

REIVINDICACIONES

Habiendo así especialmente descripto y determinado la naturaleza de la presente invención y la forma como la misma ha de ser llevada a la práctica, se declara reivindicar como de propiedad y derecho exclusivo:

1. Una molécula de ADN recombinante que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, y SEQ ID NO: 10, o un complemento completo de las mismas.
2. La molécula de ADN recombinante de la reivindicación 1, donde la molécula de ADN recombinante es del evento de maíz ZM_BCS216090, donde una muestra representativa de semillas que comprende dicho evento se ha depositado con el Acceso ATCC Nro. PTA-127050.
3. La molécula de ADN recombinante de la reivindicación 1 o 2, donde dicha molécula de ADN recombinante está comprendida en una planta de maíz, célula vegetal, semilla, planta de progenie, parte de planta o producto básico.
4. La molécula de ADN recombinante de la reivindicación 1, 2, o 3, donde dicha molécula de ADN recombinante se forma mediante la inserción de una molécula de ácido nucleico heteróloga en el ADN genómico de una planta de maíz o célula de maíz.
5. La molécula de ADN recombinante de la reivindicación 1, 2, o 4, donde dicha molécula de ADN recombinante comprende un amplicón diagnóstico de la presencia de ADN derivado del evento de maíz ZM_BCS216090.
6. La molécula de ADN recombinante de la reivindicación 1, 2, 4, o 5, donde dicha molécula de ADN recombinante es derivada de una planta de maíz transgénica que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090, donde una muestra representativa de semillas que comprende dicho evento se ha depositado con el Acceso ATCC Nro. PTA-127050.
7. Una molécula de ADN que comprende un segmento de polinucleótido de suficiente longitud para funcionar como una sonda de ADN que hibrida específicamente en condiciones de hibridación rigurosas con ADN del evento de maíz ZM_BCS216090 en una muestra, donde la detección de la hibridación de dicha molécula de ADN bajo dichas condiciones de hibridación

rigurosas es diagnóstico de la presencia de ADN del evento de maíz ZM_BCS216090 en dicha muestra.

8. La molécula de ADN de la reivindicación 7, donde dicha molécula de ADN comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, y SEQ ID NO: 10, o un complemento completo de las mismas.

9. La molécula de ADN de la reivindicación 7 o 8, donde dicha muestra es derivada de una planta de maíz, célula de planta de maíz, semilla de maíz, parte de planta de maíz, planta de progenie de maíz, semilla de maíz procesada, alimento para animal que comprende maíz, aceite de maíz, sémola de maíz, harina de maíz, hojuelas de maíz, salvado de maíz, pasta hecha con maíz, biomasa de maíz y productos combustibles producidos usando maíz y partes de maíz.

10. Un par de moléculas de ADN que comprende una primera molécula de ADN y una segunda molécula de ADN diferente de la primera molécula de ADN, que funcionan como cebadores de ADN cuando se usan juntas en una reacción de amplificación con una muestra que contiene ADN de patrón del evento de maíz ZM_BCS216090 para producir un amplicón diagnóstico de la presencia de dicho ADN del evento de maíz ZM_BCS216090 en dicha muestra, donde dicho amplicón comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, y SEQ ID NO: 10.

11. Un método para detectar la presencia de un segmento de ADN diagnóstico del ADN del evento de maíz ZM_BCS216090 en una muestra, donde dicho método comprende:

- a) poner en contacto dicha muestra con la molécula de ADN de la reivindicación 7;
- b) someter dicha muestra y dicha molécula de ADN a condiciones de hibridación rigurosas; y
- c) la detección de la hibridación de dicha molécula de ADN a dicho ADN en dicha muestra,

donde dicha detección es diagnóstico de la presencia de dicho ADN del evento de maíz ZM_BCS216090 en dicha muestra.

12. Un método para detectar la presencia de un segmento de ADN diagnóstico del ADN del evento de maíz ZM_BCS216090 en una muestra, donde dicho método comprende:

- a) poner en contacto dicha muestra con el par de moléculas de ADN de la reivindicación 10;
- b) realizar una reacción de amplificación suficiente para producir un amplicón de ADN; y
- c) detectar la presencia de dicho amplicón de ADN en dicha reacción,

donde dicho amplicón de ADN comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, y SEQ ID NO: 10, o un complemento completo de las mismas.

13. Un método para detectar la presencia de un segmento de ADN diagnóstico del ADN del evento de maíz ZM_BCS216090 en una muestra, donde dicho método comprende:

- a) poner en contacto dicha muestra con una molécula de ADN que comprende una secuencia de nucleótidos que hibrida específicamente en condiciones de hibridación rigurosas con ADN del evento de maíz ZM_BCS216090, una molécula de ADN que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, y SEQ ID NO: 10, o un complemento completo de las mismas, o la molécula de ADN de la reivindicación 7; y
- b) efectuar una reacción de secuenciación para producir una secuencia objetivo,

donde dicha secuencia objetivo comprende una secuencia de nucleótidos, o una porción o un fragmento de una secuencia de nucleótidos, seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, y SEQ ID NO: 10, o un complemento completo de las mismas.

14. Una planta de maíz, una parte de planta de maíz, una semilla de maíz o una célula de maíz que comprende:

- a) la molécula de ADN recombinante de la reivindicación 1 o 2; o
- b) un segmento de ADN que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, y SEQ ID NO: 10, o un complemento completo de las mismas.

15. La planta de maíz, la parte de planta de maíz, la semilla de maíz, o la célula de maíz de la reivindicación 14, donde la planta de maíz, la parte de planta de maíz, la semilla de maíz, o la célula de maíz exhibe reducida expresión de por lo menos un primer gen endógeno de giberelina 20-oxidasa (*GA20ox*).

16. La planta de maíz, la parte de planta de maíz, la semilla de maíz, o la célula de maíz de la reivindicación 15, donde el gen de giberelina 20-oxidasa (*GA20ox*) es seleccionado del grupo que consiste en giberelina 20-oxidasa 3 (*GA20ox3*) y giberelina 20-oxidasa 5 (*GA20ox5*).

17. La planta de maíz, la parte de planta de maíz, la semilla de maíz, o la célula de maíz de la reivindicación 14, donde la planta de maíz, la parte de planta de maíz, la semilla de maíz, o la célula de maíz tiene reducida expresión de un gen endógeno de giberelina 20-oxidasa 3 (*GA20ox3*) y un gen endógeno de giberelina 20-oxidasa 5 (*GA20ox5*).

18. La planta de maíz, la parte de planta de maíz, la semilla de maíz, o la célula de maíz de cualquiera de las reivindicaciones 14–17, donde la planta de maíz, la parte de planta de maíz, la semilla de maíz, o la célula de maíz comprende el evento de maíz ZM_BCS216090, donde una muestra representativa de semillas que comprende dicho evento se ha depositado con el Acceso ATCC Nro. PTA-127050.

19. La planta de maíz, la parte de planta de maíz, la semilla de maíz, o la célula de maíz de cualquiera de las reivindicaciones 14–18, donde la planta de maíz, la parte de planta de maíz, la semilla de maíz, o la célula de maíz además se define como una planta de progenie de cualquier generación de una planta de maíz que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090, o una parte de planta de maíz, semilla de maíz, o célula de maíz derivada de ella.

20. Una planta de maíz, una parte de planta de maíz, una semilla de maíz o una célula de maíz que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090, donde una muestra representativa de semillas que comprende dicho evento se ha depositado con el Acceso ATCC Nro. PTA-127050.
21. La planta de maíz de cualquiera de las reivindicaciones 14-20, donde dicha planta de maíz tiene una reducida altura de planta en relación con una planta de maíz de control.
22. La planta de maíz de cualquiera de las reivindicaciones 14-21, donde dicha planta de maíz tiene una mayor resistencia al acame en relación con una planta de maíz de control.
23. La planta de maíz, la parte de planta de maíz, la semilla de maíz, o la célula de maíz de cualquiera de las reivindicaciones 14-22, donde la secuencia de nucleótidos está presente en el cromosoma 1 de la planta de maíz, la parte de planta de maíz, la semilla de maíz, o la célula de maíz.
24. Un equipo de detección de ADN que comprende:
- a) un par de moléculas de ADN, que comprende una primera molécula de ADN y una segunda molécula de ADN diferente de la primera molécula de ADN, que funcionan como cebadores de ADN cuando se usan juntas en una reacción de amplificación con una muestra que contiene ADN de patrón del evento de maíz ZM_BCS216090 para producir un amplicón diagnóstico de la presencia de dicho ADN del evento de maíz ZM_BCS216090 en dicha muestra, donde dicho amplicón comprende la secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, y SEQ ID NO: 10; y
 - b) una sonda de ADN que comprende un segmento de polinucleótido de suficiente longitud para funcionar como una sonda de ADN que hibrida específicamente en condiciones de hibridación rigurosas con ADN del evento de maíz ZM_BCS216090 en una muestra, donde la detección de la hibridación de dicha molécula de ADN bajo dichas condiciones de hibridación rigurosas es diagnóstico de la presencia de ADN del evento de maíz ZM_BCS216090 en dicha muestra.

25. Un método para producir una planta de progenie de maíz que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090, que comprende:

- a) cruzar sexualmente una primera planta de maíz que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090 consigo misma o con una segunda planta de maíz;
- b) recolectar una o más semillas producidas a partir de dicho cruce;
- c) cultivar dicha semilla para producir una o más plantas de progenie; y
- d) seleccionar al menos una primera planta de progenie o semilla que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090.

26. El método de la reivindicación 25, donde la por lo menos una primera planta de progenie tiene una reducida altura de planta y/o mayor resistencia al acame en relación con una planta de maíz de control.

27. Una planta de maíz o semilla híbrida que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090 producida por el método de la reivindicación 25 o 26.

28. El método de la reivindicación 25 o 26, que además comprende:

- e) recolectar semillas de dicha por lo menos primera planta de progenie que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090.

29. Una semilla de maíz que comprende una cantidad detectable de una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 9, y SEQ ID NO: 10, o un complemento completo de las mismas.

30. Un material de planta de maíz no viva que comprende una cantidad detectable de la molécula de ADN recombinante de la reivindicación 1.

31. Un microorganismo que comprende la molécula de ADN recombinante de la reivindicación 1.

32. El microorganismo de la reivindicación 31, donde el microorganismo es una célula vegetal.

33. Un producto básico que comprende la molécula de ADN recombinante de la reivindicación 1.

34. El producto básico de la reivindicación 33, donde dicho producto básico se produce a partir de una planta de maíz, parte de planta de maíz, semilla de maíz, o célula de maíz transgénica que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090.

35. El producto básico de la reivindicación 33, seleccionado adicionalmente del grupo que consiste en semilla de maíz entera o procesada , alimento animal que comprende maíz, aceite de maíz, sémola de maíz, harina de maíz, copos de maíz, salvado de maíz, biomasa de maíz y productos combustibles producidos usando maíz y partes de maíz.

36. Un método para producir un producto básico, donde dicho comprende:

- a) obtener una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz transgénica que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090; y
- b) producir un producto básico de la planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz transgénica.

37. Una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz que comprende una molécula de ADN funcional como un patrón cuando se evalúa en un método de amplificación de ADN que produce un amplicón diagnóstico de la presencia de ADN del evento de maíz ZM_BCS216090.

38. Un método para determinar la cigosidad de una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090, que comprende:

- a) poner en contacto una muestra que comprende ADN de la planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz con un primer conjunto de pares de cebadores que comprende por lo menos dos pares de cebadores diferentes capaces de producir un primer amplicón diagnóstico del evento de maíz ZM_BCS216090 y un segundo amplicón diagnóstico de ADN genómico de maíz nativo que no comprende el evento de maíz ZM_BCS216090;
- b) realizar una reacción de amplificación de ácido nucleico con la muestra y el conjunto de pares de cebadores; y
- c) detectar en la reacción de amplificación de ácido nucleico el primer amplicón diagnóstico del evento de maíz ZM_BCS216090 y el segundo amplicón

diagnóstico de ADN genómico de maíz nativo que no comprende el evento de maíz ZM_BCS216090, donde la presencia de solo el primer amplicón es diagnóstico de una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz homocigota para el evento de maíz ZM_BCS216090, y la presencia de tanto el primer amplicón como el segundo amplicón es diagnóstico de una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz heterocigota para el evento de maíz ZM_BCS216090.

39. Un método para determinar la cigosidad de una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090, que comprende:

- a) poner en contacto una muestra que comprende ADN de la planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz, con un primer par de cebadores capaz de producir un primer amplicón de la totalidad o parte del evento de maíz ZM_BCS216090, y un segundo par de cebadores capaz de producir un segundo amplicón de una secuencia genómica estándar que se sabe es de una sola copia y homocigota en la planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz;
- b) poner en contacto la muestra con una primera sonda que hibrida específicamente con el primer amplicón y/o la totalidad o parte del evento de maíz ZM_BCS216090, y una segunda sonda que hibrida específicamente con la secuencia genómica estándar;
- c) realizar una reacción de amplificación de ADN usando PCR en tiempo real, y determinar los umbrales de ciclo (valores Ct) del primer amplicón y el segundo amplicón;
- d) calcular la diferencia (ΔCt) entre los valores Ct del segundo amplicón y el primer amplicón; y
- e) determinar la cigosidad del evento de maíz ZM_BCS216090, donde un valor ΔCt de alrededor de cero (0) indica la homocigosidad del evento de maíz ZM_BCS216090, y un valor ΔCt de alrededor de uno (1) indica la heterocigosidad del evento de maíz ZM_BCS216090.

40. El método de la reivindicación 38 o 39, donde el conjunto de pares de cebadores comprende SEQ ID NO: 11 combinada con SEQ ID NO: 12, y SEQ ID NO: 14 combinada con SEQ ID NO: 15.

41. Un método para determinar la cigosidad de una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090, que comprende:

- a) poner en contacto una muestra que comprende ADN de la planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz con un par de cebadores capaz de producir un primer amplicón diagnóstico del evento de maíz ZM_BCS216090 y un segundo amplicón diagnóstico de ADN genómico de maíz nativo que no comprende el evento de maíz ZM_BCS216090;
- b) realizar una reacción de amplificación de ácido nucleico con la muestra y el conjunto de pares de cebadores; y
- c) detectar el primer amplicón y el segundo amplicón, donde la presencia de solo el primer amplicón es diagnóstico de una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz homocigota para el evento de maíz ZM_BCS216090, la presencia de solo el segundo amplicón es diagnóstico de una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz homocigota para ADN genómico de maíz nativo que no comprende el evento de maíz ZM_BCS216090, y la presencia de tanto el primer amplicón como del segundo amplicón es diagnóstico de una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz heterocigota para el evento de maíz ZM_BCS216090.

42. Un método para determinar la cigosidad de una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz que comprende el evento de maíz ZM_BCS216090, que comprende:

- a) poner en contacto una muestra que comprende ADN de la planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz con un conjunto de sondas que contiene por lo menos una primera sonda que hibrida específicamente con el evento de maíz ZM_BCS216090 y por lo menos una segunda sonda que hibrida específicamente con ADN genómico de maíz que fue alterado mediante la inserción del ADN

heterólogo del evento de maíz ZM_BCS216090 y no hibrida a ADN del evento de maíz ZM_BCS216090; y

- b) hibridar el conjunto de sondas con la muestra en condiciones de hibridación rigurosas, donde la detección de la hibridación de solo la primera sonda en las condiciones de hibridación es diagnóstico de una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz homocigota para el evento de maíz ZM_BCS216090, y donde la detección de la hibridación tanto de la primera sonda como de la segunda sonda en las condiciones de hibridación es diagnóstico de una planta de maíz, parte de planta de maíz, o semilla de maíz heterocigota para el evento de maíz ZM_BCS216090.
43. El método de la reivindicación 42, donde el conjunto de sondas comprende SEQ ID NO: 13 y SEQ ID NO: 16.
44. Un método para producir una planta de maíz que tiene reducida altura de planta o mayor resistencia al acame, que comprende: introducir el evento de maíz ZM_BCS216090 en una planta de maíz, donde una muestra representativa de semillas que comprende dicho evento ha sido depositada con el Acceso ATCC Nro. PTA-127050.
45. Una población de plantas de maíz transgénicas, donde cada planta de maíz transgénica comprende el evento de maíz ZM_BCS216090.
46. La población de plantas de maíz de la reivindicación 45, donde dicha población de plantas de maíz tiene una reducida altura de planta en promedio, en relación con una población de plantas de maíz de control que carecen del evento de maíz ZM_BCS216090.
47. La población de plantas de maíz de la reivindicación 45 o 46, donde dicha población de plantas de maíz tiene una mayor resistencia al acame en promedio en relación con una población de plantas de maíz de control que carecen del evento de maíz ZM_BCS216090.

p.p.: Monsanto Technology LLC