o secuencia de terminación, etc., necesario o preferido para regular o permitir la expresión de la secuencia de ADN transcribible en una célula o tejido vegetal. Dicho elemento(s) regulador(s) adicional(es) puede ser opcional y usarse para mejorar u optimizar la expresión de la secuencia de ADN transcribible.

De acuerdo con algunas modalidades, una secuencia de ADN transcribible puede comprender una secuencia que corresponde a al menos una porción de una secuencia no codificadora de un transgén FT y/o una secuencia complementaria a la misma, tal como un 5 'o 3' no traducido región (UTR) o secuencia intrónica del transgén FT, que puede permitir la supresión selectiva del transgén FT sobre un gen FT endógeno. Las secuencias "no codificantes" de un transgén FT (que no deben confundirse con una "molécula de ARN no codificante" codificada por una secuencia de ADN transcribible para la supresión de un gen FT o transgén) son las secuencias del transgén FT que se transcriben y forman parte del pre-ARNm y/o ARNm maduro, pero no codifican la proteína FT transgénica. De acuerdo con esto, la secuencia de ADN transcribible puede codificar una molécula de ARN que comprende una secuencia de dirección que corresponde a al menos una porción de una secuencia no codificante del transgén FT y/o una secuencia complementaria de la misma. Por lo tanto, la secuencia de ADN transcribible puede comprender una secuencia que corresponde a al menos una porción de un pre-ARNm o ARNm maduro codificado por el transgén FT. La secuencia de la secuencia de ADN transcripcional y la secuencia de dirección codificada de la molécula de ARN dependen de las secuencias particulares no codificantes del transgén FT, que pueden ser iguales o diferentes o únicas en relación con los genes FT endógenos. De acuerdo con algunas modalidades, se proporciona una molécula, vector o constructo de ADN recombinante que comprende un casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcripcional que tiene una secuencia que corresponde a al menos una porción de una secuencia no codificante de un transgén FT y/o una secuencia complementario a esto. De manera similar a la descrita anteriormente, pueden proporcionarse dos o más casetes de expresión que comprenden un primer casete de expresión y un segundo casete de expresión, en el que el primer casete de expresión comprende una secuencia polinucleotídica que codifica una proteína FT (es decir, un transgén FT) operativamente unida a una primera planta promotor expresable y el segundo casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcribible operativamente unida a un segundo promotor expresable de la planta, en donde la secuencia de ADN transcribible comprende una secuencia que corresponde a al menos una porción de una secuencia no codificante del transgén FT y/o una secuencia complementaria de la misma. La primera y la segunda casetes de expresión pueden estar

presentes en la misma molécula de ADN, vector o constructo, o en moléculas, vectores o constructos de ADN separados.

Una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige a un transgén FT para la supresión puede estar operativamente unida a un promotor expresable en la planta. El patrón de expresión de la molécula de ARN puede depender del promotor específico expresable de la planta. Como se describió anteriormente, la expresión de un transgén FT bajo el control de un promotor de la etapa vegetativa puede usarse para desencadenar la floración temprana y aumentar el número de flores, vainas, etc., por nodo de una planta, pero también puede causar la terminación anticipada de la planta. Actualmente se propone que la expresión adicional de una molécula de ARN dirigida al transgén FT para la supresión se puede usar para refinar y/o atenuar el patrón y el nivel de expresión del transgén FT para mitigar aún más los fenotipos de terminación temprana. Esto puede ocurrir disminuyendo la cantidad de transcripción y proteína del transgén FT (es decir, reduciendo su nivel de expresión) y/o modificando su patrón de expresión (es decir, refinamiento o restricción del patrón de expresión de FT transgénica). Sin estar limitado por la teoría, una expresión reducida del transgén FT puede ser suficiente para inducir la floración temprana al tiempo que mitiga los fenotipos de terminación temprana. Del mismo modo, un patrón espacio-temporal restringido de la expresión de FT puede reducir la expresión de FT en tejidos y/o etapas de desarrollo particulares donde la FT transgénica puede causar una terminación anterior. Por lo tanto, de acuerdo con modalidades de la presente invención, los tiempos y los patrones de expresión del transgén FT y la molécula de ARN (que apunta al transgén FT para la supresión) pueden ser iguales, superpuestos o más distintos.

De acuerdo con muchas modalidades como se introdujeron anteriormente, al menos dos casetes de expresión pueden proporcionarse que comprenden un primer casete de expresión y un segundo casete de expresión, en el que el primer casete de expresión comprende un transgén FT operativamente unido a un primer promotor expresable de planta y el segundo el casete de expresión comprende una secuencia de ADN transcribible unida operativamente a un segundo promotor expresable de la planta, en donde la secuencia de ADN transcribible codifica una molécula de ARN que se dirige al

transgén FT para la supresión. Los dos casetes de expresión pueden estar presentes en la misma molécula de ADN recombinante, constructo o vector, o presentes en moléculas, constructos o vectores de ADN recombinante separados. Tal como se describió anteriormente, el primer promotor expresable de la planta operativamente unido al transgén FT puede ser un promotor de la etapa vegetativa, que también puede ser un promotor meristemo específico o meristemo. El segundo promotor expresable de la planta operativamente unido a la secuencia de ADN transcribible puede comprender una variedad de diferentes tipos de promotores que incluyen etapa constitutiva, inducible, de desarrollo, específica de tejido, preferible de tejido, etapa vegetativa, etapa reproductiva, etc., pero el momento y patrón de la expresión de la molécula de ARN debería superponerse al menos parcialmente con el momento y el patrón de expresión del transgén FT. De acuerdo con algunas modalidades, el segundo promotor expresable de la planta puede ser un promotor estadístico constitutivo o vegetativo para reducir el nivel de expresión del transgén FT. Dicho promotor de etapa constitutivo o vegetativo también puede ser un promotor preferido de tejido o preferido de tejido y/o puede solaparse ampliamente con el momento y patrón de expresión del transgén FT. De hecho, un patrón de expresión constitutivo o superpuesto de la secuencia de ADN transcripcional (y la molécula de supresión de ARN) con respecto al transgén FT puede ser eficaz para reducir la cantidad o dosificación de la expresión de FT, especialmente si la supresión del transgén FT es imperfecta o incompleta. En algunos casos, el constructo de supresión y del transgén FT puede incluso estar operativamente unido a un mismo promotor o similar. Por ejemplo, la expresión de primer promotor expresable de planta del transgén FT puede ser una etapa vegetativa temprana o tardía y/o un promotor de etapa reproductiva, y la segunda expresión promotora de la planta que puede conducir la expresión de la secuencia de ADN transcripcional que codifica la molécula de ARN para supresión puede ser una etapa vegetativa temprana o tardía y/o un promotor de la etapa reproductiva.

Se conocen muchos ejemplos de promotores constitutivos en la técnica, tales como un virus del mosaico de la coliflor (CaMV) 35S y un promotor 19S (véase, por ejemplo, la patente de E.U.A. No. 5,352,605), un promotor de CaMV 35S mejorado, tal como un CaMV 35S promotor con región Omega (véase, por ejemplo, Holtorf, S. et al., *Plant*

Molecular Biology, 29: 637-646 (1995) o un promotor de CaMV dual mejorado (véase, por ejemplo, Patente de E.U.A. No. 5,322,938), un promotor 35S del virus mosaico de Figwort (FMV) (véase, por ejemplo, la patente de E.U.A. No. 6,372,211), un promotor del virus del mosaico de Mirabilis (MMV) (véase, por ejemplo, la patente de E.U.A. No. 6,420,547), un promotor de Caulimovirus de la Rata Clorótica de Cacahuete (véase, por ejemplo, Patente de E.U.A. No. 5,850,019), un promotor de nopalina o octopina, un promotor de ubiquitina, tal como un promotor de poliubiquitina de soya (véase, por ejemplo, la Patente de E.U.A. No. 7,393,948), un promotor de *Arabidopsis* S-Adenosilmetionina sintetasa (véase, por ejemplo, 8,809,628), etc., o cualquier parte funcional de los promotores anteriores, los contenidos y las descripciones de cada una de las referencias anteriores se incorporan d aquí por referencia. Alternativamente, el segundo promotor expresable de la planta puede ser un promotor de la etapa vegetativa y/o reproductiva, ejemplos de los cuales se proporcionan aquí.

De acuerdo con otras modalidades, el segundo promotor expresable de la planta puede tener un tiempo y/o patrón de expresión más distintos, tales como en diferentes tejidos de la planta y/o etapas de desarrollo, con relación al transgén FT. Por lo tanto, el patrón espacio-temporal eficaz de expresión del transgén FT puede modificarse, alterarse y/o refinarse dependiendo de los tiempos y patrones de expresión relativos del transgén FT y la secuencia de ADN transcripcional que codifica la molécula de ARN para suprimir el transgén FT (como así como la secuencia de orientación específica de la molécula de ARN). Sin embargo, de acuerdo con muchas modalidades, la secuencia de ADN transcripcional (y la molécula de ARN) se puede expresar en una etapa o tejido evolutivo posterior en relación con el comienzo de la expresión del transgén FT, de modo que el transgén FT todavía puede proporcionar el principio de florecimiento la señal de inducción antes de ser suprimida por la expresión posterior de la molécula de supresión de ARN o expresada de forma diferente, el transgén FT puede suprimirse después de la señal de inducción floral temprana para reducir o mitigar la terminación anticipada. Por ejemplo, el promotor expresable de la primera planta que ejerce la expresión del transgén FT puede ser un promotor de la etapa vegetativa temprana, y el promotor expresable de la segunda planta que maneja la expresión de la secuencia de ADN transcripcional que codifica la

molécula de ARN para la supresión puede ser una etapa vegetativa tardía y/o el promotor de la etapa reproductiva o el primer promotor expresable de la planta puede ser un promotor de la etapa vegetativa tardía y el segundo promotor expresable de la planta puede ser un promotor de la etapa reproductiva. Más ampliamente, el segundo promotor expresable de la planta puede iniciar, causar y/o conducir la expresión de su transgén asociado o secuencia de ADN transcribible en una etapa posterior de desarrollo que el primer promotor expresable de la planta, de modo que la constructo de supresión se expresa generalmente después del FT floral inicial Señal de inducción durante la(s) etapa(s) vegetativa(s) anterior(es) de desarrollo. Por lo tanto, el segundo promotor expresable de la planta puede ser un promotor de etapa de desarrollo posterior que el primer promotor expresable de la planta. Por ejemplo, el segundo promotor expresable de la planta puede conducir a la expresión en una etapa de desarrollo posterior que el primer promotor expresable de la planta, pero en el mismo tipo de tejido o linaje de desarrollo (por ejemplo, en el meristemo) como el primer promotor expresable de la planta. Tal etapa vegetativa tardía y/o promotor de la etapa reproductiva también puede ser un promotor preferido de tejido o preferido de tejido, tal como un promotor preferido de meristemo o preferido de meristemo. Ejemplos de promotores tardíos de etapa vegetativa se proporcionan anteriormente.

Al expresar la secuencia de ADN transcripcional y la molécula de ARN para la supresión del transgén FT durante una o más etapas posteriores de desarrollo de la planta con respecto al transgén FT, el perfil de expresión eficaz del transgén FT puede modificarse, alterarse y/o refinado a etapas y/o tejidos anteriores del desarrollo, en relación con la expresión del transgén FT solo. En algunos casos, la expresión en estado vegetativo del transgén FT puede persistir o continuar durante etapas o tejidos vegetativos y/o reproductivos posteriores en la planta. Por lo tanto, la expresión posterior de la molécula de ARN que se dirige al transgén FT para la supresión puede reducir el nivel de transgén FT en esas etapas y/o tejido(s) posterior para limitar o confinar efectivamente el nivel de expresión del transgén FT antes etapa(s) de desarrollo y/o tejido(s). Como resultado, la señal de inducción floral temprana puede mantenerse o conservarse, mientras que la expresión de FT posterior puede atenuarse o reducirse para evitar o retrasar la

terminación anticipada de las reservas meristemáticas restantes de la planta y permitir el crecimiento vegetativo y el desarrollo de la planta para continuar después de floración.

Como se usa aquí, un promotor de "etapa reproductiva" se define como cualquier promotor que inicie, provoque, impulse, etc., transcripción o expresión de su gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible durante una o más etapas reproductivas) del desarrollo de la planta, tal como durante una o más de las etapas de desarrollo R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7 y/o R8. Tal promotor de "etapa reproductiva" se puede definir adicionalmente como un promotor de "etapa reproductiva preferida" que inicia, provoca, impulsa, etc., transcripción o expresión de su gen/transgén asociado o secuencia de ADN transcribible al menos preferiblemente o principalmente, si no exclusivamente, durante una o más etapas reproductivas del desarrollo de la planta (en oposición a las etapas vegetativas). Sin embargo, una "etapa reproductiva" y un "promotor de la etapa reproductiva preferida" pueden cada uno también iniciar, permitir, permitir, provocar, conducir, etc., la transcripción o expresión de su gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible durante la fase vegetativa) o etapa(s) de desarrollo en una o más células o tejidos de la planta. Por lo tanto, un promotor de la etapa reproductiva también puede ser un promotor de la etapa vegetativa si se expresa durante ambas fases de desarrollo (es decir, durante las etapas de desarrollo vegetativo y reproductivo). Dicho promotor de la etapa reproductiva también puede ser un promotor preferido de tejido o preferido de tejido, tal como un promotor preferido de meristemo o preferido de meristemo. Un promotor de la "etapa reproductiva" se puede definir adicionalmente como la iniciación, la provocación, la conducción, etc., la transcripción o expresión de su gen/transgén asociado o la secuencia de ADN transcripcional en uno o más tejidos reproductivos de una planta. Tal promotor de "etapa reproductiva" también puede definirse como un promotor "preferido floral" que inicia, provoca, impulsa, etc., la transcripción o expresión de su gen/transgén asociado o secuencia de ADN transcribible al menos preferiblemente o principalmente, si no exclusivamente , en al menos un tejido floral o reproductivo, como un meristemo floral, o un promotor "floral específico" que inicia, causa, impulsa, etc., la transcripción o expresión de su gen/transgén asociado o secuencia de ADN transcribible exclusivamente (o casi exclusivamente) en al menos un tejido floral o reproductivo. Las

características y características de estas etapas reproductivas para una especie de planta dada se conocen en la técnica.

Los ejemplos de promotores de etapa reproductiva, que también pueden ser promotores de etapa vegetativa temprana o tardía en función de su patrón de expresión en una especie vegetal determinada, pueden incluir los siguientes promotores de los genes del tomate: un promotor *Sl.Nod* (pSl.Nod, pLe.Nod o pNod) (SEQ ID NO: 70), un promotor *Sl.MADS5* (pSl.MADS5, pLe.MADS5 o pMADS5) (SEQ ID NO: 71), o un promotor *Sl.MADS-RIN* (pSl.MADS-RIN, pLe.MADS-RIN o pMADS-RIN) (SEQ ID NO: 72), o cualquier parte funcional de estas. Otros ejemplos identificados con homología y/o un patrón de expresión similar al promotor pSl.MADS5 y/o pSl.MADS-RIN en su especie vegetal natural pueden incluir un promotor de uno de los siguientes genes: AT1G24260.1 (SEQ ID NO: 73), AT2G45650.1 (SEQ ID NO: 74), AT3G02310.1 (SEQ ID NO: 75), o AT5G15800.1 (SEQ ID NO: 76), o AT2G03710.1 (SEQ ID NO: 77) de *Arabidopsis*; Glyma05g28140 (SEQ ID NO: 78), Glyma08g11120 (SEQ ID NO: 79), Glyma11g36890 (SEQ ID NO: 80), Glyma08g27670 (SEQ ID NO: 81), Glyma13g06730 (SEQ ID NO: 82), o Glyma19g04320 (SEQ ID NO: 83) de la soja; Solyc02g089200 (SEQ ID NO: 84), Solyc03g114840 (SEQ ID NO: 85), Solyc12g038510 (SEQ ID NO: 86), Solyc04g005320 (SEQ ID NO: 87) o Solyc05g056620 (SEQ ID NO: 88) del tomate; o GRMZM2G159397 (SEQ ID NO: 89), GRMZM2G003514 (SEQ ID NO: 90), GRMZM2G160565 (SEQ ID NO: 91), GRMZM2G097059 (SEQ ID NO: 92), GRMZM2G099522 (SEQ ID NO: 93) o GRMZM2G071620 (SEQ ID NO: 94) del maíz, o cualquier parte funcional de cualquiera de los promotores que anteceden.

De acuerdo con modalidades de la presente invención, un promotor de “etapa reproductiva” también puede definirse de manera adicional por la etapa reproductiva en particular durante el cual se provoca, inicia, etc., una transcripción o expresión de su gen, transgén o secuencia de ADN transcribible asociados observable o pronunciada. Por ejemplo, un promotor de etapa reproductiva puede ser un promotor de etapa R1, un promotor de etapa R2, un promotor de etapa R3, etc. Como tal, un promotor de “etapa R1” se define como un promotor de etapa reproductiva que inicia o provoca en primer lugar la transcripción de su gen, transgén o secuencia de ADN transcribible asociada durante la

etapa R1 del desarrollo de la planta, un promotor de “etapa R2” se define como un promotor de etapa reproductiva que inicia o provoca en primer lugar la transcripción de su gen, transgén o secuencia de ADN transcribible asociados durante la etapa R2 del desarrollo de la planta, y así sucesivamente, si bien la expresión del gen, transgén o secuencia de ADN transcribible puede estar presente de manera continua o discontinua en un o o más tejidos durante etapa/s reproductiva/s más tardías del desarrollo. La transición de la etapa vegetativa a reproductiva (y el inicio de la etapa R1) se define de acuerdo con convenciones estándar en la técnica para una planta de cultivo en particular (es decir, típicamente con las semillas de soja, la apariencia visible de la primera flor abierta en la planta). Un experto en la técnica será capaz de determinar el momento de la expresión de un determinado gen, transgén o secuencia de ADN transcribible durante el desarrollo de la planta mediante el uso de diversos ensayos y técnicas moleculares conocidas en la técnica, en el caso de que no se conozca aún el momento de la expresión.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, un promotor de "etapa reproductiva" puede incluir un promotor constitutivo, preferido de tejido o específico de tejido. Por ejemplo, un promotor de etapa reproductiva puede dirigir la expresión de su gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible en uno o más tejidos de plantas, como en una o más raíces, tallo(s), hoja/hojas, meristemo(s), etc., durante una(s) etapa(s) reproductiva(s) de desarrollo de la planta. Sin embargo, dicho promotor de la etapa reproductiva puede conducir preferiblemente la expresión de su gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible en uno o más meristemos de la planta. De acuerdo con muchas modalidades, un promotor de "etapa reproductiva" puede ser un promotor "específico de meristemo" o "preferido de meristemo" para provocar la expresión de su gen asociado, transgén o secuencia de ADN transcribible en tejido meristemático para corresponder al menos parcialmente al patrón de expresión del transgén FT y atenuar y/o refinar la expresión del transgén FT.

La secuencia de polinucleótido de estos promotores (o un fragmento funcional de estos) puede tener también una identidad de secuencia flexible, mientras mantienen aún un patrón similar o idéntico de expresión de una secuencia de ADN transcribible asociada, gen o transgén asociado unido de manera operativa al promotor. Por ejemplo, el promotor

de etapa vegetativa y/o reproductiva tardía puede comprender una secuencia de polinucleótido que sea al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a una secuencia de polinucleótido seleccionada de las anteriores SEQ ID NO: 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, o 94, o cualquier parte funcional de estas. Una “parte funcional” de una secuencia promotora conocida o proporcionada en la presente se define anteriormente.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, la molécula de ARN codificada por una segunda casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcribible unida operativamente a un segundo promotor expresable de la planta puede provocar una reducción o eliminación en el nivel de expresión de un transcrito de ARNm y/o proteína codificada por un transgén FT en uno o más tejidos vegetales mediante supresión del transgén FT. Con el segundo casete de expresión, el nivel de expresión del transcrito y/o la proteína FT transgénica puede reducirse en al menos 1%, al menos 2%, al menos 3%, al menos 4%, al menos 5%, al menos 10 %, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%, al menos 98% o al menos 99% en uno o más tejidos vegetales, como uno o más tejidos meristemáticos, en comparación con el ARNm transcrito y/o nivel(s) de proteína del transgén FT que existirían en el mismo tejido o tejidos de la misma planta sin el segundo casete de expresión. El nivel de transcripción y/o proteína(s) de ARNm de un transgén FT puede reducirse en 1%-100%, 1%-75%, 1%-50%, 1%-25%, 5%-100%, 5%-95%, 5%-90%, 5%-85%, 5%-80%, 5%-75%, 5%-70%, 5%-65%, 5%-60%, 5%-55%, 5%-50%, 5%-45%, 5%-40%, 5%-35%, 5%-30%, 5%-25%, 5%-20%, 5%-15%, 5%-10%, 10%-100%, 10%-90%, 10%-80%, 10%-70%, 10%-60%, 10%-50%, 10%-40%, 10%-30%, 10%-20%, 25%-100%, 25%-75%, 25%-50%, 50%-100%, 50%-75%, o 75%-100% en uno o más más tejidos de plantas en comparación con el transcrito de ARNm y/o niveles de proteína del transgén de FT que existirían en el mismo tejido de planta sin el segundo casete de expresión.

De acuerdo con otras modalidades adicionales, el segundo casete de expresión puede

diseñarse en su lugar para codificar una molécula de ARN que apunta a un gen de FT endógeno para la supresión. La supresión selectiva del gen de FT endógeno puede lograrse apuntando a su secuencia de codificación si el transgén de FT tiene una secuencia de codificación diferente que el gen endógeno (es decir, la molécula de ARN puede comprender una secuencia de direccionamiento que es complementaria a al menos una porción de una codificación secuencia del gen FT endógeno). Alternativamente, incluso si las secuencias codificantes del gen transgénico FT y FT endógeno son iguales o similares, el segundo grupo de expresión puede estar diseñado para codificar una molécula de ARN que apunte a una secuencia no traducida o no codificante de un ARNm codificado por el gen FT endógeno, como dentro de la secuencia 5'UTR, 3'UTR, intrón y/o líder del transcrito de ARNm de FT endógeno, si esas secuencias son diferentes o faltan en el transgén de FT (es decir, la molécula de ARN puede comprender una secuencia de dirección que es complementaria a al menos una porción de una secuencia no traducida o no codificante del gen de FT endógeno). De acuerdo con estas modalidades, la secuencia de ADN transcripcional del segundo casete de expresión puede diseñarse de acuerdo con los principios proporcionados en el presente documento para apuntar a una secuencia de codificación particular o no traducida (no codificante) del ARNm codificado por el gen de FT endógeno para la supresión, en lugar de la secuencia de mARN codificada por un transgén FT.

De acuerdo con otro aspecto amplio de la presente invención, se proporciona un constructo o vector de molécula de ADN recombinante que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT (es decir, un transgén FT) operativamente unida a un promotor expresable en plantas, en donde la secuencia de polinucleótidos comprende además una secuencia que codifica un sitio o sensor objetivo para una molécula de ARN endógeno, tal como un ARNmi endógeno o ARNsi, estando el sitio o sensor objetivo presente en el transcripto de ARNm pre-ARNm y/o maduro codificado por el transgén FT, tal como dentro de la secuencia 5 'UTR, 3'UTR, intrón y/o líder. Como se usa aquí, un "sensor" es un pequeño sitio objetivo de ARN no codificante en un transcrito de ARNm de un transgén FT que es complementario a una molécula de ARN endógeno, tal como un ARNmi endógeno o ARNsi. La molécula de ARN endógeno puede estar

presente de forma natural en una célula o tejido vegetal y funcionar para suprimir uno o más genes objetivo que tienen el sitio objetivo para la molécula de ARN endógeno. Actualmente se propone que un transgén FT se pueda diseñar adicionalmente para tener una secuencia que codifique un sitio o sensor objetivo de ARNm para una molécula de ARN endógeno, de forma que el transgén FT sea suprimido por la molécula de ARN endógeno. La supresión del transgén FT puede usarse así para mitigar los fenotipos de terminación temprana observados con la expresión de FT transgénica sola (es decir, sin supresión) similar a la supresión a través de una segunda casete de expresión que codifica una molécula de supresión de ARN. La molécula de ARN endógeno puede ser cualquier molécula de ARN pequeña de origen natural conocida, como un ARNmi, ARNsi, etc., que funciona para desencadenar la supresión de uno o más genes objetivo en una célula vegetal. De acuerdo con muchas modalidades, la molécula de ARN endógeno puede expresarse de forma natural durante etapas tardías de desarrollo vegetativo y/o reproductivo (por ejemplo, en uno o más tejidos vegetativos, reproductivos y/o florales tardíos), de modo que el ARN endógeno molécula provoca la supresión del transgén FT después de proporcionar la señal inicial de inducción floral. De acuerdo con muchas modalidades, el promotor expresable de la planta, el sitio objetivo o ambos del transgén de FT son heterólogos con respecto a la secuencia codificadora de polinucleótidos del transgén de FT.

De acuerdo con algunas modalidades, la molécula de ARN endógeno puede ser una o más moléculas de miARN endógeno, tal como una o más moléculas de ARN miR156 y/o miR172. La secuencia de las moléculas endógenas miR156 y miR172 dependerá de la especie vegetal en particular en la cual se expresará el transgén FT. Un transgén FT puede diseñarse para codificar un sensor o sitio diana de ARNm para una molécula miR156 o miR172 presente en la especie vegetal de interés, la cual puede seleccionarse en función del momento y nivel de expresión de la o las moléculas miR156 y miR172. En la soja, hay tres moléculas miR172 que se expresan en mayor nivel cuando se acerca la transición de estado vegetativo a reproductivo, miARN172a (SEQ ID NO: 95), miARN172c (SEQ ID NO: 96), o miARN172k (SEQ ID NO: 97) y hay tres moléculas miR156 que abundan en la transición de juvenil a adulto, miR156a (SEQ ID NO: 103), miR156c (SEQ

ID NO: 104), o miR156q (SEQ ID NO: 105). Por lo tanto, una secuencia de polinucleótido que codifica una proteína FT puede comprender además una secuencia que codifique uno o más sensores o sitios diana para una o más de las moléculas de ARN endógenas miR156 o miR172. Cada uno de los sensores o sitios diana de miR156 o miR172 puede estar presente en la transcripción preARNm y/o ARNm maduro codificada por el transgén FT, tal como dentro de una secuencia de ARNm intrónica, 5' UTR, 3' UTR y/o de codificación codificada por la secuencia de polinucleótido del transgén FT, si bien los sensores o sitios diana de miR156 o miR172 se encuentran presentes más comúnmente en una secuencia no codificante y/o no traducida. Los ejemplos de las secuencias que codifican un sensor o sitio diana para una molécula miR156 de soja incluye las SEQ ID NO: 106, 108, 109 y 110, que son complementarias a una o más moléculas miR156. Por ejemplo, la secuencia proporcionada como la SEQ ID NO: 106 codifica la SEQ ID NO: 107 como un sensor o sitio diana de ARNm para miR156. Los ejemplos de las secuencias que codifican un sensor o sitio diana para miR172 de soja incluyen las SEQ ID NO: 98, 100 y 101, que son complementarias a una o más moléculas miR172. Por ejemplo, la secuencia proporcionada como la SEQ ID NO: 98 codifica la SEQ ID NO: 99 como un sensor o sitio diana de ARNm para miR172. Sin embargo, la secuencia de un sensor o sitio diana de un transgén FT puede determinarse en función de la secuencia complementaria de una molécula miR156 o miR172 conocida. De hecho, en función de la secuencia de la o las moléculas endógenas miR156, miR172 y/o otras moléculas de ARN pequeño presentes de manera natural en una especie vegetal determinada, podrá ser necesario modificar el casete de expresión de FT transgénico transformado en dicha especie vegetal para que tenga una secuencia que codifique un sensor o sitio diana de dicha molécula endógena miR156, miR172 u otra molécula de ARN pequeño. De acuerdo con algunas modalidades, un primer casete de expresión que comprende un transgén FT puede modificarse para tener una secuencia que codifique un sensor o sitio diana de una molécula endógena miR156, miR172 u otra molécula de ARN pequeño, incluso cuando esté presente un segundo casete de expresión en el mismo vector, constructo o molécula de ADN recombinante, o en la misma planta transgénica, que comprenda una secuencia de ADN transcribible que codifica una molécula de ARN que dirige además a la supresión del mismo transgén FT.

De acuerdo con modalidades de la presente invención, el sitio diana de una molécula de ARN endógena dependerá de la planta en la que se expresará el transgén FT. Las secuencias miR156 y miR172 (y sus sensores y sitios diana) son conocidas para una variedad de especies dicotiledóneas. El sensor o sitio diana del ARNm FT transgénico que es complementario a una molécula de ARN endógeno puede tener una longitud de 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 o 27 (o más) nucleótidos. Típicamente, un sensor o sitio diana de un transgén FT se diseñará para ser 100 % complementario a una miR156 o miR172 endógena. Sin embargo, no es necesario que un sensor o sitio diana para una molécula de supresión de ARN endógena sea 100 % complementario a una miR156 o miR172 endógena para que sea eficaz (es decir, que se hibride mediante una miR156 o miR172 y se dirija a la supresión). Por ejemplo, una complementariedad que no sea perfecta puede permitir que más de una de miR156, miR172 y/u otras moléculas de ARN endógenas se hibriden al sensor o sitio diana. Para cualquier especie vegetal determinada, el sensor o sitio diana codificado por la secuencia de codificación de polinucleótido de un transgén FT puede variar en alguna medida y aún unirse, o hibridarse, a una molécula de ARN endógena, tal como una molécula de ARN miR156 o miR172 endógena, cuando se expresa en una célula vegetal. Por consiguiente, el sitio diana de la transcripción de ARNm codificada por el transgén FT puede contener uno o más errores de apareamiento, tal como 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 o más errores de apareamiento, en función de la longitud de alineación entre la molécula de ARN endógena (por ejemplo, miR156, miR172) y la transcripción de ARNm. De hecho, el sitio diana codificado por una secuencia de codificación de polinucleótido de un transgén FT puede ser al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %,al menos 92 %, al menos 93 %,al menos 94 %, al menos 95 %,al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %,al menos 99.5 %, al menos 99.9 % o 100 % complementaria a la secuencia diana de una molécula de ARN endógena (por ejemplo miR156 o miR172), tal como el sensor o sitio diana para una molécula miR172 en la soja (SEQ ID NO: 98, 100 o 101) o el sensor o sitio diana para una molécula miR156 en la soja (SEQ ID NO: 106, 108, 109 o 110).

De acuerdo con otro aspecto amplio de la presente invención, se proporcionan métodos

para transformar una célula vegetal, tejido o explante con una molécula de ADN recombinante, constructo o vector provistos aquí para producir una planta transgénica. La molécula, constructo o vector de ADN recombinante puede comprender un transgén FT o casete de expresión. De acuerdo con la forma de supresión, el transgén FT puede comprender además un sitio objetivo para una molécula de ARN endógeno. La molécula, constructo o vector de ADN recombinante puede comprender un segundo casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige al transgén FT para la supresión. Alternativamente, el transgén FT y la secuencia de ADN transcripcional que codifica la molécula de ARN pueden estar presentes en dos moléculas, construcciones o vectores de ADN separados que pueden transformarse o transformarse por separado en plantas. Una molécula, constructo o vector de ADN recombinante que comprende un transgén FT y la secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige al transgén FT para su supresión pueden transformarse en una planta. De acuerdo con otras modalidades, una primera constructo o vector de molécula de ADN recombinante que comprende un transgén FT y una segunda molécula de ADN recombinante, constructo o vector que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige al transgén FT para su supresión pueden co-transformarse en una planta De acuerdo con otras modalidades, una planta transformada con un primer casete de expresión que comprende un transgén FT se puede transformar con un segundo casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige al transgén FT para supresión o una planta transformada con una primera expresión el casete que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige al transgén FT para la supresión se puede transformar con un segundo casete de expresión que comprende un transgén FT. De acuerdo con otras modalidades adicionales, una primera planta transgénica que tiene un primer casete de expresión que comprende (i) un transgén FT o (ii) una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige a un transgén FT para su supresión puede cruzarse con una segunda planta que tiene un segundo casete de expresión que comprende (i) una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige al transgén FT para supresión o (ii) un

transgén FT, de modo que pueden producirse una o más plantas progenie que comprenden tanto el primero como el segundo casetes de expresión, (es decir, tanto el transgén FT como la secuencia de ADN transcribible).

En la técnica se conocen numerosos métodos para transformar cromosomas en una célula vegetal con una molécula, constructo o vector de ADN recombinante, que se puede usar de acuerdo con los métodos de la presente invención para producir una célula vegetal, una parte vegetal y una planta transgénica. Cualquier método o técnica adecuada para la transformación de una célula vegetal conocida en la técnica puede usarse de acuerdo con los métodos actuales. Los métodos eficaces para la transformación de plantas incluyen la transformación mediada por bacterias, como la transformación mediada por *Agrobacterium* o mediada por *Rhizhobium*, y la transformación mediada por bombardeo de microproyectiles. Se conocen en la técnica una variedad de métodos para transformar explantes con un vector de transformación mediante transformación mediada por bacterias o bombardeo de microproyectiles y posteriormente cultivar, etc., esos explantes para regenerar o desarrollar plantas transgénicas. También se conocen en la técnica otros métodos para la transformación de plantas, tales como microinyección, electroporación, infiltración al vacío, presión, sonicación, agitación de fibras de carburo de silicio, transformación mediada por PEG, etc. Las plantas transgénicas producidas por estos métodos de transformación pueden ser quiméricas o no quiméricas para el evento de transformación dependiendo de los métodos y explantes utilizados. Los métodos adecuados para la transformación de plástidos con una molécula o constructo de ADN recombinante también son conocidos en la técnica.

También se proporcionan métodos para expresar un transgén FT en una o más células o tejidos de plantas bajo el control de un promotor en estado vegetativo, que también puede ser un promotor específico de meristemo o meristemo específico. La expresión del transgén FT puede modificarse, atenuarse y/o refinarse mediante la presencia de un sitio o sensor objetivo para una molécula de ARN endógeno en el ARNm codificado por el transgén FT, de modo que la molécula de ARN endógeno se dirija al transgén FT para la supresión. Además de un transgén FT, una molécula de ARN que se dirige al transgén FT para la supresión también puede expresarse a partir de una secuencia de ADN

transcribible transformada en la planta. Dichos métodos pueden usarse para alterar el tiempo de floración de una planta y/o el número de flores, frutas, vainas y/o semillas productivas o exitosas por nodo de la planta en relación con un tipo silvestre o planta de control que no tenga el transgén FT. De hecho, los métodos de la presente invención se pueden usar para alterar fenotipo(s) reproductivo(s) o relacionados con el rendimiento o rasgo(s) de la planta transgénica.

La transformación de un material vegetal o un explante objetivo se puede practicar en un cultivo de tejido en medios nutrientes, por ejemplo, una mezcla de nutrientes que permite que las células crezcan in vitro. Los objetivos o explantes de células receptoras pueden incluir, pero no se limitan a, meristemos, puntas de brotes, protoplastos, hipocótilos, callos, embriones inmaduros o maduros, brotes, yemas, secciones nodales, hojas, células gaméticas tales como microsporas, polen, esperma y huevo células, etc., o cualquier porción adecuada de las mismas. Se contempla que cualquier célula o tejido transformable a partir del cual se pueda regenerar o desarrollar/desarrollar una planta fértil se puede usar como objetivo para la transformación. Los explantes, células o tejidos transformados pueden someterse a etapas de cultivo adicionales, tales como inducción de callo, selección, regeneración, etc., como se conoce en la técnica. Las células, tejidos o explantes transformados que contienen una inserción de ADN recombinante se pueden desarrollar, desarrollar o regenerar en plantas transgénicas en cultivo, tapones o suelo de acuerdo con los métodos conocidos en la técnica. Las plantas transgénicas pueden cruzarse más hacia ellas mismas u otras plantas para producir semillas y progenies transgénicas. Una planta transgénica también se puede preparar cruzando una primera planta que comprende la secuencia de ADN recombinante o evento de transformación con una segunda planta que carece de la inserción. Por ejemplo, se puede introducir una secuencia de ADN recombinante en una primera línea de planta susceptible de transformación, que luego se puede cruzar con una segunda línea de planta para introgresar la secuencia de ADN recombinante en la segunda línea de planta. La progenie de estos cruces se puede volver a cruzar más atrás en la línea más deseable múltiples veces, como a través de 6 a 8 generaciones o cruces traseros, para producir una planta progenie con sustancialmente el mismo genotipo que la línea parental original, pero para

la introducción de la secuencia recombinante de ADN.

Un constructo de ADN recombinante o casete de expresión de la presente invención puede incluirse dentro de un vector de transformación de ADN para su uso en la transformación de una célula, tejido o explante de planta objetivo. Dicho vector de transformación de la presente invención puede comprender generalmente secuencias o elementos necesarios o beneficiosos para la transformación efectiva además de la secuencia de ADN transcripcional y/o el transgén FT o el casete de expresión. Para la transformación mediada por *Agrobacterium*, el vector de transformación puede comprender un segmento o región de ADN de transferencia de ingeniería (o T-ADN) que tiene dos secuencias de borde, un borde izquierdo (LB) y un borde derecho (RB), flanqueando al menos la secuencia de ADN transcribible y/o FT, de manera que la inserción del T-ADN en el genoma de la planta creará un evento de transformación para la secuencia de ADN transcripcional y/o el transgén FT. En otras palabras, la secuencia de ADN transcripcional y/o el transgén FT se ubicaría entre los bordes izquierdo y derecho del T-ADN, tal vez junto con un transgén adicional o casetes de expresión, como un marcador seleccionable de plantas transgén y/u otro(s) gen(es) de interés agronómico que pueden conferir un rasgo o fenotipo de interés agronómico a una planta. Además de las secuencias de codificación de proteínas, un gen de interés agronómico puede comprender además una secuencia de polinucleótidos que codifica un elemento de supresión de ARN. De acuerdo con algunas modalidades, la transcripción de la secuencia de ADN y/o el transgén FT y el transgén marcador seleccionable de la planta (u otro gen de interés agronómico) pueden estar presentes en segmentos separados de ADN T en la misma o diferentes moléculas de ADN recombinante, tales En cuanto a la co-transformación. Un vector o constructo de transformación puede comprender además elementos de mantenimiento procariota, que para la transformación mediada por *Agrobacterium* pueden localizarse en el esqueleto del vector fuera de la(s) región(es) de ADN-T.

De acuerdo con algunas modalidades, puede estar presente un primer casete de expresión que comprende un transgén FT y un segundo casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige al transgén FT para la supresión en el mismo ADN-T de un vector de

transformación (es decir, entre los mismos bordes derecho e izquierdo de T-ADN); o un primer casete de expresión que comprende un transgén FT puede estar presente en un primer ADN-T (que comprende un primer borde derecho y un primer borde izquierdo), y un segundo casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige al transgén FT para la supresión puede estar presente en un segundo ADN-T (que comprende un segundo borde derecho y un segundo borde izquierdo), en donde el primer y el segundo ADN-T están en el mismo vector de transformación; o un primer casete de expresión que comprende un transgén FT puede estar presente en un primer T-ADN de un primer vector de transformación, y un segundo casete de expresión que comprende una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que apunta al transgén FT para la supresión puede estar presente en un segundo T-ADN de un segundo vector de transformación. La primera y la segunda casetes de expresión presentes en uno o dos vectores de transformación se pueden co-transformar en una célula vegetal, o la primera y la segunda casetes de expresión pueden estar presentes en dos vectores de transformación separados y transformarse en células vegetales por separado. Una primera o segunda casete de expresión se puede transformar en una o más células de la planta que ya tienen un evento de transformación para la otra casete de expresión, o la primera y la segunda casetes de expresión se pueden transformar en diferentes células vegetales que pueden desarrollarse o regenerarse en una primera y segunda planta transgénica La primera o la segunda plantas transgénicas y/o su progenie pueden cruzarse entre sí, de manera que los casetes de expresión primero y segundo se juntan y están presentes en la misma planta.

Un transgén marcador seleccionable de planta en un vector de transformación o constructo de la presente invención se puede usar para ayudar en la selección de células o tejidos transformados debido a la presencia de un agente de selección, tal como un antibiótico o herbicida, en el que la planta El transgén marcador seleccionable proporciona tolerancia o resistencia al agente de selección. Por lo tanto, el agente de selección puede sesgar o favorecer la supervivencia, el desarrollo, el crecimiento, la proliferación, etc., de las células transformadas que expresan el gen marcador seleccionable de plantas, tal como para aumentar la proporción de células o tejidos transformados en la planta R_0. Los

genes marcadores seleccionables de plantas usados comúnmente incluyen, por ejemplo, aquellos que confieren tolerancia o resistencia a antibióticos, tales como kanamicina y paromomicina (nptII), higromicina B (*aph IV*), estreptomicina o espectinomicina (*aadA*) y gentamicina (*aac3 y aacC4*), o aquellos que confieren tolerancia o resistencia a los herbicidas como glufosinato (barra o palmito), dicamba (*DMO*) y glifosato (*aroA* o *EPSPS*). También pueden usarse genes marcadores seleccionables para plantas, que proporcionan la capacidad de seleccionar visualmente transformantes, tales como luciferasa o proteína fluorescente verde (GFP), o un gen que expresa una beta glucuronidasa o gen *uidA* (GUS) para el cual se conocen diversos sustratos cromogénicos.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, los métodos para transformar una célula vegetal, un tejido o un explante con una molécula o constructo de ADN recombinante pueden incluir además integración dirigida o dirigida al sitio. De acuerdo con estos métodos, una porción de una molécula molde de donante de ADN recombinante (es decir, una secuencia de inserción) puede insertarse o integrarse en un sitio o lugar deseado dentro del genoma de una planta. La secuencia de inserción de la plantilla donante puede comprender un transgén o constructo, tal como (i) un constructo o transgén FT que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT florigénica unida operativamente a un promotor de etapa vegetativa, que también puede ser un compuesto preferido de meristemo o promotor específico del meristemo, y/o (ii) una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige a un transgén FT para la supresión y está operativamente unida a un promotor de etapa vegetativa y/o promotor de etapa reproductiva, que también puede ser un meristemo preferido o promotor específico de meristemo. La plantilla del donante también puede tener uno o dos brazos de homología que flanquean la secuencia de inserción para promover el evento de inserción dirigida a través de la recombinación homóloga y/o la reparación dirigida por homología. Por lo tanto, una molécula de ADN recombinante de la presente invención puede incluir además una plantilla de donante para la integración dirigida o dirigida del sitio de un transgén o constructo, tal como un transgén o constructo FT, en el genoma de una planta.

Cualquier sitio o lugar dentro del genoma de una planta puede elegirse potencialmente

para la integración dirigida al sitio de un transgén o constructo de la presente invención. Para la integración dirigida al sitio, primero se puede hacer una rotura o hebra de doble hebra en un locus genómico seleccionado con una nucleasa específica del sitio, tal como, por ejemplo, una nucleasa de dedo de zinc (ZFN), una meganucleasa, un activador de transcripción como la nucleasa (TALEN), un Argonaute (ejemplos no limitantes de proteínas Argonaute incluyen *Thermus thermophilus* Argonaute (TtAgo), *Pyrococcus furiosus* Argonaute (PfAgo), *Natronobacterium gregoryi* Argonaute (NgAgo), una nucleasa guiada por ARN (ejemplos no limitantes de Las nucleasas guiadas por ARN incluyen Cas1, Cas1B, Cas2, Cas3, Cas4, Cas5, Cas6, Cas7, Cas8, Cas9 (también conocido como Csn1 y Csx12), Cas10, Csy1, Csy2, Csy3, Cse1, Cse2, Csc1, Csc2, Csa5 , Csn2, Csm2, Csm3, Csm4, Csm5, Csm6, Cmr1, Cmr3, Cmr4, Cmr5, Cmr6, Csb1, Csb2, Csb3, Csx17, Csx14, Csx10, Csx16, CsaX, Csx3, Csx1, Csx15, Csf1, Csf2, Csf3. , Csf4, Cpf1, homólogos de los mismos, o versiones modificadas de los mismos), una recombinasa (sin limitar, por ejemplo, una tirosina recombinasa unida a un motivo de reconocimiento de ADN (por ejemplo, Cre recombinasa, Flp recombinasa, Tnp1 recombinasa), una serina recombinasa unida a un motivo de reconocimiento de ADN (por ejemplo, integrasa PhiC31, integrasa R4, integrasa TP-901); una transposasa (sin limitar, por ejemplo, una transposasa de ADN unida a un dominio de unión al ADN); o cualquier combinación de los mismos. También se proporcionan ARNs guía (por ejemplo, ARN CRISPR (crARNs), ARN CRISPR transactivadores (tracrARNs), ARN guía (ARNm), ARN de una sola guía (ARNgc)) útiles para los métodos de uso de nucleasas guiadas por ARN. Se puede usar cualquier método conocido en la técnica para la integración dirigida al sitio. En presencia de una molécula de plantilla de donante, la rotura de doble cadena o mella puede luego repararse mediante recombinación homóloga entre el(los) brazo(s) de homología del molde del donante y el genoma de la planta, o mediante unión final no homóloga (NHEJ), resultando en la integración dirigida al sitio de la secuencia de inserción en un genoma de la planta para crear el evento de inserción objetivo en o cerca del sitio de la rotura de doble cadena o mella. Por lo tanto, se puede lograr la inserción o integración específica del sitio de un transgén o constructo.

Tal como se usa en la presente, el término “inserción” con referencia a la transformación

vegetal o la integración dirigida al sitio se refiere a una inserción o integración de un polinucleótido exógeno o secuencia, molécula o constructo de ADN, tal como un vector de transformación o secuencia de ADN-T o una secuencia de inserción de una plantilla donante en el genoma de una planta. En este contexto, el término “exógeno” se refiere a un polinucleótido o secuencia, molécula o constructo de ADN que se introduce en un tejido o célula vegetal mediante el uso de cualquier técnica o método de edición de genoma o transformación vegetal conocido en la técnica.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, una planta que se puede transformar con una molécula de ADN recombinante o un vector de transformación que comprende un transgén FT y/o una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige a un transgén FT para la supresión puede incluir un variedad de plantas con flores o angiospermas, que puede definirse además como que incluye varias especies de plantas dicotiledóneas (dicotiledóneas), tales como soya, algodón, alfalfa, canola, remolacha azucarera, alfalfa y otras leguminosas. Una planta dicotiledónea podría ser un miembro de *Brassica* sp. (por ejemplo, *B. napus, B. rapa, B. juncea*), en particular las especies de *Brassica* útiles como fuentes de aceite de semilla, alfalfa (*Medicago sativa*), girasol (*Helianthus annuus*), cártamo (*Carthamus tinctorius*), palma de aceite (*Elaeis* spp.), sésamo (*Sesamum* spp.), coco (*Cocos* spp.), soya (*Glycine max*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), patata (*Solanum tuberosum*), cacahuetes (*Arachis hypogaea*), algodón (*Gossypium barbadense, Gossypium hirsutum*) batata (*Ipomoea batatus*), mandioca (*Manihot esculenta*), café (*Coffea* spp.), té (*Camellia* spp.), árboles frutales, como manzana (*Malus* spp.), *Prunus* spp., tal como ciruela, albaricoque, melocotón, cereza, etc., pera (*Pyrus* spp.), higuera (*Ficus* casica), plátano (*Musa* spp.), etc., cítricos (*Citrus* spp.), cacao (*Theobroma* cacao), aguacate (*Persea* americana), oliva (*Olea europaea*), almendra (*Prunus amygdalus*), nuez (*Juglans* spp.), Fresa (*Fragaria* spp.), Sandía (*Citrullus lanatus*), pimienta (*Capsicum* spp.), Remolacha azucarera (*Beta vulgaris*), uva (*Vitis, Muscadinia*), tomate (*Lycoper Sicon esculentum, Solanum lycopersicum*) y pepino (*Cucumis sativis*). Las leguminosas incluyen frijoles y guisantes. Los frijoles incluyen, por ejemplo, guar, algarrobas, fenogreco, soya, habas de jardín, caupí, mungo, lima, fava, lentejas y garbanzos. Dado que la presente invención puede

aplicarse a una amplia gama de especies vegetales, la presente invención se aplica además a otras estructuras botánicas análogas a vainas de plantas leguminosas, tales como cápsulas, silos, frutas, nueces, tubérculos, etc.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención y dependiendo de la especie de planta particular transformada, una planta que expresa ectópicamente una secuencia de FT florigénica, que puede modificarse mediante supresión de acuerdo con se proporciona aquí, puede tener un número alterado o mayor de cápsulas, silicuas, frutos, nueces, tubérculos, etc., por nodo(s), tallo principal y/o rama(s) de la planta, y/o un número alterado o mayor de cápsulas, silos, frutas, nueces, tubérculos, etc. , por planta, en relación con un tipo silvestre o planta de control que no tiene el transgén FT.

De acuerdo con otro aspecto amplio de la presente invención, se proporcionan una planta o plantas transgénicas, célula(s) de planta, semilla(s) y parte(s) de planta que comprende uno o más eventos de transformación o inserciones en el genoma de al menos una célula vegetal del mismo, el evento o inserción de transformación que comprende (i) una secuencia, constructo o polinucleótido de ADN recombinante que incluye un transgén de Floración de Locus T (FT), en el que el transgén de FT comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína de FT operativamente unida a un promotor de etapa vegetativa, que también puede ser un promotor específico del meristemo o meristemo, y/o (ii) una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige a un transgén FT para su supresión ligada operativamente a una etapa vegetativa y/o reproductiva promotor de etapa, que también puede ser un promotor específico de meristemo o meristemo específico. Como se proporciona aquí, el transgén FT puede ser dirigido para la supresión por una molécula de ARN expresada y/o endógena transgénicamente. La molécula de ARN puede estar codificada por una secuencia de ADN transcribible que también se transforma en la planta, la parte de la planta, la semilla de la planta o la célula de la planta. La proteína FT codificada por la secuencia polinucleotídica puede corresponder a un gen FT nativo en la planta transgénica transformada con la secuencia codificante de polinucleótido u homóloga o similar a una proteína FT nativa de la planta transgénica (es decir, no nativa de la planta transgénica pero similar a una proteína FT nativa o endógena) o heteróloga a la planta

transgénica. Dicha planta transgénica puede producirse mediante cualquier método de transformación adecuado, que puede ir seguido de selección, cultivo, regeneración, desarrollo, etc., de acuerdo con se desee o sea necesario para producir una planta R_0 transgénica, que luego puede autofecundarse o cruzarse con otras plantas para generar semillas de R1 y generaciones de progenies posteriores y semillas a través de cruces adicionales, etc. De manera similar, las modalidades de la presente invención incluyen además una célula de planta, tejido, explante, etc., que comprende una o más células transgénicas que tienen un evento de transformación o inserción genómica de una secuencia de ADN o polinucleótido recombinante que comprende un transgén FT y/o una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige a un transgén FT para la supresión.

Las plantas transgénicas, las células vegetales, las semillas y las partes vegetales de la presente invención pueden ser homocigóticas o hemizigóticas para un evento transgénico o inserción de un transgén FT y/o una secuencia de ADN transcribible en el genoma de al menos una célula vegetal de la misma, o puede contener cualquier cantidad de copias de un (los) evento(s) transgénico(s) o inserción(es) que comprende(n) un transgén FT y/o una secuencia de ADN transcribible. La dosis o cantidad de expresión de un transgén FT puede verse alterada por su zigotosidad y/o número de copias, lo que puede afectar el grado o la extensión de los cambios fenotípicos en la planta transgénica, etc. De acuerdo con algunas modalidades, una planta transgénica que comprende un El elemento transgénico FT y/o el elemento de supresión FT, que puede modificarse, atenuarse y/o refinarse de acuerdo con se proporciona en el presente documento, se puede caracterizar adicionalmente como poseedor de uno o más fenotipos o rasgos alterados de floración o reproducción, que pueden incluir fenotipos o rasgos alterados relacionados con el rendimiento , como un aumento en el número de flores, vainas, etc., y/o semillas por planta (y/o por nodo de la planta) en relación con un tipo silvestre o planta de control que no tiene el transgén FT (y/o no con un elemento de supresión FT). Dicha planta transgénica se puede caracterizar además por tener una estructura, morfología y/o arquitectura alterada debido a la altura de la planta alterada, patrones de ramificación, número de nudos florales, etc., con relación a un tipo silvestre o planta de control. De

hecho, los fenotipos o rasgos relacionados con el rendimiento alterados por la sobreexpresión de FT en una planta transgénica pueden incluir: tiempo de floración, duración reproductiva, duración de la floración, cantidad o tiempo de abscisión de flores, vainas, silicuas, cápsulas, frutos, nueces, etc. de flores por nodo, número de racimos por nodo, número de ramas por planta, número de nodos por planta, número de nodos en el tallo principal, número de nodos en ramas, número de vainas, cápsulas, silos, frutos, nueces, etc., por planta, número de vainas, cápsulas, silicuas, frutos, nueces, etc., por nodo, cantidad de vainas, cápsulas, silicuas, frutas, nueces, etc., en el tallo principal, cantidad de vainas, semillas, cápsulas, silos, frutas, frutos secos, etc., en las ramas, el peso de la semilla (como el peso de 1000 semillas), el número de semillas por planta, el número de semillas en el tallo principal, el número de semillas por nudo y/o la arquitectura alterada de la planta, en comparación con un tipo silvestre o planta de control que no tiene el transgén FT (y/o que no tiene un elemento de supresión FT). Como se usa aquí, el término "sobreexpresión" en referencia a un transgén de FT incluye la expresión ectópica del transgen.

Para los fines de la presente invención, una "planta" puede incluir un explante, planta de semillero, plantula o planta completa en cualquier etapa de regeneración o desarrollo. Como se usa aquí, una "planta transgénica" se refiere a una planta cuyo genoma se ha alterado mediante la integración o inserción de una molécula, constructo o secuencia de ADN recombinante. Una planta transgénica incluye una planta R_0 desarrollada o regenerada a partir de una(s) célula(s) de planta transformada originalmente, así como plantas transgénicas de progenie en generaciones posteriores o cruces de la planta transgénica R_0. Como se usa aquí, una "parte de la planta" puede referirse a cualquier órgano o tejido intacto de una planta, como un meristemo, un órgano/estructura de brote (por ejemplo, una hoja, un tallo y un tubérculo), una raíz, una flor o un órgano/estructura floral (por ejemplo, bráctea, sépalo, pétalo, estambre, carpelo, antera y óvulo), semilla (por ejemplo, embrión, endospermo y cubierta de siembra), fruta (por ejemplo, ovario maduro), propágulos u otros tejidos vegetales (por ejemplo, tejido vascular, tejido de tierra, y similares), o cualquier parte del mismo. Las partes de la planta de la presente invención pueden ser viables, no viables, re-generables y/o no re-generables. Un "propágulo" puede

incluir cualquier parte de la planta que sea capaz de crecer en una planta completa. Para los fines de la presente invención, una célula vegetal transformada con un elemento de supresión FT transgénica y/o FT de acuerdo con modalidades de la presente invención puede incluir cualquier célula vegetal que sea competente para la transformación como se entiende en la técnica en base al método de transformación, tal como una célula de meristemo, una célula embrionaria, una célula de callo, etc. Como se usa aquí, una "célula de planta transgénica" simplemente se refiere a cualquier célula de planta que se transforma con una molécula o secuencia de ADN recombinante integrada de manera estable. Una célula de planta transgénica puede incluir una célula de planta transformada originalmente, una célula de planta transgénica de una planta R_0 regenerada o desarrollada, o una célula de planta transgénica de cualquier planta progenie o descendencia de la planta R_0 transformada, que incluye célula(s) de una planta semilla o embrión, o una planta cultivada o célula de callo, etc.

De acuerdo con muchas modalidades, una planta transgénica puede comprender una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína FT florigénica unida operativamente a un promotor de etapa vegetativo. De acuerdo con algunas modalidades, la expresión de una proteína FT florigénica en una planta transgénica puede suprimirse en una etapa y/o tejido vegetativo y/o reproductivo de una planta transgénica, tal como a través de una molécula de ARN expresada endógena y/o transgénica o ectópicamente. De acuerdo con algunas modalidades, la expresión de una proteína FT florigénica en una planta transgénica puede estar restringida espacial y/o temporalmente por una pequeña molécula de ARN. De acuerdo con algunas modalidades, una planta transgénica puede comprender una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige a un gen FT o transgén florigénico para su supresión.

Las modalidades de la presente invención pueden incluir además métodos para hacer o producir plantas transgénicas que tienen rasgos o fenotipos alterados reproductivos y/o relacionados con el rendimiento, tales como por transformación, cruce, etc., en el que el método comprende la introducción de una molécula de ADN recombinante, un constructo o secuencia que comprende un transgén FT y/o una secuencia de ADN transcripcional que codifica una molécula de ARN que se dirige a un transgén FT para su supresión en

una célula vegetal y luego regenera o desarrolla la planta transgénica a partir de la célula vegetal transformada, Presión de selección favoreciendo el evento transgénico. Dichos métodos pueden comprender transformar una célula vegetal con una molécula de ADN recombinante o una secuencia que comprende un transgén FT y/o una secuencia de ADN transcribible, y seleccionar una planta que tenga uno o más fenotipos o rasgos alterados, como uno o más de los siguientes: tiempo de floración, duración reproductiva, duración de la floración, cantidad o momento de abscisión de flores, vainas, cápsulas, silicuas, frutos, nueces, etc., número de flores por nodo, número de racimos por nodo, número de ramas por planta, número de nodos por planta, número de nodos en el tallo principal, número de nodos en ramas, número de vainas, cápsulas, silicuas, frutos, nueces, etc., por planta, cantidad de vainas, cápsulas, silicuas, frutas, nueces, etc., por nodo, número de vainas, cápsulas, silicuas, frutos, nueces, etc., en el tallo principal, número de vainas, semillas, cápsulas, silicuas, frutos, nueces, etc., en ramas, peso de semilla (como 1000 peso de semilla), número de semillas por planta, número de semillas en el tallo principal, número de semillas por nodo y arquitectura de planta alterada, en comparación con un tipo silvestre o planta de control que no tiene el transgén FT (y/o que no tiene un elemento de supresión FT). Por ejemplo, las modalidades de la presente invención pueden comprender métodos para producir una planta transgénica que tiene un mayor número de flores, vainas y/o semillas por planta (y/o un mayor número de flores, vainas y/o semillas por nodo de la planta), en donde el método comprende introducir una molécula de ADN recombinante que comprende un transgén FT y/o una secuencia de ADN transcribible en una célula vegetal, y luego regenerar o desarrollar la planta transgénica de la célula vegetal. La planta transgénica se puede seleccionar a partir de uno o más de los rasgos o fenotipos reproductivos y/o relacionados con el rendimiento anterior. Una planta transgénica, célula vegetal o tejido vegetal también se puede seleccionar en base a la presencia de un elemento transgénico FT y/o supresión FT usando uno o más métodos o kits conocidos en la técnica, tales como secuenciación de ADN, hibridación, unión de anticuerpos y/u otras técnicas moleculares.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, una planta transgénica puede tener al menos un 1%, al menos un 2%, al menos un 5%, al menos el 10%, al menos el

15%, al menos el 20%, al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 35%, al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 100%, al menos el 125%, al menos el 150%, al menos el 175%, al menos el 200%, al menos el 250%, al menos el 300%, al menos el 350%, o al menos el 400% más flores, vainas, semillas, cápsulas, silicuas, frutas, nueces o tubérculos que una planta de control no transgénico. De acuerdo con algunas modalidades, una planta transgénica puede tener un promedio de al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 100%, al menos 125%, al menos 150%, al menos 175%, al menos 200%, al menos 250%, al menos 300%, al menos 350% o al menos 400% más de flores, vainas, semillas, cápsulas, silicuas, frutas, nueces o tubérculos por nodo que una planta de control no transgénica. Una planta transgénica puede tener un promedio de al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, o al menos 10 vainas, cápsulas, silicuas, frutas, nueces o tubérculos por nodo. Una planta transgénica puede tener un promedio de 2 a 10, 2 a 9, 2 a 8, 2 a 7, 2 a 6, 2 a 5, 2 a 4, 2 a 3, 3 a 10, 3 a 9, 3 a 8, 3 a 7, 3 a 6, 3 a 5, 3 a 4, 4 a 10, 4 a 9, 4 a 8, 4 a 7, 4 a 6, o 4 a 5 cápsulas, cápsulas, silicuas, frutas, nueces o tubérculos por nodo. Una planta transgénica puede tener un promedio de al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, o al menos 10 flores más , vainas, semillas, cápsulas, silicuas, frutas, nueces o tubérculos por nodo en comparación con una planta de control no transgénico. Una planta transgénica puede ser una planta de soya, y la planta transgénica puede tener más vainas y/o semillas por nodo en promedio que una planta de control no transgénica. Una planta transgénica puede florecer al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, en menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40 o al menos 45 días antes que una planta de control no transgénico.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, se proporciona una planta transgénica que comprende una secuencia de polinucleótidos que codifica una proteína

FT florigénica unida operativamente a un promotor de etapa vegetativo, en donde la expresión de la secuencia de codificación de polinucleótido se atenúa espacialmente y/o temporalmente, modificado y/o refinado por una molécula de ARN, que puede ser una pequeña molécula de ARN no codificante. El nivel de expresión o traducción del ARNm y/o proteína FT florigénica en la planta transgénica puede suprimirse o reducirse en uno o más tejidos meristemáticos, reproductivos y/o florales y/o durante una o más etapas reproductivas. De acuerdo con algunas modalidades, la duración reproductiva y/o la duración de la floración de una planta transgénica que comprende un elemento de supresión FT de transgenes y/o FT como se proporciona en la presente memoria pueden ser al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40, o al menos 45 días más que la duración reproductiva y/o la duración de la floración de una planta silvestre o de control, pero también puede no ser mayor que (es decir, no mayor o mayor que) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 o 60 días más que el duración reproductiva y/o duración de la floración de una planta silvestre o de control. De acuerdo con algunas modalidades, el inicio de la floración (es decir, el aspecto de la primera flor abierta) de una planta transgénica que comprende un elemento de supresión FT de transgenes y/o FT como se proporciona en la presente puede ser u ocurrir al menos 1, al menos 2, en al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40, o al menos 45 días antes que una planta silvestre o de control, pero también puede ser no más que (es decir, no mayor o más que) 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 o 60 días anteriores al inicio de la floración de una planta tipo silvestre o de control.

De acuerdo con algunas modalidades, el número de flores, semillas, cápsulas, silicuas, frutas, nueces, vainas o tubérculos en una planta transgénica que comprende un elemento transgénico FT y/o un elemento de supresión FT tal como se proporciona aquí puede ser al menos 1% al menos un 2%, al menos un 3%, al menos un 4%, al menos un 5%, al

menos un 6%, al menos un 7%, al menos un 8%, al menos un 9%, al menos un 10%, al menos un 15%, al menos un 20%, al menos un 25%, al menos un 30%, al menos un 35%, al menos un 40%, al menos un 45%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 100%, al menos un 125%, al menos un 150%, al menos un 175%, al menos un 200%, al menos un 250%, al menos un 300%, al menos un 350%, o al menos un 400% mayor que una planta silvestre o de control. De acuerdo con algunas modalidades, el número de flores, semillas, cápsulas, silicuas, frutos, nueces o vainas en el tallo principal de una planta transgénica que comprende un elemento transgénico FT y/o un elemento de supresión FT de acuerdo con se proporciona aquí puede ser al menos 1%, en menos 2%, al menos 3%, al menos 4%, al menos 5%, al menos 6%, al menos 7%, al menos 8%, al menos 9%, al menos 10%, al menos 15%, en al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 100%, al menos 125%, al menos 150%, al menos 175%, o al menos 200%, al menos 250%, al menos 300%, al menos 350%, o al menos 400% mayor que una planta silvestre o de control. De acuerdo con algunas modalidades, el número de flores, semillas, cápsulas, silicuas, frutos, nueces o vainas por nodo en el tallo principal de una planta transgénica que comprende un elemento transgénico FT y/o supresión FT de acuerdo con se proporciona aquí puede ser al menos 1%, al menos el 2%, al menos el 3%, al menos el 4%, al menos el 5%, al menos el 6%, al menos el 7%, al menos el 8%, al menos el 9%, al menos el 10%, al menos el 15%, al menos el 20%, al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 35%, al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 90%, al menos el 100%, al menos el 125%, al menos el 150%, al menos el 175%, o al menos el 200%, al menos el 250%, al menos el 300%, al menos 350 %, o al menos el 400% mayor que una planta de control o tipo silvestre.

Cada una de estas cantidades o números de características por planta, tallo principal o rama, tal como el número de flores, cápsulas, semillas, silicuas, frutas, nueces o vainas por planta, tallo principal o rama puede calcularse como un promedio de dos o más plantas o determinadas para una planta, y las cantidades o números de flores, cápsulas,

semillas, silicuas, frutos, nueces o vainas por nodo pueden calcularse como un promedio para una o más plantas. Por lo tanto, los cambios porcentuales pueden calcularse entre dos plantas, entre una planta y un promedio de dos o más plantas, o entre dos promedios (con cada promedio de dos o más plantas).

De acuerdo con algunas modalidades, el número de flores, cápsulas, semillas, silicuas, frutas, nueces, vainas o tubérculos por nodo en una planta transgénica que comprende un elemento transgénico FT y/o elemento de supresión FT de acuerdo con se proporciona aquí puede estar en promedio en menos 1%, al menos 2%, al menos 3%, al menos 4%, al menos 5%, al menos 6%, al menos 7%, al menos 8%, al menos 9%, al menos 10%, en menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, en al menos 75%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 100%, al menos 125%, al menos 150%, al menos 175%, o al menos 200%, al menos 250%, al menos 300%, al menos 350% o al menos 400% mayor que una planta silvestre o de control. De acuerdo con algunas modalidades, una planta transgénica que comprende un elemento de supresión FT de transgenes y/o FT como se proporciona en la presente memoria puede tener en promedio al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, en al menos 8, al menos 9, o al menos 10 flores, vainas, cápsulas, semillas, silicuas, frutas, nueces, vainas o tubérculos por nodo. De acuerdo con algunas modalidades, una planta transgénica que comprende un elemento de supresión de transgenes FT y/o FT como se proporciona en la presente memoria puede tener en promedio de 2 a 10, 2 a 9, 2 a 8, 2 a 7, 2 a 6, 2 a 5, 2 a 4, 2 a 3, 3 a 10, 3 a 9, 3 a 8, 3 a 7, 3 a 6, 3 a 5, 4 a 10, 4 a 9, 4 a 8, 4 a 7, 4 a 6, o de 4 a 5 vainas, o aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 6, aproximadamente 7, aproximadamente 8, aproximadamente 9 o aproximadamente 10 flores, cápsulas, silicuas, frutas, nueces, vainas o tubérculos por nodo . De acuerdo con algunas modalidades, una planta transgénica que comprende un elemento de supresión FT de transgenes y/o FT como se proporciona en la presente memoria puede tener, en promedio, al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, en al menos 7, al menos 8, al menos 9, o al menos 10 flores más, cápsulas, semillas, silicuas, frutos, nueces, vainas o tubérculos por nodo en comparación

con una planta no transgénica de tipo silvestre o de control.

De acuerdo con algunas modalidades, el número medio de cápsulas, silicuas, semillas, frutas, nueces, vainas o tubérculos, y/o el número promedio de flores, cápsulas, silicuas, semillas, frutas, nueces, vainas o tubérculos por nodo, en una planta transgénica que comprende un elemento transgénico FT y/o un elemento de supresión FT tal como se proporciona aquí (o en el tallo principal de dicha planta transgénica) puede ser 1%-400%, 1%-350%, 1%-300% 1%-250%, 1%-200%, 1%-150%, 1%-100%, 1%-75%, 1%-50%, 1%-25%, 5%-400%, 5%-350%, 5%-300%, 5%-250%, 5%-200%, 5%-150%, 5%-100%, 5%-95%, 5%-90%, 5%-85 %, 5%-80%, 5%-75%, 5%-70%, 5%-65%, 5%-60%, 5%-55%, 5%-50%, 5%-45%, 5%-40%, 5%-35%, 5%-30%, 5%-25%, 5%-20%, 5%-15%, 5%-10%, 10%-400%, 10%-350%, 10%-300%, 10%-250%, 10%-200%, 10%-150%, 10%-100%, 10%-90%, 10%-80%, 10%-70 %, 10%-60%, 10%-50%, 10%-40%, 10%-30%, 10%-20%, 25%-400%, 25%-350%, 25%-300%, 25%-250%, 25%-200%, 25%-150%, 25%-100%, 25%-75%, 25%-50%, 50%-400%, 50%-350%, 50%-300%, 50%-250%, 50%-200%, 50%-150%, 50%-100%, 50%-75%, 75%-400%, 75%-350%, 75%-300%, 75%-250%, 75% -200%, 75%-150%, 75%-100%, 100%-400%, 100%-350%, 100%-300%, 100%-250%, 100%-200% o 100%-150% mayor que una planta silvestre o de control. De acuerdo con algunas modalidades, la duración reproductiva de una planta transgénica que comprende un elemento de supresión FT de transgenes y/o FT como se proporciona en la presente memoria puede ser 1%-400%, 1%-350%, 1%-300%, 1%-250%, 1%-200%, 1%-150%, 1%-100%, 1%-75%, 1%-50%, 1%-25%, 5%-400%, 5%-350%, 5%-300%, 5%-250%, 5%-200%, 5%-150%, 5%-100%, 5%-95%, 5%-90%, 5%-85%, 5%-80%, 5%-75%, 5%-70%, 5%-65%, 5%-60%, 5%-55%, 5%-50%, 5%-45%, 5%-40%, 5%-35%, 5%-30%, 5%-25%, 5%-20%, 5%-15%, 5%-10%, 10%-400%, 10%-350%, 10%-300%, 10%-250%, 10%-200%, 10%-150%, 10%-100%, 10%-90%, 10%-80%, 10%-70%, 10%-60%, 10%-50%, 10%-40%, 10%-30%, 10%-20%, 25%-400%, 25%-350%, 25%-300%, 25%-250%, 25%-200%, 25%-150%, 25%-100%, 25%-75%, 25% -50%, 50% -400%, 50% -350%, 50% -300%, 50 %-250%, 50%-200%, 50%-150%, 50%-100%, 50%-75%, 75%-400%, 75%-350%, 75%-300%, 75%-250%, 75%-200%, 75%-150%, 75%-100%, 100%-400%, 100%-350%, 100%-300%, 100%-250%, 100%-200%, o 100%-150% mayor en términos de número de días que una planta

silvestre o de control. De acuerdo con algunas modalidades, el comienzo de la floración de una planta transgénica que comprende un elemento de supresión FT de transgenes y/o FT como se proporciona aquí puede ser de 1%-400%, 1%-350%, 1%-300%, 1%-250 %, 1%-200%, 1%-150%, 1%-100%, 1%-75%, 1%-50%, 1%-25%, 5%-400%, 5%-350%, 5%-300%, 5%-250%, 5%-200%, 5%-150%, 5%-100%, 5%-95%, 5%-90%, 5%-85%, 5%-80%, 5%-75%, 5%-70%, 5%-65%, 5%-60%, 5%-55%, 5%-50%, 5%-45%, 5%-40 %, 5%-35%, 5%-30%, 5%-25%, 5%-20%, 5%-15%, 5%-10%, 10%-400%, 10%-350%, 10%-300%, 10%-250%, 10%-200%, 10%-150%, 10%-100%, 10%-90%, 10%-80%, 10%-70%, 10%-60%, 10%-50%, 10%-40%, 10%-30%, 10%-20%, 25%-400%, 25%-350%, 25%-300%, 25%-250%, 25%-200%, 25%-150%, 25%-100%, 25%-75%, 25%-50%, 50%-400%, 50%-350%, 50%-300%, 50%-250%, 50%-200%, 50%-150%, 50%-100%, 50%-75%, 75%-400%, 75%-350%, 75%-300%, 75%-250%, 75%-200%, 75%-150%, 75%-100%, 100%-400%, 100%-350%, 100%-300%, 100%-250%, 100%-200 % o 100%-150% anterior en términos de número de días que una planta de tipo silvestre o de control.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, las plantas transgénicas proporcionadas en la presente memoria pueden tener una combinación de dos o más rasgos o fenotipos descritos en la presente memoria, tales como dos o más de vainas, cápsulas, silicuas, semillas, frutas, nueces o tubérculos incrementados por nodo, vainas aumentadas, cápsulas, silicuas, semillas, frutas, nueces o tubérculos en el tallo principal, aumento de la duración reproductiva, inicio temprano de la floración, altura mínima de la planta, como al menos 900 o más milímetros (es decir, mayor o igual a 0.9 metros) en el caso de la soya, y/o ramificación reducida, en relación con una planta silvestre o de control. De acuerdo con algunas modalidades, las plantas transgénicas pueden tener un número incrementado de vainas, cápsulas, silicuas, semillas, frutos o nueces por nodo en promedio y un comienzo anterior de floración, en relación con una planta de tipo silvestre o de control. Dichas plantas transgénicas pueden además tener un aumento en el número de vainas, cápsulas, silos, semillas, frutas, nueces o tubérculos en el medio y/o una mayor duración reproductiva, en relación con una planta silvestre o de control.

Por ejemplo, una planta transgénica proporcionada en la presente puede tener al menos 1%, al menos 2%, al menos 5%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, al menos

25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 100%, al menos 125%, al menos 150%, al menos 175%, al menos 200%, al menos 250%, al menos 300%, al menos 350%, o al menos 400% más flores, vainas, semillas, cápsulas, silicuas, frutas, frutos secos o tubérculos por nodo y un inicio de floración que sea al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8 , al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40 o al menos 45 días antes, en relación con una planta silvestre o de control. Una planta transgénica proporcionada aquí puede tener un promedio de al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9 o al menos 10 más flores, vainas, semillas, cápsulas, silicuas, frutos, nueces o tubérculos por nodo, y un inicio de floración que sea al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40, o al menos 45 días antes, en relación con una planta silvestre o de control. Dichas plantas transgénicas pueden tener además una duración reproductiva y/o floración que sea al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40 o al menos 45 días más largo que la duración reproductiva y/o la duración de la floración de una planta silvestre o de control, y/o un mayor número de flores, vainas, semillas, cápsulas, silos, frutos o nueces en el tallo principal de la planta transgénica que está en menos 1%, al menos 2%, al menos 3%, al menos 4%, al menos 5%, al menos 6%, al menos 7%, al menos 8%, al menos 9%, al menos 10%, en menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 100%, al menos 125%, al menos 150%, al menos 175% o al menos 200%, al menos 250%, en al menos 300%, al menos 350% o al menos 400% mayor que una planta de control o tipo silvestre.

De acuerdo con las modalidades de la presente invención, las plantas transgénicas proporcionadas aquí pueden tener una arquitectura de planta alterada con una altura de planta mínima y una ramificación reducida, que puede ir acompañada de una reducción mitigada en el número de nodos por planta. Las plantas transgénicas que expresan el transgén FT solo pueden tener un fenotipo enano severo debido a una terminación anterior que incluye una altura corta de la planta junto con una ramificación y nodos reducidos por planta. Al expresar el transgén FT con un sensor de ARNmi o un segundo elemento de supresión dirigido al transgén FT, estos fenotipos severos de terminación temprana pueden mitigarse para producir una altura de planta más normal mientras se mantienen las vainas incrementadas por nodo. De acuerdo con estas modalidades, las plantas transgénicas pueden tener (i) una altura mínima de la planta que se reduce en no más de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% o 40% con respecto a de tipo silvestre o de control (es decir, la diferencia en la altura de las plantas entre la planta transgénica y la planta de control o de tipo silvestre no es mayor que uno o más de estos porcentajes), (ii) un número total de ramas que se reduce por al menos un 50%, al menos un 55%, al menos un 60%, al menos un 65%, al menos un 70%, al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90% o al menos un 95% en relación con una planta de control o tipo silvestre, y/o (iii) un número mínimo de nodos por planta (y/o por tallo principal) que se reduce en no más de 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35% o 40% en relación con una planta de control o tipo silvestre (es decir, la diferencia en el número de nodos por planta (y/o por tallo principal) entre la planta transgénica y la planta de control o tipo silvestre no es mayor que uno o más de estos porcentajes). En el caso de la soya, una planta transgénica provista aquí puede tener una altura mínima de planta que sea al menos 700 milímetros (mm), al menos 750 mm, al menos 800 mm, al menos 850 mm, al menos 900 mm, al menos 950 mm, al menos 1000 mm, al menos 1050 mm, al menos 1100 mm, al menos 1150 mm, al menos 1200 mm, al menos 1250 mm, al menos 1300 mm, al menos 1350 mm o al menos 1400 mm; al menos 100, al menos 125, al menos 150, al menos 175, al menos 200, al menos 225, al menos 250, al menos 275, al menos 300, al menos 325, al menos 350, al menos 375 o en mínimo 400 número total de nodos por planta; y/o un número total de ramas que se reduce al menos en un 70%, al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90% o al menos un 95% con

respecto a un tipo silvestre o control planta. Todos los números, porcentajes y diferencias anteriores para una planta incluyen además los valores calculados a partir de un promedio de pluralidad de plantas del mismo tipo.

De acuerdo con otro aspecto amplio de la presente invención, se proporcionan métodos para plantar plantas transgénicas de la presente invención a una densidad normal o alta en el campo. De acuerdo con algunas modalidades, el rendimiento de una planta de cultivo por acre (o por área de tierra) puede aumentarse mediante la siembra de plantas transgénicas de la presente invención a una densidad más alta en el campo. Tal como se describe aquí, las plantas transgénicas de la presente invención que expresan una proteína FT florigénica durante la(s) etapa(s) de desarrollo y/o con la supresión del transgén FT pueden presentar vainas y/o semillas incrementadas por nodo (particularmente en el tallo principal), pero también puede tener una arquitectura de planta alterada con ramificaciones reducidas y menos nodos por rama. Por lo tanto, se propone que las plantas transgénicas de la presente invención puedan sembrarse en una densidad más alta para aumentar el rendimiento por acre en el campo. Para los cultivos en hilera, se puede lograr una mayor densidad plantando un mayor número de semillas/plantas por longitud de hilera y/o disminuyendo el espacio entre hileras. De acuerdo con algunas modalidades, una planta de cultivo transgénica de la presente invención puede sembrarse a una densidad en el campo (plantas por tierra/área de campo) que es al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 50 %, 75%, 100%, 125%, 150%, 175%, 200%, 225% o 250% superior o superior a la densidad de siembra normal para esa planta de cultivo de acuerdo con las prácticas agronómicas estándar.

Para la soya, la densidad de siembra típica está en un rango de aproximadamente 100,000 a 150,000 semillas por acre, y el espaciamiento típico de las hileras está en un rango de aproximadamente 26 a aproximadamente 40 pulgadas, tal como un espacio entre hileras de 30 pulgadas o 36 pulgadas. Dentro de una fila dada, alrededor de 6-8 semillas de soya pueden típicamente sembradas por pie. En contraste, la siembra de alta densidad para la soya puede incluir un rango de aproximadamente 150,000 a 250,000 semillas por acre, y el espaciado de las hileras puede estar dentro de un rango de aproximadamente 10 pulgadas o menos a aproximadamente 25 pulgadas, como 10

pulgadas, 15 pulgadas o 20 pulgadas espaciado de fila de pulgadas. Para la siembra de alta densidad, se pueden sembrar aproximadamente 9-12 semillas de soya por pie dentro de cada hilera, tal vez en combinación con un espacio de fila más estrecho. Sin embargo, se puede lograr una alta densidad de cultivo mediante el espaciamiento estrecho de las hileras sin un aumento en la densidad de siembra dentro de cada hilera.

Para el algodón, la densidad de plantación típica está en un rango de aproximadamente 28,000 a 45,000 semillas por acre, y el espaciamiento típico de las hileras está en un rango de aproximadamente 38 a aproximadamente 40 pulgadas, tal como separación entre hileras de 38 pulgadas o 40 pulgadas. Dentro de una fila determinada, alrededor de 2-3 semillas de algodón típicamente se pueden plantar por pie. En contraste, la siembra de alta densidad para la soya puede incluir un rango de aproximadamente 48,000 a 60,000 semillas por acre, y el espaciamiento de las filas puede estar dentro de un rango de aproximadamente 30 pulgadas o menos a aproximadamente 36 pulgadas. Para la siembra de alta densidad, se pueden sembrar aproximadamente 3-5 semillas de algodón por pie dentro de cada fila, tal vez en combinación con un espacio de fila más estrecho. Sin embargo, se puede lograr una densidad de cultivo alta para el algodón mediante un espaciamiento estrecho de las hileras sin un aumento en la densidad de siembra dentro de cada hilera.

Para la canola, la densidad de siembra típica está en un rango de aproximadamente 360,000 a 550,000 semillas por acre, y el espaciamiento típico de las hileras entre abresurcos está en un rango de aproximadamente 6 pulgadas a aproximadamente 16 pulgadas. Dentro de una fila dada, aproximadamente 8-12 semillas de canola pueden ser plantadas típicamente por pie. En contraste, la siembra de alta densidad para la soya puede incluir un rango de aproximadamente 450,000 a 680,000 semillas por acre, y el espaciamiento de las hileras puede estar dentro de un rango de aproximadamente 5 pulgadas o menos a aproximadamente 10 pulgadas. Para la siembra de alta densidad, se pueden sembrar aproximadamente 10-16 semillas de canola por pie dentro de cada hilera, tal vez en combinación con el espacio de fila más estrecho. Sin embargo, se puede lograr una alta densidad de cultivo para la canola mediante un espaciamiento estrecho de las hileras sin un aumento en la densidad de siembra dentro de cada hilera.

Los que siguen son ejemplos no taxativos de modalidades de la presente descripción:

Un constructo de ADN recombinante que comprende un primer casete de expresión y un segundo casete de expresión, en donde el primer casete de expresión comprende una secuencia de polinucleótido que codifica una proteína FT florigénica unida de manera operativa a un primer promotor de expresión de planta, y el segundo casete de expresión comprende una secuencia de ADN transcribible que codifica una molécula de ARN que comprende una secuencia diana que es al menos 80 % complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de la secuencia de polinucleótido del primer casete de expresión y en donde la secuencia de ADN transcribible está unida de manera operativa a un segundo promotor de expresión de planta.

2. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 1, en donde la secuencia diana de la molécula de ARN tiene una longitud de aproximadamente 15 a aproximadamente 27 nucleótidos.

3. El constructo de ADN recombinante de las modalidades 1 o 2, en donde la secuencia diana de la molécula de ARN tiene una longitud de 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 o 27 nucleótidos.

4. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-3, en donde la secuencia diana de la modalidad de ARN es al menos 85%, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de la secuencia de polinucleótido del primer casete de expresión.

5. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-4, en donde la secuencia diana de la molécula de ARN es al menos 80 % complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de una transcripción de ARNm codificada por la secuencia de polinucleótido del primer casete de expresión.

6. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-5, en donde la secuencia diana de la molécula de ARN es al menos 80 % complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de una secuencia exónica o de codificación de la transcripción de ARNm.

7. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-5, en donde la secuencia diana de la molécula de ARN es al menos 80 % complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de una secuencia no codificante de la transcripción de ARNm.

8. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-7, en donde la molécula de ARN codificada por la secuencia de ADN transcribible es un miARN o ARNip precursor.

9. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-8, en donde la secuencia de ADN transcribible comprende una secuencia que es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % complementaria a la SEQ ID NO: 68 o 69.

10. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-9, en donde la secuencia de ADN transcribible comprende una secuencia que es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 65.

11. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-10, en donde la secuencia de polinucleótido del primer casete de expresión comprende una secuencia que es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 69.

12. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-11, en donde la proteína FT florigénica comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o alrededor de 99 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y 30, o un fragmento funcional de estas.

13. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 12, en donde la proteína FT florigénica comprende además uno o más de los siguientes aminoácidos: una tirosina u otro residuo no polar o polar sin carga en la posición de aminoácido de la proteína FT florigénica que corresponde a la posición de aminoácido 85 de la SEQ ID NO: 14; una

leucina u otro residuo no polar en la posición de aminoácido de la proteína FT florigénica que corresponde a la posición de aminoácido 128 de la SEQ ID NO: 14; y un triptófano u otro gran residuo no polar en la posición de aminoácido de la proteína FT florigénica que corresponde a la posición de aminoácido 138 de la SEQ ID NO: 14.

14. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 12, en donde la proteína FT florigénica no tiene uno o más de los siguientes aminoácidos: una histidina en la posición de aminoácido que corresponde a la lisina o arginina en la posición de aminoácido que corresponde a la posición 85 de la SEQ ID NO: 14; una lisina o arginina en la posición de aminoácido que corresponde a la posición 128 de SEQ ID NO: 14; y una serina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina o arginina en la posición de aminoácido que corresponde a la posición 138 de SEQ ID NO: 14.

15. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 12, en donde la proteína FT florigénica comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y 30, o un fragmento funcional de estas.

16. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-15, en donde la secuencia de polinucleótido tiene al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, y 29.

17. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-16, en donde el primer promotor de expresión de planta es un promotor de etapa vegetativa.

18. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-17, en donde el primer promotor de expresión de planta es un promotor preferido del meristemo o específico del meristemo.

19. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-18, en donde el primer promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al

menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica con una secuencia de polinucleótido seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45 o 48, o una parte funcional de estas.

20. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 19, en donde el primer promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 31, o una parte funcional de esta.

21. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 19, en donde el primer promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 32 o la SEQ ID NO: 48.

22. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 19, en donde el primer promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 44, o una parte funcional de esta.

23. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-22, en donde el primer promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica con una secuencia de polinucleótido seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO:

49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63 o 64, o una parte funcional de estas.

24. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 23, en donde el primer promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 49, o una parte funcional de esta.

25. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-24, en donde el segundo promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica con una secuencia de polinucleótido seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63 o 64, o una parte funcional de estas.

26. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-25, en donde el segundo promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 49, o una parte funcional de esta.

27. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-26, en donde el segundo promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica con una secuencia de polinucleótido seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93,

o 94, o una parte funcional de estas.

28. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-27, en donde el primer promotor de expresión de planta es un promotor de etapa vegetativa y el segundo promotor de expresión de planta es un promotor de etapa vegetativa y/o promotor de etapa reproductiva tardías.

29. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 28, en donde el primer promotor de expresión de planta es un promotor de etapa vegetativa temprana.

30. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 28, en donde el segundo promotor de expresión de planta es un promotor preferido de etapa reproductiva.

31. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-30, en donde el primer promotor de expresión de planta inicia la expresión detectable de la secuencia de polinucleótido que codifica la proteína FT florigénica en una etapa de desarrollo más temprana que el segundo promotor de expresión de planta inicia la expresión detectable de la secuencia de ADN transcribible.

32. Un vector o molécula de ADN que comprende el constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-31.

33. Un vector plásmido para la transformación mediada por *Agrobacterium* que comprende el constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-31.

34. Una molécula de plantilla donante para la integración dirigida al sitio que comprende el constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-31.

35. Una planta transgénica que comprende una inserción del constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-31 en el genoma de al menos una célula de la planta transgénica.

36. La planta transgénica de la modalidad 35, en donde la planta transgénica es homocigota para la inserción del constructo de ADN recombinante.

37. La planta transgénica de la modalidad 35, en donde la planta transgénica es hemocigota para la inserción del constructo de ADN recombinante.

38. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-37, en donde la planta transgénica es una planta de día corto.

39. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-38, en donde la planta transgénica es una planta dicotiledónea.

40. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-39, en donde la planta transgénica es una planta leguminosa.

41. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-40, en donde la planta transgénica es soja.

42. La planta transgénica de la modalidad 41, en donde la planta de soja transgénica produce más vainas por nodo que una planta de control que no tiene el constructo de ADN recombinante.

43. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-42, en donde la planta transgénica produce más flores por nodo que una planta de control que no tiene el constructo de ADN recombinante.

44. La planta transgénica o parte de esta de cualquiera de las modalidades 35-43, en donde la planta transgénica produce más semillas, cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o vainas por nodo de la planta transgénica que una planta de control que no tiene el constructo de ADN recombinante.

45. La planta transgénica o parte de esta de cualquiera de las modalidades 35-44, en donde la planta transgénica florece antes que una planta de control que no tiene el constructo de ADN recombinante.

46. La planta transgénica o parte de esta de cualquiera de las modalidades 35-45, en donde la planta transgénica tiene más racimos florales por nodo que una planta de control que no tiene el constructo de ADN recombinante.

47. Una parte de planta transgénica que comprende una inserción del constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-31 en el genoma de al menos una célula de la parte de planta transgénica.

48. La parte de planta transgénica de cualquiera de las modalidades 44-47, en donde la

parte de planta transgénica es una de las siguientes: una semilla, fruto, hoja, cotiledón, hipocólito, meristemos, embriones, endosperma, raíz, brote, tallo, vaina, flor, inflorescencia, tallo, pedicelo, estigma, estilo, pétalo, sépalo, polen, antera, filamento, ovario, óvulo, pericarpio, floema o tejido vascular.

49. Un constructo de ADN recombinante que comprende una secuencia de polinucleótido que codifica una proteína FT florigénica unida de manera operativa a un promotor de expresión de planta, en donde la secuencia de polinucleótido comprende una secuencia que codifica un sitio objetivo en una transcripción de ARNm codificada por la secuencia de polinucleótido, y en donde el sitio diana de la transcripción de ARNm es al menos 80 % complementaria a una molécula de ARN endógena.

50. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 49, en donde el sitio diana de la transcripción de ARNm tiene una longitud de al menos 17 nucleótidos.

51. El constructo de ADN recombinante de las modalidades 49 o 50, en donde el sitio diana de la transcripción de ARNm tiene una longitud de 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 o 27 nucleótidos.

52. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-51, en donde el sitio diana de la transcripción de ARNm es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95%, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % complementaria a la molécula de ARN endógeno.

53. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-52, en donde el sitio diana está presente en una secuencia no codificante de la transcripción de ARNm.

54. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-53, en donde el sitio diana de la transcripción de ARNm es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % complementaria a las SEQ ID NO: 95, 96, 97, 103, 104 o 105.

55. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-54, en donde el sitio diana de la transcripción de ARNm es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % complementaria a las SEQ ID NO: 95 o 103.

56. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-55, en donde la secuencia de polinucleótido que codifica la proteína FT florigénica comprende una secuencia que es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntica a las SEQ ID NO: 98, 99, 100, 101, 106, 107, 108, 109 o 110.

57. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-54 o 56, en donde el sitio diana de la transcripción de ARNm es al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % idéntico a las SEQ ID NO: 99 o 107.

58. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-57, en donde la proteína FT florigénica comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o alrededor de 99 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y 30, o un fragmento funcional de estas.

59. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-58, en donde la proteína FT florigénica comprende además uno o más de los siguientes aminoácidos: una tirosina u otro residuo no polar o polar sin carga en la posición de aminoácido de la proteína FT florigénica que corresponde a la posición de aminoácido 85 de la SEQ ID NO: 14; una leucina u otro residuo no polar en la posición de aminoácido de la proteína FT florigénica que corresponde a la posición de aminoácido 128 de la SEQ ID NO: 14; y un triptófano u otro gran residuo no polar en la posición de aminoácido de la proteína FT florigénica que corresponde a la posición de aminoácido 138 de la SEQ ID NO: 14.

60. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-58, en donde la proteína FT florigénica no tiene uno o más de los siguientes aminoácidos: una histidina en la posición de aminoácido que corresponde a la lisina o arginina en la posición de aminoácido que corresponde a la posición 85 de la SEQ ID NO: 14; una lisina o arginina en la posición de aminoácido que corresponde a la posición 128 de SEQ ID NO: 14; y una

serina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina o arginina en la posición de aminoácido que corresponde a la posición 138 de SEQ ID NO: 14.

61. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-61, en donde la proteína FT florigénica comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y 30, o un fragmento funcional de estas.

62. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-62, en donde la secuencia de polinucleótido tiene al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, y 29.

63. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-62, en donde el promotor de expresión de planta es un promotor de etapa vegetativa.

64. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-63, en donde el promotor de expresión de planta es un promotor preferido del meristemo o específico del meristemo.

65. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-64, en donde el promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica con una secuencia de polinucleótido seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45 o 48, o una parte funcional de estas.

66. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-65, en donde el promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica a la SEQ

ID NO: 31, o una parte funcional de esta.

67. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-65, en donde el promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 32 o la SEQ ID NO: 48.

68. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-65, en donde el promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 44, o una parte funcional de esta.

69. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-68, en donde el promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica con una secuencia de polinucleótido seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63 o 64, o una parte funcional de estas.

70. Un vector o molécula de ADN que comprende el constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-69.

71. Un vector plásmido para la transformación mediada por *Agrobacterium* que comprende el constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-69.

72. Una molécula de plantilla donante para la integración dirigida al sitio que comprende el constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-69.

73. Una planta transgénica que comprende una inserción del constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-69 en el genoma de al menos una célula de la planta transgénica.

74. La planta transgénica de la modalidad 73, en donde la planta transgénica es homocigota para la inserción del constructo de ADN recombinante.

75. La planta transgénica de la modalidad 73, en donde la planta transgénica es hemocigota para la inserción del constructo de ADN recombinante.

76. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 73-75, en donde la planta transgénica es una planta de día corto.

77. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 73-76, en donde la planta transgénica es una planta dicotiledónea.

78. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 73-77, en donde la planta transgénica es una planta leguminosa.

79. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 73-78, en donde la planta transgénica es soja.

80. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 73-79, en donde la planta de soja transgénica produce más vainas por nodo que una planta de control que no tiene el constructo de ADN recombinante.

81. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 73-80, en donde la planta transgénica produce más flores por nodo que una planta de control que no tiene el constructo de ADN recombinante.

82. La planta transgénica o parte de esta de cualquiera de las modalidades 73-81, en donde la planta transgénica produce más cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o vainas por nodo de la planta transgénica que una planta de control que no tiene el constructo de ADN recombinante.

83. La planta transgénica o parte de esta de cualquiera de las modalidades 73-82, en donde la planta transgénica florece antes que una planta de control que no tiene el constructo de ADN recombinante.

84. La planta transgénica o parte de esta de cualquiera de las modalidades 73-83, en donde la planta transgénica tiene más racimos florales por nodo que una planta de control que no tiene el constructo de ADN recombinante.

85. Una parte de planta transgénica que comprende una inserción del constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 49-69 en el genoma de al menos una célula de la parte de planta transgénica.

86. La parte de planta transgénica de cualquiera de las modalidades 82-85, en donde la parte de planta transgénica es una de las siguientes: una semilla, fruto, hoja, cotiledón, hipocólito, meristemos, embriones, endosperma, raíz, brote, tallo, vaina, flor, inflorescencia, tallo, pedicelo, estigma, estilo, pétalo, sépalo, polen, antera, filamento, ovario, óvulo, pericarpio, floema o tejido vascular.

87. Un constructo de ADN recombinante que comprende una secuencia de ADN transcribible que codifica una molécula de ARN que comprende una secuencia diana que es al menos 80 % complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de una secuencia de polinucleótido que codifica una proteína FT florigénica, en donde la secuencia de ADN transcribible se une de manera operativa a un promotor de expresión de planta.

88. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 87, en donde la secuencia diana de la molécula de ARN tiene una longitud de aproximadamente 15 a aproximadamente 27 nucleótidos.

89. El constructo de ADN recombinante de las modalidades 87 u 88, en donde la secuencia diana de la modalidad de ARN es al menos 85%, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de la secuencia de polinucleótido que codifica la proteína FT florigénica.

90. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-89, en donde la secuencia diana de la molécula de ARN es al menos 80 % complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de una transcripción de ARNm codificada por la secuencia de polinucleótido que codifica la proteína FT florigénica.

91. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-90, en donde la secuencia diana de la molécula de ARN es al menos 80 % complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de una secuencia exónica o de codificación de la

transcripción de ARNm.

92. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-91, en donde la secuencia diana de la molécula de ARN es al menos 80 % complementaria a al menos 15 nucleótidos consecutivos de una secuencia no codificante de la transcripción de ARNm.

93. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-92, en donde la molécula de ARN codificada por la secuencia de ADN transcribible es un miARN o ARNip precursor.

94. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-93, en donde la proteína FT florigénica codificada por la secuencia de polinucleótido comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y 30, o un fragmento funcional de estas.

95. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-94, en donde la proteína FT florigénica comprende además uno o más de los siguientes aminoácidos: una tirosina u otro residuo no polar o polar sin carga en la posición de aminoácido de la proteína FT florigénica que corresponde a la posición de aminoácido 85 de la SEQ ID NO: 14; una leucina u otro residuo no polar en la posición de aminoácido de la proteína FT florigénica que corresponde a la posición de aminoácido 128 de la SEQ ID NO: 14; y un triptófano u otro gran residuo no polar en la posición de aminoácido de la proteína FT florigénica que corresponde a la posición de aminoácido 138 de la SEQ ID NO: 14.

96. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-94, en donde la proteína FT florigénica no tiene uno o más de los siguientes aminoácidos: una histidina en la posición de aminoácido que corresponde a la lisina o arginina en la posición de aminoácido que corresponde a la posición 85 de la SEQ ID NO: 14; una lisina o arginina en la posición de aminoácido que corresponde a la posición 128 de SEQ ID NO: 14; y una serina, ácido aspártico, ácido glutámico, lisina o arginina en la posición de aminoácido que

corresponde a la posición 138 de SEQ ID NO: 14.

97. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-96, en donde la proteína FT florigénica comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y 30, o un fragmento funcional de estas.

98. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-97, en donde la secuencia de polinucleótido que codifica la proteína FT florigénica tiene al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 % o al menos 99 % identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, y 29.

99. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-98, en donde el promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica con una secuencia de polinucleótido seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63 o 64, o una parte funcional de estas.

100. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-99, en donde el promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica a la SEQ ID NO: 49, o una parte funcional de esta.

101. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-100, en donde el promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96

%, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, al menos 99.5 % o 100 % idéntica con una secuencia de polinucleótido seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, o 94, o una parte funcional de estas.

102. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-101, en donde el promotor de expresión de planta es un promotor de etapa vegetativa.

103. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-102, en donde el promotor de expresión de planta es un promotor de etapa vegetativa y/o de etapa reproductiva tardías.

104. El constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-103, en donde el promotor de expresión de planta es heterólogo con respecto a la secuencia de ADN transcribible.

105. Un vector o molécula de ADN que comprende el constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-104.

106. Una planta transgénica que comprende una inserción del constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-104 en el genoma de al menos una célula de la planta transgénica.

107. La planta transgénica de la modalidad 106, en donde la planta transgénica es una planta de día corto.

108. La planta transgénica de la modalidad 106 o 107, donde la planta transgénica es una planta dicotiledónea.

109. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 106-108, en donde la planta transgénica es una planta leguminosa.

110. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 106-109, en donde la planta transgénica es soja.

111. Una parte de planta transgénica que comprende una inserción del constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 87-103 en el genoma de al menos una célula de la parte de planta transgénica.

112. La parte de planta transgénica de la modalidad 111, en donde la parte de planta transgénica es una de las siguientes: una semilla, fruto, hoja, cotiledón, hipocólito, meristemos, embriones, endosperma, raíz, brote, tallo, vaina, flor, inflorescencia, tallo, pedicelo, estigma, estilo, pétalo, sépalo, polen, antera, filamento, ovario, óvulo, pericarpio, floema o tejido vascular.

113. Un método para producir una planta transgénica, que comprende:

transformar al menos una célula de un explanto con el constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-31, 49-69 u 87-104; y
regenerar o desarrollar la planta transgénica a partir del explanto transformado.

114. El método de la modalidad 113, que comprende además:

(c) seleccionar una planta transgénica con uno o más de los siguientes rasgos o fenotipos: florecimiento temprano, mayor duración de reproducción o florecimiento, aumento de cantidad de flores por nodo, aumento de cantidad de racimos de flores por nodo, aumento de cantidad de vainas, cápsulas, silicuas, frutos o frutos secos por nodo y aumento de cantidad de semillas por nodo en comparación con una planta de control que no tenga el constructo de ADN recombinante.

115. El método de la modalidad 113 o 114, en donde la etapa de transformación (a) se lleva a cabo mediante la transformación mediada por *Agrobacterium* o el bombardeo de microproyectiles del explanto.

116. El método de cualquiera de las modalidades 113-115, en donde la etapa de transformación (a) comprende la integración dirigida al sitio del constructo de ADN recombinante.

117. Un método para plantar una planta de cultivo transgénica, que comprende:

plantar la planta de cultivo transgénica a una mayor densidad en el campo, en donde la planta de cultivo transgénica comprende una inserción del constructo de ADN recombinante de cualquiera de las modalidades 1-31, 49-69 u 87-104.

118. El método de la modalidad 117, en donde la planta de cultivo transgénica es soja y en donde se plantan aproximadamente 150 000 a 250 000 semillas de la planta de soja

transgénica por acre.

119. El método de la modalidad 117, en donde la planta de cultivo transgénica es algodón y en donde se plantan aproximadamente 48 000 a 60 000 semillas de la planta de algodón transgénica por acre.

120. El método de la modalidad 117, en donde la planta de cultivo transgénica es canola y en donde se plantan aproximadamente 450 000 a 680 000 semillas de la planta de canola transgénica por acre.

121. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-46, 73-84 o 106-110, en donde la planta transgénica tiene al menos 1 %, al menos 2 %, al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 100 %, al menos 125 %, al menos 150 %, al menos 175 %, al menos 200 %, al menos 250 %, al menos 300 %, al menos 350 %, o al menos 400 % más semillas, vainas, cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o tubérculos que una planta de control no transgénica.

122. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-46, 73-84 o 106-110, en donde la planta transgénica tiene un promedio de al menos 5 %, al menos 10 %, al menos 15 %, al menos 20 %, al menos 25 %, al menos 30 %, al menos 35 %, al menos 40 %, al menos 45 %, al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 100 %, al menos 125 %, al menos 150 %, al menos 175 %, al menos 200 %, al menos 250 %, al menos 300 %, al menos 350 %, o al menos 400 % más semillas, vainas, cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o tubérculos por nodo que una planta de control no transgénica.

123. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-46, 73-84 o 106-110, en donde la planta transgénica tiene un promedio de al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9 o al menos 10 vainas, cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o tubérculos por nodo.

124. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-46, 73-84 o 106-110, en donde la planta transgénica tiene un promedio de 2 a 10, 2 a 9, 2 a 8, 2 a 7, 2 a 6, 2 a 5, 2

a 4, 3 a 10, 3 a 9, 3 a 8, 3 a 7, 3 a 6, 3 a 5, 4 a 10, 4 a 9, 4 a 8, 4 a 7, 4 a 6, o 4 a 5 vainas, cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o tubérculos por nodo.

125. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-46, 73-84 o 106-110, en donde la planta transgénica tiene un promedio de al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9 o al menos 10 más cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o vainas por nodo en comparación con una planta de control no transgénica.

126. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-46, 73-84 o 106-110, en donde la planta transgénica florece al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5, al menos 6, al menos 7, al menos 8, al menos 9, al menos 10, al menos 11, al menos 12, al menos 13, al menos 14, al menos 15, al menos 20, al menos 25, al menos 30, al menos 35, al menos 40 o al menos 45 días antes que una planta de control no transgénica.

127. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 121, 122, 123, 124, 125 o 126, en donde la planta transgénica es una planta de soja y la planta trangénica tiene más vainas por nodo en promedio que una planta de control no transgénica.

128. Una planta transgénica que comprende una secuencia de polinucleótido que codifica una proteína FT florigénica unida de manera operativa a un promotor de etapa vegetativa, en donde la expresión de la proteína FT florigénica se suprime en un tejido vegetativo y/o reproductivo tardío.

129. La planta transgénica de la modalidad 128, en donde la expresión de la proteína FT florigénica se suprime mediante una molécula de ARN pequeño.

130. Un constructo de ADN recombinante que comprende una secuencia de polinucleótido que codifica una proteína FT florigénica y unida de manera operativa a un promotor de etapa vegetativa y al menos una secuencia de ADN transcribible que codifica una molécula de ARN que comprende una secuencia diana complementaria a al menos una parte de la secuencia de polinucleótido.

131. Una planta transgénica que comprende una inserción del constructo de ADN recombinante de la modalidad 130 en el genoma de al menos una célula de la planta

transgénica.

132. Una planta transgénica que comprende una secuencia de polinucleótido recombinante que codifica una proteína FT florigénica unida de manera operativa a un promotor de etapa vegetativa, en donde la expresión de la secuencia de polinucleótido se encuentra restringida espacial y temporalmente mediante una molécula de ARN pequeño.

133. Un constructo de ADN recombinante que comprende un casete de expresión, en donde el casete de expresión comprende una secuencia de polinucleótido que codifica una proteína FT florigénica unida de manera operativa a un promotor de expresión de planta, en donde el promotor de expresión de planta comprende una secuencia de polinucleótido que es al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 %, o 100 % idéntica con una secuencia de polinucleótido seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63 o 64, o una parte funcional de estas.

134. El constructo de ADN recombinante de la modalidad 130 o 133, en donde la proteína FT florigénica comprende una secuencia de aminoácidos con al menos 60 %, al menos 65 %, al menos 70 %, al menos 75 %, al menos 80 %, al menos 85 %, al menos 90 %, al menos 91 %, al menos 92 %, al menos 93 %, al menos 94 %, al menos 95 %, al menos 96 %, al menos 97 %, al menos 98 %, o alrededor de 99 % de identidad con una secuencia seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28 y 30, o un fragmento funcional de estas.

135. Un vector o molécula de ADN que comprende el constructo de ADN recombinante de la modalidad 130 o 133.

136. Un vector plásmido para la transformación mediada por *Agrobacterium* que comprende el constructo de ADN recombinante de la modalidad 130 o 133.

137. Una molécula de plantilla donante para la integración dirigida al sitio que comprende el constructo de ADN recombinante de la modalidad 130 o 133.

138. Una planta transgénica que comprende una inserción del constructo de ADN

recombinante de la modalidad 130 o 133 en el genoma de al menos una célula de la planta transgénica.

139. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 131, 132 o 138, en donde la planta transgénica es homocigota para la inserción del constructo de ADN recombinante.

140. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 131, 132 138 o 139, en donde la planta transgénica es hemocigota para la inserción del constructo de ADN recombinante.

141. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 131, 132 o 138-140, en donde la planta transgénica es una planta de día corto.

142. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 131, 132 o 138-141, en donde la planta transgénica es una planta dicotiledónea.

143. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 131, 132 o 138-142, en donde la planta transgénica es una planta leguminosa.

144. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 131, 132 o 138-143, en donde la planta transgénica es soja.

145. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-46, 73-84, 106-110, 131, 132 o 138-144 en donde la planta transgénica produce más semillas, cápsulas, silicuas, frutos, frutos secos o vainas por nodo de la planta transgénica que una planta de control que no tiene el constructo de ADN recombinante.

146. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-46, 73-84, 106-110, 131, 132 o 138-145 en donde la planta transgénica florece antes que una planta de control que no tiene el constructo de ADN recombinante.

147. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-46, 73-84, 106-110, 131, 132 o 138-146, en donde la planta transgénica es una planta de soja que tiene una altura de planta de al menos 700 milímetros en la etapa R8.

148. La planta transgénica de cualquiera de las modalidades 35-46, 73-84, 106-110, 131, 132 o 138-147, en donde la planta transgénica es una planta de soja que tiene al menos 100 nodos en la etapa R8.

149. Una parte de planta transgénica que comprende una inserción del constructo de ADN recombinante de la modalidad 130 o 133 en el genoma de al menos una célula de la parte de planta transgénica.

EJEMPLOS

EJEMPLO 1

Tratamiento de inducción de día corto de soya e identificación de los genes Flowing Locus T (FT) mediante perfiles transcripcionales

Este ejemplo se describió previamente en la Solicitud de Patente de E.U.A. No. 15/131,987 y la Solicitud Internacional No. PCT/US2016/028130, que se incorporan aquí como referencia en su totalidad. Los métodos para el tratamiento con luz fotoperiódica (es decir, la inducción del día corto de la floración en las plantas) se describen en la patente de E.U.A. No. 8,935,880 y en la publicación de solicitud de patente de E.U.A. No. 2014/0259905, que se incorporan aquí como referencia en su totalidad. Como se describe adicionalmente en el presente documento, el tratamiento de inducción temprana de un día corto produjo plantas de soya con rasgos reproductivos alterados que incluyen un mayor número de vainas/semillas por planta. Los experimentos de perfil transcripcional se realizaron utilizando microarrays de expresión génica para determinar si los transcritos específicos se regulaban hacia arriba en estas plantas inducidas por la luz para identificar los genes que pueden ser responsables de la mediación de los fenotipos de inducción de día corto. En estos experimentos, se realizó un análisis de las transcripciones en tejidos de hoja de soya y ápice floral recolectados después de 1, 3 y 5 días de plantas que recibieron un tratamiento de luz inductiva de corta duración (día corto) en comparación con tejidos de plantas que no recibieron Tratamiento inductivo (día largo).

Como se muestra en la figura 2, se observó un aumento en la acumulación de transcritos para un determinado gen de *Flowering Locus T*, *Gm.FT2a* (SEQ ID NO: 1), en tejido foliar recogido a los 3 y 5 días después del tratamiento de iniciación temprana de corta duración (eSDI) en comparación con muestras tomadas de (i) tejidos del ápice floral de las mismas plantas de inducción de día corto, o (ii) tejidos de la hoja y tejidos del ápice floral de las plantas de soya que en su lugar recibieron el tratamiento de día largo. Estos datos

respaldan la conclusión de que la expresión de *Gm.FT2a* se induce en el tejido foliar de las plantas que experimentan el tratamiento con eSDI, lo que no se observó en las plantas cultivadas en condiciones de día prolongado. Tampoco se observó la expresión de *Gm.FT2a* en el ápice floral de las plantas tratadas con eSDI, lo que es consistente con el modelo de expresión de proteína FT inducida en tejidos de hojas periféricas en respuesta a condiciones de fotoperiodo inductivo y luego migrando a su sitio de acción en los meristemos para inducir la floración. Sin embargo, los experimentos adicionales que utilizan un análisis de secuenciación de ARN más sensible de las transcripciones mostraron alguna inducción de *Gm.FT2a* en el ápice del brote y las yemas axilares en respuesta al tratamiento eSDI (datos no presentados).

EJEMPLO 2

Caracterización de los patrones de expresión del promotor *pAt.Erecta* en soya

La consecución de rasgos o fenotipos deseables mediante enfoques transgénicos puede requerir el control de los patrones temporales y espaciales de la expresión génica de FT ectópica. Los experimentos fisiológicos de soya que identificaron la expresión de *Gm.FT2a* en los tejidos vegetativos después del tratamiento de inducción de día corto (véase la Figura 2) indicaron que lograr rasgos positivos de rendimiento puede depender de la expresión de FT anterior durante la etapa vegetativa. Por otro lado, a pesar de que las transcripciones de FT no se detectan en el ápice vegetativo, se ha demostrado que la proteína FT se mueve a gran distancia desde las hojas hasta el tejido apical, donde desencadena una transición vegetativa a reproductiva. Véase, por ejemplo, Lifschitz, E. et al., (2006), *supra*; and Corbeiser, L. et al., "FT Protein Movement Contributes to Long-Distance Signaling in Floral Induction of *Arabidopsis*", *Science* 316: 1030-1033 (2007). Por lo tanto, a la luz de nuestras propias observaciones, propusimos el uso de un promotor de etapa vegetativa que está activo en el meristemo para controlar la expresión ectópica de FT en una planta. Al expresar la señal de FT morfogenética directamente en el meristemo en la etapa de desarrollo deseada, pueden omitirse o evitarse múltiples rutas endógenas y retroalimentaciones reguladoras (por ejemplo, control de la transducción FT en la hoja y la translocación de larga distancia de la señal FT). Los experimentos previos con el tratamiento de inducción de día corto (descrito anteriormente en el Ejemplo 1) revelaron

una regulación al alza del gen *Gm.Erecta* en los meristemos de las plantas de soya. Se ha demostrado que el promotor *pErecta* (SEQ ID NO: 31) de *Arabidopsis* tiene una expresión débil en el(los) meristemo(s) de las plantas durante las etapas de desarrollo vegetativo. En consecuencia, se seleccionó el promotor *pAt.Erecta* para experimentos iniciales de expresión de FT.

Se realizaron experimentos adicionales para caracterizar aún más los patrones de expresión de *pAt.Erecta* fusionados a un gen informador GUS en tejidos meristáticos vegetativos y florales. El análisis de los patrones de expresión de GUS durante el desarrollo de plántulas de soya indicó que el promotor *pAt.Erecta* exhibe un patrón temporal y espacial de expresión, preferiblemente en los tejidos meristemáticos durante la etapa de desarrollo vegetativo. Las figuras 3A a 3O y 4A a 4O y las Figuras 5A a 5F y 6A a 6F incluyen dos conjuntos de imágenes para mostrar el patrón de tinción de GUS. Las figuras 3A a 3O y 5A a 5F proporcionan imágenes en blanco y negro de los tejidos teñidos, y las Figuras 4A a 4O y 6A a 6F proporcionan imágenes en blanco y negro correspondientes a las Figuras 3A a 3O y 5A a 5F, respectivamente, pero se filtró el color para mostrar el patrón y la intensidad de la tinción azul de GUS. Por lo tanto, el patrón de expresión de tinción de GUS puede verse con estas imágenes en blanco y negro comparando las imágenes correspondientes de las Figuras 3A a 3O y 4A a 4O o las Figuras 5A a 5F y 6A a 6F. Como se muestra en las Figuras 3A a 3O y 4A a 4O, se detectó la tinción de GUS en la hoja uni-foliada inmadura de soya y el pecíolo (Figuras 4A y 4B) a los tres días después de la siembra/germinación. La expresión de *pAt.Erecta::GUS* también se detectó ampliamente en el primordio trifoliado, el meristemo apical del brote (SAM) y los sitios del meristemo axilar en esta etapa vegetativa temprana (Figura 4C). La actividad de GUS no se detectó en las hojas uni-foliadas y trifoliadas completamente expandidas a los diez días después de la germinación o la siembra (Figuras 4D y 4E). Sin embargo, se detectó actividad de GUS en la parte proximal de la hoja trifoliada inmadura, no expandida, pero completamente desarrollada, y en el lado adaxial del pecíolo (Figura 4F). La observación detallada del tejido apical en desarrollo mostró que la expresión amplia se mantuvo en los primordios de la hoja inmadura en desarrollo, los meristemos axilares y los meristemos apicales del brote (Figuras 4G-I).

En la etapa reproductiva temprana, la actividad del promotor *pAt.Erecta* no se detectó en la lámina madura y se redujo en los primordios de la hoja en desarrollo. La señal GUS no se detectó en el vértice vegetativo indeterminado en el meristemo apical del brote (SAM) o en el meristemo axilar (AM) una vez que estos tejidos comenzaron a formar inflorescencias (Figuras 4J-4L). En todas las etapas posteriores, no se pudo detectar ninguna actividad meristemática adicional en el vértice o en los axilares o primordios de flores. Sin embargo, la expresión de GUS continuó en el lado adaxial del pecíolo y la parte proximal de la hoja de la hoja inmadura (Figuras 4M y 4N), pero no en la hoja de la hoja completamente expandida (Figura 4O). Los patrones de expresión de GUS con el promotor *pAt.Erecta* también se analizaron en las etapas posteriores de desarrollo R1 (35-40 días después de la germinación). Al igual que en las etapas iniciales de desarrollo, no se detectó ninguna expresión en las hojas o tallos maduros. Sin embargo, se detectó una fuerte actividad promotora en los tallos de la inflorescencia (Figuras 5A y 6A; ver flecha) y pedicelos florales (Figuras 5B y 6B; ver flecha). En ambos tejidos, la expresión se detectó en las células de la vasculatura y el parénquima (Figuras 5C y 6C). En esta etapa, también se detectó la expresión en los filamentos de estambre (Figuras 5D y 6D; ver flechas) y en los óvulos no polinizados (Figuras 5E, 5F, 6E y 6F; ver flechas en 6F).

Anteriormente, el promotor *pAt.Erecta* se caracterizó en *Arabidopsis*. Curiosamente, los patrones de expresión *pAt.Erecta* en *Arabidopsis* fueron comparables a los patrones observados en la soya durante la etapa vegetativa, pero no durante las etapas tardías de la reproducción. Por el contrario, el patrón de expresión *pAt.Erecta* en el frijol de soya disminuye en los tejidos reproductivos tempranos, pero se reencamina en algunos órganos y tejidos reproductivos posteriores, incluidos los tallos de la inflorescencia y los pedicelos florales. Véase, por ejemplo, Chen, M-K et al., *FEBS Letters* 588: 3912-17 (2014); Yokoyama, R et al.; Shpak, ED et al., *Science* 309: 290-293 (2005); y Yokoyama, R et al., *Plant J* 15(3): 301-310 (1998), cuyos contenidos completos y descripciones se incorporan aquí como referencia. Por lo tanto, el promotor *pAt.Erecta* proporciona un nuevo patrón de expresión en soya.

EJEMPLO 3

Expresión del gen del *Flowering locus T, Gm.FT2a*, bajo el control de un promotor

***pAt.Erecta* altera el tiempo de floración y las vainas por nodo en soya**

Se produjeron plantas de soya transgénicas transformando explantes de soya con una molécula de ADN recombinante (es decir, un vector de transformación de ADN-T) que comprende el promotor *pAt.Erecta* operativamente unido al gen *Gm.FT2a* mediante transformación mediada por *Agrobacterium* para generar cuatro eventos *pAt.Erecta::Gm.FT2a* que se llevaron a cabo para pruebas adicionales. El efecto de la sobreexpresión de FT2a se observó inmediatamente en plantas R_0, que tenían floración y terminación muy tempranas con un rendimiento de semilla reducido (por ejemplo, solo alrededor de 8 semillas/planta). Estas plantas transgénicas *Gm.FT2a* también tenían una altura de planta corta y muy pocas ramas, si es que las tenían. La segregación de las plantas R_1 y su progenie se cultivaron posteriormente en el invernadero en condiciones de mucho día para el estudio inicial y la caracterización. Al cultivar estas plantas en condiciones de mucho día, se mejoraron los fenotipos enanos severos observados con las plantas R_0 transgénicas *Gm.FT2a*. En estos experimentos, tanto las plantas homocigóticas como hemizigotas cultivadas en el invernadero bajo condiciones diarias de 16 horas de duración (es decir, 16/8 horas de fotoperiodos diurnos/nocturnos) florecieron mucho antes que los segregantes nulos de tipo silvestre. Las plantas transgénicas *Gm.FT2a* florecieron aproximadamente a los 19-22 días después de la siembra o la siembra). (Véase, por ejemplo, las Figuras 9A a 9C). En estas condiciones de crecimiento, las plantas de soya transgénicas que expresaban *Gm.FT2a* tenían además un mayor número de vainas por nodo en el tallo principal en comparación con los controles de tipo silvestre (véase, por ejemplo, las Figuras 10 y 11, discutidas más adelante).

Las plantas que contienen uno de los eventos transgénicos *pAt.Erecta::Gm.FT2a* (Evento 1) cultivados en condiciones ambientales controladas se analizaron adicionalmente mediante análisis de microscopía electrónica de barrido (eSEM). El análisis del meristemo apical del brote (SAM) de estas plantas transgénicas (recogidas a los 7 días después de la siembra) reveló una transición temprana del SAM en un meristemo de inflorescencia (IM) y meristemo floral (FM) (Figura 7). En contraste, las SAM de plantas de soya de tipo silvestre no se diferenciaron en IM en esta etapa de crecimiento. De manera similar, las imágenes del meristemo axilar de los transformantes FT2a (recolectadas a los 9 días

después de la siembra) indicaron el desarrollo de meristemos de inflorescencia latentes (DIM) (o racimos primordioles laterales) en IM y FM (Figura 8) Desarrollo de ramas florales (racimos) por nodo en estas plantas transgénicas. La caracterización fenotípica adicional reveló la floración temprana en la etapa V1 en las plantas de soya que expresan *Gm.FT2a*, lo cual fue bastante antes de que la transición floral ocurriera en plantas segregantes nulas (Figuras 9A a 9C). Estos datos en combinación con el patrón de expresión *pAt.Erecta::GUS* descrito anteriormente indican que la floración temprana, y más particularmente la formación de inflorescencia y meristemos florales, fueron inducidas por la expresión ectópica de *Gm.FT2a* durante la etapa vegetativa en el primordio de la hoja y la dispara meristemos axilares y apicales de plántulas. Se cree que la formación de un mayor número de inflorescencias y meristemos florales causa una liberación y elongación más temprana de los racimos secundarios y terciarios, lo que lleva a un mayor número de flores y vainas productivas formadas por nodo.

Las plantas transgénicas de soya *Gm.FT2a* no experimentaron floración temprana y produjeron más vainas por nodo en el tallo principal (en relación con plantas nulas segregantes), también se encontró que los efectos de la expresión ectópica de *Gm.FT2a* en plantas transgénicas eran dosis dependiente. Aunque tanto las plantas homocigóticas como las hemicigóticas tenían una altura reducida y menos ramificación, las plantas homocigóticas para el transgén Gm.FT2a se vieron más severamente afectadas que las plantas hemicigóticas, presumiblemente porque las plantas homocigóticas contienen dos copias del transgén (es decir, una dosis más alta), en oposición a solo una copia (es decir, una dosis más baja) en plantas hemicigóticas. En condiciones de crecimiento a largo día, las plantas homocigóticas terminaron antes y tuvieron una altura total más corta con menos nodos y ramas en el tallo principal en comparación con las plantas hemicigóticas para el transgén (Figura 10). A diferencia de las plantas homocigóticas, que exhibían una serie de fenotipos enanos subóptimos que incluían muy pocas ramas (si alguna) en el tallo principal, las plantas hemicigóticas tenían un fenotipo intermedio en términos de crecimiento vegetativo, altura de planta y número de nodos presentes en el tallo principal en relación con el tipo silvestre y las plantas homocigóticas. En condiciones diarias de 16 horas de duración, las plantas hemicigóticas tenían una altura de planta más normal con

algún grado de ramificación y una duración de floración más prolongada, en relación con las plantas homocigóticas (Figura 10). Las plantas hemicigóticas también florecieron durante 40-64 días después del inicio de R1, mientras que las plantas homocigóticas florecieron solo durante 16-24 días debido a su terminación anterior.

Se llevaron a cabo experimentos adicionales con plantas transformadas con la constructo *Gm.FT2a* (3 eventos) en condiciones de ambiente controlado de día largo (16 horas) para caracterizar aún más la respuesta de dosificación entre plantas hemicigóticas y homocigóticas. Las diferencias en la cantidad de nodos y vainas en el tallo y las ramas principales, así como el número promedio de vainas por nodo y la altura promedio por planta, se muestran en el cuadro 1 para tres eventos homocigóticos (Homo-Evento 2, Homo-Evento 3, Homo-Evento 4) y tres eventos hemicigotos (Hemi-Evento 2, Hemi-Evento 3, Hemi-Evento 4). Estos eventos se distinguen del Evento 1 anterior.

CUADRO 1

Datos de nivel de evento para plantas transgénicas homocigóticas y hemicigóticas *Gm.FT2a*

Zigosidad-Evento #	# Prom. Nodos MS por planta	# Prom. Nodos BR por planta	# Prom. Vainas M por planta	# Prom. Vainas BR por planta	Vainas prom. por Nodo	Altura prom. (in) por planta
Homo-Evento 2	11.8	6.9	46	9	2.9	17.5
Homo-Evento 3	12.3	6.5	66.4	9	4	21
Homo- Evento 4	12.5	6.8	49.6	9.1	3	19.5
Hemi- Evento 2	25.3	12.4	183.5	47.3	6.1	37.5
Hemi- Evento 3	23.9	13.2	200.3	28.8	6.1	40
Hemi- Evento 4	25.4	15.3	186.8	58	6	41.5

Como se muestra en el cuadro 2, las plantas hemicigóticas consistentemente tenían un mayor número de nodos en el tallo principal (MS) y en las ramas (BR) y una mayor altura de planta que las plantas homocigóticas. Por lo tanto, las plantas hemicigóticas fueron generalmente menos afectadas que las plantas homocigóticas y más parecidas a las

plantas de tipo silvestre. Las plantas hemicigóticas también tuvieron un mayor número de vainas por nodo y un mayor número de vainas en el tallo y las ramas principales, en relación con las plantas homocigóticas. Por lo tanto, las plantas hemicigóticas generalmente tenían una arquitectura de planta más cercana a la normal con un mayor número de vainas por nodo (y por planta), presumiblemente debido a su menor dosis de transgén de *Gm.FT2a*. El nivel de dosificación relativo de *Gm.FT2a* basado en la zigosidad transgénica se confirmó aún más mediante experimentos adicionales que mostraban que los niveles de transcripción de *Gm.FT2a* eran más elevados en los tejidos de las plantas homocigóticas que en los tejidos de las plantas hemicigóticas (datos no mostrados).

La inducción temprana de la floración en estas plantas transgénicas *Gm.FT2a* se asoció con más vainas (y semillas) por nodo en el tallo principal en plantas hemicigóticas y homocigóticas. Las plantas homocigóticas y hemicigóticas que contienen el transgén *Gm.FT2a* tenían cada una un mayor número de vainas/semillas por nodo en el tallo principal de la planta en comparación con los segregantes de tipo silvestre (Figura 11). También se encontró que la distribución de vainas en el tallo principal era diferente entre las plantas nulas transgénicas y silvestres *Gm.FT2a*. Ambas plantas homocigóticas y hemicigóticas crecidas bajo condiciones de día largo tenían más vainas en al menos los nudos inferiores del tallo principal y más vainas por nodo en promedio, en comparación con las plantas nulas de tipo silvestre (datos no mostrados). Las plantas hemizigotas para el transgén *Gm.FT2a* contenían el mayor número de vainas por nodo sobre la longitud del tallo principal. Sin embargo, estos efectos dependían de las condiciones de crecimiento particulares, incluida la duración del día, etc. En general, los experimentos realizados con soya en condiciones de día más largo tendían a producir mayores diferencias entre plantas transgénicas y nulas.

Los efectos dependientes de la dosis de la expresión transgénica de *Gm.FT2a* también se observaron en experimentos de ensayos de campo. En un experimento de prueba de campo, las plantas de soya hemizigotas para dos eventos *Gm.FT2a* (Eventos 1 y 2 anteriores) mostraron un promedio de aproximadamente 2.68 vainas por nodo en el tallo principal, y las plantas homocigóticas para estos eventos tenían aproximadamente 1.40 vainas por nodo en promedio, mientras que las plantas nulas segregantes tenían

aproximadamente 1.63 vainas por nodo. Sin embargo, en una prueba de campo anterior, las plantas hemizigóticas para transgénica *Gm.FT2a* (Evento 2) tenían un promedio de aproximadamente 3.21 vainas por nodo, en comparación con un promedio de aproximadamente 3.05 vainas por nodo en plantas homocigóticas y aproximadamente 2.19 vainas por nodo en plantas segregantes nulas. En otro experimento de microgravedad realizado en una ubicación de campo diferente, se descubrió que las plantas hemizigóticas para el transgén *Gm.FT2a* (Evento 1) tenían aproximadamente 2.17 vainas por nodo, en comparación con un promedio de aproximadamente 2.05 vainas por nodo en plantas homocigóticas para el transgén *Gm.FT2a* (Evento 2) y alrededor de 1.30 vainas por nodo en plantas segregantes nulas. Por lo tanto, el número de vainas por nodo en las plantas que contienen el transgén *Gm.FT2a* puede depender de una variedad de factores que incluyen la dosificación del transgén FT, condiciones ambientales y de campo, y quizás diferencias en las prácticas agronómicas. Sin embargo, al igual que las plantas transgénicas *Gm.FT2a* cultivadas en el invernadero, las plantas transgénicas homocigóticas y hemicigóticas *Gm.FT2a* cultivadas bajo condiciones de campo a menudo tenían menos nodos en el tallo principal, menor altura total de la planta y/o ramificación reducida en plantas transgénicas. De hecho, las plantas de tipo silvestre típicamente tenían más ramificaciones y un mayor número de nodos totales por planta que las plantas hemicigóticas y homocigóticas *Gm.FT2a*.

Se recogieron datos fisiológicos adicionales de plantas transgénicas *Gm.FT2a* homocigóticas y plantas de control de tipo silvestre (WT) cultivadas en el invernadero en condiciones de día de 14 horas de duración (véase el cuadro 2). Estos datos proporcionan un promedio de mediciones tomadas de seis plantas transgénicas *Gm.FT2a* para cada evento, o de ocho plantas de tipo silvestre.

Se recogieron las siguientes matrices para la caracterización fenotípica de estas plantas: Días hasta la floración en R1 (DOFR1); Días a R7 (DOR7); duración reproductiva en días de R1 a R7 (PDR1R7); número de sucursales por planta (BRPP); nodos fértiles totales en las ramas (FNBR); nodos fértiles totales por planta (FNLP); Nodos fértiles totales en el tallo principal (FNST); número de nodos en las ramas (NDBR); número de nodos en el tallo principal (NDMS); número de nodos/planta (NDPL); porcentaje de nodos fértiles en

las ramas (PFNB); porcentaje de nodos fértiles totales (PFNN); porcentaje de nodos fértiles en el tallo principal (PFNS); número de vainas por planta (PDPP); número de vainas en el tallo principal (PODMS); número de vainas en las ramas (PODBR); número de vainas/nodo en promedio; semillas por planta en R8 (SDPPR8); y peso de 1000 semillas (SW1000). Cada una de estas mediciones se tomó en la cosecha a menos que se especifique otro punto de tiempo.

CUADRO 2

Datos fenotípicos de nivel de constructo para plantas transgénicas homocigóticas *Gm.FT2a* y WT

	WT	***pAt.Erecta::Gm.FT2a***
DOFR1	33.5	21.3
DOR7	106.9	92.9
PDR1R7	76.5	71.6
BRPP	20.1	1
FNBR	190.6	2
FNLP	214.6	15
FNST	24.0	14.3
NDBR	211.4	3
NDMS	33.4	15.3
NDPL	244.9	16.3
PDPP	575.8	61.2
PFNB	90.4	75
PFNN	87.8	92.0
PFNS	71.4	92.9
PODBR	487.3	3
PODMS	88.4	60.2
vainas/Nodo	2.4	3.8
SDPPR8	1319.6	122.1
SW1000 (gramos)	146	122.5

De acuerdo con las observaciones indicadas anteriormente, las plantas transgénicas homocigóticas *Gm.FT2a* experimentaron una inducción floral anterior que las plantas WT (DOFR1 aproximadamente 21 días después de la siembra, en lugar de aproximadamente 33-34 días en plantas de tipo silvestre). Estas mediciones mostraron además que la cantidad de ramas (y otras medidas relacionadas con la ramificación, como el número de nodos o vainas en las ramas) se redujo considerablemente. Debido a que las plantas transgénicas tienen una estatura más corta con muy poca ramificación, el número total de nodos o vainas por planta también se redujo considerablemente. Sin embargo, el número de vainas por nodo en el tallo principal aumentó en plantas transgénicas (por ejemplo, alrededor de 3.8 vainas/nodos promedio) en relación con las plantas nulas de tipo silvestre (por ejemplo, alrededor de 2.4 vainas/nodo).

Sin limitarse a ninguna teoría, el mayor número de vainas por nodo observadas con plantas de soya transgénicas que expresan FT2a en el meristemo durante las etapas de desarrollo vegetativo puede ser causado, al menos en parte, por la sincronización de la floración temprana con el inicio temprano del ciclo secundario y/o la liberación de racimos terciarios y/o una mejor utilización de los recursos para producir más flores que produzcan vaina por nodo. La expresión temprana de FT en el meristemo (ver, por ejemplo, las Figuras 3 y 4) puede causar la liberación temprana de los meristemos de inflorescencia inactivos para producir un mayor número de racimos por nodo de la planta, de modo que un mayor número de racimos produzca flores maduras y Vainas totalmente desarrolladas en cada nodo. Sin embargo, la expresión posterior de FT en los tejidos reproductivos (ver, por ejemplo, las Figuras 5 y 6) puede terminar el desarrollo floral de flores de desarrollo posterior en cada nodo, lo que conduce a una asignación de recursos más eficiente a los racimos, flores y vainas en desarrollo anteriores. En las plantas de soya de tipo silvestre, un porcentaje mucho más bajo de racimos secundarios y terciarios produce flores y vainas completamente desarrolladas en relación con los racimos primarios, y las flores que se desarrollan más tarde en el racimo primario generalmente no producen flores maduras y/o vainas de tamaño completo antes abscisión. Por lo tanto, se teoriza que se pueden generar más vainas por nodo en plantas que expresan proteínas FT en el meristemo vegetativo al sincronizar el desarrollo de la flor temprana con la liberación temprana de los

racimos laterales en uno o más nodos de la planta. Con al menos el promotor *pAt.Erecta* que maneja la expresión de FT, las flores que se desarrollan más tarde (que de otro modo no producirán vainas totalmente desarrolladas o de tamaño completo) también pueden terminar con la posterior expresión de FT en la etapa reproductiva para dirigir los recursos a las flores en desarrollo anteriores.

EJEMPLO 4

Expresión del gen Flowering locus T, *Gm.FT2a*, bajo el control de promotores de etapa vegetativa alternativos en soya

En función de los fenotipos observados en el Ejemplo 3 que antecede, también se propusieron dos promotores para activar la expresión del transgén *Gm.FT2a* que se consideraron promotores de etapa vegetativa, preferidos de las hojas: *pAT.BLS* (SEQ ID NO: 46) y *pAT.ALMT6* (SEQ ID NO: 47). Tal como se usa en la presente, un promotor "preferido de las hojas" se refiere a un promotor que inicia la transcripción de su gen asociado preferentemente en tejidos relativos a otros tejidos vegetales. Dado que se considera que FT funciona como un florígeno móvil, la expresión de FT temprana durante las etapas vegetativas en los tejidos periféricos, tal como en la hoja con un promotor preferido de las hojas o específico de las hojas, puede conducir a fenotipos similares a la expresión de *pAt.Erecta::Gm.FT2a* preferidos del meristemo. Se teorizó además que la expresión de FT con un promotor de hoja vegetativo puede atenuar además la señal de inducción floral y, por lo tanto, mitigar los fenotipos de terminación temprana observados con la expresión homocigota de FT en el meristemo y aumentar la ramificación y la altura de la planta.

En estos experimentos, los vectores de transformación para *pAt.ALMT6::Gm.FT2a* y *pAt.BLS::Gm.FT2a* se construyeron y se usaron para transformar una línea de soya mediante transformación mediada por *Agrobacterium*. Se ha demostrado que la expresión con el promotor *pAt.BLS* comienza en el primordio foliar número 5 (p5) y se expresa en las venas foliares de origen solo hasta la transición a la floración, y el promotor *pAt.ALMT6* es también un promotor foliar vegetativo con expresión posterior en etapas de desarrollo relativas a *pAt.BLS*. Véase, por ejemplo, Efroni et al., "A Protracted and Dynamic

Maturation Schedule Underlies *Arabidopsis* Leaf Development," The Plant Cell 20(9): 2293-2306 (2008); y Shani et al., "Stage-Specific Regulation of *Solanum lycopersicum* Leaf Maturation by Class 1 KNOTTED1-LIKE HOMEOBOX Proteins," The Plant Cell 21(10): 3078-3092 (2009). Se produjeron plantas de soya transgénicas para cada uno de estos constructos de vector y se caracterizaron por fenotipos en cámaras de crecimiento en condiciones de fotoperiodo de 14 horas en comparación con plantas de tipo silvestre. Para cada uno de los constructos del promotor *pAt.BLS*, se probaron seis eventos transgénicos (5 plantas por evento), y para el promotor *pAt.ALMT6*, se probaron siete eventos transgénicos (5 plantas por evento). Para cada uno de estos constructos, se recolectaron datos de control de cinco plantas de tipo silvestre.

Se recogieron las siguientes matrices para la caracterización fenotípica de estas plantas transgénicas (Cuadros 3 y 4). Las mediciones individuales son como se definieron anteriormente, y la caracterización fenotípica se realizó en plantas homocigóticas para el transgén.

CUADRO 3

Datos fenotípicos de nivel de constructo para plantas *pAt.ALMT6::Gm.FT2a* y WT

	WT	***pAt.ALMT6::Gm.FT2a***
DOFR1	35.2	38.8
DOR7	84.7	88.8
PDR1R7	49.5	50.0
BRPP	7.7	8.9
FNBR	57.8	73.3
FNLP	69.7	85.0
FNST	12.0	11.7
NDBR	78.9	96.0
NDMS	21.3	22.5
NDPL	100.2	118.5
PDPP	120.2	141.1
PFNB	73.2	76.8
PFNN	71.7	72.1
PFNS	57.9	51.7
PODBR	91.8	118.1
PODMS	28.3	22.9
Vainas/ Nodos	1.4	1.2

CUADRO 4

Datos fenotípicos de nivel de constructo para plantas *pAt.BLS::Gm.FT2a* y WT

	WT	***pAt.BLS::Gm.FT2a***
DOFR1	31.3	35.2
DOR7	78.1	82.6
PDR1R7	46.9	47.5
BRPP	7.5	8.8
FNBR	65.7	81.2
FNLP	80.5	94.0
FNST	14.9	12.7
NDBR	72.2	95.6
NDMS	21.9	22.3
NDPL	94.0	117.9
PDPP	137.0	148.1
PFNB	92.3	85.3
PFNN	87.4	80.1
PFNS	68.1	57.3
PODBR	100.9	123.4
PODMS	36.1	24.8
Vainas/ Nodos	1.7	1.3

Las plantas transgénicas que expresan *Gm.FT2a* bajo el control de los promotores *pAt.ALMT6* y *pAt.BLS* alternativos eran fenotípicamente más similares a las plantas de tipo silvestre (WT) que las plantas transgénicas *pAT.Erecta::Gm.FT2a*. Las plantas transformadas con las construcciones *pAt.ALMT6::Gm.FT2a* y *pAt.BLS::Gm.FT2a* tuvieron tiempos de floración y rasgos de crecimiento vegetativo similares a las plantas de control de tipo silvestre, tal vez con un número ligeramente mayor de nodos en las ramas en comparación con las plantas silvestres plantas tipo (Cuadros 3 y 4). Estos datos pueden interpretarse para indicar que tanto el momento como la ubicación de la expresión de FT transgénica son importantes para producir rasgos o fenotipos reproductivos y relacionados con el rendimiento que difieren de las plantas de tipo silvestre. La simple expresión de un transgén FT durante las etapas de desarrollo vegetativo anteriores (por ejemplo, en los tejidos de las hojas) puede no ser suficiente para alterar los fenotipos reproductivos o relacionados con el rendimiento de una planta (por ejemplo, Vainas por nodo). Por lo tanto, de acuerdo con las modalidades de la presente invención, un promotor unido operativamente a un transgén FT florigénico puede ser preferiblemente un promotor preferido de meristemo o preferido meristemio además de la expresión de activación durante las etapas vegetativas del desarrollo de la planta. Sin embargo, cuando los perfiles de expresión para los dos promotores preferidos de hojas anteriores se probaron en plantas de soya, no se observó tinción de GUS en la hoja en desarrollo con el promotor *pAt.BLS*, y el promotor *pAt.ALMT6* no produjo una expresión detectable de GUS en el Hoja hasta etapas posteriores de la vegetación con una expresión mucho más alta durante las etapas reproductivas tempranas. Por lo tanto, sigue siendo posible que la expresión de los transgenes de FT en los tejidos periféricos (hojas) durante las etapas vegetativas tempranas utilizando diferentes promotores específicos de tejido pueda ser suficiente en algunos casos para inducir la floración temprana y/o causar otros rasgos o fenotipos reproductivos o relacionados con el rendimiento, que también puede depender de la especie de planta particular probada.

EJEMPLO 5

Identificación de dominios proteicos de homólogos de FT mediante análisis de Pfam

Los ortólogos de *Gm.FT2a* se identificaron mediante análisis de secuencia y revisión de la

literatura, y algunos ejemplos de estos homólogos de FT se enumeran en el cuadro 5 junto con Gm.FT2a. Estos incluyeron otros genes de FT de soya, así como algunos genes de FT de otras especies de plantas. Las secuencias de aminoácidos de estas proteínas FT se analizaron para identificar cualquier dominio de proteína Pfam utilizando el software HMMER y las bases de datos Pfam (versión 27.0). Se descubrió que estas secuencias de proteínas FT (SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10 y 12) tenían el mismo dominio Pfam identificado como una proteína de dominio de unión a fosfatidil etanolamina (PEBP) que tenía un nombre de dominio Pfam de "PBP_N" y un número de acceso Pfam de PF01161. La ubicación de los dominios PBP_N en cada una de estas secuencias de proteínas FT también se enumeran en el cuadro 5. La ubicación del dominio PBP_N en otras proteínas FT se puede determinar mediante alineación de secuencia. Por lo tanto, se contempla que cualquier secuencia de ADN que codifique al menos una proteína FT que comprende el dominio PBP_N se puede usar en una molécula de ADN recombinante de la presente invención, siempre que la proteína FT correspondiente tenga actividad florigénica cuando se expresa ectópicamente en el meristemo de una planta.

CUADRO 5

Ubicación del dominio PBP_N (Pfam) en secuencias de proteínas FT

PROTEINA SEQ ID NO.	**Nombre del gen**	**Ubicación de dominio**
2	*Gm.FT2a*	28-162
4	*Gm.FT5a*	26-157
6	*Gm.FT2b*	28-162
8	*Zm.ZCN8*	26-154
10	*Nt.FT-tipo*	25-159
12	*Le.SFT*	29-161

EJEMPLO 6

Expresión de homólogos de FT bajo el control del promotor *pAt.Erecta* en soya

Se construyeron vectores de transformación adicionales que contienen otros homólogos de FT (Cuadro 6) bajo el control del promotor *pAt.Erecta* y se usaron para transformar las semillas de soya mediante la transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas generadas a partir de estos eventos se caracterizaron por sus fenotipos en el invernadero con un fotoperiodo natural de 14 a 14,5 horas. Para cada constructo, se probaron seis eventos (6 plantas por evento). Seis plantas también fueron probadas y promediaron para plantas de control de tipo silvestre (WT). Se realizaron diferentes grupos de experimentos (A-E) como se muestra en el cuadro 6 con controles de tipo silvestre separados.

CUADRO 6

Lista de constructos para alguna *Gm.FT2a* y sus homólogos con sus secuencias de proteínas

Descripción de constructo	**Nombre del gen**	**PROTEINA SEQ ID NO.**	**Grupo de prueba**
pAt.Erecta::Gm.FT2a	*Gm.FT2a*	2	A
pAt.Erecta::Gm.FT2b	*Gm.FT2b*	6	C
pAt.Erecta::Gm.FT5a	*Gm.FT5a*	4	E
pAt.Erecta::Zm.ZCN8	*Zm.ZCN8*	8	B
pAt.Erecta::Nt.FT-like	*Nt.FT-like*	10	B
pAt.Erecta::Le.SFT	*Le.SFT*	12	D

Se recogieron las siguientes matrices para caracterización fenotípica de plantas transformadas con cada uno de los constructos enumerados en el cuadro 6 para expresar otros homólogos de FT con el promotor *pAt.Erecta*, además de los datos recogidos para la constructo Gm.FT2a como se describió anteriormente. Las mediciones individuales son como se definieron anteriormente, y la caracterización fenotípica de los transformantes se realizó en plantas homocigóticas para el transgén.

Se recogieron datos fenotípicos para plantas que expresan los transgenes similares a *Zm.ZCN8* y *Nt.FT* bajo el control del promotor *pAt.Erecta* (véanse las Cuadros 7 y 8). Los valores de rasgo para cada Evento en las Cuadros 7 y 8 son un promedio de todas las plantas probadas que contienen el Evento. También se proporciona una columna con un promedio de los valores de evento para cada rasgo.

CUADRO 7

Datos fenotípicos de constructo y nivel de evento para plantas Zm.ZCN8 y WT

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	33.5	28.6	29	29.2	27.5	27	30.7	28
DOR7	106.9	93.5	97.3	89.2	88.2	93.5	100.3	92.8
PDR1R7	76.5	64.1	69.8	60	59	59.5	71.7	64.8
BRPP	20.1	3.2	2.8	1.3	1.5	1.3	9.5	3
FNBR	190.6	26.9	32	8	7	2.3	95.3	17
FNLP	214.6	54.9	67.5	28	40.5	20.3	132.5	40.5
FNST	24.0	28.3	35.5	22	33.5	18	37.3	23.5
NDBR	211.4	30.2	32.5	9	7.5	3.5	110.8	17.8
NDMS	33.4	30.5	36.3	24	34.3	20	44.8	24
NDPL	244.9	60.3	68.8	30.8	41.8	23.5	155.5	41.8
PDPP	575.8	317.5	498.3	144.8	319	76.3	658	208.8
PFNB	90.4	87.2	98.6	90.3	85.4	64.6	91.1	93.2
PFNN	87.8	93.1	98.1	92.3	97.0	86.5	88.5	96.4
PFNS	71.4	93.2	97.9	92.5	97.9	90.6	82.1	98.1
PODBR	487.3	105.4	162	19	18.5	3.3	384.5	45.3
PODMS	88.4	212.9	336.3	130.5	300.5	73	273.5	163.5
Vainas /Nodo	2.4	5.5	7.2	4.6	7.7	3.2	4.9	5.2
SDPPR8	1319.6	564.7	961	200.5	562	136.8	1166.3	361.5
SW1000 (gramos)	146	108.9	102.9	127.4	105.3	82.9	116.6	117.9

CUADRO 8

Datos fenotípicos de constructo y nivel de evento para plantas tipo *Nt.FT* y WT.

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	33.5	31.5	39.3	27.7	25.3	29	37.2	30.7
DOR7	106.9	93.9	115.8	90.7	80.7	83.7	102.2	90.2
PDR1R7	76.5	62.3	76.4	63	55.3	54.7	65	59.5
BRPP	20.1	9.8	20	8.3	2.3	5.3	17	6
FNBR	190.6	108.7	190.5	95.3	11	54.3	223	78.3
FNLP	214.6	131.4	212.3	118	29.5	77.8	248	103
FNST	24.0	23.2	21.8	22.8	21.3	23.5	25	24.8
NDBR	211.4	128.7	281.8	97	11	54.5	247.7	80.5
NDMS	33.4	28.9	33.8	27	23.3	24.8	35.7	28.8
NDPL	244.9	157.1	315.5	124	31.5	79.3	283.3	109.3
PDPP	575.8	462.1	638	511.3	150.8	296	745	431.5
PFNB	90.4	92.5	68.0	98.6	100	99.7	91.3	97.2
PFNN	87.8	89.6	67.6	95.4	93.3	98.3	88.4	94.2
PFNS	71.4	81.9	64.7	83.3	91.3	95.2	70.6	86.2
PODBR	487.3	326.3	529	342.3	22.7	147	633.3	283.5
PODMS	88.4	136.7	109	169	133.8	149	111.7	148
Vainas/ Nodo	2.4	3.6	2.0	4.3	4.9	3.8	2.7	4.0
SDPPR8	1319.6	928.7	1359.8	965.5	382.7	591.5	1714.3	558.7
SW1000 (grams)	146	149.0	143.7	121.2	133.8	179.3	142.2	174.0

Las plantas de soya transgénicas que expresan las proteínas similares a *Zm.ZCN8* y *Nt.FT* florecieron antes que las plantas de control de tipo silvestre y tuvieron un mayor número de vainas por nodo (similar a las plantas que expresan el transgén *Gm.FT2a*). De hecho, las plantas de soya que expresan los transgenes similares a *Zm.ZCN8* y *Nt.FT* tenían varios fenotipos similares a las plantas transgénicas *Gm.FT2a*, que incluyen un número reducido de días para la floración (DOFR1), un número reducido de ramas (BRPP), menos nodos por planta (NDPL), menos nodos en las ramas (NDBR), número reducido de vainas por planta (PDPP) y menos vainas en las ramas (PODBR), junto con un aumento en el número de vainas por nodo y una disminución en el número de vainas por planta semillas por planta (Cuadros 7 y 8), en relación con los controles de tipo silvestre. Sin embargo, varios de los fenotipos negativos observados en las plantas homocigóticas Gm.FT2a fueron menos pronunciadas en las plantas transgénicas que expresan el tipo *Zm.ZCN8* y *Nt.FT*. En general, las plantas que expresan el transgén Zm.ZCN8 tenían una altura de planta más corta y menos ramificación, pero más vainas por nodo en el tallo principal. De manera similar, las plantas que expresan el transgén tipo *Nt.FT* tenían una altura de planta más corta, ramificación reducida y vainas aumentadas por nodo en el tallo principal, en relación con las plantas de control de tipo silvestre.

Dos eventos transgénicos *Zm.ZCN8* y cuatro eventos similares a *Nt.FT* desde arriba también se probaron en ensayos de campo en dos ubicaciones diferentes. Se recogieron datos fenotípicos para plantas que expresan transgenes similares a Zm.ZCN8 y Nt.FT bajo el control del promotor pAt.Erecta (Cuadros 9 y 10). Para las mediciones de campo, los rasgos son similares a los enumerados anteriormente para los cuadros de datos de efecto invernadero, excepto que DOR8 y PDR1R8 son días para R8 y duración reproductiva entre R1 y R8. Además, todos los demás rasgos se miden en la cosecha (es decir, en la etapa R8), en lugar de en la etapa R7. Los Eventos 1 y 2 en el cuadro 9 corresponden a los Eventos 2 y 3 en el cuadro 7, y los Eventos 1-4 en el cuadro 10 corresponden a los Eventos 1-4 en el cuadro 8, respectivamente. A excepción de los días de floración en R1 (DOFR1) y la duración reproductiva en días de R1 a R8 (PDR1R8), todas las mediciones fenotípicas se obtuvieron en base a los datos recolectados de dos lugares. Al igual que las observaciones en el invernadero, las plantas de soya transgénicas que expresan proteínas

Zm.ZCN8 y *Nt.FT* también florecieron antes que las plantas de control de tipo silvestre en el campo. Las plantas transgénicas *Zm.ZCN8* tenían un mayor número de vainas por nodo, mientras que las plantas parecidas a *Nt.FT* no mostraban claramente vainas aumentadas por nodo en la prueba de campo.

CUADRO 9

Datos fenotípicos de una prueba de campo para plantas *Zm.ZCN8* y WT

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2
DOFR1*	42.4	27.9	28.0	27.7
DOR8	110.7	95.0	92.0	98.0
PDR1R8*	65.7	67.1	63.5	70.7
BRPPR8	2.6	0.1	0.2	0.0
NDBRR8	9.7	0.3	0.5	0.1
NDMSR8	18.3	13.6	12.5	14.7
NDPLR8	28.0	13.9	13.0	14.8
PDPPR8	44.2	35.1	30.1	40.0
TPBRR8	9.5	0.3	0.5	0.1
PODMSR8	34.7	34.7	29.5	39.9
Vainas/Nodo	1.6	2.5	2.3	2.6
SDPPR8	99.9	67.6	54.7	80.5
SW1000 (onzas)	5.1	4.1	3.8	4.3

(* - datos de ubicación única)

CUADRO 10

Datos fenotípicos de una prueba de campo para plantas tipo *Nt.FT* y WT

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4
DOFR1*	42.4	38.0	42.5	26.8	26.8	25.8
DOR8	110.7	93.3	111.3	88.2	86.6	87.1
PDR1R8*	65.7	63.1	66.8	62.2	60.3	63.0
BRPPR8	2.6	0.7	2.4	0.1	0.2	0.1
NDBRR8	9.7	2.7	9.2	0.5	0.8	0.3
NDMSR8	18.3	11.5	18.3	9.9	7.6	10.1
NDPLR8	28.0	14.2	27.5	10.4	8.5	10.4
PDPPR8	44.2	23.5	43.0	18.9	11.6	20.3
TPBRR8	9.5	2.6	8.4	0.5	0.8	0.5
PODMSR8	34.7	20.9	34.6	18.5	10.8	19.8
Vainas/ Nodo	1.6	1.6	1.6	1.8	1.4	1.7
SDPPR8	99.9	49.9	98.6	36.3	25.0	39.7
SW1000 (onzas)	5.1	4.5	5.1	4.4	4.6	4.0

(* - datos de ubicación única)

Se recogieron datos fenotípicos adicionales para las plantas que expresan el transgén *Gm.FT2b* bajo el control del promotor *pAt.Erecta* (Cuadro 11).

CUADRO 11

Datos fenotípicos de constructo y nivel de evento para plantas *Gm.FT2b* y WT

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	43.7	34.6	41.2	34.3	22.7	33.2	37.2	39.3
DOR7	105.9	100.4	100.5	100.3	99.8	100.3	98.7	102.8
PDR1R7	62.2	65.8	59.3	66	77.2	67.2	61.5	63.5
BRPP	13.4	4.7	7	5	1.7	3.3	3.7	7.7
FNBR	103.8	32.4	52	29.7	12	30.7	21.7	48.7
FNLP	125.0	46.6	68.7	41.3	24.3	45	37.3	63
FNST	21.2	14.2	16.7	11.7	12.3	14.3	15.7	14.3
NDBR	108.4	34.2	54	30.3	12.7	33.7	24.7	50
NDMS	30.2	18.0	18.3	15.3	15	19	19.3	21
NDPL	138.7	52.2	72.3	45.7	27.7	52.7	44	71
PDPP	387.4	143.0	167	140	96	145.7	108.7	200.7
PFNB	95.5	94.6	96.4	97.7	96.8	91.0	87.7	97.7
PFNN	90.1	89.1	94.9	90.3	88.0	86.0	86.1	89.4
PFNS	69.7	79.2	91.5	74.5	82.5	77.0	81.1	68.7
PODBR	284.9	90.2	109.3	96	43	94.7	55.3	143
PODMS	102.5	52.7	57.7	44	53	51	53.3	57.7
Vainas/ Nodo	2.8	2.7	2.3	3.1	3.5	2.8	2.5	2.8
SDPPR8	1159.3	322.3	411.3	292.3	195.3	346.7	245	443.3
SW1000 (gramos)	174.0	154.0	170.4	156.7	154.1	155	130.2	157.8

Las plantas de soya transgénicas que expresan el transgén *Gm.FT2b* florecieron antes y tenían plantas de control menos ramificadas que las de tipo silvestre. Las plantas de soya que expresaban *Gm.FT2b* tenían un número reducido de días de floración (DOFR1), número reducido de ramas (BRPP), menos nodos por planta (NDPL), menos nodos en las ramas (NDBR), cantidad reducida de vainas por planta (PDPP)) y menos vainas en las ramas (PODBR) (Cuadro 9). Sin embargo, las plantas transgénicas *Gm.FT2b* no mostraron un aumento en el número de vainas por nodo. En general, las plantas que expresan el transgén *Gm.FT2b* tenían una altura de planta más corta y menos ramificación en comparación con las plantas de control de tipo silvestre. Las plantas de soya transgénicas que expresan cuatro eventos diferentes del transgén *Gm.FT2b* también se probaron en experimentos de campo. Se recogieron datos fenotípicos para plantas que expresan el transgén *Gm.FT2b* bajo el control del promotor *pAt.Erecta* (Cuadro 12). Los eventos 1-4 en el cuadro 11 corresponden a los Eventos 3, 2, 1 y 4 en el cuadro 12, respectivamente. De manera similar a las observaciones en el invernadero, las plantas de soya que expresan *Gm.FT2b* mostraron un número reducido de días para la floración (DOFR1) en el campo. Las otras mediciones fenotípicas también exhibieron características similares a las observadas en el invernadero en relación con las plantas de control de tipo silvestre.

CUADRO 12

Datos fenotípicos de una prueba de campo para plantas *Gm.FT2b* y WT

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4
DOFR1	41.9	37.3	38.3	38.3	36.3	36.2
DOR8	115.4	109.2	111.1	110.6	110.6	104.6
PDR1R8	73.5	71.8	75.0	72.1	74.1	66.1
SDPPR8	188.5	95.5	99.4	81.1	117.7	83.6
SW1000 (gramos)	153.4	137.3	144.0	129.6	134.4	141.5

Se recogieron datos fenotípicos adicionales de plantas que expresan el transgén de *Le.SFT* bajo el control del promotor *pAt.Erecta* (Cuadro 13).

CUADRO 13

Datos fenotípicos de constructo y nivel de evento para plantas *Le.SFT* y WT

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	42.9	41.4	30	44.4	30.7	28	60.2	55
DOR7	108.6	103.8	90.7	106.2	99	91.5	116.5	119
PDR1R7	65.5	64.0	60.2	71	67	65	56.4	64.2
BRPP	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
FNBR	131.5	37.1	2.7	125.2	4.7	1	47.7	41.3
FNLP	156.8	50.7	15.7	142.6	18.1	18.3	56.7	52.7
FNST	25.3	13.7	13	17.7	13.7	17.3	9	11.3
NDBR	140.2	38.9	3	129.4	5.4	1	51	43.7
NDMS	32.4	17.9	16	25.8	16.3	21	12.3	16.3
NDPL	172.4	56.7	19	154.7	21.2	22	63.3	60
PDPP	473.3	201.3	53.7	432.3	69.8	85.7	279.3	287
PFNB	94.1	94.0	100	96.9	83.3	100	92.9	90.7
PFNN	90.4	86.4	82.5	92.3	83.7	83.5	88.8	87.6
PFNS	77.1	76.5	81.2	69.5	84.0	82.8	72.7	68.6
PODBR	366.2	141.8	3.7	361.5	15.5	1.3	238.7	230.7
PODMS	114	60.3	50	73.6	57.1	84.3	40.7	56.3
Vainas/ Nodo	2.7	3.6	2.8	2.8	3.3	3.9	4.4	4.8
SDPPR8	1247.4	476.0	136.7	1036	148.5	183	655	697
SW1000 (gramos)	167.7	153.2	170.0	182.8	157.5	148.5	131.5	128.8

En general, las plantas de soya que expresan el transgén *Le.SFT* tenían una altura de planta más corta con menos ramificación y un mayor número de vainas por nodo en promedio con respecto a las plantas de tipo silvestre (Cuadro 13). Sin embargo, estos efectos fueron variables y específicos del evento. Por ejemplo, los Eventos 1, 3 y 4 mostraron floración temprana (DOFR1), mientras que otros eventos fueron neutrales o en realidad retrasaron la floración. Además, algunos de los eventos transgénicos *Le.SFT* mostraron un aumento de las vainas por nodo en promedio a diferentes grados, mientras que un par de eventos fueron neutrales en términos del número promedio de vainas por nodo. Curiosamente, dos de los eventos (Eventos 5 y 6) tuvieron el mayor número de vainas por nodo en promedio a pesar de tener un retraso en la floración.

Se recogieron datos fenotípicos adicionales de plantas que expresan el transgén *Gm.FT5a* bajo el control del promotor *pAt.Erecta* (Cuadro 14).

CUADRO 14

Datos fenotípicos de constructo y nivel de evento para plantas *Gm.FT5a* y WT

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5
DOFR1	48.2	29.9	32.2	29	28.6	29.2	30.5
DOR7	110	92.5	96.6	90.4	91	92.8	91.8
PDR1R7	61.8	62.7	64.4	61.4	62.4	63.6	61.3
BRPP	12.4	2.5	7	1.7	1	1.3	1.7
FNBR	105.6	7.3	20.3	4.7	3	4	4.3
FNLP	126.5	24.5	41.7	20	18.7	19.3	22.7
FNST	20.9	17.2	21.3	15.3	15.7	15.3	18.3
NDBR	108.6	7.5	21	5	3	4	4.3
NDMS	29	17.7	22	15.7	16.3	16	18.7
NDPL	137.6	25.2	43	20.7	19.3	20	23
PDPP	304.3	131.9	214.7	111	100.3	104.3	129.3
PFNB	97.2	98.0	97.3	93.3	100	100	100
PFNN	98.1	97.0	95.9	90	99.1	100	100
PFNS	72.1	97.0	97.1	98.1	96.1	95.8	97.9
PODBR	233.4	16.5	60.5	8	4	6	4
PODMS	75.1	108.6	159	98.5	95	92.5	98
Vainas/ Nodo	2.2	5.2	5.0	5.4	5.2	5.2	5.6
SDPPR8	778.8	271.7	516	232.7	175.3	182.3	252
SW1000 (gramos)	151.6	126.0	143.7	122.4	122.2	121.8	116.8

Las plantas de soya transgénicas que expresan el transgén *Gm.FT5a* florecieron significativamente antes que las plantas de control de tipo silvestre y tuvieron un número incrementado de vainas por nodo (similar a plantas que expresan el transgén *Gm.FT2a*). De hecho, las plantas de soya que expresan el transgén *Gm.FT5a* tenían varios fenotipos (similares a las plantas transgénicas *Gm.FT2a*), que incluyen un número reducido de días para la floración (DOFR1), un número reducido de ramas (BRPP), menos nodos por planta (NDPL), menos nodos en las ramas (NDBR), número reducido de vainas por planta (PDPP) y menos vainas en las ramas (PODBR), junto con un aumento en el número de vainas por nodo y una disminución en el número de semillas por planta (Cuadro 14). En general, las plantas que expresan el transgén *Gm.FT5a* tenían una altura de planta más corta y menos ramificación, pero más vainas por nodo (particularmente en el tallo principal) en relación con las plantas de control de tipo silvestre.

Sin estar vinculados por ninguna teoría, estos datos soportan un modelo de sobreexpresión de FT que actúa de manera dependiente de la dosificación con el grado o extensión de los fenotipos asociados (por ejemplo, floración temprana, aumento de vainas por nodo y arquitectura de planta alterada) dependiendo de (i) el nivel y el momento de la expresión de FT, (ii) la especificidad tisular de la expresión de FT, y (iii) la actividad relativa y la especificidad objetivo de la proteína FT particular que se está expresando. Por ejemplo, la expresión de los ortólogos de la proteína FT de otras especies vegetales en el frijol de soya puede producir un efecto más atenuado en relación con la sobreexpresión de una proteína FT endógena (*Gm.FT2a*) en el frijol de soya, que puede resultar de los homólogos de proteína FT no nativa que tienen un menor actividad en soya. Sin embargo, la expresión de algunas proteínas nativas de FT puede no producir efectos fenotípicos significativos si tienen un papel diferente o especializado en su estado natal o contexto. Las diferentes proteínas FT también pueden actuar sobre diferentes receptores y receptores tisulares y, por lo tanto, tienen efectos diferenciales en la arquitectura de la planta y en los rasgos y fenotipos de la floración.

Independientemente del nivel de actividad del homólogo de FT particular, los fenotipos alterados de arquitectura reproductiva y de planta parecen correlacionarse con el momento y la ubicación de la expresión de FT. La expresión en etapa vegetativa de los

transgenes de FT puede ser necesaria para inducir la floración temprana y/o causar un aumento en el número de meristemos florales, flores, vainas, etc., por nodo de la planta. De hecho, la expresión de FT en los tejidos meristemáticos durante las etapas de desarrollo vegetativo se muestra con una dosificación adecuada del transgén FT para causar cambios reproductivos en las plantas que llevan a un mayor número de flores, vainas y/o semillas por nodo. En contraste, la expresión de un transgén *Gm.FT2a* bajo el control de los promotores preferidos de la hoja produjo muy pocos cambios fenotípicos, si los hubo, en relación con las plantas de tipo silvestre. Estos datos indican que tanto el momento como la especificidad del tejido (o preferencia del tejido) de la expresión de FT son factores importantes que afectan los cambios fenotípicos reproductivos y/o relacionados con el rendimiento en plantas transgénicas.

Los presentes datos sugieren que diferentes proteínas FT pueden tener diferentes niveles de actividad y/o especificidades objetivo a pesar de que se expresan usando el mismo promotor *pErecta*. Mientras que varias construcciones que expresaban *Gm.FT2a, Zm.ZCN8, Nt.FT-like* y *Gm.FT5a* causaron cada una de las primeras floración y terminación, además de un mayor número de vainas por nodo, otras construcciones que expresaban *Gm.FT2b* y *Le.SFT* tenían diferentes efectos correlativos en la floración. La expresión de *Gm.FT2b* causó la floración temprana y la terminación de las plantas pero sin un aumento significativo en el número de vainas por nodo. Por otro lado, la expresión de *Le.SFT* mostró vainas aumentadas por nodo y terminación temprana a pesar de un retraso en la floración. Curiosamente, un mayor número de vainas por nodo en las plantas de FT transgénicas no se correlacionó con una duración reproductiva extendida (PDR1R7) y no siempre estuvo alineado con la floración temprana (DOFR1) como se señaló anteriormente. Estos datos sugieren que los cambios reproductivos en respuesta a la expresión en estado vegetativo de proteínas FT en el meristemo pueden operar a través de uno o más mecanismos o vías independientes. El aumento en el número de vainas por nodo en las plantas de FT transgénicas puede depender del número de meristemos florales e inflorescentes inducidos por los meristemos vegetativos en cada nodo, lo que puede ocurrir independientemente del tiempo de floración y/o la duración reproductiva. Sin embargo, como se señaló anteriormente, la duración reproductiva no necesariamente se

correlaciona con la duración de la floración.

EJEMPLO 7

Identificación de promotores de meristemo de etapa vegetativa adicionales

Habiendo observado efectos fenotípicos con la expresión de *Gm.FT2a* bajo el control de un promotor meristemático de etapa vegetativa, *pAt.Erecta*, se contempla que otros promotores meristemáticos (o específico de meristemo) de etapa vegetativa puede usarse para controlar la expresión de proteínas FT para causar rasgos o fenotipos reproductivos o relacionados con el rendimiento en las plantas, como un mayor número de vainas por nodo (y/o por planta o tallo principal). Usando el patrón de expresión caracterizado del promotor *pAt.Erecta* (véase el Ejemplo 2), se identificaron otros promotores de meristemo (o meristemo específicos) en estado vegetativo de soya, papa y *Arabidopsis*. Se utilizaron dos enfoques bioinformáticos para identificar genes candidatos de otras especies dicotiledóneas que incluyen, por ejemplo, *Arabidopsis*, soya, *Medicago*, papa y tomate, que tienen perfiles de expresión similares a *pAt.Erecta*: BAR Espressolog y Expression Angler. Véase, por ejemplo, BAR expressolog identification: expression profile similarity ranking of homologous genes in plant species," *Plant J* 71(6): 1038-50 (2012); and Toufighi, K et al., "The Botany Array Resource: e-Northerns, Expression Angling, and promoter analyses," *Plant J* 43(1): 153-163 (2005). Las secuencias promotoras de estos genes se proponen para su uso en la expresión de transgenes de FT de acuerdo con modalidades de la presente invención.

Los ejemplos de los promotores de gen identificados en este análisis incluyen los siguientes: cuatro genes de cinasa similar a receptor (RLK) de la soja, que incluyen Glyma10g38730 (SEQ ID NO: 33), Glyma09g27950 (SEQ ID NO: 34), Glyma06g05900 (SEQ ID NO: 35), y Glyma17g34380 (SEQ ID NO: 36). Otros ejemplos incluyen promotores del gen de cinasa similar a receptor (RLK) de la papa, PGSC0003DMP400032802 (SEQ ID NO: 37) y PGSC0003DMP400054040 (SEQ ID NO: 38). Es posible que estos genes RLK estén relacionados estructural y/o funcionalmente a los genes *Erecta* y *similares a Erecta* de *Arabidopsis* y otras especies, dado que son también genes RLK. Otros promotores de etapa vegetativa, preferidos por el meristemo de

los genes de *Arabidopsis* incluyen los siguientes: *At.MYB17* (*At.LMI2*; At3g61250) (SEQ ID NO: 41), *gen similar a la cinesina* (At5g55520) (SEQ ID NO: 42), genes similares a AP2/B3, que incluyen *At.REM17* (SEQ ID NO: 43) o *At.REM19*, y genes similares a Erecta 1 y 2, *At.Erl1* (SEQ ID NO: 44) y *At.Erl2* (SEQ ID NO: 45). Cada uno de estos promotores y las secuencias funcionales similares puede estar unidos de manera operativa al gen FT para provocar la expresión ectópica de los genes FT en uno o más meristemos de plantas al menos durante las etapas vegetativas de desarrollo.

Con respecto al gen *At.MYB17* (*At.LMI2*), véase Pastore, JL et al., "LATE MERISTEM IDENTITY 2 acts together with LEAFY to activate *APETALA1*," *Development* 138: 3189-3198 (2011), el contenidos completos y descripción de los cuales se incorporan aquí como referencia. Con respecto al gen similar a *Kinesin*, véase Fleury, D et al., "The *Arabidopsis thaliana* Homolog of Yeast *BRE1* Has a Function in Cell Cycle Regulation during Early Leaf and Root Growth," *Plant Cell*, 19(2): 417-432 (2007), todo el contenido y la descripción de los cuales se incorporan aquí como referencia. Con respecto a los genes *REM17* y *REM19* de *Arabidopsis*, véase Mantegazza, O et al., "Analysis of the *Arabidopsis* REM gene family predicts functions during flower development," *Ann Bot* 114(7): 1507-1515 (2014), los contenidos completos y la descripción de los cuales se incorporan aquí como referencia. Además, con respecto al gen *At.Erl2*, véase "Special Issue: Receptor-like Kinases," *JIPB* 55(12): 1181-1286 (2013), and particularly Shpak, E., "Diverse Roles of *ERECTA* Family Genes in Plant Development," *JIPB* 55(12): 1251-1263 (2013), todo el contenido y descripción de los cuales se incorporan aquí como referencia.

EJEMPLO 8

La expresión del gen Flowering Locus T, *Gm.FT2a*, bajo el control de un promotor *pAt.Erl1* altera el tiempo de floración y las vainas por nodo en soya

Un vector de transformación con *Gm.FT2a* bajo control del promotor de etapa vegetativa, preferido por el meristemo *pAT.Erl1* (SEQ ID NO: 44) se construyó y utilizó para transformar las semillas de soja a través de una transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas generadas de estos eventos se caracterizaron por sus fenotipos en el invernadero con un fotoperíodo de luz natural diurna de 14 a 14.5

horas. Para cada constructo *pAt.Erl1::Gm.FT2a*, se analizaron seis eventos (6 plantas por evento) en el invernadero. También se analizaron y promediaron seis plantas para plantas de control de tipo salvaje (WT, por sus siglas en inglés). También se analizaron cuatro eventos en el campo con 12 parcelas de campo replicadas por evento y se compararon con los controles de WT en el mismo campo. Las siguientes matrices se recopilaron para la caracterización de estas plantas y se expresaron como un promedio para cada Evento (así como también las plantas de tipo salvaje) que se llevó a cabo en el invernadero (ver Tabla 15) y en el campo (Tabla 16). También se proporciona una columna con un promedio de todos los Eventos por rasgo.

CUADRO 15

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erl1:Gm.FT2a* y WT cultivadas en el invernadero

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	46.1	32.6	40.0	32.3	34.0	29.3	28.2	31.8
DOR7	115.1	99.0	109.7	99.0	99.0	93.0	91.7	101.7
PDR1R7	69.0	66.4	69.7	66.7	65.0	63.7	63.5	69.8
BRPP	23.5	7.4	16.0	6.0	9.7	1.3	4.3	7.3
NDBR	277.6	80.8	215.7	51.7	139.3	3.3	18.0	56.7
NDMS	29.8	32.3	30.7	33.7	32.7	30.7	32.7	33.3
NDPL	307.4	113.0	246.3	85.3	172.0	34.0	50.7	90.0
PDPP	605.8	346.4	447.3	349.7	493.7	240.7	194.7	352.3
PODBR	503.1	173.7	332.3	164.7	323.3	8.3	42.7	171.0
PODMS	103.0	172.7	115.0	185.0	170.3	232.3	152.0	181.3
Vainas/ Nodo	1.9	4.0	2.1	4.1	2.9	7.1	3.8	4.0
SDPPR8	1290.0	747.5	1129.0	603.5	881.0	577.0	432.3	862.3
SW1000 (gramos)	157.6	157.3	187.7	142.6	173.8	144.3	144.9	150.3

CUADRO 16

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erl1:Gm.FT2a* y WT cultivadas en el campo

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 4	Evento 6
DOFR1	37.0	27.4	32.3	26.7	25.3	25.5
DOR8	114.9	110.6	113.8	110.4	107.9	110.5
PDR1R8	77.9	83.2	81.4	83.8	82.7	85.0
BRPPR8	2.1	0.8	1.5	1.2	0.3	0.3
NDBRR8	8.0	3.2	5.6	5.2	1.0	0.9
NDMSR8	19.8	19.8	19.5	19.1	19.5	21.1
NDPLR8	27.8	23.0	25.1	24.4	20.5	22.0
PDPPR8	56.1	57.8	57.4	60.6	53.1	60.2
PDMSR8	47.9	53.8	50.9	53.0	52.2	59.2
TPBR8	8.3	4.0	6.6	7.4	0.9	1.0
Vainas/Nodo	2.0	2.5	2.3	2.6	2.6	2.7
SDARR8	344.3	349.9	374.1	338.4	317.8	369.2
SW1000 (onzas)	5.4	5.4	5.4	5.3	5.3	5.5

Las plantas de soya transgénicas que expresan un constructo *pAt.Erl1::Gm.FT2a* florecieron antes que las plantas de control de tipo silvestre y tuvieron un mayor número de vainas por nodo (similar a las plantas que expresan el transgén *Gm.FT2a* bajo el control del *pAt.Erecta* promotor). De hecho, las plantas de soya que expresaban *pAt.Erl1::Gm.FT2a* tenían varios fenotipos similares a las plantas transgénicas *pAt.Erecta::Gm.FT2a*, que incluyen un número reducido de días para la floración (DOFR1), un número reducido de días a R7 (DOR7), número reducido de ramas por planta (BRPP), menos nodos por planta (NDPL), un número reducido de vainas por planta (PDPP), junto con un aumento en el número de vainas por nodo (Cuadro 15), en relación con el tipo silvestre plantas de control Sin embargo, varios fenotipos observados en las plantas *pAt.Erecta::Gm.FT2a*, como el número de vainas en el tallo principal (PODMS), el número de vainas en las ramas (PODBR) y el peso de 1000 semillas (SW1000), fueron menos pronunciadas en el *pAt.Erl1::Gm.FT2a* que expresa plantas transgénicas. Los primeros resultados en un segundo año de pruebas de campo también muestran la floración temprana que indica rasgos reproductivos similares. Como se puede inferir, estas medidas de rasgo se pueden abreviar de manera diferente, como PDPP o PODPP para vainas por planta, PDMS o PODMS para vainas en el vástago principal, PDBR o PODBR para vainas en vainas, TPBR para vainas totales en vainas, etc.

El patrón de expresión para el promotor de *Arabidopsis Erecta* tipo 1 (*pAt.Erl1*) en soya, medido mediante tinción con GUS, es más restringido que el patrón de expresión de *pAt.Erecta* en soya, como se describió anteriormente. *pAt.Erl1* impulsa la expresión de GUS en los meristemos axilares vegetativos y en los meristemos florales tempranos derivados del tejido axilar. Sin embargo, la tinción GUS no se observa en el meristemo apical del brote en ninguna etapa donde pueda distinguirse de otros tejidos meristemáticos de la planta en desarrollo. La expresión del informador GUS bajo el control del promotor *pAt.Erl1* no se observa en el tejido, el tallo o la raíz de la hoja en ninguna etapa (datos no mostrados). Dado que la expresión de FT bajo el control del promotor *pAt.Erecta* o *pAt.Erl1* indujo la floración temprana y las vainas incrementadas por nodo, la expresión vegetativa de un transgén FT en o cerca del meristemo de una planta generalmente puede

ser suficiente para inducir estos fenotipos o rasgos reproductivos y relacionados con el rendimiento.

EJEMPLO 9

Expresión de un ARNmi dirigido a *Gm.FT2a* para supresión

Se plantea la hipótesis de que reducir el nivel de expresión de un transgén *Gm.FT2a* bajo el control de un promotor de etapa vegetativa en tejidos reproductivos o florales mediante la supresión de ARN puede extender la duración reproductiva en las plantas de soja. Para analizar si la supresión de un *Gm.FT2a* endógeno tiene impacto en los fenotipos reproductivos y morfológicos de las plantas de soja, un vector de transformación que comprende una secuencia de ADN que codifica una molécula de miARN (miRNA-FT2a; SEQ ID NO: 67) que se dirige a una expresión de *Gm.FT2a* endógeno bajo el control de un promotor de etapa vegetativa y/o reproductiva tardías, tanto el promotor *pAt.AP1* (SEQ ID NO: 49) como el promotor *pSl.MADS-RIN* (SEQ ID NO: 72), se construyó y se utilizó para transformar las plantas de soja mediante una transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas que se generaron a partir de estos eventos se caracterizaron en el invernadero en condiciones de fotoperíodo de luz diurna de 14 a 14.5 horas. Se analizaron seis plantas por evento y se compararon en promedio con palntas de control de tipo salvaje (WT). En la Tabla 17 se proporciona datos fenotípicos promedio recopilados de las plantas de tipo salvaje y *pAP1::miRNA-FT* en el invernadero. La Tabla 18 proporciona observaciones fenotípicas recopiladas de plantas de tipo salvaje y *pMADS-RIN::miRNA-FT* transgénicas en el invernadero; se expresan como promedio para cada Evento y como un promedio entre Eventos y plantas de tipo salvaje.

CUADRO 17

Datos fenotípicos para plantas *pAP1::ARNmi-FT2a* y WT cultivadas en el invernadero

	WT	*pAP1::ARNmi-FT*
DOFR1	40	37
DOR7	89	89
PDR1R7	49	52

En condiciones de invernadero, el momento y el comienzo de la floración en plantas que expresan la constructo *pAP1::ARNmi-FT2a* era aproximadamente la misma que las plantas de control WT. Las plantas transgénicas que expresan la constructo *pAP1::ARNmi-FT2a* o *pMADS-RIN::ARNmi-FT2a* también crecieron bajo condiciones de campo. Se analizaron seis plantas que comprenden cuatro eventos diferentes del constructo *pAP1::ARNmi-FT2a* y se compararon en promedio con plantas de control de tipo silvestre (WT). Para los experimentos de campo, las mediciones se realizaron en la cosecha (etapa R8), excepto que se indique lo contrario. SDARR8 es semillas por área (es decir, por pie cuadrado) en la etapa R8. Los datos fenotípicos promedio recogidos de plantas cultivadas en campo se proporcionan en el cuadro 18 para el constructo *pAP1::ARNmi-FT2a* y el cuadro 20 para el constructo *pMADS-RIN::ARNmi-FT2a*.

CUADRO 18

Datos fenotípicos para plantas *pAP1::ARNmi-FT2a* y WT cultivadas en campo

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4
DOFR1	42.4	44.7	46.7	41.0	43.7	47.2
DOR8	110.7	114.5	115.0	111.6	114.4	116.8
PDR1R8	65.7	67.0	64.5	67.7	68.8	66.8
BRPPR8	2.6	2.7	2.7	2.7	2.7	2.7
NDBRR8	9.7	11.0	10.9	10.7	10.5	11.9
NDMSR8	18.3	19.3	19.5	18.4	19.3	19.9
NDPLR8	28.0	30.3	30.4	29.2	29.7	31.8
PDPPR8	44.2	39.7	37.2	43.2	40.5	37.8
PODMSR8	34.7	31.7	30.4	33.5	32.5	30.5
TPBR8	9.5	8.0	6.8	9.8	8.0	7.3
Vainas/nodo	1.6	1.4	1.3	1.5	1.4	1.2
SDARR8	282.7	251.6	247.1	259.0	264.8	235.5
SW1000 (onzas)	5.1	5.2	5.2	5.1	5.2	5.2

En condiciones de campo, las plantas de soya transformadas con el constructo *pAP1::ARNmi-FT2a* tenían aproximadamente los mismos rasgos de floración y reproducción en promedio que las plantas de control de WT, aunque las plantas transgénicas *pAP1::ARNmi-FT2a* pueden haber tenido ligeramente menos vainas (PDPPR8, PDMSR8, TPBR8, vainas/nodo) en comparación con las plantas de control de WT en la etapa R8.

EJEMPLO 10

Modificación de la expresión de *Gm.FT2a* por un miARN artificial impulsado por un promotor pAP1 altera los fenotipos reproductivos en condiciones de invernadero.

Para mostrar que la supresión de *Gm.FT2a* en tejidos vegetativos y/o reproductivos tardíos luego de la expresión ectópica inicial de *Gm.FT2a* transgénico puede extender la duración reproductiva en las plantas de soja y/o contrarrestar la terminación temprana, un vector de transformación que comprende *Gm.FT2a* bajo el control del promotor *pAt.Erecta* preferido del meristemo, de etapa vegetativa (SEQ ID NO: 31) tanto con una región de terminación Apx como Lhcb2 (T-Apx y T-Lhcb2) y una secuencia de ADN transcribible que codifica un miARN artificial (SEQ ID NO: 67) que se dirige a la supresión de *Gm.FT2a* y está bajo el control de un promotor *pAt.AP1* (SEQ ID NO: 49) con una región de terminación GAPDH (cada constructo designado *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | *pAP1::miRNA-FT2a*), se construyó y utilizó para transformar la soja mediante transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas generadas a partir de estos eventos se caracterizaron en el invernadero con un fotoperíodo de luz diurna de 14 a 14.5 horas. Para cada constructo *pAt.Erecta::Gm.FT2a*| *pAP1::miRNA-FT2a*, se analizaron seis eventos (6 plantas por evento) y se promediaron los datos. Los datos promedio para cada constructo también se promediaron entre todos los eventos. También se analizaron y promediaron seis plantas de control de tipo salvaje (WT) como control. Las Tablas 19 y 20 proporcionan los datos fenotípicos recopilados para los seis eventos, así como también el promedio de las plantas de WT y *pAt.Erecta::Gm.FT2a*| *pAP1::miRNA-FT2a* con las dos regiones de terminación diferentes (T-Apx y T-Lhcb2).

CUADRO 19

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Apx | pAP1::miARN-FT2a::T-GAPDH* y WT en condiciones de invernadero

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	33.5	28.5	--	30.0	28.0	28.0	28.0	28.3
DOR7	106.9	99.7	106.8	98.8	98.3	91.3	102.7	100.3
PDR1R7	76.5	70.1	--	68.8	70.3	65.0	74.2	72.0
BRPP	20.1	13.0	20.3	16.7	13.0	6.7	9.7	12.0
FNBR	190.6	160.2	231.5	192.7	155.3	89.7	147.0	145.0
FNPL	214.6	191.5	263.8	226.7	184.3	122.0	176.0	176.3
FNST	24.0	31.3	32.3	34.0	29.0	32.3	29.0	31.3
NDBR	211.4	177.1	268.8	210.0	170.0	90.0	168.3	155.3
NDMS	33.4	36.3	38.0	37.3	36.3	34.0	35.7	36.7
NDPL	244.9	213.4	306.8	247.3	206.3	124.0	204.0	192.0
PDPP	575.8	647.5	642.8	732.0	645.8	569.7	653.7	641.0
PFNB	90.4	92.7	87.4	92.1	91.6	99.7	91.3	93.9
PFNN	87.8	91.3	86.9	92.0	89.7	98.4	89.0	91.9
PFNS	71.4	86.0	84.9	91.7	80.4	95.3	78.8	84.7
PODBR	487.3	486.2	519.8	567.3	497.3	368.3	493.3	471.3
PODMS	88.4	161.3	123.0	164.7	148.5	201.3	160.3	169.7
Vainas/Nodo	2.4	3.3	2.2	3.0	3.2	4.7	3.6	3.4
SDPP8	1319.6	1197.2	1508.0	1163.0	1184.8	750.8	1170.0	1406.8
SW1000 (gramos)	146.0	158.8	149.2	169.9	144.3	172.6	163.5	153.2

CUADRO 20

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Lhcb2 | pAP1::miRNA-FT2a::T-GAPDH* y WT en condiciones de invernadero

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	33.5	28.2	28	--	28	28	29.2	28
DOR7	106.9	99.5	98.3	95.8	101	99.8	99.5	102.7
PDR1R7	76.5	71.7	68.6	--	73	71.8	70.3	74.7
BRPP	20.1	9	5.8	8.5	8.5	6.3	15	10.3
FNBR	190.6	97.8	79.8	45.5	92	84.8	149.8	135.3
FNPL	214.6	130.5	112.3	80	126.5	117	184.3	162.8
FNST	24	32.6	32.5	34.5	34.5	32.3	34.5	27.5
NDBR	211.4	106.2	84.5	45.5	97.5	91	164	154.8
NDMS	33.4	36.9	36.5	37	37.8	35	39.3	35.8
NDPL	244.9	143.1	121	82.5	135.3	126	203.3	190.5
PDPP	575.8	558.5	543.8	454	566.8	534.8	633.5	618
PFNB	90.4	93.7	94.6	100	94.7	94.5	91.4	86.8
PFNN	87.8	92.3	94.1	96.7	93.6	93.5	90.7	85
PFNS	71.4	88.5	88.2	94.1	91.3	92.1	87.7	77.4
PODBR	487.3	329.7	309.5	157	344	304.8	446	417
PODMS	88.4	228.8	234.3	297	222.8	230	187.5	201
vaina/nodo	2.4	4.3	4.9	5.9	4.2	4.7	3.1	3.2
SDPP8	1319.6	778.9	728.5	644.3	832	964.8	699.5	804.5
SW1000 (gramos)	146	155.5	158.1	182	158.7	128.4	169.8	135.8

En este experimento de invernadero, las plantas de soya transgénicas que comprenden cualquiera de los constructos *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | *pAP1::miARN-FT2a* tuvieron un inicio temprano de floración (DOFR1) y un mayor número de vainas por nodo (y por tallo principal) en relación con las plantas de control de WT (Vainas/nodo, PODMS). Plantas transgénicas con el constructo *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | *pAP1::miARN-FT2a* combinado aumentó la altura y la ramificación de las plantas, así como un mayor número de nodos por planta (y por tallo principal) y vainas incrementadas por planta (y por tallo principal), en relación con plantas de soya con solo el *pAt. Transgén Erecta::Gm.FT2a* sin el casete de supresión de miARN (ver, por ejemplo, el cuadro 2). La figura 12 proporciona imágenes completas de plantas homocigóticas para *pAt.Erecta::Gm.FT2a* o *pAt.Erecta::Gm.FT2a/pAP1::miARN-FT2a* que muestran que la supresión adicional del transgén Gm.FT2a es efectiva para mitigar la terminación anticipada los fenotipos observados con el transgén solo *pAt.Erecta::Gm.FT2a*, incluida la altura de planta corta y la ramificación reducida.

Estos datos indican que la supresión de *Gm.FT2a* en tejidos vegetativos y/o reproductivos posteriores después de una dosis ectópica anterior del transgén *Gm.FT2a* es eficaz para desencadenar la floración temprana y mantener un mayor número de vainas por nódulo, mientras se mitigaban los fenotipos de terminación temprana observados en plantas que tenían el transgén *Gm.FT2a* solo. Curiosamente, se observó el aumento del número de vainas por nódulo en estas plantas sin un aumento aparente en la duración reproductiva.

EJEMPLO 11

Modificación de la expresión de *Gm.FT2a* por un miARN artificial impulsado por un promotor *pAP1* altera los fenotipos reproductivos en condiciones de campo.

Tres o cuatro eventos de transformación (según el año) del construccto *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Apx* | *pAP1::miARN-FT2a::T-GAPDH* descrito en el Ejemplo 10 se desarrolló y se sometió a prueba bajo condiciones de campo durante dos años consecutivos. Para cada uno de los eventos y el control de WT, se recopilaron y promediaron los datos fenotípicos (los eventos se numeran por coherencia). Los cuadros 21 y 22 proporcionan los datos fenotípicos promedio recolectados de estas plantas, así

como un promedio de tres eventos.

Cuatro eventos de transformación del constructo *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Lhbc2* | *pAP1::miARN-FT::T-GAPDH* descrito en el Ejemplo 10 se desarrolló y se sometió a prueba bajo condiciones de campo durante dos años consecutivos. Para cada evento y el control WT, los datos fenotípicos se recopilaron y promediaron a partir de múltiples plantas. Los cuadros 23 y 24 proporcionan los datos fenotípicos promedio recolectados de estas plantas, así como un promedio en los cuatro eventos.

CUADRO 21

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Apx* | *pAP1::miARN-FT:: T-GAPDH* y WT cultivadas en el campo (Año 1)

	WT	Promedio	Evento 2	Evento 3	Evento 4
DOFR1	42.4	32.5	35.7	31.2	30.7
DOR8	110.7	112.5	115.1	113.3	109.2
PDR1R8	65.7	78.2	76.6	80.2	77.7
BRPPR8	2.6	0.9	1.1	1.0	0.5
NDBRR8	9.7	2.6	3.7	2.9	1.1
NDMSR8	18.3	19.7	20.1	19.8	19.2
NDPLR8	28.0	22.3	23.8	22.8	20.2
PDPPR8	44.2	45.8	43.6	45.6	48.1
PDMSR8	34.7	43.7	40.8	43.4	47.0
TPBR8	9.5	2.0	2.8	2.2	1.1
Vainas/nodo	1.6	2.1	1.8	2.0	2.4
SDARR8	282.7	268.6	259.1	288.7	257.9
SW1000 (onzas)	5.1	4.8	4.9	4.7	4.7

CUADRO 22

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Apx | pAP1::miARN-FT::T-GAPDH* y WT cultivadas en el campo (Año 2)

	WT	Promedio	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 6
DOFR1	37.0	30.6	32.6	32.0	28.3	29.3
DOR8	114.9	117.6	120.7	118.9	116.0	114.8
PDR1R8	77.9	87.0	88.1	86.9	87.7	85.5
BRPPR8	2.1	0.9	1.2	2.0	0.2	0.3
NDBRR8	8.0	4.7	7.5	8.1	1.5	1.5
NDMSR8	19.8	20.8	21.4	20.4	20.1	21.1
NDPLR8	27.8	25.4	28.9	28.6	21.6	22.6
PDPPR8	56.1	64.2	65.5	66.0	63.2	62.2
PDMSR8	47.9	58.3	55.3	56.3	61.1	60.5
TPBR8	8.3	5.9	10.2	9.7	2.0	1.6
Vainas/Nodo	2.0	2.6	2.3	2.2	3.0	2.8
SDARR8	344.3	365.1	359.5	380.9	340.6	379.5
SW1000 (onzas)	5.4	5.4	5.4	5.6	5.4	5.4

CUADRO 23

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Lhbc2 | pAP1::miARN-FT::T-GAPDH* y WT cultivadas en el campo (Año 1)

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4
DOFR1	42.4	31.8	31.2	30.8	33.0	32.3
DOR8	110.7	110.2	110.6	109.5	111.3	109.2
PDR1R8	65.7	76.2	77.3	77.7	76.3	73.5
BRPPR8	2.6	0.6	0.4	0.4	0.6	1.0
NDBRR8	9.7	1.0	0.4	0.3	1.8	1.5
NDMSR8	18.3	19.6	19.9	19.6	19.4	19.6
NDPLR8	28.0	20.7	20.2	20.0	21.2	21.2
PDPPR8	44.2	49.5	49.0	49.8	48.8	50.5
PODMSR8	34.7	48.4	48.5	49.2	46.9	48.8
TPBR8	9.5	1.2	0.5	0.6	1.9	1.7
Vainas/nodo	1.6	2.4	2.4	2.5	2.4	2.3
SDARR8	282.7	287.0	285.6	288.6	272.7	300.9
SW1000 (onzas)	5.1	4.9	5.0	4.9	4.9	4.6

CUADRO 24

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Lhbc2* | *pAP1::miARN-FT::T-GAPDH* y WT cultivadas en el campo (Año 2)

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4
DOFR1	37.0	28.7	28.4	28.5	28.6	29.3
DOR8	114.9	114.6	114.7	113.7	115.0	114.9
PDR1R8	77.9	85.9	86.3	85.2	86.4	85.6
BRPPR8	2.1	0.7	0.3	0.3	0.6	1.3
NDBRR8	8.0	1.8	0.8	1.2	1.4	3.8
NDMSR8	19.8	21.7	21.9	21.2	22.0	21.5
NDPLR8	27.8	23.5	22.9	22.5	23.4	25.2
PDPPR8	56.1	63.6	60.6	68.3	59.4	66.0
PDMSR8	47.9	60.9	58.8	65.5	58.0	61.2
TPBR8	8.3	2.1	1.5	1.3	1.4	4.3
Vainas/Nodo	2.0	2.7	2.6	3.1	2.5	2.7
SDARR8	344.3	358.9	316.1	355.2	365.5	398.6
SW1000 (onzas)	5.4	5.5	5.6	5.6	5.5	5.2

Las plantas de soya que tienen cualquiera de los constructos *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | *pAP1::miARN-FT2a* (con cualquiera de los terminadores) florecieron antes (DOFR1) y tuvieron una duración reproductiva ligeramente más prolongada (en días) entre las etapas R1 y R8 (PDR1R8) y un mayor número de vainas por nódulo (y por planta) en la etapa R8 (PDPPR8, Vainas/nodo) cuando crece bajo condiciones de campo en relación con las plantas de control de WT. Sin embargo, las plantas de soya que tienen el constructo *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | *pAP1::miARN-FT2a::T-GAPDH* también tenía ramificación reducida (BRPPR8) en relación con las plantas de control de WT. Primeros resultados en un tercer año de pruebas de campo de plantas con el constructo *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | *pAP1::miARN-FT2a::T-GAPDH* también muestra floración temprana que indica rasgos reproductivos similares.

Estos resultados de campo indican que ambos constructos de *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | *pAP1::miARN-FT2a::T-GAPDH* con los diferentes terminadores pueden mejorar los rasgos de rendimiento y mitigar los fenotipos de terminación temprana en condiciones de campo (ver, por ejemplo, el Ejemplo 3 anterior), que es consistente con los datos de invernadero proporcionados en el Ejemplo 10 arriba. Estos datos respaldan además el modelo de que la supresión del transgén *Gm.FT2a* ayuda a disminuir o mitigar la terminación temprana y los fenotipos de la arquitectura de la planta, incluida la altura reducida de la planta, la ramificación y los nodos por planta (o por tallo principal), en comparación con la expresión del transgén *Gm.FT2a* solo.

EJEMPLO 12

Modificación de la expresión de *Gm.FT2a* por un miARN artificial impulsado por un promotor *pSl.MADS5* altera los fenotipos reproductivos en condiciones de invernadero

Además del promotor *pAP1*, se utilizaron otros promotores de etapa reproductiva para expresas una molécula de miARN que se dirija a la supresión del transgén *Gm.FT2a*. En un conjunto de experimentos, un vector de transformación que comprende *Gm.FT2a* bajo control del promotor *pAt.Erecta* y una secuencia de ADN transcribible que codifica un miARN que se dirige a la supresión de *Gm. FT2a* y bajo el control de un promotor

Solanum lycopersicum MADS5 (*pSl.MADS5;* SEQ ID NO:71), se construyó y utilizó para transformar la soja mediante transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas generadas a partir de estos eventos se caracterizaron en el invernadero con respecto a sus fenotipos en el invernadero con un fotoperíodo de luz diurna de 14 a 14.5 horas. Para el constructo *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Lhcb2* | *pSl.MADS5::miRNA-FT2a::T-GAPDH*, se analizaron seis eventos (6 plantas por evento). También se analizaron y promediaron seis plantas para plantas de control de tipo salvaje (WT).

El cuadro 25 proporciona los datos fenotípicos promedio para cada evento y planta WT, y un promedio para cada rasgo en todos los eventos probados. ("-" significa datos no recopilados).

CUADRO 25

Datos fenotípicos para *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Lhcb2* | *pSl.MADS5::miARN-FT::T-GAPDH* y plantas WT en condiciones de invernadero

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	33.5	28.0	28.0	--	--	--	--	28.0
DOR7	106.9	87.1	83.3	86.7	89.7	87.5	88.3	87.2
PDR1R7	76.5	58.5	56.0	--	--	--	--	61.0
BRPP	20.1	2.1	1.0	1.5	--	4.0	2.0	2.0
FNBR	190.6	7.9	3.0	5.0	--	16.5	7.7	7.3
FNPL	214.6	29.6	11.0	33.5	31.5	41.8	24.3	35.5
FNST	24.0	25.8	10.3	31.0	31.5	33.5	18.5	30.0
NDBR	211.4	8.4	3.0	6.0	--	17.0	8.0	8.0
NDMS	33.4	26.6	10.8	31.5	32.3	33.8	19.8	31.5
NDPL	244.9	30.6	11.5	34.5	32.3	42.3	25.8	37.5
PDPP	575.8	252.4	34.8	244.0	265.3	253.3	157.8	559.5
PFNB	90.4	94.6	100.0	87.5	--	98.1	95.2	92.1
PFNN	87.8	96.6	95.8	97.5	97.8	99.0	94.9	94.9
PFNS	71.4	96.8	95.8	98.5	97.8	99.2	94.5	95.1
PODBR	487.3	12.0	3.0	5.5	--	33.0	9.7	8.7
PODMS	88.4	246.8	34.0	241.3	265.3	236.8	150.5	553.0
Vainas/Nodo	2.4	7.6	3.1	7.1	8.2	6.3	6.4	14.6
SDPP8	1319.6	335.3	38.0	321.3	359.3	527.8	305.8	460.0
SW1000 (gramos)	146.0	178.6	180.8	167.2	173.0	183.3	182.3	185.0

Similar a los ejemplos anteriores, limitar la expresión ectópica de *Gm.FT2a* usando un miARN artificial expresado en tejidos reproductivos dio como resultado plantas de soya que florecieron antes (DOFR1) que las plantas de control de WT. Sin embargo, las plantas de soya transgénicas que comprenden el constructo *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Lhcb2* | *pSl.MADS5::miARN-FT2a:: T-GAPDH* tienen menos vainas por planta (PDPP), menos nodos por planta (NDPL), número reducido de ramas (BRPP), menos semillas por planta en la etapa R8 (SDPP8), y una duración reproductiva reducida entre las etapas R1 y R7 (PDR1R7), en comparación con las plantas de control WT, aunque estas plantas transgénicas tenían un mayor número de vainas por nodo (y por tallo principal) en relación con las plantas de control WT (Vainas/Nodo, PODMS) y fenotipos de arquitectura de planta mejorados en relación con la expresión *pAt.Erecta::Gm.FT2a* solo (ver, por ejemplo, el cuadro 2).

Estos datos respaldan además el modelo de que la supresión del transgén *Gm.FT2a* ayuda a disminuir o mitigar los fenotipos de terminación temprana con el transgén *Gm.FT2a* solo, pero la expresión de un miARN-FT2a con el promotor *pMADS5* puede no ser tan efectivo como el promotor pAP1 para mitigar los fenotipos de terminación temprana.

EJEMPLO 13

Modificación de la expresión de *Gm.FT2a* por un miARN artificial impulsado por un promotor *pSl.MADS5* altera los fenotipos reproductivos en el campo

Las plantas transgénicas que comprenden tres o cuatro eventos del constructo *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | *pS1.MADS5::miARN-FT2a* descrita en el Ejemplo 12 se desarrolló y se sometió a prueba en condiciones de campo durante dos años consecutivos. Se recopilaron datos para seis plantas para cada evento y control WT (los eventos se numeran por coherencia). Los cuadros 26 y 27 proporcionan los datos fenotípicos promedio recopilados de cada evento y el control de WT, y un promedio para cada rasgo en todos los eventos.

CUADRO 26

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Lhcb2* | *pSl.MADS5::miARN-*

FT2a:: T-GAPDH **y WT cultivadas en el campo (Año 1)**

	WT	Promedio	Evento 2	Evento 3	Evento 4
DOFR1	42.4	27.6	27.7	27.5	27.7
DOR8	110.7	100.8	100.3	101.8	100.2
PDR1R8	65.7	73.1	73.2	74.0	72.0
BRPPR8	2.6	0.1	0.1	0.0	0.1
NDBRR8	9.7	0.2	0.2	0.1	0.3
NDMSR8	18.3	15.2	14.5	15.7	15.3
NDPLR8	28.0	15.4	14.7	15.8	15.6
PDPPR8	44.2	43.2	41.7	45.4	42.5
PDMSR8	34.7	43.0	41.4	45.3	42.2
TPBR8	9.5	0.2	0.3	0.0	0.3
vainas/Nodo	1.6	2.9	2.9	2.9	2.8
SDARR8	282.7	243.7	233.8	264.4	233.0
SW1000 (onzas)	5.1	4.6	4.4	4.7	4.7

CUADRO 27

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Lhcb2* | *pSlLe.MADS5::miARN-FT2a::T-GAPDH* y WT cultivadas en el campo (Año 2)

	WT	Promedio	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5
DOFR1	37.0	24.5	24.3	24.7	24.3	24.8
DOR8	114.9	106.7	106.3	106.8	106.2	107.7
PDR1R8	77.9	82.2	82.1	82.1	81.8	82.9
BRPPR8	2.1	0.3	0.3	0.2	0.5	0.2
NDBRR8	8.0	1.1	0.8	0.8	2.0	0.7
NDMSR8	19.8	15.2	15.4	15.3	15.4	14.7
NDPLR8	27.8	16.2	16.2	16.1	17.3	15.1
PDPPR8	56.1	45.7	46.4	48.9	50.1	37.4
PDMSR8	47.9	44.0	45.2	47.6	46.3	37.0
TPBR8	8.3	1.8	1.2	1.4	3.8	1.0
Vainas/Nodo	2.0	2.8	2.9	3.0	2.9	2.5
SDARR8	344.3	254.9	280.4	236.5	267.9	235.0
SW1000 (onzas)	5.4	5.3	5.1	5.5	5.4	5.0

Las plantas de soya con el constructo *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | *pSl.MADS5::miARN-FT2a* floreció antes (DOFR1) y tuvo una duración reproductiva ligeramente más prolongada (en días) entre las etapas R1 y R8 (PDR1R8) y un mayor número de vainas por nodo en la etapa R8 (Vainas/nodo) en condiciones de campo, en relación con las plantas de control de WT. Sin embargo, las plantas de soya que tienen el constructo *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | *pSl.MADS5::miARN-FT2a* también tenía ramificación reducida (BRPPR8) en relación con las plantas de control de WT.

EJEMPLO 14

Modificación de la expresión de *Gm.FT2a* por un miARN artificial impulsado por un promotor *pSl.NOD* altera los fenotipos reproductivos en condiciones de invernadero

También se analizó un tercer promotor (*pSl.NOD*) que controla la expresión de miARN-FT2a en condiciones de invernadero. Un vector de transformación que comprende *Gm.FT2a* bajo el control del promotor *pAt.Erecta* (SEQ ID NO: 31) y una secuencia de ADN transcribible que codifica un miARN-FT2a (SEQ ID NO: 67) bajo el control de un promotor *Solanum lycopersicum NOD* (*pSl.NOD;* SEQ ID NO:70), se construyó y utilizó para transformar la soja mediante transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas que comprenden seis eventos de este constructo *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | *pSl.NOD::miRNA-FT2a* (seis plantas por evento) se cultivaron en el invernadero con un fotoperíodo de luz diurna de 14 a 14.5 horas. Se recopilaron datos de las seis plantas para cada evento y el control de tipo salvaje (WT). La Tabla 28 propociona datos fenotípicos promedio recopilados de cada evento y del control WT, y un promedo para cada rasgo en todos los eventos.

CUADRO 28

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | pSl.NOD::miARN-FT2a y WT cultivadas en invernadero

	WT	Prom.	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	40.0	20.4	20.3	20.4	20.8	20.7	20.0	20.2
DOR7	107.3	90.9	87.2	86.0	96.8	86.0	86.0	99.6
PDR1R7	67.3	70.5	66.8	65.6	76.0	65.4	66.0	79.4
BRPP	17.9	3.3	--	2.0	7.7	1.5	2.0	--
FNBR	182.3	34.3	--	19.0	106.0	4.5	7.5	--
FNPL	205.9	44.2	20.0	27.7	132.3	20.8	21.0	19.0
FNST	23.6	20.2	20.0	21.3	26.3	18.5	16.0	19.0
NDBR	231.0	37.3	--	20.0	114.0	5.5	9.5	--
NDMS	34.4	22.6	21.3	22.3	31.0	20.3	18.7	20.7
NDPL	265.4	48.5	21.3	29.0	145.0	23.0	25.0	20.7
PDPP	703.0	228.3	133.3	188.0	563.7	108.0	139.7	142.3
PFNB	78.9	85.6	--	95.0	93.3	75.0	78.9	--
PFNN	77.5	90.8	94.3	96.1	91.3	90.3	84.5	91.8
PFNS	69.8	89.7	94.3	95.2	84.8	91.1	85.8	91.8
PODBR	584.8	126.5	--	100.0	390.3	5.0	10.5	--
PODMS	115.1	141.7	133.3	154.7	173.3	105.5	132.7	142.3
Vainas/Nodo	2.7	5.6	6.3	6.5	3.9	4.8	5.9	6.8
SDPP8	1413.0	437.0	307.5	409.7	973.0	243.5	282.7	276.3
SW1000 (gramos)	126.2	113.4	120.5	117.5	83.6	137.5	118.4	109.8

Las plantas de soya que comprenden el constructo *pAt.Erecta::Gm.FT2a* | *pSl.NOD::miARN-FT2a* floreció antes (DOFR1) que las plantas de control de WT y tuvo una duración reproductiva más corta (PDR1R7), menos ramas por planta (BRPP), menos nodos por planta (NDPL) y menos vainas por planta (PDPP), en el invernadero en comparación con las plantas de control de WT. Sin embargo, estas plantas transgénicas tenían un mayor número de vainas por nódulo (y por tallo principal) en relación con las plantas WT (Vainas/Nodo, PODMS) y fenotipos de arquitectura vegetal mejorados en relación con la expresión *pAt.Erecta::Gm.FT2a* solo (ver, por ejemplo, el cuadro 2).

Estos datos respaldan además el modelo de que la supresión del transgén *Gm.FT2a* ayuda a disminuir o mitigar los fenotipos de terminación temprana, pero la expresión de un miARN-FT2a bajo el promotor *pSl.NOD* puede no ser tan efectiva como el promotor *pAP1* en la mitigación de los fenotipos de terminación temprana, aunque estas plantas transgénicas tenían un mayor número de vainas por nódulo (y por tallo principal) que las plantas de control WT (Vainas/Nodo, PODMS).

EJEMPLO 15

Modificación de la expresión ectópica de *Gm.FT2a* con un sitio objetivo miR172 heterólogo altera los fenotipos reproductivos en condiciones de invernadero

Como enfoque alternativo a la supresión de *Gm.FT2a*, se elaboraron constructos que comprendían un transgén *Gm.FT2a* y un sitio (o sensor) de unión diana de miARN diseñado que es reconodio por un miARN endógeno en la soja, lo que sirve para atenuar y/o refinar la expresión extópica del transgén *Gm.FT2a*. Vectores de transformación que comprenden un transgén *Gm.FT2a* bajo el control del promotor *pAt.Erecta* (SEQ ID NO: 31) tanto con una región de terminación Apx como Lhcb2 (T-Apx o T-Lhcb2), y que comprende además una secuencia (SEQ ID NO: 98) que codifica un sitio diana miARN miR172 (SEQ ID NO:99) en el ARNm transgénico *Gm.FT2a*, se construyeron y utilizaron para transformar la soja mediante transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas generadas a partir de estos eventos se caracterizaron con respecto a sus fenotipos en el invernadero con un fotoperíodo de luz diurna de 14 a 14.5 horas. Para cada uno de los dos constructos *pAt.Erecta::Gm.FT2a* con sitio de unión miR172, se

analizaron seis eventos (6 plantas por evento). También se analizaron y promediaron seis plantas de plantas de control de tipo salvaje (WT). Las Tablas 29 y 30 proporcionan datos fenotípicos promedio recopilados para cada evento y el control WT para cada uno de los constructos, y un promedio para cada rasgo de todos los eventos analizados.

CUADRO 29

Datos fenotípicos para el sitio objetivo *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Apx*/miR172 y plantas WT

	WT	Prom.	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	33.5	28.0	--	28.0	--	--	--	--
DOR7	106.9	88.3	91.3	89.7	86.3	89.0	88.2	85.3
PDR1R7	76.5	64.5	--	64.5	--	--	--	--
BRPP	20.1	3.9	1.5	4.0	--	11.5	1.5	1.0
FNBR	190.6	21.6	4.0	21.3	--	75.0	3.3	4.5
FNPL	214.6	37.0	39.0	50.3	26.5	64.3	16.5	25.5
FNST	24.0	26.8	37.0	34.3	26.5	26.8	13.3	23.3
NDBR	211.4	26.8	4.0	25.3	--	96.5	3.5	4.5
NDMS	33.4	28.8	38.0	38.0	26.8	32.0	14.3	23.8
NDPL	244.9	41.3	40.0	57.0	26.8	80.3	17.8	26.0
PDPP	575.8	227.9	294.0	331.5	201.8	297.0	68.0	175.3
PFNB	90.4	93.1	100.0	83.7	--	88.3	93.8	100.0
PFNN	87.8	95.0	97.6	91.5	99.1	90.7	93.5	97.9
PFNS	71.4	93.4	97.4	90.9	99.1	82.2	93.4	97.7
PODBR	487.3	60.8	4.5	82.0	--	206.0	5.0	6.5
PODMS	88.4	198.8	291.8	270.0	201.8	194.0	63.0	172.0
Vainas/Nodo	2.4	6.4	7.4	6.7	7.5	6.1	3.9	6.8
SDPP8	1319.6	330.0	443.8	460.0	368.5	409.3	47.8	250.8
SW1000 (gramos)	146.0	169.5	166.8	176.3	177.7	171.8	152.7	172.1

CUADRO 30

Datos fenotípicos para el sitio objetivo *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Lhcb2*/miR172 y plantas WT

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	40.3	27.2	28.0	25.0	25.0	33.3	26.3	25.3
DOR7	116.5	99.9	96.6	88.0	97.0	123.0	102.4	92.7
PDR1R7	76.3	73.0	70.8	63.0	70.8	89.3	76.6	67.3
BRPP	17.5	5.3	3.0	1.3	1.5	13.5	6.3	6.3
FNBR	162.5	48.6	33.0	3.8	4.5	153.5	46.3	50.3
FNPL	185.8	65.7	69.0	24.3	32.0	128.3	70.3	70.3
FNST	23.3	27.8	36.0	20.5	27.5	26.0	24.0	32.5
NDBR	249.5	55.1	37.0	5.5	7.0	173.5	50.8	56.7
NDMS	33.5	31.9	38.3	21.8	28.5	36.7	31.8	34.3
NDPL	283.0	74.9	75.3	27.3	35.5	152.3	82.5	76.8
PDPP	628.5	317.3	407.0	132.0	198.5	433.3	338.3	394.8
PFNB	65.2	81.9	85.3	87.5	67.8	87.7	77.5	85.5
PFNN	65.7	85.3	93.8	91.6	90.2	69.2	73.9	93.2
PFNS	69.0	86.4	94.5	94.7	96.4	66.4	71.3	95.1
PODBR	504.8	158.8	131.7	8.0	8.5	478.5	150.5	175.3
PODMS	123.8	192.4	275.3	124.0	190.0	114.3	187.8	263.3
Vainas/Nodo	2.2	4.8	6.3	5.1	5.6	2.2	3.6	6.2
SDPP8	1261.3	559.5	712.0	118.8	655.7	593.3	603.5	673.5
SW1000 (gramos)	135.0	128.8	105.2	144.5	122.6	120.2	175.9	104.6

Las plantas de soya que comprenden cualquiera de los dos constructos del sitio objetivo *pAt.Erecta::Gm.FT2a/miR172* florecieron antes (DOFR1), pero tenían ramificación reducida (BRPP) y menos vainas y nodos por planta (PDPP, NDPL), en comparación con WT plantas de control Sin embargo, estas plantas transgénicas tenían un mayor número de vainas por nódulo (y por tallo principal) en relación con las plantas de control de WT (Vainas/Nodo, PODMS) y fenotipos de arquitectura de planta mejorados en relación con la expresión *pAt.Erecta::Gm.FT2a* sola (ver el cuadro 2).

Estos datos apoyan la hipótesis de que la supresión del transgén *Gm.FT2a* a través de un sitio objetivo para un miR172 endógeno es eficaz para disminuir o mitigar la terminación anticipada observada con la expresión del transgén *Gm.FT2a*, pero la supresión del El transgén *Gm.FT2a* a través de un sitio objetivo miR172 modificado puede no ser tan efectivo (al menos en algunos casos) como la expresión de un miARN artificial para suprimir *Gm.FT2a* usando un promotor tardío de etapa vegetativa y/o reproductiva, como el promotor pAP1, para mitigar los fenotipos de terminación temprana, aunque las plantas transgénicas *Gm.FT2a* que contenían el sitio objetivo miR172 tenían un mayor número de vainas por nodo (y por tallo principal) que las plantas de control WT (Vainas/Nodo, PODMS) con fenotipos de arquitectura vegetal mejorados relativos a la expresión *Gm.FT2a* sola. La figura 13 proporciona imágenes completas de plantas homocigóticas para el sitio objetivo *pAt.Erecta::Gm.FT2a* o *pAt.Erecta::Gm.FT2a*/miR172 que muestra que la supresión adicional a través del sitio objetivo miR172 endógeno es eficaz para mitigar los fenotipos de terminación temprana observados con el transgén solo *pAt.Erecta::Gm.FT2a*, que incluye altura corta de planta y ramificación reducida.

EJEMPLO 16

Modificación de la expresión ectópica de *Gm.FT2a* con un sitio objetivo miR172 altera los fenotipos reproductivos en condiciones de campo

Las plantas transgénicas que comprenden cuatro eventos del constructo del sitio objetivo *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Apx*/miR172 descritos en el Ejemplo 15 se cultivaron y se ensayaron bajo condiciones de campo. Los Eventos 1-4 en el cuadro 29 corresponden a los Eventos 1-4 en el cuadro 31, respectivamente. Se recopilaron datos para seis plantas

para cada evento y control WT. El cuadro 31 proporciona los datos fenotípicos promedio recopilados de cada evento y control WT, y un promedio para cada rasgo en todos los eventos.

CUADRO 31

Datos fenotípicos para el sitio objetivo *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Apx*/miR172 cultivado en campo y plantas WT

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4
DOFR1	42.4	26.8	26.5	27	27.3	26.3
DOR8	110.7	91.9	93.7	92.5	91.3	90.1
PDR1R8	65.7	66.1	68.5	66.4	65.2	64.2
BRPPR8	2.6	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1
NDBRR8	9.7	0.3	0.5	0.2	0.3	0.3
NDMSR8	18.3	10.8	12.5	11.2	10.7	8.9
NDPLR8	28.0	11.1	13	11.3	11.0	9.1
PDPPR8	44.2	23.2	30.1	25.0	21.7	15.8
PDMSR8	34.7	22.7	29.4	24.7	21.3	15.3
TPBR8	9.5	0.5	0.7	0.2	0.4	0.5
Vainas/Nodo	1.6	2.1	2.4	2.1	2.0	1.7
SDARR8	282.7	130.3	148.7	155.3	129.3	88.1
SW1000 (onzas)	5.1	4.6	4.7	4.5	4.6	4.6

De forma similar a los datos de efecto invernadero, las plantas de soya con el constructo del sitio objetivo *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Apx*/miR172 florecieron antes (DOFR1) y tuvieron un mayor número de vainas por nodo (y por tallo principal) en la Etapa R8 (PDPPR8, Vainas/nodo) en condiciones de campo, en relación con las plantas de control de WT. Sin embargo, estas plantas de soya con la construcción del sitio objetivo *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Apx*/miR172 también tenían ramificaciones reducidas (BRPPR8) y vainas y nodos reducidos por planta (PDPPR8, NDPLR8) en relación con las plantas de control WT.

EJEMPLO 17

La modificación de la expresión ectópica de *Gm.FT2a* con un promotor *pAt.Erecta* truncado y un sitio objetivo miR172 heterólogo altera los fenotipos reproductivos en condiciones de invernadero

Se utilizó un promotor truncado *pAt.Erecta* para activar un nivel atenuado de expresión de un transgén *Gm.FT2a*, y se unió con un sitio diana de miARN miR172 para posiblemente atenuar y/o refinar aún más la expresión ectópica del transgén *Gm.FT2a*. Vectores de transformación que comprenden un transgén *Gm.FT2a* bajo el control de un promotor truncado *pAt.Erecta* (SEQ ID NO:32) con una región de terminación Lhcb2 (T-Lhcb2) y que comprende además una secuencia (SEQ ID NO: 98) que codifica un sitio diana miR172 (SEQ ID NO:99), se construyeron y utilizaron para transformar las plantas de soja mediante transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas generadas a partir de estos eventos se caracterizaron con respecto a sus fenotipos en el invernadero con un fotoperíodo de luz diurna de 14 a 14.5 horas. Para el constructo *pAt.Erecta_truncated::Gm.FT2a* con sitio diana miR172, se analizaron seis eventos (6 plantas por evento). También se analizaron y promediaron seis plantas de plantas de control de tipo salvaje (WT). La Tablas 32 proporciona los datos fenotípicos promedio recopilados para cada evento y el control WT, y un promedio para cada rasgo de todos los eventos analizados.

CUADRO 32

Datos fenotípicos para el sitio objetivo *pErecta truncated::Gm.FT2a::T-*

Lhbc2/miR172 y plantas WT en condiciones de invernadero

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	40.3	33.4	32.5	25.0	34.7	35.7	38.7	33.8
DOR7	116.5	107.1	105.5	92.2	109.4	107.7	116.8	111.3
PDR1R7	76.3	74.1	73.0	67.0	75.0	72.0	80.0	77.6
BRPP	17.5	14.2	15.3	2.0	14.8	15.8	20.8	16.8
FNBR	162.5	148.3	171.3	5.7	180.5	156.8	177.3	198.5
FNPL	185.8	175.0	201.3	36.5	207.0	180.0	203.0	222.3
FNST	23.3	26.9	30.0	32.3	26.5	23.3	25.8	23.8
NDBR	249.5	211.9	220.8	5.7	256.0	258.0	281.8	249.5
NDMS	33.5	38.2	39.0	33.3	36.0	35.0	48.3	37.8
NDPL	283.0	249.9	259.8	37.5	292.0	293.0	330.0	287.3
PDPP	628.5	635.0	752.5	324.8	727.8	615.0	676.3	713.8
PFNB	65.2	75.7	77.8	100.0	70.1	62.3	63.0	81.0
PFNN	65.7	74.8	77.8	97.5	70.5	62.8	61.5	78.5
PFNS	69.0	72.1	78.0	97.0	74.3	67.2	53.0	63.2
PODBR	504.8	469.6	577.3	12.7	581.5	508.0	531.5	606.8
PODMS	123.8	165.9	175.3	315.3	146.3	107.0	144.8	107.0
Vainas/Nodo	2.2	3.5	2.9	8.7	2.5	2.1	2.1	2.6
SDPP8	1261.3	1144.0	1550.3	691.5	1053.8	984.0	1107.3	1477.3
SW1000 (gramos)	135.0	114.1	126.5	116.6	96.0	98.0	115.3	131.9

Las plantas de soya que comprenden la construcción del sitio objetivo *pAt.Erecta_truncated::Gm.FT2a*/miR172 florecieron antes (DOFR1), pero tuvieron ramificaciones ligeramente reducidas (BRPP) y menos nodos por planta (NDPL), en comparación con las plantas de control WT. Sin embargo, estas plantas transgénicas tenían un mayor número de vainas por nodo (y por tallo principal) en relación con las

plantas de control de WT (Vainas/Nodo, PODMS) y fenotipos de arquitectura de planta mejorados en relación con la expresión de *pAt.Erecta::Gm.FT2a* sola (ver, por ejemplo, el cuadro 2).

Estos datos respaldan además la hipótesis de que la supresión del transgén *Gm.FT2a* con un sitio objetivo para un miR172 endógeno es eficaz para disminuir o mitigar la terminación anticipada observada con la expresión del transgén *Gm.FT2a* y/o esa expresión del transgén Gm.FT2a con un promotor *pAt.Erecta* truncado puede mitigar aún más los fenotipos de terminación temprana con la expresión de *Gm.FT2a* sola.

EJEMPLO 18

La modificación de la expresión ectópica de *Gm.FT2a* con un promotor *pAt.Erecta* truncado y un sitio objetivo miR172 altera los fenotipos reproductivos en el campo

Las plantas transgénicas para tres eventos del constructo del sitio objetivo *pAt.Erecta_truncado::Gm.FT2a::T-Lhbc2*/miR172 descrito en el Ejemplo 18 se cultivaron y se ensayaron bajo condiciones de campo. Los eventos 1, 2 y 5 en el cuadro 32 corresponden a los Eventos 1-3 en el cuadro 33, respectivamente. Se recopilaron datos para seis plantas para cada evento y control WT. El cuadro 33 proporciona datos fenotípicos promedio para cada evento y control WT, y promedios para cada rasgo en todos los eventos.

CUADRO 33

Datos fenotípicos para el sitio objetivo *pErecta truncated::Gm.FT2a::T-Lhbc2 / miR172* y plantas WT en el campo

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3
DOFR1	42.4	30.4	29.8	27.7	33.8
DOR8	110.7	105.3	108.1	99.8	108.0
PDR1R8	65.7	74.3	77.0	73.8	72.2
BRPPR8	2.6	0.7	1.0	0.0	1.1
NDBRR8	9.7	1.6	1.5	0.2	3.0
NDMSR8	18.3	17.3	17.8	14.8	19.2
NDPLR8	28.0	18.8	19.3	15.0	22.2
PDPPR8	44.2	43.9	45.5	41.4	44.7
PDMSR8	34.7	42.4	43.9	41.1	42.1
TPBR8	9.5	1.6	1.6	0.4	2.7
Vainas/Nodo	1.6	2.4	2.4	2.7	2.1
SDARR8	282.7	263.4	278.2	242.7	269.2
SW1000 (onzas)	5.1	4.9	5.0	4.5	5.1

De manera similar a los datos del efecto invernadero, las plantas de soya con la construcción del sitio objetivo *pAt.Erecta_truncated::Gm.FT2a*/miR172 florecieron antes (DOFR1) y tuvieron un mayor número de vainas por nodo (y por tallo principal) en la etapa R8 (PDMSR8, Vainas/nodo) en condiciones de campo, en relación con las plantas de control de WT. Sin embargo, las plantas de soya con la construcción del sitio objetivo *pAt.Erecta_truncated::Gm.FT2a*/miR172 también tenían ramificaciones reducidas (BRPPR8) y nodos reducidos por planta (NDPLR8) en relación con las plantas de control WT.

EJEMPLO 19

La modificación de la expresión ectópica de *Gm.FT2a* y de *Gm.FT2a, Gm.FT5a y Gm.FT5b* nativa en soya mediante un miARN artificial altera los fenotipos reproductivos

Un vector de transformación se construyó y utilizó para transformar plantas de soja mediante transformación mediada por *Agrobacterium*, en donde el vector comprendía el transgén *Gm.FT2a* tal como se describió anteriormente bajo el control del promotor *pAt.Erecta* de etapa vegetativa, preferido del meristemo (SEQ ID NO: 31) con una región de terminación Lhcb2 (T-Lhcb2) y una secuencia de ADN transcribible que codifica un miARN artificial (SEQ ID NO: 102) que se dirige no solo a la supresión de *Gm.FT2a* (ectópico y endógeno) sino también a la de los genes *Gm.FT5A* y *Gm.FT5b* endógenos, en donde la secuencia de ADN transcribible que codifica el miARN se encuentra bajo el control de un promotor *pAt.AP1* (SEQ ID NO: 49) con una región de terminación GAPDH. Las plantas transgénicas generadas a partir de estos eventos se caracterizaron en el invernadero en condiciones de fotoperíodo de luz diurna de 14 a 14.5 horas. Se recopilaron los datos para seis plantas de cada evento y el control WT. La Tabla 34 proporciona los datos fenotípicos promedio recopilados de cada evento y el control WT, y un promedio de cada rasgo en todos los eventos.

CUADRO 34

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erecta::Gm.FT2a::T-Lhbc2* | *pAP1::miARN-FT2a/FT5a/*FT5b:: T-GAPDH y WT cultivadas en el invernadero

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	39.3	32.2	34.0	32.0	33.0	30.3	31.7	32.3
DOR7	107.0	98.0	104.2	99.3	97.8	93.7	94.5	98.5
PDR1R7	67.7	65.8	70.2	67.3	64.8	63.3	62.8	66.2
BRPPR8	16.8	9.9	13.8	12.7	12.2	1.8	9.0	9.7
NDBRR8	225.8	60.9	64.3	72.3	93.8	9.2	55.3	70.7
NDMSR8	29.7	29.7	34.8	33.8	33.5	15.8	33.3	27.2
NDPLR8	255.5	90.7	99.2	106.2	127.3	25.0	88.7	97.8
PDMSR8	74.8	177.2	212.8	222.2	161.8	92.3	218.8	155.2
PDNDBRR8	1.8	2.6	3.2	3.4	2.6	1.8	2.6	2.2
PDNDMSR8	2.3	6.0	6.2	6.6	5.2	5.4	6.6	5.7
Vainas/ Nodo	1.9	4.2	4.3	4.5	3.6	4.5	4.5	4.0
PDPPR8	482.7	349.0	411.3	470.8	418.2	111.8	346.3	335.5
PHTR8	1016.3	955.5	1133.5	1156.3	1032.5	475.5	1049.3	885.8
SDPDR8	2.1	1.9	1.9	1.8	1.9	1.6	2.3	1.9
SNUM	1012.5	694.9	798.3	825.3	814.2	220.3	789.0	722.3
TPBR8	407.8	171.8	198.5	248.7	256.3	19.5	127.5	180.3
SW1000 (gramos)	141.2	135.4	144.3	150.8	141.5	107.1	149.5	119.4

Se proporcionan algunas medidas de rasgo adicionales en el cuadro 34 que incluye PDNDBRR8 (vainas por nodo en las ramas) y PDNDMSR8 (vainas por nodo en el vástago principal) en la etapa R8, PHTR8 (altura de la planta en la etapa R8 en milímetros), SDPDR8 (semillas por vainas en R8) y SNUM (número de semillas por planta). Las plantas de soya que expresaban el casete *pAt.Erecta::Gm.FT2a* con supresión combinada de *Gm.FT2a, Gm.FT5a* y *Gm.FT5b* florecieron antes (DOFR1) y tuvieron un número significativamente mayor de vainas por nodo (y vainas aumentadas en la vía troncal), pero disminuyó la ramificación, en relación con las plantas de control de WT.

EJEMPLO 20

Expresión de *Gm.FT2a* ectópico bajo el control de un promotor *pAP1* altera el tiempo de floración y las vainas por nodo en soya

Se construyó un vector de transformación que comprende *Gm.FT2a* bajo el control de un promotor *pAt.AP1* con una región terminadora Lhcb2 y se usó para transformar la soya a través de la transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas generadas a partir de estos eventos se caracterizaron en el invernadero con un fotoperiodo de luz diurna de 14 a 14.5 horas. Se recopilaron datos para seis plantas para cada evento y control WT. El cuadro 35 proporciona los datos fenotípicos promedio recopilados de cada evento y control WT, y un promedio para cada rasgo en todos los eventos.

CUADRO 35

Datos fenotípicos para las plantas *pAt.AP1::Gm.FT2a::T-Lhbc2* y WT en el invernadero

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	38.3	27.4	26.7	26.7	29.3	28.2	27.0	26.5
DOR7	106.7	94.0	91.2	92.8	96.7	93.7	94.2	95.7
PDR1R7	68.3	66.6	64.5	66.2	67.3	65.5	67.2	69.2
BRPPR8	26.2	8.5	3.3	6.3	17.2	10.0	6.7	7.7
NDBRR8	352.5	90.5	14.7	75.2	175.3	106.8	91.2	79.7
NDMSR8	31.5	31.8	28.8	34.5	34.3	31.7	27.5	33.8
NDPLR8	384.0	122.2	43.5	109.7	209.7	138.5	118.4	113.5
PDMSR8	69.3	165.8	122.5	212.3	120.7	182.0	158.7	198.3
PDNDBRR8	1.7	3.2	1.7	4.2	2.5	4.3	2.7	4.1
PDNDMSR8	2.1	5.2	4.2	6.1	3.5	6.3	5.2	5.8
Vainas/ Nodo	1.7	3.9	3.4	4.9	2.6	4.8	3.1	4.6
PDPPR8	645.2	433.9	148.8	513.5	544.5	485.7	394.2	517.0
PHTR8	1197.0	1153.4	1065.3	1280.5	1240.8	1177.5	961.1	1195.0
SDPDR8	2.4	2.4	2.3	2.4	2.5	2.4	2.5	2.4
SNUM	1522.7	1059.9	349.7	1221.7	1363.7	1172.8	985.3	1266.3
TPBR8	575.8	268.4	26.3	301.2	423.8	303.7	236.8	318.7
SW1000 (gramos)	196.7	180.3	213.4	170.0	181.6	171.9	174.0	171.0

Las plantas de soya que expresaban el casete *pAt.AP1::Gm.FT2a::T-Lhbc2* florecieron antes (DOFR1) y tuvieron un número significativamente mayor de vainas por nodo (y vainas aumentadas en el eje principal), pero disminuyeron la ramificación, en relación con el control WT plantas Los primeros resultados de campo con este constructo también muestran la floración temprana, lo que indica que se observarán rasgos reproductivos similares en plantas cultivadas bajo condiciones de campo.

EJEMPLO 21

Expresión de *Gm.FT2a* ectópica bajo el control de un promotor *pSl.Nod* en soya

Se construyó un vector de transformación que comprende *Gm.FT2a* bajo el control de un promotor *pS1.Nod* con una región terminadora Lhcb2 y se usó para transformar la soya a través de la transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas generadas a partir de estos eventos se caracterizaron en el invernadero con un fotoperiodo de luz diurna de 14 a 14.5 horas. Se recopilaron datos para seis plantas para cada evento y control WT. El cuadro 36 proporciona los datos fenotípicos promedio recopilados de cada evento y control WT, y un promedio para cada rasgo en todos los eventos.

CUADRO 36

Datos fenotípicos para plantas *pSl.Nod::Gm.FT2a::T-Lhbc2* y WT en el invernadero

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	38.3	38.1	37.5	37.0	38.3	38.8	39.5	37.7
DOR7	107.8	106.4	105.2	105.0	105.5	109.2	104.7	108.8
BRPPR8	25.3	25.3	29.3	23.8	25.2	23.8	24.3	25.3
NDBRR8	312.7	337.9	373.5	315.2	336.5	333.0	317.0	352.3
NDMSR8	38.2	36.4	34.7	37.2	37.2	39.3	36.3	33.8
NDPLR8	350.8	373.3	401.8	352.3	373.7	372.3	353.3	386.2
PDMSR8	89.5	91.3	89.3	96.7	100.0	97.8	93.2	70.5
PDNDBRR8	2.0	1.8	1.8	1.8	1.8	1.9	1.8	1.7
PDNDMSR8	2.3	2.3	1.7	2.6	2.7	2.5	2.6	2.0
Vainas/Nodo	2.0	1.9	2.0	1.9	1.8	1.9	1.8	1.7
PDPPR8	700.8	677.5	750.8	664.3	681.5	676.7	640.8	650.7
PDR1R7	69.5	68.3	67.7	68.0	67.2	70.3	65.2	71.2
PHTR8	1324.2	1256.6	1136.6	1220.8	1315.2	1321.7	1295.3	1249.8
SDPDR8	2.5	2.4	2.1	2.4	2.4	2.4	2.5	2.5
SNUM	1713.3	1591.3	1517.7	1584.5	1642.7	1600.8	1588.7	1613.7
TPBR8	611.3	586.2	661.5	567.7	581.5	578.8	547.7	580.2
SW1000 (gramos)	187.6	188.0	197.5	187.2	189.4	185.2	187.6	181.3

En estos experimentos, no se observó ningún cambio significativo entre las plantas *pSl.Nod::Gm.FT2a::T-Lhbc2* y WT. Los primeros resultados de campo con este constructo indican además que no hay cambios en el comienzo de la floración.

EJEMPLO 22

Modificación de *Gm.FT2a* bajo el control de un promotor pAt.Erl1 con un miARN artificial impulsado por un promotor *pSl.MADS-RIN* en soya

Para analizar la hipótesis de que la supresión de *Gm.FT2a* en tejidos vegetativos y/o reproductivos tardíos luego de la expresión ectópica inicial de *Gm.FT2a* transgénico puede extender la duración reproductiva en las plantas de soja, un vector de transformación que comprende *Gm.FT2a* bajo el control del promotor *pAt.Erl1* preferido del meristemo, de etapa vegetativa (SEQ ID NO: 44) con una región de terminación GAPDH (TGAPDH) y una secuencia de ADN transcribible que codifica un miARN artificial (SEQ ID NO: 67) que se dirige a la supresión de *Gm.FT2a* y está bajo el control de un promotor *pSl.MADS-RIN* (SEQ ID NO: 72) con una región de terminación T-Apx, se construyó y utilizó para transformar la soja mediante transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas generadas a partir de estos eventos se caracterizaron en el invernadero con un fotoperíodo de luz diurna de 14 a 14.5 horas. Se recopilaron los datos para seis plantas de cada evento y el control WT. La Tabla 37 proporciona los datos fenotípicos promedio recopilados de cada evento y el control WT, y un promedio de cada rasgo en todos los eventos.

CUADRO 37

Datos fenotípicos para plantas *pAt.Erl1::Gm.FT2a::T-GAPDH | pSl.MADS-RIN::miARN-FT2a:: T-Apx* y WT cultivadas en el invernadero

	WT	Promedio	Evento 1	Evento 2	Evento 3	Evento 4	Evento 5	Evento 6
DOFR1	39.3	33.8	33.0	34.0	35.7	35.0	33.3	31.5
DOR7	107.5	99.9	98.7	98.5	99.0	105.8	101.0	96.5
PDR1R7	68.2	66.2	65.7	64.6	63.3	70.8	67.7	65.0
BRPPR8	16.5	14.4	13.3	14.2	13.2	17.8	16.0	12.0
NDBRR8	180.2	131.8	100.3	128.8	124.5	187.0	141.2	108.8
NDMSR8	31.7	32.2	31.0	32.2	28.8	36.3	31.7	33.0
NDPLR8	211.8	163.9	131.3	161.0	153.3	223.3	172.8	141.8
PDMSR8	100.7	127.3	135.7	136.0	106.0	112.3	116.7	157.0
PDNDBRR8	2.2	2.3	2.6	2.3	2.2	1.9	2.3	2.6
PDNDMSR8	3.2	4.0	4.4	4.3	3.7	3.1	3.8	4.8
Vainas/Nodo	2.3	2.7	3.4	2.7	2.5	2.1	2.6	3.1
PDPPR8	480.0	423.9	420.2	419.2	388.2	449.5	429.0	437.5
PHTR8	1122.5	1118.6	1081.3	1152.5	1114.2	1185.5	1063.3	1114.9
SDPDR8	2.2	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.4	2.4
SNUM	1060.8	983.4	980.5	954.7	894.7	1023.3	1003.7	1043.4
TPBR8	379.3	296.6	284.5	283.2	282.2	337.2	312.3	280.5
SW1000 (gramos)	152.2	154.1	163.6	151.6	159.8	148.4	153.7	147.3

Las plantas de soya que expresan los casetes *pAt.Erl1::Gm.FT2a::T-GAPDH* | *pSl.MADS-RIN::miARN-FT2a* florecieron ligeramente antes (DOFR1) y tuvieron un número ligeramente mayor de vainas por nódulo (y vainas ligeramente aumentadas en el vástago principal), y una disminución moderada en la ramificación, en relación con las plantas de control WT. Los primeros resultados de campo con este constructo también muestran una floración moderadamente temprana, lo que indica que se observarán cambios moderados similares en los rasgos reproductivos con este constructo en plantas cultivadas bajo condiciones de campo.

EJEMPLO 23

La modificación de la expresión de *Gm.FT2a* ectópica con un promotor *pAt.Erl1* y un sensor miR156 altera el tiempo de floración

Un vector de transformación que comprende *Gm.FT2a* bajo control del promotor *pAT.Erl1* de etapa vegetativa, preferido por el meristemo (SEQ ID NO: 44 con un sitio diana miR156 (SEQ ID NO: 106) y una región de terminación GAPDH (T-GAPDH), se construyó y utilizó para transformar la soja mediante transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas generadas a partir de estos eventos se analizaron en el campo. Se recopilaron los datos para seis plantas de cada evento y el control WT. Los resultados de campo tempranos con este constructo muestra un florecimiento temprano, lo que indica que cambios moderados en los rasgos reproductivos, que incluyen un aumento de vainas por nodo, se podrán observar con este constructo en las plantas cultivadas en el campo o el invernadero.

EJEMPLO 24

Modificación de la expresión ectópica de *Gm.FT2a* con un promotor *pAt.Erecta* truncado altera el tiempo de floración

Un vector de transformación que comprende *Gm.FT2a* bajo el control de un promotor *pAt.Erecta* truncado más corto (SEQ ID NO: 48) con una región de terminación Lhcb2 (T-Lhcb2) se construyó y utilizó para transformar la soja mediante transformación mediada por *Agrobacterium*. Las plantas transgénicas generadas a partir de estos eventos se analizaron en el campo. Se recopilaron los datos para seis plantas de cada evento y el

control WT. Los resultados de campo tempranos con este constructo muestra un inicio levemente más temprano del florecimiento, lo que indica que cambios leves o moderados en los rasgos reproductivos, que incluyen un leve aumento de vainas por nodo, se podrán observar con este constructo en las plantas cultivadas en el campo o el invernadero. Por lo tanto, se pueden alcanzar fenotipos reproductivos más atenuados y efectos de terminación temprana mitigados con este promotor *pAt.Erecta* truncado más mínimo (comparar los Ejemplos 3 y 17).

Habiendo descrito la presente descripción en detalle, será evidente que son posibles modificaciones, variaciones y modalidades equivalentes sin apartarse del espíritu y el alcance de la presente divulgación como se describe aquí y en las reivindicaciones adjuntas. Además, debe apreciarse que todos los ejemplos en la presente descripción se proporcionan como ejemplos no limitantes.