

PLANTAS CON DOBLE RESISTENCIA A HERBICIDAS

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

Esta solicitud invoca la prioridad de la Solicitud Provisional de los EE.UU.

- 5 No. 63/502.737, presentada el 18 de mayo de 2023 que se incorpora a la presente como referencia en su totalidad.

INCORPORACIÓN DEL LISTADO DE SECUENCIAS

- Un listado de secuencias contenido en el nombre de archivo "txt_Plants with Dual Herbicide Resistance" ("txt_Plantas con doble resistencia a herbicidas") que
10 tiene 42.424 bytes y que se creó el 19 de abril de 2024, se presenta con la presente en forma electrónica y se incorpora como referencia en su totalidad.

CAMPO DE LA INVENCION

- La presente invención pertenece al campo de las plantas que son tolerantes a los herbicidas inhibidores de HPPD y los herbicidas inhibidores de
15 AHAS.

ANTECEDENTES

- Las malezas compiten con las plantas de cultivo por el agua, los nutrientes, la luz solar, así como el espacio y también pueden albergar plagas de insectos y enfermedades. Por lo tanto, se debe evitar el crecimiento de las malezas en los
20 campos de cultivo. El deshierbe manual se ha vuelto muy costoso como resultado del aumento de los costos de la mano de obra y, por lo tanto, los agricultores optan cada vez más por los cultivares tolerantes a los herbicidas.

- Los herbicidas se pueden clasificar de acuerdo con su modo de acción. La clasificación por modo de acción (MOA) indica la primera enzima, proteína o
25 paso bioquímico afectado en la planta después de la aplicación. Dos clases bien

conocidas de herbicidas se dirigen a las enzimas 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD) y acetohidroxiácido sintasa (AHAS/ALS).

Las 4-hidroxifenilpiruvato dioxigenasas (HPPD) son enzimas que catalizan la reacción en la que el para-hidroxifenilpiruvato, un producto de la degradación de la tirosina se transforma a homogentisato, el precursor en las plantas del tocoferol y la plastoquinona. El tocoferol actúa como un antioxidante asociado a membrana. La plastoquinona, actúa primero como transportador de electrones entre el PSII y el complejo de citocromo b6/f y segundo, es un cofactor redox para la fitoeno desaturasa, que participa en la biosíntesis de los carotenoides. Mientras que los productos generales de este ciclo se usan para crear energía, las plantas y los eucariotas superiores utilizan la HPPD por un motivo mucho más importante. En las plantas, la HPPD ayuda a producir los cofactores plastoquinona y tocoferol que son esenciales para que la planta sobreviva.

Cuando se inhibe la HPPD, esto conduce al desacoplamiento de la fotosíntesis, una deficiencia de pigmentos accesorios captadores de luz y la destrucción de la clorofila por la radiación UV así como las especies reactivas de oxígeno (blaqueamiento) debido a la falta de fotoprotección normalmente proporcionada por los carotenoides, lo que conduce a la muerte de la planta. Hay algunas moléculas que inhiben a la HPPD y se conocen como herbicidas inhibidores de HPPD. Existen varios herbicidas inhibidores de HPPD que están comercialmente disponibles y son importantes para controlar las malezas indeseadas en los lotes. Para extender el alcance del uso de estos herbicidas, existe un esfuerzo constante para desarrollar variedades de plantas comercialmente importantes que sean resistentes a dichos herbicidas sin perder rendimiento de otras tolerancias metabólicas.

La solicitud de patente WO 2009/144079 divulga una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD) mutada en la posición 336 de la proteína HPPD de *Pseudomonas fluorescens* y su uso para obtener plantas que son tolerantes a los herbicidas inhibidores de HPPD. La solicitud de patente WO 2008/150473 divulga
5 dos mecanismos distintos de tolerancia: un gen de *Avena sativa* modificado que codifica para una enzima HPPD mutante y una monooxigenasa CYP450 de maíz (gen nsf1), que demostraron otorgar una mayor tolerancia a los herbicidas inhibidores de HPPD, pero no se han divulgado datos que demuestren los efectos sinérgicos basados en la combinación de ambas proteínas. La patente
10 US8853496 divulga secuencias que codifican para una hidroxifenilpiruvato dioxigenasa obtenida de *Blepharisma japonicum* y el uso de dichas secuencias de ácidos nucleicos, proteínas o genes quiméricos para obtener plantas que son tolerantes a los herbicidas inhibidores de HPPD.

La enzima acetohidroxiácido o acetohidroxiácido sintasa (AHAS) (también
15 conocida como acetolactato sintasa (ALS)) es una proteína que se halla en las plantas y los microorganismos. Cataliza el primer paso de la síntesis de los aminoácidos ramificados valina, leucina e isoleucina. La AHAS cataliza la condensación de dos moléculas de piruvato para formar acetolactato y CO₂, o la condensación de una molécula de piruvato con una molécula de α -cetobutirato
20 para formar α -aceto- α -hidroxibutirato y CO₂. La enzima tiene dos subunidades: una subunidad catalítica y una subunidad reguladora.

Los aminoácidos ramificados son esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas, y la inhibición de su síntesis es letal para muchas especies de plantas. Los inhibidores de la AHAS se usan como herbicidas que
25 lentamente quitan estos aminoácidos de las plantas afectadas, lo que

eventualmente conduce a la inhibición de la síntesis del ADN. Afectan por igual a hierbas y dicotiledóneas. La familia de inhibidores de AHAS incluye a las sulfonilureas, imidazolinonas, triazolopirimidinas pirimidinil oxibenzoatos y sulfonilamino carbonil triazolinonas.

5 Diversas variantes de genes AHAS que confieren tolerancia a imidazolinona fueron introducidas en plantas a partir de germoplasmas existentes, mediante mutagénesis o transgénesis y selección. Sebastian y col., (1989) Crop Sci., 29: 1403-1408 divulga una mutación de la soja que conduce a la resistencia a los herbicidas de sulfonilurea. Sathasivan y col., (1991) Plant
10 Physiol., 97: 1044-1050 describe un mutante GH90 resistente a imazapir de *Arabidopsis thaliana*. Ejemplos de otros cultivos tolerantes a la imidazolinona son el maíz (*Zea mays* L; Swanson y col., 1989 Theor. Appl. Genet. 78: 525530; Newhouse y col., (1991) Theor. Appl. Genet., 83: 65-70), el trigo (*Triticum aestivum* L), el arroz (*Oryza sativa* L; Patente de los EE.UU. No.5.545.822), la colza
15 (*Brassica napus* L) y el girasol (*Helianthus annuus* L; WO 2007/0118920). También se han detectado en diversos germoplasmas de plantas resistentes a herbicidas del tipo imidazolinona o sulfonilurea. Estas plantas han adquirido resistencia de forma natural y se han utilizado para cruces, dando como resultado variedades resistentes a los herbicidas. A partir del análisis de plantas resistentes, se
20 determinó una mutación puntual en la proteína AHAS de girasol que da como resultado la sustitución del aminoácido Ala por Val (White y col., (2003) Weed Sci., 51: 845-853).

Todos estos ejemplos están relacionados con cultivos que son resistentes a un tipo de herbicida. Sin embargo, uno de los métodos más importantes para
25 prevenir, retrasar o controlar la resistencia es reducir la dependencia de un único

modo de acción herbicida. Pero cuando se utilizan herbicidas con dos o más modos de acción diferentes, también es necesario proveer plantas de cultivo que sean tolerantes a los diferentes herbicidas utilizados.

SUMARIO DE LA INVENCION

5 La presente invención se relaciona con plantas que tienen una tolerancia combinada a los inhibidores de HPPD y a los inhibidores de AHAS. Las mutaciones que conducen a estas tolerancias están incluidas en las plantas de la invención. Las plantas de la invención son en particular plantas de sorgo.

10 La tolerancia a los inhibidores de HPPD es el resultado de una mutación que se halló que imparte resistencia o tolerancia a un herbicida inhibidor de HPPD en una planta de sorgo. La mutación conduce a un residuo de serina en la posición de aminoácido 445 de la SEQ ID NO: 3. Se ha demostrado que la presencia del residuo de serina en la posición 445 de la SEQ ID NO: 3 provee resistencia o tolerancia a un herbicida inhibidor de HPPD en una planta.

15 La tolerancia a los inhibidores de AHAS es el resultado de una mutación que conduce a una sustitución de alanina por tirosina en la posición 93 de la subunidad grande de AHAS de sorgo.

20 Estas dos mutaciones también pueden introducirse o inducirse en otros cultivos para dar cultivos que sean tolerantes tanto a los herbicidas inhibidores de HPPD como a los herbicidas inhibidores de AHAS. La sustitución de aminoácido es en una posición equivalente. La tolerancia o resistencia combinada a los herbicidas inhibidores de HPPD y los herbicidas inhibidores de AHAS se llamará en la presente "doble resistencia".

DESCRIPCIÓN BREVE DE LAS FIGURAS

25 En la Figura 1 se ilustra la materia seca de cada genotipo después del

tratamiento con herbicidas.

En la Figura 2 se ilustran los ensayos de fototoxicidad de la tolerancia a herbicidas simple (A) y doble (B).

DESCRIPCIÓN DETALLADA

5 Tal como se usan en la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, los términos en singular y las formas singulares "uno/una", "un" y "el /la", por ejemplo, incluyen a sus referentes en plural a menos que el contenido indique claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "planta", "la planta" o "una planta" también incluye una pluralidad de plantas; además,
10 dependiendo del contexto, el uso del término "planta" también puede incluir la progenie genéticamente similar o idéntica de esas plantas; el uso del término "un ácido nucleico" opcionalmente incluye, como cuestión práctica, muchas copias de esa molécula de ácido nucleico; de manera similar, el término "sonda" opcionalmente y típicamente abarca muchas moléculas de sonda similares o
15 idénticas. Ciertas definiciones utilizadas en las reivindicaciones y descripción se definen a continuación para proveer una comprensión clara y consistente de la memoria descriptiva y las reivindicaciones, incluyendo el alcance que se les dará a dichos términos.

Un "alelo" se refiere a un código genético en cualquiera de una o más
20 formas alternativas de un gen que se relaciona con un rasgo o característica. En una célula u organismo diploide, los dos alelos de un gen determinado ocupan loci correspondientes en un par de cromosomas homólogos. Con respecto a un marcador SNP, un alelo se refiere a la base de nucleótido específica presente en el locus SNP en esa planta individual.

25 Como se usa en la presente, "germoplasma" significa el material genético

que comprende la base física de las cualidades hereditarias de un organismo. El germoplasma incluye semillas y tejido vivo a partir del cual se pueden cultivar nuevas plantas; o, otra parte de planta, tal como como una hoja, tallo, polen, o células, que pueden cultivarse para formar una planta entera. Los recursos del
5 germoplasma proveen fuentes de rasgos genéticos utilizados por los fitomejoradores para mejorar los cultivares comerciales.

Como se usa en la presente, "planta" se refiere a una planta entera o un cultivo celular o tisular derivado de una planta, que comprende cualquiera de: plantas enteras, componentes u órganos de plantas (por ejemplo, hojas, tallos,
10 raíces, etc.), tejidos vegetales, semillas, células vegetales y/o la progenie de los mismos. Una planta de la progenie puede ser de cualquier generación filial, por ejemplo, F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, etc. Una célula vegetal es una célula biológica de una planta, extraída de una planta u obtenida mediante cultivo de una célula extraída de una planta. Las partes de plantas incluyen partes cosechables y
15 partes útiles para la propagación de plantas de la progenie. Las partes de plantas útiles para la propagación incluyen, por ejemplo y sin limitación: semilla; fruta; un corte; una plántula; un tubérculo; hoja, tallo, brote, raíz, punta de raíz, antera, semilla, grano, embrión, polen, óvulo, flor, portainjerto, cotiledón, vaina, cultivo tisular, cultivo celular o cualquier material biológico derivado de la planta como
20 ácido nucleico, y similares. Una parte cosechable de una planta puede ser cualquier parte útil de una planta, incluyendo, por ejemplo y sin limitación: flor; polen; plántula; tubérculo; hoja; tallo; fruta; semilla y raíz. Las células vegetales, tal como se utilizan en la presente, incluyen a protoplastos y protoplastos con pared celular. Una célula vegetal puede ser un protoplasto, una célula productora
25 de gametos, o una célula o conjunto de células que pueden regenerar una planta

completa tal como semillas de plantas, cultivos en suspensión de tejidos vegetales, tejidos vegetales, explantes de tejidos vegetales, embriones de plantas, partes de plantas, tejido meristemático, tejido calloso, hoja, raíz, brote, gametofito, esporofito, polen, microesporas y similares.

5 Como se usa en la presente, "herbicidas" son los productos químicos que se utilizan para matar plantas no deseadas. Aquí los herbicidas incluyen herbicidas que tienen un modo de acción de un inhibidor de HPPD y/o AHAS. La referencia a un herbicida puede incluir uno o más herbicidas. Los herbicidas incluyen, entre otros, a título enunciativo no taxativo, tolpiralato, fenquintotrina, mesotriona, 10 tefurlitriona, isoxaflutol, pirasulfotol, benzobiciclón, benzofenap, pirazolinato, pirazoxifeno, biciclopirona, sulcotriona, tembotriona, topamezona.

"Identidad de secuencia" es el porcentaje de nucleótidos o aminoácidos que son idénticos entre dos secuencias después del alineamiento adecuado de esas secuencias. El experto en la materia sabe cómo alinear secuencias. Para obtener 15 el resultado más significativo, se debe obtener el mejor alineamiento posible que provea la puntuación de identidad de secuencia más alta. Las secuencias se comparan a lo largo de la secuencia más corta de la evaluación. El "porcentaje de identidad de secuencia" se determina comparando dos secuencias óptimamente alineadas en una ventana de comparación, donde la parte de la secuencia de 20 polinucleótidos en la ventana de comparación puede comprender adiciones o eliminaciones (es decir, brechas) en comparación con la secuencia de referencia (que no comprende adiciones ni eliminaciones) para una alineación óptima de las dos secuencias. El porcentaje se calcula determinando el número de posiciones en las que aparece una base de ácido nucleico o residuo de aminoácido idéntico 25 en ambas secuencias para dar el número de posiciones coincidentes, dividiendo

el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la ventana de comparación y multiplicando el resultado por 100 para obtener el porcentaje de identidad de secuencia.

El término "identidad sustancial" de secuencias de polinucleótidos significa
5 que un polinucleótido comprende una secuencia que tiene por lo menos un 25% de identidad de secuencia con respecto a una secuencia de referencia designada. Como alternativa, el porcentaje de identidad puede ser cualquier número entero entre 25% y 100%, por ejemplo, por lo menos: 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, o 99% en
10 comparación con una secuencia de referencia usando los programas que se describen en la presente; preferentemente BLAST usando los parámetros estándar, como se describe a continuación. Un experto reconocerá que los valores de porcentaje de identidad anteriores se pueden ajustar apropiadamente para determinar la identidad correspondiente de las proteínas codificadas por
15 dos secuencias de nucleótidos teniendo en cuenta la degeneración de codones, la similitud de aminoácidos, el posicionamiento del marco de lectura y similares. El término "codón alternativo" se refiere a las secuencias que comprenden diferentes codones que codifican para una misma mutación; tales como, cualquiera o todas las secuencias de nucleótidos que pueden producir la
20 secuencia de aminoácidos 95% similar, más preferiblemente 99% a la SEQ ID NO: 1 siempre que la secuencia de aminoácidos haya mantenido la mutación. Los codones alternativos para la mutación de la invención se muestran en las SEQ ID NOs: 12 a 16.

Una "planta de tipo salvaje", como se denomina en la presente, es una
25 planta que no comprende ninguna mutación de la invención, o que moriría o vería

afectada su viabilidad de manera significativa por un herbicida inhibidor de HPPD y/o AHAS.

En una forma de realización preferida, la mutación que conduce a la tolerancia a los inhibidores de HPPD es una mutación puntual en el codón del aminoácido de la posición 445 de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 de TGG (triptófano) a TCG (serina).

En una forma de realización, la mutación es cualquier mutación por sustitución en la posición 445 de la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, donde el triptófano se reemplaza por serina. El codón de tipo salvaje TGG que codifica para triptófano también se puede reemplazar por otro codón que codifica para el aminoácido serina que se selecciona entre TCT, TCC, TCA, AGT, AGC. La mutación como se define en la presente puede denominarse mutación de la invención o mutación ADV-HT2.

La mutación puede estar presente en un gen localizado en el cromosoma 3. La mutación puede estar codificada por una secuencia de ácido nucleico presente en una región del cromosoma 3, que codifica para la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 que comprende un residuo de serina en la posición 445. En una forma de realización, una secuencia de ácido nucleico que codifica para la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3 que comprende un residuo de serina en la posición 445 puede ser la secuencia de la SEQ ID NO: 1 o puede comprender una secuencia que codifica para una secuencia sustancialmente idéntica a la misma y que tiene un residuo de serina en una posición que corresponde a la posición de aminoácido 445 de la SEQ ID NO: 3; dicha secuencia sustancialmente idéntica puede tener uno de los Codones Alternativos 1-5, como se describe en la SEQ ID NO: 12 a 16, en el alelo que codifica para el residuo de

serina en la posición 445.

Las plantas de la invención resistentes o tolerantes a los herbicidas inhibidores de HPPD por lo tanto comprenden una serina en la posición 445 en una secuencia de aminoácidos codificada por una secuencia de ácido nucleico en el cromosoma 3. La secuencia de ácido nucleico puede comprender la secuencia de ácido nucleico de la SEQ ID NO: 1 o puede ser sustancialmente idéntica a la secuencia de la SEQ ID NO. 1, y/o puede tener codones alternativos que codifican para un residuo de serina en la posición de aminoácido 445 de la SEQ ID NO: 3. En particular, las plantas, partes de planta, tejidos vegetales y semillas vegetales de la invención tienen una mayor resistencia a los herbicidas inhibidores de HPPD en comparación con una planta de tipo salvaje. Una planta de la invención resistente o tolerante a los herbicidas puede comprender una mutación en el cromosoma 3, que comprende una sustitución de G por C en la posición 51 de la SEQ ID NO: 8.

El gen mutado AHAS comprende la secuencia de nucleótidos que se establece en la SEQ ID NO: 17 que codifica para el polipéptido o la subunidad grande de AHAS que tiene la secuencia que se establece en la SEQ ID NO: 18. La secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18 que corresponde a la subunidad grande de AHAS difiere en un aminoácido con respecto a la secuencia de aminoácidos de tipo salvaje de la subunidad grande de AHAS de sorgo (SEQ ID NO: 19), en donde dicha diferencia sustitución de alanina a tirosina en la posición 93 de la subunidad grande de AHAS de sorgo, o en las posiciones equivalentes en otros cultivos.

Las plantas de la invención son tolerantes o resistentes a los herbicidas inhibidores de HPPD que se seleccionan entre los herbicidas de benzoilpirazol,

herbicidas de benzoilciclohexanodiona, herbicidas de aroilciclohexanodiona, herbicidas de oxazol, herbicidas de ciclopropilisoxazol, pirazolona, compuestos carbobicíclicos, compuestos de cetonas cíclicas, herbicidas de benzoilpirazol, herbicidas de pirazol, herbicidas de tricetona, herbicidas de aroilciclohexanodiona, y en particular de tolpirato, fenquitriona, mesotriona, tefuritriona, isoxaflutol, pirasulfotol, benzobiciclón, benzofenap, pirazolinato, pirazoxifeno, biciclopirona, sulcotriona, tembotriona, topamezona o una combinación de los mismos.

La mutación que da como resultado las plantas que muestran una mejor resistencia a los herbicidas contra la enzima AHAS, tales como las imidazolinonas y las sulfonilureas, en comparación con las plantas de tipo salvaje puede ser el resultado de por lo menos un polinucleótido en el genoma de la planta que codifica para una subunidad grande de AHAS que tiene una sustitución de alanina a tirosina en la posición 93 de la subunidad grande de AHAS de sorgo o una posición equivalente en otros cultivos.

La planta de sorgo puede comprender en su genoma una, dos, tres o más copias de un polinucleótido que codifica para una subunidad grande de AHAS de sorgo mutada o un polipéptido de AHAS de sorgo de la invención. En este contexto, la planta de sorgo puede ser tolerante a cualquier herbicida capaz de inhibir la actividad de la enzima AHAS, es decir, la planta de sorgo puede ser tolerante a los herbicidas del tipo de las imidazolinonas, tales como, sin limitación, imazetapir, imazapir, y imazapic o a los herbicidas del grupo de las sulfonilureas, tales como, sin limitación, clorosulfurón, metsulfurón metilo, sulfometurón metilo, clorimurón etilo, tiofensulfurón metilo, tribenurón metilo, bensulfurón metilo, nicosulfurón, etametsulfurón metilo, rimsulfurón, triflursulfurón metilo, triasulfurón, primisulfurón metilo, cinosulfurón, amidosulfurón, fluzasulfurón, imazosulfurón,

pirazosulfurón etilo y halosulfurón.

En una forma de realización preferida, la planta de sorgo resistente a los herbicidas inhibidores de HPPD comprende el rasgo de resistencia a herbicida como se halla en las semillas depositadas bajo el número de acceso 43919, depositadas bajo el Tratado de Budapest el 10 de diciembre de 2021 en NCIMB. Las semillas depositadas comprenden la mutación que conduce a la resistencia a los herbicidas inhibidores de HPPD y por lo tanto son una fuente para la tolerancia a los herbicidas inhibidores de HPPD en las plantas de la invención que muestran doble resistencia. El germoplasma de las plantas de sorgo tolerantes a los herbicidas inhibidores de HPPD de depósito NCIMB 43919 por lo tanto es útil para introducir el rasgo de tolerancia por introgresión en otras variedades de sorgo que ya tienen la mutación que conduce a la tolerancia a los herbicidas inhibidores de HPPD.

En una forma de realización preferida, el gen de AHAS mutante de la planta de sorgo de la invención que provee la resistencia a los herbicidas que pertenecen al grupo de las imidazolinonas o las sulfonilureas es como se halla en la línea de sorgo designada VT11-11331-BK cuyas semillas se depositaron con el número de acceso a NCIMB No. NCIMB 41870, el 12 de octubre de 2011, bajo los términos del Tratado de Budapest. Las semillas depositadas comprenden la mutación en la subunidad grande de AHAS y por lo tanto son una fuente para la tolerancia a los herbicidas inhibidores de AHAS en las plantas de la invención que muestran doble resistencia. El germoplasma de las plantas de sorgo tolerantes a los herbicidas inhibidores de AHAS de depósito NCIMB 41870 es por lo tanto útil para introducir el rasgo de tolerancia por introgresión en otras variedades de sorgo que ya tienen la mutación que conduce a la tolerancia a los herbicidas

inhibidores de HPPD.

En una forma de realización se provee un genoma vegetal modificado donde el genoma comprende un primer alelo del gen de la subunidad grande de acetohidroxiácido sintasa (AHASL) y un segundo alelo de un gen de
5 hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), donde dicho primer alelo codifica para una proteína AHASL que comprende una sustitución de aminoácido A93Y y dicho segundo alelo codifica para una proteína HPPD que comprende una sustitución de aminoácido W445S.

Las semillas de las plantas de sorgo que tienen ambas mutaciones se
10 depositaron en NCIMB (Wellheads Place, Dyce, Aberdeen, AB21 7GB Escocia) bajo el Tratado de Budapest el 3 de mayo de 2023 bajo el número de acceso NCIMB 44143. Preferiblemente, la invención se relaciona con plantas de sorgo que tienen los rasgos de resistencia a herbicidas de los depósitos NCIMB 43919 y NCIMB 41870, y en particular la doble resistencia como se halla en las semillas
15 y las plantas de depósito NCIMB 44143.

"Tolerancia" y "resistencia" se usan como sinónimos en esta solicitud. Ambos términos significan que las plantas que muestran dicha tolerancia o resistencia a los herbicidas son capaces de acumular esencialmente la misma o mayor biomasa que las plantas que no tienen las dos mutaciones ante el
20 tratamiento con los dos herbicidas. Más específicamente, los términos "tolerante a herbicidas" y "resistente a herbicidas" se usan como sinónimos y tienen un significado equivalente y un alcance equivalente. De la misma forma, los términos "tolerancia a herbicidas" y "resistencia a herbicidas" se usan como sinónimos y tienen un significado equivalente y un alcance equivalente. De la
25 misma manera, los términos "resistente a HPPD" o "resistente a AHAS" y

"resistencia a HPPD o resistencia a AHAS" se usan como sinónimos y tienen un significado equivalente y un alcance equivalente a los términos "tolerante a HPPD" o "tolerante a AHAS " y "tolerancia a HPPD " o "tolerancia a HPPD", respectivamente. "Resistencia" o "resistente" o "tolerancia" o "tolerante" 5 significan que una planta es capaz de sobrevivir a los efectos del herbicida, y mostrar un mayor crecimiento y sobrevivencia en comparación con una variedad control que se sabe que es susceptible a un herbicida inhibidor de HPPD y/o inhibidor de HAS. "Susceptible" significa que el herbicida en una cantidad eficaz tiene uno o más de los siguientes efectos: clorosis, necrosis, retardo del 10 crecimiento y muerte de la planta. Dependiendo de la susceptibilidad de una planta, esta puede tener una puntuación de entre 1 y 9, donde 1 = clorosis y necrosis severas; 3 = necrosis y retardo del crecimiento severos; 5 = necrosis y retardo del crecimiento; 7 = necrosis leve; 9 = sin líneas dañadas.

En una forma de realización, la acumulación de biomasa de la planta con 15 las dos mutaciones es mayor que para una planta sin las mutaciones cuando no se rocía con los herbicidas. En otra forma de realización, la acumulación de biomasa de la planta cuando se rocía con el herbicida es aún mayor que para una planta que porta las dos mutaciones cuando no se la rocía. Esto significa que una o ambas mutaciones tienen un efecto adicional más allá de conferir resistencia 20 o tolerancia al herbicida.

La invención además se relaciona con plantas de otros cultivos que tienen una combinación de las resistencias a herbicidas descritas como resultado de las mutaciones que corresponden a las mutaciones que conducen a la doble resistencia como se halla en NCIMB 44143. La presente invención además 25 incluye la progenie y las semillas de las plantas que comprenden las dos

mutaciones de la invención en su ADN.

La presente invención también provee un método para producir una planta de la invención que es resistente o tolerante a dos herbicidas con diferentes modos de acción, en particular herbicidas inhibidores de HPPD y herbicidas
5 inhibidores de AHAS. Un método para producir una planta de la invención que es resistente o tolerante a los dos herbicidas con diferentes modos de acción puede comprender introducir las dos mutaciones de la invención en una planta.

La presente invención provee un método para producir una planta que comprende resistencia o tolerancia a un herbicida inhibidor de HPPD y un
10 herbicida inhibidor de AHAS, donde el método comprende la polinización cruzada de una primera planta que comprende la mutación que conduce a la sustitución Trp>Ser en la posición de aminoácido 445 de la SEQ ID NO: 3 con una segunda planta que comprende la mutación que conduce a la sustitución Ala>Tyr en la posición 93 de la SEQ ID NO: 18 de manera de producir semillas
15 híbridas. En una forma de realización alternativa, la primera mutación se introgressa primero en el fondo genético deseado y subsiguientemente se introgressa la otra mutación.

La invención además se relaciona con un método para producir una planta híbrida que tiene la doble resistencia de la invención. Adecuadamente, tanto la
20 primera como la segunda planta parental en este método comprenden en su genoma por lo menos una copia de una mutación de la SEQ ID NO: 1 o cualquier Codón Alternativo que codifica para un residuo de serina en la posición de aminoácido 445 de la SEQ ID NO: 3 y una mutación que conduce a la sustitución Ala93Tyr en la subunidad grande de AHAS. Preferiblemente, tanto la primera
25 como la segunda planta parental son homocigotas para las dos mutaciones de

manera que el híbrido comprende ambas mutaciones en forma homocigota. Por lo tanto, las semillas obtenidas se pueden sembrar y cultivar a una planta híbrida, en particular una planta híbrida F1.

La presente invención además provee un método para detectar los alelos o
5 los genes que comprenden las mutaciones de la invención en una planta. Dicho método de detección diagnóstico por ejemplo puede implicar una amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de regiones específicas de la planta localizadas en el cromosoma 3 usando cebadores diseñados para alinearse con sitios específicos dentro del gen de interés, por ejemplo en sitios que están en la
10 vecindad de la mutación y la amplificación por PCR del gen que codifica para la subunidad grande de AHAS. Las regiones que se pueden detectar incluyen un alelo mutante del alelo ADV-HT2 como se describe en la presente, y/o una mutación en el cromosoma 3, que comprende una sustitución G a C en la posición 51 de la SEQ ID NO: 8 y la mutación que conduce a la sustitución Ala93Tyr en la
15 subunidad grande de AHAS. Los cebadores y los kits para la detección de dicha mutación también se proveen.

La invención también se relaciona con un marcador genético que es indicativo de un fenotipo asociado con la tolerancia o la resistencia a un herbicida inhibidor de HPPD y un marcador genético que es indicativo de un fenotipo
20 asociado con la tolerancia o la resistencia a un herbicida inhibidor de AHAS. Los marcadores genéticos pueden ser las mutaciones de la invención, o marcadores que están en desequilibrio de ligamiento con las mutaciones de la invención. Una mutación que está en desequilibrio de ligamiento con una mutación ADV-HT2 de la invención es la presencia de "C" en la posición 51 de la SEQ ID NO: 8, que es
25 indicativo de una resistencia a herbicidas de tipo HPPD.

La presente invención también provee un método para controlar las malezas que crecen en la vecindad de una planta. Dicha planta puede comprender las dos mutaciones de la invención y mostrar resistencia o tolerancia a un herbicida inhibidor de HPPD y un herbicida inhibidor de AHAS. Una maleza a controlar de esta manera incluye, a título enunciativo no taxativo, hierbas, tales como *Echinochloa colona*, *Echinochloa crus-galli*, *Digitaria sanguinalis*, *Eleusine indica*; malezas de hoja ancha, tales como *Anoda cristata*, *Ipomoea purpurea*, *Amaranthus quitensis*, *Amaranthus hybridus*, *Portulaca oleracea*, *Raphanus sativus*, *Brassica campestris*, *Chenopodium album*, *Tagetes minuta*, *Datura ferox* y malezas parasíticas.

Un método para controlar las malezas que crecen en la vecindad de una planta puede comprender la aplicación de una cantidad eficaz de un herbicida inhibidor de HPPD y un herbicida inhibidor de AHAS a las malezas y a la planta, la que adecuadamente es una planta que es tanto tolerante como resistente a un herbicida inhibidor de HPPD y un herbicida inhibidor de AHAS, y comprende las dos mutaciones de la invención.

La presente invención además provee un método para la selección de una planta tolerante o resistente que comprende las dos mutaciones de la invención. Dicho método puede comprender aplicar una cantidad eficaz de herbicida inhibidor de HPPD y herbicida inhibidor de AHAS a una o más plantas, y seleccionar la planta que sobrevive a la aplicación de dichos herbicidas.

La invención también implica a uno o más QTL que mapean en una región cromosómica nueva y a marcadores genéticos que son indicativos de fenotipos asociados con la tolerancia a herbicidas inhibidores de HPPD y la tolerancia a herbicidas inhibidores de AHAS. Un marcador genético puede comprender las

mutaciones de la invención, o un marcador que está ligado a las mutaciones de la invención. Un marcador que está ligado a un marcador de la invención puede comprender una mutación en el cromosoma 3, que comprende una sustitución de G a C en la posición 51 de la SEQ ID NO: 8. Otro aspecto de la invención es

5 proveer uno o más marcadores moleculares que se pueden usar para identificar y detectar la mutación en el cromosoma 3 de una planta de sorgo que muestra resistencia o tolerancia a herbicidas inhibidores de HPPD y resistencia o tolerancia a herbicidas inhibidores de AHAS. Un marcador adecuado puede ser una mutación en el cromosoma 3, que comprende una sustitución de G a C en

10 la posición 51 de la SEQ ID NO: 8, que está en desequilibrio de ligamiento con el alelo ADV-HT2 de la invención. Un marcador adecuado para detectar la mutación en el cromosoma 3, puede comprender los codones alternativos que están en desequilibrio de ligamiento con el alelo ADV-HT2 de la invención.

Otro aspecto de la invención es proveer un método y kits para detectar las

15 dos mutaciones de la invención o alelos en desequilibrio de ligamiento con las mismas. Un método puede detectar una mutación de la SEQ ID NO: 1 o una secuencia sustancialmente idéntica a la misma, donde la mutación conduce a un codón que codifica para un residuo de serina en la posición 445 de la SEQ ID NO: 3. La mutación puede ser un Codón Alternativo que codifica para un residuo

20 de serina en la posición 445 de la SEQ ID NO: 3. La mutación puede ser una mutación de la invención como se definió anteriormente. Un método o kit puede detectar una mutación en el cromosoma 3, que comprende una sustitución de G a C en la posición 51 de la SEQ ID NO: 8. Además, el método o kit detecta la mutación que conduce a la sustitución Ala93Tyr en la subunidad grande de AHAS

25 de sorgo. El método y el kit también pueden detectar las dos mutaciones en las

correspondientes posiciones en otros cultivos.

Otro aspecto de la invención es un método para reproducir una planta mutante nueva para proveer un germoplasma híbrido que confiere resistencia o tolerancia a la inhibición por uno o más herbicidas inhibidores de HPPD y la
5 inhibición por uno o más herbicidas inhibidores de AHAS a niveles de dicho uno o más herbicidas inhibidores de HPPD y herbicidas inhibidores de AHAS que normalmente inhibirían el crecimiento de un híbrido.

Otro aspecto de la invención es un método para usar un herbicida inhibidor de HPPD en combinación con un herbicida inhibidor de AHAS para matar o
10 reducir la viabilidad de una planta indeseada en un lote sembrado con una planta de la invención.

La planta de la invención puede ser transgénica o no transgénica y pertenecer a cualquier especie vegetal adecuada para su uso agronómico, o para otros usos, tales como ornamentales. La planta es en particular una planta
15 de sorgo.

Además se provee una semilla de sorgo, que comprende en su genoma por lo menos dos polinucleótidos, donde un polinucleótido codifica para un polipéptido que tiene una sustitución de triptófano a serina en la posición 445 de la SEQ ID NO: 3 y un polinucleótido que codifica para un polipéptido que tiene
20 una sustitución de alanina a tirosina en la posición 93 de la subunidad grande de la proteína AHAS de sorgo. La semilla, ante su germinación, produce una planta que tiene mayor resistencia a uno o más herbicidas de los herbicidas inhibidores de HPPD y los herbicidas inhibidores de AHAS en comparación con las plantas de tipo salvaje de sorgo. En una forma de realización preferida dicha semilla es
25 la semilla depositada como NCIMB 44143.

Además se provee un método para identificar una planta resistente a herbicidas inhibidores de HPPD e inhibidores de AHAS mediante los pasos de: a) proveer una muestra de ácido nucleico de una planta de sorgo; b) amplificar una región que corresponde a la SEQ ID NO: 1 y una región que corresponde a la
5 SEQ ID NO: 17 de una planta de sorgo presente en dicha muestra de ácido nucleico; c) identificar una planta de sorgo resistente a herbicidas de los herbicidas inhibidores de HPPD y herbicidas inhibidores de AHAS, en particular del grupo de las imidazolinonas, en base a la presencia de por lo menos una mutación en dicha muestra de ácido nucleico amplificada que confiere
10 resistencia los herbicidas inhibidores de HPPD y por lo menos una mutación que confiere resistencia a herbicidas de imidazolinona.

Además se provee un método para identificar un genoma vegetal modificado que comprende la resistencia a herbicidas inhibidores de HPPD e inhibidores de AHAS, donde el genoma comprende un primer alelo de un gen de
15 la subunidad grande de acetohidroxiácido sintasa (AHASL) y un segundo alelo de un gen de hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD), donde dicho primer alelo codifica para una proteína AHASL que comprende una sustitución de aminoácido A93Y y dicho segundo alelo codifica para una proteína HPPD que comprende una sustitución de aminoácido W445S mediante los pasos de:

- 20 a) proveer una muestra de ácido nucleico de una planta de sorgo;
- b) amplificar una región que corresponde a la SEQ ID NO: 1 y una región que corresponde a la SEQ ID NO: 17 de una planta de sorgo presente en dicha muestra de ácido nucleico;
- c) identificar una planta de sorgo resistente a herbicidas de los
25 herbicidas inhibidores de HPPD y herbicidas inhibidores de AHAS, en particular

del grupo de las imidazolinonas, en base a la presencia de por lo menos una mutación en dicha muestra de ácido nucleico amplificada que confiere resistencia los herbicidas inhibidores de HPPD y por lo menos una mutación que confiere resistencia a herbicidas de imidazolinona.

5 En una forma de realización preferida, se seleccionan plantas que comprenden por lo menos una mutación de la SEQ ID NO: 1 tal como la mutación en NCIMB 43919 y por lo menos una mutación en AHAS (SEQ ID NO: 17) tal como la mutación en NCI MB 41870, donde dicha por lo menos una mutación de la SEQ ID NO: 1 codifica para un polipéptido que comprende una sustitución Trp445Ser
10 de la SEQ ID NO: 3 en comparación con la SEQ ID NO: 2 y por lo menos una mutación del gen de AHAS codifica para un polipéptido o subunidad grande de AHAS (SEQ ID NO: 18) que comprende una sustitución Ala93Tyr en comparación con la secuencia de aminoácidos de AHAS de sorgo de tipo salvaje (SEQ ID NO: 19).

15 La planta puede ser una monocotiledónea o una dicotiledónea. Preferiblemente la planta es una planta de interés agronómico, tal como sorgo, arroz, maíz, soja, trigo, avena, cebada, centeno, lino, algodón, calla de azúcar, girasol, etc. La planta preferiblemente es una planta de sorgo.

 El método de identificación puede emplear una mutación puntual o
20 marcador SNP específico.

 La presente invención también provee un casete de expresión, que comprende por lo menos un polinucleótido que comprende la mutación que conduce a la tolerancia o la resistencia a los herbicidas inhibidores de HPPD y por lo menos un polinucleótido que comprende la mutación que conduce a la
25 tolerancia o la resistencia a los herbicidas inhibidores de AHAS. El por lo menos

un polinucleótido que comprende la mutación que conduce a la tolerancia o la resistencia a los herbicidas inhibidores de HPPD puede ser el alelo ADV-HT2 que se encuentra en una región del cromosoma 3. Una secuencia de ácido nucleico que codifica para el alelo mutante se provee en la presente como la SEQ ID NO: 1 y las SEQ ID NO: 12 a 16. Estas secuencias codifican para una proteína que comprende una sustitución de triptófano a serina en la posición 445 de la SEQ ID NO: 3. Una secuencia no mutada (también llamada secuencia de tipo salvaje) que codifica para una proteína que tiene un aminoácido triptófano en una posición que corresponde a la posición 445 está codificada por la SEQ ID NO: 2 o 10.

Preferiblemente, la mutación en el alelo ADV-HT2 mutante se localiza en la posición 5283 de la SEQ ID NO: 1 y puede codificar para un polipéptido de la SEQ ID NO: 2 en forma de tipo salvaje o una secuencia del polipéptido de la SEQ ID NO: 3 en la forma mutada. El alelo ADV-HT2 de la invención puede comprender uno cualquiera de los codones alternativos como se define en la presente, cada uno de los cuales codifica para un residuo de serina. Los codones alternativos que codifican para un residuo de serina en la posición 445 de una proteína de la SEQ ID NO: 3 se muestran en la SEQ ID NO: 12 a 16.

El por lo menos un polinucleótido que comprende la mutación que conduce a la tolerancia o la resistencia a los herbicidas inhibidores de AHAS tiene la siguiente secuencia de nucleótidos: SEQ ID NO: 17, una secuencia de nucleótidos que codifica para el polipéptido que se establece en la SEQ ID NO: 18, una secuencia de nucleótidos que codifica para un polipéptido que tiene por lo menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, donde el polipéptido presenta actividad de AHAS resistente a herbicida; una secuencia de nucleótidos que tiene por lo menos 85% de identidad

con la secuencia de nucleótidos que se establece en la SEQ ID NO: 17, donde la secuencia de nucleótidos codifica para un polipéptido que comprende una subunidad grande de AHAS y presenta actividad de AHAS resistente a herbicida, o secuencias complementarias de las mismas. Preferiblemente, el polinucleótido
5 codifica para un polipéptido de la subunidad grande de AHAS que comprende una sustitución Ala93Tyr; donde dichas secuencias están conectadas en forma operativa a una secuencia de nucleótidos para conducir la expresión, por ejemplo uno o más promotores, potenciadores u otras secuencias reguladoras conocidas. El promotor puede ser un promotor para expresión en plantas, tejidos
10 vegetales, cloroplastos, células animales, bacterianas, fúngicas o de levaduras.

La presente invención provee un vector de transformación que comprende por lo menos dos polinucleótidos, donde el primer polinucleótido tiene una de las siguientes secuencias de nucleótidos: a1) la secuencia de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1, b1) una secuencia que codifica para una secuencia sustancialmente
15 idéntica a la SEQ ID NO: 1 y que tiene un codón que codifica para un residuo de serina en una posición que corresponde a la posición de aminoácido 445 de la SEQ ID NO: 3, c1) una secuencia de nucleótidos que codifica para el polipéptido que se establece en la SEQ ID NO: 3, d1) una secuencia de nucleótidos que codifica para un polipéptido que tiene por lo menos 95% de identidad de
20 secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3, donde el polipéptido presenta resistencia o tolerancia a un herbicida inhibidor de HPPD, e1) la secuencia de nucleótidos de acuerdo con a) a d) pero que tiene uno de los Codones Alternativos 1 a 5 en el alelo que codifica para el residuo de serina en la posición 445, f1) una secuencia de nucleótidos que tiene por lo menos 85%
25 de identidad con la secuencia de nucleótidos que se establece en la SEQ ID NO:

1, g1) una secuencia de nucleótidos completamente complementaria a una de las secuencias de nucleótidos a1) a f1); y el segundo polinucleótido que tiene una de las siguientes secuencias de nucleótidos: a2) la secuencia de nucleótidos que se establece en la SEQ ID NO: 17, b2) una secuencia de nucleótidos que
5 codifica para el polipéptido que se establece en la SEQ ID NO: 18, c2) una secuencia de nucleótidos que codifica para un polipéptido que tiene por lo menos 95% de identidad de secuencia con la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18, donde el polipéptido presenta actividad de AHAS resistente a herbicida, d2) una secuencia de nucleótidos que tiene por lo menos 85% de identidad con
10 la secuencia de nucleótidos que se establece en la SEQ ID NO: 17, donde la secuencia de nucleótidos codifica para un polipéptido que comprende una subunidad grande de AHAS y presenta actividad de AHAS resistente a herbicida, e2) una secuencia de nucleótidos completamente complementaria a una de las secuencias de nucleótidos a2) a d2), que además comprende secuencias
15 conectadas en forma operativa que dirigen la expresión de la secuencia de nucleótidos y marcadores de selección. El vector se 'puede usar para transformar células bacterianas, fúngicas, de levadura, vegetales o animales, que se adaptan para cada caso particular.

La presente invención provee una planta transformada que comprende,
20 integrado en su genoma, por lo menos un promotor conectado en forma operativa a uno de los polinucleótidos que se describieron previamente y por lo menos un promotor conectado en forma operativa al otro polinucleótido que se describió previamente. El promotor es un promotor que dirige la expresión de polipéptidos en las plantas, por ejemplo en tejidos vegetales o cloroplastos. Las
25 plantas transformadas pueden ser monocotiledóneas, por ejemplo sorgo, maíz,

arroz, o trigo; o dicotiledóneas, por ejemplo girasol, Arabidopsis, tabaco, o colza, y son en particular plantas de sorgo. La planta transformada es resistente a los herbicidas inhibidores de HPPD y los herbicidas inhibidores de AHAS en comparación con la misma planta de tipo salvaje cuando se aplican cantidades
5 iguales de dichos herbicidas a ambas.

La invención también provee un método para obtener una planta resistente a herbicidas o una planta que tiene mayor resistencia a un herbicida, donde dicho método comprende los pasos de i) transformar una célula vegetal con un casete de expresión que comprende los dos polinucleótidos; ii) regenerar la célula
10 vegetal para obtener una planta resistente a herbicidas, donde dichos polinucleótidos tienen por lo menos una de las secuencias de nucleótidos que se describieron anteriormente.

La presente invención se dirige en particular a una planta que muestra mayor resistencia o tolerancia tanto a un herbicida inhibidor de HPPD, tal como
15 uno o más de tembotriona, mesotriona, biciclopirona, tolpirato, isoxaflutol y topremazona, como a un herbicida inhibidor de AHAS, en particular imidazolinonas y sulfonilureas, para mejorar el control de malezas en el lote de cultivo en comparación con una planta de tipo salvaje.

La presente invención también se dirige a el alelo y mutación novedosa y
20 distintiva designada ADV-HT2, que confiere resistencia no transgénica a dichos herbicidas inhibidores de HPPD en una planta y que codifica para un polipéptido que tiene o que comprende la SEQ ID NO: 3, en combinación con un alelo que codifica para la mutación Ala>Tyr en la proteína AHAS.

Se obtuvieron plantas tolerantes a los herbicidas inhibidores de HPPD
25 tratando semillas de sorgo endogámico (*Sorghum bicolor*) de la línea BV94-4045

(línea élite patentada por Advanta) con una solución acuosa de metanosulfonato de etilo (EMS). Las semillas tratadas fueron plantadas y autopolinizadas para avanzar en las generaciones. Se seleccionaron 895 plantas M1 y dos semillas de cada planta se sembraron en vivero, obteniendo así un total de 1790 plantas
5 M2. Se recolectó polen de ambas plantas de cada par, y se utilizó ese volumen para polinizar ambas plantas del par. Se obtuvo una cantidad de semillas M3 de cada par de los 895 pares de plantas M2 polinizadas. Con la progenie M3 se sembraron un total de 895 surcos. Se rociaron cincuenta plantas de cada surco M3 con 33,6 ml de ingrediente activo/ha de topramezona.

10 Seis plantas del surco número VT09-8800 mostraron crecimiento normal y ausencia de síntomas luego del tratamiento con herbicida y fueron consideradas resistentes al herbicida e identificadas como BVT09-8800-1, BVT09-8800-2, BVT09-8800-3, BVT09-8800-4, BVT09-8800-5, y BVT09-8800-6. Se identificó la genealogía de las plantas resistentes de los surcos y se las designó BV94-
15 4045EMS1-256-2 (en adelante ADV-HT2). Se obtuvieron plantas y semillas mutantes M7 tolerantes a herbicidas seleccionadas del mutante ADV-HT2 original, designadas como: ID de material = VT10-11924-1-BK y Código endogámico = BV10 11924, y se depositaron en la colección NCIMB con No. de acceso NCIMB 43919 bajo los términos del Tratado de Budapest.

20 La presente invención no se limita a plantas de sorgo resistentes a herbicidas mutadas con EMS. Dentro del alcance de la presente invención hay plantas, por ejemplo plantas de sorgo, obtenidas por otros métodos de mutación, por ejemplo métodos tales como CRISPR/Cas, radiación y mutágenos químicos, o por reproducción o métodos transgénicos como se describe en la presente. Las
25 plantas mutantes resistentes a herbicidas también se pueden obtener mediante

un proceso de presión selectiva sobre células cultivadas con un herbicida y selección de células resistentes para generar una planta resistente a herbicidas. Los detalles de los métodos de mutación y reproducción se pueden encontrar en "Principles of Cultivar Development" Fehr, 1993, Macmillan Publishing Company, 5 cuya divulgación se incluye en la presente como referencia.

La presente invención incluye dentro de su alcance cualquier planta (incluyendo parte de planta, tejido a semilla) que comprende la mutación ADV-HT2 como se describe en la presente, donde la mutación confiere tolerancia o resistencia a HPPD en la planta y la mutación de AHAS como se describe en la 10 presente que confiere resistencia a imidazolinonas y/o sulfonilureas. Una planta de la presente invención preferiblemente es una planta cultivada que tiene características agronómicas mejoradas que la hacen adecuada para el cultivo comercial. Convenientemente, una planta, parte de una planta, tejido o semilla como se describe en la presente puede ser una planta, parte de planta, tejido o 15 semilla de sorgo.

Una planta de la invención puede comprender un gen HPPD de tipo salvaje. El gen HPPD se localiza en el cromosoma 2 o en el cromosoma 4 de la planta de Sorghum. Una planta de la invención puede comprender un ácido nucleico que tiene por lo menos entre 85% y 99% de identidad con la SEQ ID NO: 1. De manera 20 adecuada, la secuencia de ácido nucleico codifica para una proteína de la SEQ ID NO: 3 o sustancialmente idéntica a la misma y que tiene un residuo de serina en una posición que corresponde a la posición 445 de la SEQ ID NO: 3. De manera adecuada, el ácido nucleico comprende una mutación como se define en la presente, que codifica para un residuo de serina en la posición que corresponde 25 a la posición 445 de la SEQ ID NO: 3. Una planta de la invención puede codificar

para una secuencia de proteína que tiene por lo menos entre 85% y 99% de identidad con la SEQ ID NO: 3 y que comprende un residuo de serina en la posición 445 de la SEQ ID NO: 3. Más preferiblemente, el ácido nucleico presente en la planta posee por lo menos 95% de identidad con la SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 9 o SEQ ID NO: 11 a 16 y codifica para una proteína que tiene por lo menos 95% de identidad con la SEQ ID NO: 3, y que comprende un residuo de serina en la posición 445 de la SEQ ID NO: 3.

Una planta de la invención puede comprender cualquiera de los siguientes codones en la secuencia de ácido nucleico en el cromosoma 3, que codifica para una proteína de la SEQ ID NO: 3 o una proteína sustancialmente idéntica a la misma: TCG, TCT, TCC, TCA, AGC, o AGT. Estos codones alternativos codifican cada uno para un residuo de serina. Una planta de la invención comprende una sustitución de triptófano a serina en la posición 445 de la secuencia de proteína de la SEQ ID NO: 3. Una planta de la invención puede comprender una secuencia de ácido nucleico que codifica para dicha proteína. Además de la secuencia de nucleótidos descrita anteriormente, la planta tiene una secuencia de nucleótidos que codifica para un polipéptido modificado de la subunidad grande de AHAS.

Una planta de la invención se puede usar en un método para reproducir plantas. Las dos mutaciones de la invención se pueden introducir desde otra planta que comprende una o ambas mutaciones de la invención, mediante técnicas de mejoramiento comúnmente utilizadas, como el cruce y la selección, cuando las plantas son sexualmente compatibles. Como alternativa, las mutaciones de la invención se pueden introducir en una planta usando una estrategia transgénica. Las técnicas adecuadas incluyen, por ejemplo, un método

de transformación mediado por *Agrobacterium*, o un método de edición del genoma como la recombinación homóloga o el uso de un sistema CRISPR/Cas. Dicha introducción puede ser de una planta de la misma especie, que normalmente se puede cruzar fácilmente, o de una planta de una especie
5 relacionada. Las dificultades en el cruce se pueden superar mediante técnicas conocidas en el arte como el rescate de embriones o se puede aplicar cis-génesis. De manera adecuada se utilizan marcadores para seguir la incorporación del alelo o QTL, en otra planta.

En una de las formas de realización, el método para producir la planta que
10 comprende la resistencia o la tolerancia a un herbicida inhibidor de HPPD y a un herbicida de imidazolina comprende la polinización cruzada de una primera planta con una segunda planta para producir semillas híbridas. La primera y la segunda planta pueden ser plantas de sorgo. La primera y la segunda planta pueden ser de la misma especie o pueden ser especies diferentes. El método
15 puede comprender cultivar una planta que resulta del cruzamiento, permitir que la planta de frutos, y cosechar las semillas del fruto. Las semillas producidas se pueden sembrar y dejar crecer a una planta híbrida, en particular una planta híbrida de la F1. Un método para producir una planta que comprende resistencia o tolerancia a los herbicidas inhibidores de HPPD y a los herbicidas inhibidores
20 de AHAS como se describe en la presente puede comprender una o más rondas de autocruzamiento, y/o cruzamiento de una planta de la F1 para generar una generación adicional. Un método para producir una planta que comprende la resistencia o la tolerancia a los herbicidas inhibidores de HPPD y a los herbicidas inhibidores de AHAS como se describe en la presente además puede
25 comprender cruzar una planta híbrida de la F1 con una planta que tiene otra

característica deseada; y seleccionar la progenie deseada de los retro cruces. Otras características deseables pueden seleccionarse de, a título enunciativo no taxativo, el siguiente grupo: resistencia a enfermedades bacterianas, fúngicas o virales, resistencia a insectos o plagas, germinación mejorada, tamaño de planta, tipo de planta, tolerancia al estrés hídrico y al estrés térmico, y esterilidad masculina.

En una forma de realización, ambas plantas parentales del híbrido comprenden en su genoma por lo menos una copia de un alelo de la nueva mutación, como se define en la presente. Preferiblemente, ambas plantas de sorgo parentales del híbrido son homocigotas para una mutación del alelo ADV-HT2 y para el alelo modificado de AHAS como se define en la presente, en donde el ADV-HT2 codifica para un residuo de serina en una posición que corresponde a la posición 445 de la SEQ ID NO: 3. Ambas plantas parentales pueden comprender una mutación en la secuencia de ácido nucleico en el cromosoma 3 como se define en la presente. En una forma de realización, la secuencia de ácido nucleico puede comprender un residuo C en la posición 5283 de la SEQ ID NO: 1 o tiene codones alternativos que codifican para un residuo de serina en la posición 445 de la SEQ ID NO: 3. Los codones alternativos 1 a 5 se muestran en la SEQ ID NO: 12 a 16.

En una forma de realización, la primera planta de sorgo comprende en su genoma por lo menos una copia de un alelo de cada nueva mutación como se define en la presente. La primera planta de sorgo puede comprender una secuencia que codifica para una proteína de la SEQ ID NO: 3 o una proteína sustancialmente idéntica a la misma que tiene un residuo de serina en una posición que corresponde a la posición 445 de la SEQ ID NO: 3 y una secuencia

que codifica para una proteína AHAS en la SEQ ID NO: 18 o una proteína sustancialmente idéntica a la misma que tiene un residuo de tirosina en una posición que corresponde a la posición 93 de la SEQ ID NO: 18. El alelo que codifica para la proteína de la SEQ ID NO: 3 puede ser uno de los codones
5 alternativos que se definen en la presente.

En una forma de realización preferida de la invención, una planta híbrida de la invención se produce por cruzamiento de dos plantas heterocigotas u homocigotas para los alelos de las nuevas mutaciones como se definen en la presente. La planta híbrida puede comprender una secuencia de ácido nucleico
10 que codifica para una proteína de la SEQ ID NO: 3 o una proteína sustancialmente idéntica a la misma que tiene un residuo de serina en una posición que corresponde a la posición 445 de la SEQ ID NO: 3 y una secuencia que codifica para una proteína AHAS de la SEQ ID NO: 18 o una proteína sustancialmente idéntica a la misma que tiene un residuo de tirosina en una
15 posición que corresponde a la posición 93 de la SEQ ID NO: 18. El alelo de la secuencia de ácido nucleico puede ser uno de los codones alternativos que se definen en la presente. Se espera que todas las semillas híbridas y plantas híbridas resultantes crecidas de dicha semilla comprendan en sus genomas la mutación ADV-HT2 y la mutación de AHAS como se definió anteriormente. En
20 una forma de realización preferida de la invención, una planta híbrida de la invención se produce por cruzamiento dos plantas homocigotas para la mutación del alelo ADV-HT2 y del alelo AHAS como se definió anteriormente. En una forma de realización preferida de la invención, una planta híbrida de la invención se produce por cruzamiento dos plantas heterocigotas para una mutación del alelo
25 ADV-HT2 y del alelo AHAS como se definió anteriormente.

En una forma de realización preferida de la invención, una planta producida es heterocigota para una mutación del alelo ADV-HT2 y del alelo AHAS, como se definió anteriormente. Se halló que las mutaciones tienen un efecto intermedio, lo que significa que cuando un alelo modificado está presente en forma heterocigota, se encuentra resistencia a los herbicidas. En una forma de realización preferida de la invención, una planta producida es homocigota para una mutación del alelo ADV-HT2 y del alelo AHAS como se definió anteriormente. En otra forma de realización un alelo puede ser homocigota y el otro heterocigota.

Para los fines de la presente invención a menos que se indique expresamente lo contrario o que sea evidente a partir del contexto, una "planta de la progenie" es cualquier planta que descienda de por lo menos una planta de la invención e incluye, a título enunciativo no taxativo, los descendientes de primera, segunda, tercera, cuarta, quinta, sexta, séptima, octava, novena, décima de cualquier generación de la planta de la invención. Preferiblemente, dicha progenie o descendientes comprenden una mayor resistencia a por lo menos un herbicida inhibidor de HPPD en comparación con una planta de tipo salvaje y dicha progenie o descendientes además comprenden una mutación ADV-HT2 como se define en la presente, y preferiblemente como está presente en el número de acceso NCI MB 43919.

El método para producir una planta híbrida o endogámica que comprende la nueva mutación ADV-HT2 y la mutación en la proteína AHAS como se define en la presente además puede incluir cultivar una semilla que resulta de dicho cruzamiento y seleccionar por lo menos una planta de la progenie con tolerancia o resistencia a los herbicidas inhibidores de HPPD y herbicidas inhibidores de

AHAS. Esta selección se puede realizar aplicando los dos herbicidas a una población y seleccionando cualquier planta tolerante o resistente. Dicha progenie también puede seleccionarse mediante métodos genéticos, como la amplificación por PCR, para determinar la presencia de la mutación ADV-HT2 y la mutación en AHAS como se define en la presente.

La presente invención provee plantas, o partes de planta, tejidos o semillas con mayor resistencia o tolerancia a por lo menos dos herbicidas, en particular un herbicida inhibidor de HPPD y un herbicida inhibidor de AHAS. La cantidad o concentración preferida del herbicida es una "cantidad eficaz" o "concentración eficaz". Por "cantidad eficaz" y "concentración eficaz " se entiende una cantidad y concentración, respectivamente, que es suficiente para matar o inhibir el crecimiento de una planta, tejido vegetal, célula vegetal o célula huésped similar, pero que dicha cantidad no mata ni inhibe tan severamente el crecimiento de las plantas, tejidos vegetales, células vegetales y células huésped resistentes a herbicidas de la presente invención. Típicamente, la cantidad o concentración eficaz de un herbicida es una cantidad o concentración que se utiliza habitualmente en sistemas de producción agrícola para matar malezas de interés. Dicha cantidad es conocida por los expertos en la materia o puede ser determinada fácilmente por estos. El sorgo de la presente invención comprende niveles comercialmente aceptables de resistencia o tolerancia a los herbicidas inhibidores de HPPD e inhibidores de AHAS. La cantidad o concentración eficaz es aquella que se encuentra habitualmente en los lotes o de otro modo para matar una maleza o malezas de interés.

Las plantas resistentes o tolerantes a herbicidas de la presente invención encuentran así uso en los métodos para controlar las malezas. Para el manejo de

las malezas en las proximidades de una planta de sorgo tolerante o resistente a herbicidas de la presente invención, se puede emplear una amplia variedad de formulaciones para proteger las plantas de las malezas para mejorar el crecimiento de las plantas y reducir la competencia por los nutrientes. Se puede
5 utilizar un herbicida en preemergencia o post-emergencia o antes de la siembra o en el momento de la siembra para controlar las malezas. El herbicida puede estar presente con diferentes aditivos. El herbicida también se puede utilizar como tratamiento de semillas. Los aditivos presentes en la formulación herbicida pueden incluir otros herbicidas, detergentes, adyuvantes, agentes esparcidores, agentes
10 adherentes, agentes estabilizantes, o similares. La formulación puede ser una formulación húmeda o una formulación seca o cualquier otra forma adecuada como suspensión concentrada, emulsión concentrada, encapsulada, no encapsulada y otras.

El herbicida se puede aplicar en la concentración recomendada, o en una
15 concentración de entre 0,5X y 5X, preferiblemente en el rango entre 0,5X y 4X, más preferiblemente en el rango entre 1X y 4X de la dosis recomendada. Las formulaciones herbicidas se pueden aplicar de acuerdo con los métodos convencionales, por ejemplo mediante pulverización, espolvoreado, irrigación y similares.

20 La presente invención provee semillas no transgénicas y transgénicas con mayor tolerancia a cualquier herbicida inhibidor de HPPD y herbicida inhibidor de AHAS en comparación con las semillas de tipo salvaje. De manera adecuada, una semilla de la invención es una semilla de sorgo. De manera adecuada, una semilla de la invención tiene la capacidad de generar una planta. Una planta
25 crecida de una semilla de la invención tiene tolerancia o resistencia tanto a un

herbicida inhibidor de HPPD como a un herbicida inhibidor de AHAS.

La presente invención provee un método para identificar la presencia o la ausencia de la nueva mutación presente en el cromosoma 3 de la planta de sorgo que imparte la de tolerancia o resistencia a herbicidas inhibidores HPPD a la planta y la presencia o la ausencia de la mutación en AHAS. Se puede utilizar cualquier método adecuado. A continuación se analizan métodos de diagnóstico adecuados que pueden usarse para detectar la nueva mutación en una planta comercial o experimental o en sus partes. Además, dichos métodos se pueden usar para confirmar cualquier secuencia que comprenda una o ambas de las mutaciones dadas definidas en la presente. Un método adecuado puede comprender detección de un alelo que está en ligamiento con una mutación de la invención, por ejemplo la detección de una mutación en el cromosoma 3, que comprende una sustitución de G a C en la posición 51 de la SEQ ID NO: 8 para la mutación ADV-HT2. Un método adecuado para determinar la presencia o la ausencia de una mutación presente en el cromosoma 3 de una planta que imparte tolerancia o resistencia a la inhibición de HPPD y una mutación que confiere tolerancia o resistencia a los herbicidas inhibidores de AHAS a la planta, o una mutación ligada con una mutación de la invención como se define en la presente, puede comprender PCR.

Un "cebador" es un oligonucleótido monocatenario, que tiene un extremo 5' y un extremo 3', que es capaz de alinearse con un sitio de alineamiento en una cadena de ADN diana, y el cebador sirve como punto de iniciación para la síntesis de ADN por una ADN polimerasa, en particular en una amplificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Dicho cebador puede o no ser completamente complementario a su sitio de alineamiento en el ADN diana. Un sitio de

"alineamiento" en una cadena de un ADN diana es el sitio con el que un cebador es capaz de alinearse en los métodos de la presente invención. Generalmente, para la amplificación de un fragmento de un gen mediante PCR se emplea un par de cebadores que se alinean con las hebras opuestas de una molécula de ADN bicatenario. Por convención estándar y utilizado en la presente, a menos que se indique lo contrario o que resulte evidente del contexto, el "cebador directo" se alinea con la cadena no codificante del gen y el "cebador reverso" se alinea con la cadena codificante.

La invención implica el uso de varias amplificaciones por PCR. Los cebadores para detectar la mutación ADV-HT2 se describen en la Tabla 1.

TABLA 1. Cebadores moleculares usados para detectar la mutación de la presente invención.

SEQ ID NO:	SECUENCIA	DESCRIPCIÓN
5	GAAGGTGACCAAGTTCATGCTGGAGGGCGCCA TCTACCTCTC	Cebador 1
6	GAAGGTCGGAGTCAACGGATTGAGGGCGCCAT CTACCTCTG	Cebador 2
7	GTTGGAGCAGTTGTCCGGCAGT	Cebador reverso
8	CCCGCTCGGTGAGGACAATGTGAAGGGCGGGG AGGGCGCCATCTACCTCT[C/G]GGCCAACTGC CGGACAACCTGCTCCAACGATTTTGAAGTTGTC AGGTGGC	Amplicón (sonda)

En una forma de realización preferida, el cebador directo y el cebador reverso pueden comprender cualquier longitud de nucleótidos que esté en el rango del número de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1. En una forma de realización preferida, los cebadores directo y reverso pueden abarcar la región de la SEQ ID NO: 9. Preferiblemente para detectar la mutación, por lo menos uno de un par de cebadores o las sondas contiene el nucleótido mutado de la

invención. En otra forma de realización preferida, uno de un par de cebadores o las sondas para determinar la presencia o la ausencia de la mutación puede abarcar la región de la secuencia de la SEQ ID NO: 8, en donde la presencia de "C" en la posición 51 de la SEQ ID NO: 8 del alelo es indicativa de la
5 resistencia a herbicidas de tipo HPPD.

En otra forma de realización preferida, uno de un par de cebadores o las sondas para determinar la presencia o la ausencia de la mutación ADV-HT2 puede comprender las secuencias que detectan uno d ellos codones alternativos como se define en la presente.

10 Los cebadores adecuados para su uso en la presente invención pueden no ser 100% complementarios a una secuencia provista en la presente que incluye a las SEQ ID NO: 1, 8 o 9, pero tendrán la capacidad de unirse a la misma de una manera que distinga entre las formas de tipo salvaje y mutante del alelo ADV-HT2. El alelo ADV-HT2 de la invención se ubica en la posición
15 1001 de la SEQ ID NO: 9. Por lo tanto, un cebador o sonda adecuado puede unirse en condiciones estrictas, que serán conocidas por un experto en la materia.

Los resultados de la PCR se pueden detectar utilizando técnicas de genotipado KASP y otras técnicas utilizadas estándar que incluyen, entre
20 otras, electroforesis en gel y ensayos de fluorescencia.

Un método para determinar la resistencia de una planta a los herbicidas de tipo HPPD puede comprender determinar la presencia o la ausencia de un QTL asociado con la resistencia de tipo HPPD. Dicho QTL puede ser una secuencia que comprende o que consiste en una secuencia provista en la
25 presente, por ejemplo la SEQ ID NO: 1, 8 o 9, o una secuencia que tiene por

lo menos 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% o 99% de identidad de secuencia con la misma. Dicho QTL puede comprender un alelo mutante de la invención. El método subsiguientemente puede comprender determinar la presencia o la ausencia de una mutación de la invención dentro de dicho QTL.

- 5 Se puede utilizar un método similar para determinar la resistencia a los herbicidas inhibidores de AHAS.

Un método para determinar la resistencia de una planta a los inhibidores de tipo HPPD puede comprender determinar la presencia o la ausencia de un marcador molecular asociado con resistencia de tipo HPPD. Un marcador
10 molecular puede ser un marcador genético. Un marcador molecular puede ser una mutación como se describe en la presente. Un método para determinar resistencia se puede llevar a cabo en combinación con uno o más métodos diagnósticos como se describe en la presente.

Además de la amplificación por PCR, los métodos de la invención
15 pueden implicar diversas técnicas de biología molecular que incluyen, por ejemplo, aislamiento de ADN, en particular aislamiento de ADN genómico, digestión de ADN o productos de PCR mediante enzimas de restricción y nucleasas, ligación de ADN, secuenciación de ADN, electroforesis en gel de agarosa, electroforesis en gel de poliacrilamida, electroforesis en gel en
20 cualquier otra matriz adecuada para la separación electroforética de ADN, la detección de ADN mediante tinción con bromuro de etidio, y similares. Dichas técnicas son generalmente conocidas en el arte y se describen, por ejemplo, en Sambrook y col. (1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual (2d ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, New York).

25 Para los métodos de identificación y detección de la presente invención,

el ADN genómico de la planta se puede aislar de plantas enteras o de cualquier parte, órgano, tejido o célula de la misma. Por ejemplo, el ADN genómico puede aislarse a partir de plántulas, hojas, tallos, raíces, inflorescencias, semillas, embriones, macollos, coleoptiles, anteras, estigmas, células cultivadas, y
5 similares. Además, la invención no depende del aislamiento de ADN genómico de plantas o partes, órganos, tejidos, o células de los mismos que se encuentren en ninguna etapa de desarrollo particular. Además, la invención no depende de plantas que se cultiven bajo condiciones particulares. Las plantas se pueden cultivar, por ejemplo, en condiciones de campo, en invernadero, o cámara de
10 crecimiento, en cultivo, o incluso hidropónicamente en invernadero o cámara de crecimiento.

Típicamente, los marcadores moleculares se detectan mediante cualquier método establecido disponible, incluyendo, sin limitación, hibridación específica de alelo (ASH), ensayos de PCR en tiempo real para detectar
15 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), detección de polimorfismos de longitud de fragmentos amplificados (AFLP), detección de secuencia variable amplificada, detección de ADN polimórfico amplificado aleatoriamente (RAPD), detección de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), detección de replicación de secuencia autosostenida, detección de repetición
20 de secuencia simple (SSR), detección de polimorfismos de conformación monocatenaria (SSCP), detección de marcadores de isoenzimas, o similares. En otra forma de realización los resultados de la mutación también se pueden evaluar usando ensayos de proteínas, sondas de proteínas o diferentes técnicas de detección de antígenos que incluyen, entre otras, ELISA.

25 La presente invención también provee kits para llevar a cabo los

métodos para genotipificar una planta que comprende una mutación ADV-HT2, o un alelo ligado con una mutación de la invención, y que comprende la mutación en AHAS. Dichos kits pueden comprender dos o más conjuntos de cebadores directos y reversos. Un conjunto es para amplificar una región del cromosoma 3, por ejemplo que comprende el alelo ADV-HT2 o una región que comprende la SEQ ID NO: 8. El otro conjunto es para amplificar la región cromosómica que comprende la mutación en AHAS. Por ejemplo, un kit puede comprender uno o más conjuntos de cebadores, por ejemplo como se definen en la presente para amplificar una región de una secuencia de ácido nucleico provista en la presente, que incluye por ejemplo la SEQ ID NO: 1, 8 o 9.

En una forma de realización preferida los cebadores directo y reverso en el kit pueden ser de cualquier longitud y abarcar la región de cualquiera de las secuencias de ácidos nucleicos que se proveen en la presente. De manera adecuada, para detectar la mutación ADV-HT2 los cebadores directo y reverso pueden ser de cualquier longitud y abarcar la región de la SEQ ID NO: 9. Preferiblemente, para detectar la mutación por lo menos un cebador o sonda diseñada contiene el nucleótido mutado de la SEQ ID NO: 1, 9, o 11 a 16.

En una forma de realización preferida el cebador directo y el cebador reverso para ADV-HT2 en el kit pueden comprender cualquier longitud nucleotídica en el rango dentro del número de nucleótidos de la SEQ ID NO: 1. En una forma de realización preferida, los cebadores directo y reverso para ADV-HT2 en el kit pueden abarcar la región de la SEQ ID NO: 9. Preferiblemente para detectar la mutación por lo menos un cebador o sonda diseñada contiene el nucleótido mutado de la invención. En otra forma de realización preferida los cebadores o marcadores moleculares para detectar la

mutación ADV-HT2 abarcan la región de la secuencia de la SEQ ID NO. 8, donde el alelo "C" es indicativo de la resistencia a los herbicidas de tipo HPPD.

Además de los cebadores y las sondas, Los kits pueden opcionalmente comprender uno o más de los siguientes: una polimerasa, desoxirribonucleótidos trifosfato, cualquier reactivo preferido, una etiqueta e instrucciones para realizar el método. Los kits además pueden comprender un manual que comprende instrucciones para llevar a cabo el método para detectar la mutación ADV-HT2 y la mutación en AHAS en una muestra dada.

Las mutaciones de la presente invención se pueden usar para identificar marcadores adicionales de tolerancia o resistencia a herbicidas inhibidores de HPPD y herbicidas inhibidores de AHS, por ejemplo marcadores que están en desequilibrio de ligamiento con las mutaciones de la invención y que tienen un fenotipo de tolerancia o de resistencia a un herbicida inhibidor de HPPD y un herbicida inhibidor de AHAS.

Debe entenderse que esta invención no se limita a formas de realización ni ejemplos particulares, que por supuesto pueden variar. También debe entenderse que la terminología utilizada en la presente tiene el propósito de describir formas de realización particulares únicamente y no pretende ser limitante. Por lo tanto, los siguientes ejemplos se proporcionan únicamente para la aclaración de la invención y no pretenden ser limitantes de ninguna manera.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Pruebas de campo de doble tolerancia a herbicidas

Este ejemplo determina el espectro de tolerancia al modo de acción (MOA) de los herbicidas inhibidores de HPPD e inhibidores de AHAS/ALS

(imidazolinona) al usar el ingrediente activo comercial (AI) en líneas endogámicas de sorgo en grano con mutaciones. La Tabla 2 describe los genotipos de las líneas probadas. La línea de tipo salvaje (Línea n.º 1) es el control, ya que esta línea susceptible tiene el mismo fondo genético que la

5 línea original que fue mutada para obtener las líneas endogámicas tolerantes.

Tabla 2. Líneas de sorgo probadas para tolerancia a herbicidas.

Línea n.º	Código genotípico	Tolerancia
1	WT	Tipo salvaje susceptible
2	ADV-IMI-R	tolerante a IMI
3	ADV-HT2	tolerante a HPPD
4	ADV-IMI-R /ADV-HT2	tolerante a IMI + HPPD

Todos los tratamientos herbicidas se aplicaron según se define como se detalla en la Tabla 3. Para los tratamientos IMI-1X+TOP-1X las aplicaciones en

10 campo se realizaron en etapa de post emergencia del cultivo, 15 días después de la siembra. Para el tratamiento IMI-1X/TOP-1X, la aplicación del herbicida IMI se realizó a los 15 días después de la siembra, y para el herbicida inhibidor de HPPD a los 21 días después de la siembra. Para el tratamiento TOP-1X/IMI-1X, la aplicación de herbicida inhibidor de HPPD se realizó 15 días después de

15 la siembra, y para el herbicida IMI a los 21 días después de la siembra.

Tabla 3. Descripción de tratamientos herbicidas. La tasa de aplicación recomendada por la etiqueta se considera 1X.

n.º tratamiento	Código de herbicida	Ingrediente activo del herbicida	Tipo	Tasa	Dosis usada
1	CONTROL	NA	NA	NA	NA
2	IMI-1X/TOP-1X	IMAZETAPIR + IMAZAPIC/TOPRAMEZONE	POE/POE	1X	0,23 L/ha / 0,1 L/ha
3	TOP-1X/IMI-1X	TOPRAMEZONE/IMAZETAPIR + IMAZAPIC	POE/POE	1X	0,1 L/ha / 0,23 L/ha
4	IMI-1X+TOP-1X	IMAZETAPIR + IMAZAPIC /TOPRAMEZONE	POE	1X	0,23 L/ha + 0,1 L/ha

5 Para las evaluaciones de materia seca, todas las parcelas se cosecharon
55 días después de la siembra. Se mantuvieron diez plantas de cada parcela
para registrar los días a la floración y la altura de las plantas al momento de la
floración. En la Figura 1, la materia seca para cada genotipo y tratamiento
herbicida se expresa como DM-% del control (materia seca de cada genotipo
10 *tratamiento herbicida como % del control). De ello se deduce que las dos
mutaciones de la invención en combinación conducen a una materia seca
comparable o incluso mayor en comparación con el control. La tolerancia a los
herbicidas de la doble mutación es mayor que la de las dos mutaciones
separadas combinadas.

15 **Ejemplo 2. Ensayos de fototoxicidad de doble resistencia a herbicidas**

Para determinar el rango de los rasgos de tolerancia a dos herbicidas

combinados, se trataron líneas endogámicas de sorgo con los herbicidas MOA inhibidores de HPPD y AHAS/ALS y sus combinaciones. Se evaluaron cuatro genotipos de sorgo en grano (líneas endogámicas) en condiciones de campo (Tabla 4) con los tratamientos herbicidas post-emergencia (POE) de 3 ingredientes activos de herbicidas inhibidores de HPPD y 2 herbicidas MoA inhibidores de AHAS/ALS y sus combinaciones (Tabla 5) para ensayos de fitotoxicidad en cultivos en un lugar.

Tabla 4. Líneas de sorgo probadas para resistencia a herbicidas

n.º	Código genotípico	Tolerancia a herbicidas
1	WT	Susceptible de tipo salvaje
2	ADV-IMI-R	tolerante a ALS (IMI)
3	ADV-HT2	Tolerante a HPPD
4	IMI+HT2	Tolerante a ALS (IMI) y HPPD

Todos los genotipos se sembraron en bandejas con sustratos. El tamaño de la parcela consistió en 25 plantas/parcela, 2 parcelas/bandeja. Los tratamientos con los herbicidas se aplicaron 14 días después de la siembra para los tratamientos con herbicida único, y 14 y 16 días después de la siembra para los tratamientos con dos herbicidas, utilizando un pulverizador experimental. El experimento se diseñó como un diseño de parcelas divididas con 3 repeticiones donde se designó "Tratamiento herbicida" a la parcela principal y los genotipos como parcela dividida. Las dosis de herbicidas fueron 1X usando como referencia las recomendaciones de la etiqueta del herbicida (Tabla 5). Además de los herbicidas, durante la aplicación se utilizaron tensioactivos recomendados según lo recomendado por el proveedor para cada producto.

Tabla 5. Tratamientos herbicidas. La tasa de aplicación recomendada por la etiqueta se considera 1X.

n.º	Código de tratamiento herbicida	MOA de herbicida	Ingrediente activo	Nombre comercial	% de ingrediente activo	Dosis de la etiqueta del herbicida	Dosis usada
1	CONTROL	NA	NA	NA	NA	NA	NA
2	2IMI	ALS	IMAZAPYR- IMAZAPIC	MAYORAL, ADAMA	10,7 - 31,8	400 ml/ha	400 ml/ha
3	IMI	ALS	IMAZAPYR	CLEAR SOL DF, BASF	80,0	100 g/ha	100 g/ha
4	TOP	HPPD	TOPRAMEZONE	CONVEY, BASF	33,6	100 ml/ha	100 ml/ha
5	MES	HPPD	MESOTRIONE	CALLISTO, BAYER	48,0	150 g/ha	150 g/ha
6	TEM	HPPD	TEMBOTRIONE	LAUDIS, BAYER	20,0	500 g/ha	500 g/ha
7	2IMI+TOP	ALS+HPPD	IMAZAPYR- IMAZAPIC + TOPRAMEZONE				400 ml/ha + 100 ml/ha
8	2IMI+MES	ALS+HPPD	IMAZAPYR- IMAZAPIC + MESOTRIONE				400 ml/ha + 150 g/ha
9	2IMI+TEM	ALS+HPPD	IMAZAPYR- IMAZAPIC + TEMBOTRIONE				400 ml/ha + 500 g/ha

10	IMI+TOP	ALS+HPPD	IMAZAPYR + TOPRAMEZONE				100 g/ha + 100 ml/ha
11	IMI+MES	ALS+HPPD	IMAZAPYR + MESOTRIONE				100 g/ha + 150 g/ha
12	IMI+TEM	ALS+HPPD	IMAZAPYR + TEMBOTRIONE				100 g/ha + 500 g/ha

Diez días después de la primera pulverización con herbicida (Días después de la pulverización (DAS)), se registró la fitotoxicidad (respuesta de las plantas a los herbicidas) de la siguiente manera: Primero, se midió la materia verde de los brotes (SGM):

10 DAS, todas las plantas se cosecharon cortándolas a nivel del suelo y se pesaron. La SGM de cada genotipo en el tratamiento CONTROL se usó como referencia para cada genotipo de los otros tratamientos herbicidas. Cuando el tratamiento CONTROL, se asignó como el 100% de SMG usando la siguiente función: $SGM \% \text{ del Control} = (SGM * 100) / SGM \text{ Control}$. Cuando la "SGM % del Control" es la SGM como porcentaje de cada genotipo*tratamiento herbicida (Tabla 5); la "SGM" es la materia verde media para cada combinación de genotipo*tratamiento herbicida y la "SGM Control" es la SGM media para cada genotipo en el tratamiento Control (sin tratar). En segundo lugar, se midió la materia seca de los brotes (SDM). Después de estimar la SGM, todas las plantas de la parcela se pesaron después de secarlas a 70°C durante 48 h, para determinar la SDM de cada parcela. Todos los datos se refieren a un porcentaje de su respectivo Control no tratado usando la siguiente función: $SDM \% \text{ del Control} = (SDM * 100) / SDM \text{ Control}$. Cuando la "SDM % del Control" es la SDM

como porcentaje de cada genotipo*tratamiento herbicida (Tabla 5); la "SDM" es la materia seca media para cada combinación de genotipo*tratamiento herbicida y la "SDM Control" es la SDM media para cada genotipo en el tratamiento CONTROL (sin tratar).

- 5 Las aplicaciones del tratamiento herbicida fueron efectivas en todos los casos. El análisis de varianza (ANOVA) mostró una interacción significativa ($p < 0,0001$) entre la parcela principal que representa cada tratamiento herbicida y la subparcela que representa cada genotipo, lo que indica que es posible un análisis basado en una prueba de diferencia de medias.
- 10 Para cada genotipo y tratamiento herbicida, se calculó la SDM expresada como porcentaje del control no tratado (SGM% del Control). Como era de esperarse, se observó una diferencia significativa para el genotipo WT como respuesta cuando se compararon el control tratado y no tratado, lo que indica que la aplicación fue eficaz, Figura 2A y 2B. Como se muestra en la Figura 2A,
- 15 la línea ADV-IMI-R fue resistente a un tratamiento IMI (2IMI e IMI) y la línea ADV-HT2 fue resistente a un tratamiento HPPD (TOP, MES, TEM). Además, la línea IMI+HT2 fue resistente a tratamientos únicos tanto IMI como HPPD. Como se muestra en la Figura 2B, la línea ADV-IMI-R y la línea ADV-HT2 no fueron resistentes al tratamiento de doble MOA mientras que la línea IMI+HT2 mostró
- 20 doble resistencia herbicida. Sólo la línea IMI+HT2 no mostró respuesta de fitotoxicidad entre los tratamientos herbicidas, sin diferencias significativas entre ellos, mostrando ser tolerante a todos los tratamientos herbicidas, 2IMI, IMI, TOP, MES, TEM, 2IMI+TOP, 2IMI+MES, 2IMI+TEM, IMI+TOP, IMI+MES, y IMI+TEM. Estas respuestas de fitotoxicidad confirman que las mutaciones de
- 25 tolerancia de herbicidas combinadas son eficaces para conferir tolerancia para

el modo de acción de los herbicidas tanto ALS como HPPD.

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

Información de secuencias

Número de secuencia (ID): 1

Longitud: 5497

5 Tipo de molécula: ADN

Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..5497

> mol_type, ADN genómico

> organismo, Sorgo bicolor

10 - variación, 5283

Residuos:

atggttcacg	gcgctccgc	gacaacgcaa	ttcatgcgcg	ccgcgacgca	gcagcagcag	60
caaggaaagg	accgcgtgcc	cgtgggcgcc	ggtcgacaaa	aacctcctcg	cccccgagg	120
ggcatcggat	ccagccgaac	cgcagcgtgt	acgaccgcgg	agcggcaagc	ggcgcgaccc	180
gaacccgacg	cgagctgccc	gggcgcaccc	gcagtcgggc	ctcgtgcttc	tgcattgggt	240
cgcgatccaa	atcctgggag	gctctcctgt	cttctctggc	tatccgaaca	ggtccgtccg	300
agcattatct	gtcagatctc	tttccgtctt	gtcagttgtc	cacggtctcc	gagccctcct	360
atctgcaccc	acgtagattg	atgatatagatt	cctctcggaa	gtgtctcgaa	atcttctaaa	420
ctctaaaatt	agaaagttag	tacttgtgaa	attctttaaa	aaaaaaatta	ctagtaaaac	480
tgagctgctc	taaacagatt	tcgccagatt	tgaagatctg	agatttcgag	attatctagt	540
gcagagggac	atctcttatt	ttttaccttc	tcaaatttga	aacactaaac	gacttctttt	600
ttcagcagga	gagactcaga	ttctgatcgc	atcttttttt	caactgatcc	atctgtgctt	660
ctctctcgta	ggccttggtt	agttccgaaa	agtgaact	ttttggaact	gtagcatttt	720
cgtttgtttg	atcatggact	aactaggatc	aaaagattcg	tcttggtgatt	tacagctaaa	780
ctgtgtaatt	agtttttgtt	ttcgtttata	tttaattgtt	catgcatgtg	acacaagatt	840
cgatgtgacg	ggaaatcttg	aaaacttttt	ggttttcagg	gtaaactaaa	caaggccgta	900
gtcgttctgg	acaagttttg	tcctaacgag	cagaagcgta	ctgacgaaac	ttgtcttcac	960
tggcccattg	gatcttgttg	cagctcatgc	aaaaaatatt	tcgatagtgt	cctatcacac	1020
gcatgtgttt	actgtccaca	gacgtgattt	ctaaagaatc	ttttcaccat	caattggccg	1080
cgacattttg	gcgatttctc	tgcgagactc	actgatgaca	cattactttt	gcattttatta	1140
aaaaatccaa	tctttttgtc	tctttttacc	cgaaaaaagc	tccctccttt	tttgacccct	1200
cttccttccc	ctgaaaacgca	cgcagacgca	gctgagcctg	aattcttata	caccacgggc	1260
gccaccctcc	actcccgga	cgtaagccaa	aagatcagag	aaagagacag	acagacaaga	1320
ttaaaagagt	gacaaggcaa	agagagagaa	aaaagagtaa	gaaaccgccc	tagaatcttt	1380
tcagtttttc	cctgtcttca	tgtgtctttg	ttatagagac	gctgccttgt	cggggcagca	1440
gacttgggac	gagagagagg	cctagagggg	gaggagtgtg	tgagcgagct	cgggatcagc	1500
gggtgacccc	agaggttgtt	gcctctggaa	gttcccaatt	ctttaacccc	catcttcttc	1560
cacatgactt	tggactcgct	gctgttcttt	tggttggtat	atccttggtg	ctctgactcc	1620
gcctgttccc	cgaaatttcc	agttcttgct	tcctcttgga	ggagggtctg	agcctgcacc	1680
ctgcagggga	gagagagcag	gaggggacgg	agacatgggt	agcttcgcta	agctggcgaa	1740

gagggcggtg	gagacggacg	cgccgggtcat	ggtgaagggtg	acgaatcttct	cctacctcgt	1800
cgaaatcgca	tcttgactct	ggagtttctt	gggtcttctt	ggtgagttct	ttctaataag	1860
acgtcccttt	ttcagataca	agaactgcct	cgaggggccca	cgatgtcat	gtcgcttgcg	1920
caggtatatg	accataatct	tctcgatttg	gctgtgcaat	ggtttcctgc	tttgtgatgt	1980
tattttaagg	taatggaaca	agcacgaaac	ggaaagtcaa	acgaaagcag	aacggattaa	2040
tgggagtcga	tcatcttata	gcaattcgct	cccaaatggt	ttctgtcaat	tgttcaagtt	2100
gaaatgtact	actgtagttc	ggtacagttc	atttgctacg	tttcgtgtaa	caaatcatat	2160
tgtttttact	tgctattcct	gaatagttct	tatgttgccg	aagtgggaca	ttcgtagtga	2220
atctaactag	tgacatgcgt	gtcttttagt	gtcctattag	catgaccgca	ccatagtata	2280
tttattttctg	agaaattcgt	ttctgttctt	cactttttgt	aaatcctgaa	tcaggaggag	2340
tgtttactgg	caacctcctg	agtcagctct	ggataagatc	gaaaaaatcg	tcagggaacc	2400
aacagtcagt	aagtatggtt	ctgatgatgg	acttcctgag	cttcgagaag	cacttctcga	2460
aaaggtaact	tctttttatc	atagaatata	taatataatt	tgcccatata	ctgactaaag	2520
caggccatgc	tcttgagtat	taccacattg	ccatgccttt	gtcattggga	actagggatc	2580
ctgcttctaa	accactacac	cgtaacccaa	ttttaataga	gataattgat	cttaactcac	2640
agtcgcatca	gcaatctcaa	gtgaccgatg	caatgggtca	gaaattactt	tgtcaaaaca	2700
aagggtccaa	aaaatctttt	tgttcccgag	gttacattcc	tgggaagcat	ctaattttct	2760
gaatattggc	agagtgtgtc	ataaaactct	ctattcatca	actgagaaat	gggaacaata	2820
ttcattattg	tgagtttgtg	actcctctgg	aaattcagaa	gagaaattca	tgggtggtgct	2880
aagagttgca	aagtctctct	gccatgttgt	ttgtctaaca	gttgagatga	aatcctgaga	2940
tgatttaggt	gctctaaccg	ttagcctaaa	tgctccacat	cgcacagtta	tctttagaat	3000
ttgttccacc	gttttgtcac	ctactgggct	aagattttta	ttgtgttttg	gaccaccaat	3060
gtgttaaaat	tagtactgca	ttgcaagcat	cttgatatat	tttcctgatg	tctactgtat	3120
ttttggcagc	tacgcagaga	gaataagctt	accaagtcac	cagtcagtgt	cactgctggt	3180
gcaaactcag	taaaaactta	ctttcctatt	ttgccttgta	aagttttcaa	actgggcctt	3240
acgtttccca	atttacttat	gtttattact	tctttagggg	cacactcttc	ctttcctttt	3300
tactgtctag	accttgaact	tgtcttataa	tctgggtctt	tgttacattg	attttttcag	3360
gcttttgtga	acttggctct	cactctttgt	gatgctgggt	attctgttgt	catgtttgca	3420
ccatattatt	tcaatgccta	catgtcattc	cagatgacag	gtgttactga	catattaatt	3480
ggtggttgcg	atcccaagac	acttcacctc	gatgttggtg	agatgattct	cttcttcttt	3540
ctgtttcatt	ggagaaattg	gtgagatgtc	ttatatcaat	agtctgttgt	aagaaatttg	3600
ttgtacttag	tgctgggtca	ggagcatctg	cttcattggc	acatgttcaa	tttcctgtat	3660
aagtctacat	tatcttttag	ctgatgagaa	gatatgcttt	tgtaaaatac	aacgcattct	3720
gtataagaaa	ttatgcattg	gacgtagttg	ataatatttc	attttggaag	catacattac	3780
aattatgtct	aaaactgcag	attgggttga	gaaggttctg	aaagaaaatg	accctatccc	3840
taaacttggt	actgttgtga	atccggggaa	cccctctgga	gcttttgttc	ccaggcctat	3900
gcttgaggtc	atctctctcc	actaacactt	gtgtttggaa	tcactatcca	atatttccta	3960
atattgcatt	gtcattccag	agaatttcag	atctgtgcaa	aaatgctggg	gcatggcttg	4020
tgggtgacaa	tacctatgag	taagtcaata	ctgtaaagtg	atcattttca	caagcaatta	4080
tataatcttt	tgtggtatct	gttagagaga	acttagaaga	gccggggaat	tatggttgta	4140
gtcaaaggga	cagatcatat	aagccattag	agctcttctg	cctcctcttg	aatctgtgtc	4200

```

cagatgaaag acactctgat ggcatatagg atttctagta tctttgcagt ttccacaagg 4260
aagggaaaat cagaatattg tgcccatagg agattcagaa agtagtcgtc ctgcacagat 4320
atgttggtgtg agaatatgtc gaatacagtt atcctgtgtt tgtttttttg gtttaggata 4380
agttctctta ttcaaattca ttccagctgc caagccttta taaatacgtt ttaggctcta 4440
aacttggtga tgttaaaaat aagccctcca atcacactta ctgctttata ctttatacag 4500
gccagggttt atgtttgcct gaaagagtca ggtgttcagg tccatgttga ggaactaata 4560
gtaattaata aaggaccttt tcctctaaag cttaaagaaa catacaagtt tttgtcgtgg 4620
agctgcgatt agccaaccat atttgaagtg gtagcataaa gaatggagtc caaacatgtc 4680
gagtggaaca cagaaagtgg cttattcctt ttactcctg caaacgaatt ctgctcctta 4740
ttggaattta gttatggtct ttagcatttg agctttgtaa gatttgatgc ttaggtcagt 4800
tttcctgtgt ctttttgcag atactttatg tatgatggaa tggagcacta ttgcttagaa 4860
gatactcata ttgtcaacct cttctcattc tcaaaggctt atggaatgat ggggtggcgt 4920
gtaggatacg tgagtgcac atactcttgc tttatcattt tattatgctt tactccactt 4980
tttggtctgt gctgctgtta attgtcactg taacagtaag tcatacatgg actgtctgct 5040
gcagattgca tttccaaatg aagctgatgg cttccacgat cagctcctca aagtgaaga 5100
caacatacct atctgtgcct ccatcatcgg gcagcgcctg gcgctctact cactggaggc 5160
tggtcccgag tggatcaaag aaagggtgaa agacttggtg aaaaaccgag cactgctcgt 5220
ggaggcgctg tccccgctcg gtgaggacaa tgtgaagggc ggggagggcg ccatctacct 5280
ctcggccaaa ctgccggaca actgctccaa cgattttgaa gttgtcaggt ggcttgcaaa 5340
caagcacggt gtcgctgtga tcctggcag cgccagtgga ggccccggat acatccgcgt 5400
ctccttcgga gggctcaaag aagaagacac caggctcgtc gctgagaggc taaggcgcgg 5460
cttgccaggag ctggtgactg atggaatggt acagtaa 5497

```

Número de secuencia (ID): 2

Longitud: 5497

Tipo de molécula: ADN

5 Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..5497

> mol_type, ADN genómico

> organismo, Sorgo bicolor

Residuos:

atggttcacg	gcgcctccgc	gacaacgcaa	ttcatgcgcg	ccgcgacgca	gcagcagcag	60
caaggaaagg	accgcgtgcc	cgtgggcgcc	ggtcgacaaa	aacctcctcg	cccccgagg	120
ggcatcggat	ccagccgaac	cgcagcgtgt	acgaccgcgg	agcggcaagc	ggcgcgaccc	180
gaacccgacg	cgagctgccc	gggcgcaccg	gcagtcgggc	ctcgtgcttc	tgcattgggt	240
cgcgatccaa	atcctgggag	gctctcctgt	cttctctggc	tatccgaaca	ggtccgtccg	300
agcattattt	gtcagatctc	tttccgtctt	gtcagttgtc	cacggtctcc	gagccctcct	360
at ttgcatcc	acgtagattg	atgatagatt	cctctcggaa	gtgtctcgaa	at tttctaaa	420
ctctaaaatt	agaaagttag	tacttgtgaa	attctttaaa	aaaaaaatta	ctagtaaaac	480
tgagctgcgc	taaacagatt	tcgccagatt	tgaagatctg	agatttcgag	attatctagt	540
gcagagggac	at tttcttatt	ttttaccttc	tcaaatttga	aacactaaac	gacttctttt	600

ttcagcagga	gagactcaga	ttctgatcgc	atTTTTTTTT	cactgatcac	atttgtgctt	660
ctctctcgta	ggccttggtt	agttccgaaa	agtGAAAact	ttttggaact	gtagcatTTT	720
cgtttggttg	atcatggact	aactaggatc	aaaagattcg	tcttgatgatt	tacagctaaa	780
ctgtgtaatt	agtttttggt	ttcgtttata	tttaatgttt	catgcatgtg	acacaagatt	840
cgatgtgacg	ggaaatcttg	aaaactTTTT	ggttttcagg	gtaaactaaa	caaggccgta	900
gtcgttcttg	acaagttttg	tcctaacgag	cagaagcgta	ctgacgaaac	ttgtcttcac	960
tggcccatg	gatcttggtg	cagctcatgc	aaaaaatatt	tcgatagttg	cctatcacac	1020
gcattgtgtt	actgtccaca	gacgtgatt	ctaaagaatc	ttttcaccat	caattggccg	1080
cgacattttg	gcgatttctc	tgcgagactc	actgatgaca	cattactttt	gcatttatta	1140
aaaaatccaa	tctttttgtc	tctttttacc	cgaaaaaagc	tcctctcttt	tttgaccctt	1200
cttcttcccc	ctgaaacgca	cgcagacgca	gctgagcctg	aattcttatc	cacccacggc	1260
gccaccctcc	actcccgcaa	cgtaagccaa	aagatcagag	aaagagacag	acagacaaga	1320
ttaaaagagt	gacaaggcaa	agagagagaa	aaaagagtaa	gaaaccgccc	tagaatcttt	1380
tcagtttttc	cctgtcttca	tgtgtctttg	ttatagagac	gctgccttgt	cggggcagca	1440
gacttgggac	gagagagagg	cctagagggg	gaggagtggg	tgagcgagct	cgggatcagc	1500
gggtgacccc	agaggttggt	gcctctggaa	gttcccaatt	ctttaacccc	catcttcttc	1560
cacatgactt	tggactcgct	gctgttcttt	tgggtgggat	atccttggat	ctctgactcc	1620
gcctgttccc	cgaaatttcc	agttcttgct	tcctcttgga	ggagggtgc	agcctgcacc	1680
ctgcagggga	gagagagcag	gaggggacgg	agacatgggt	agcttcgcta	agctggcgaa	1740
gagggcgggtg	gagacggacg	cgcgggtcat	ggtgaagggtg	acgaatttct	cctacctcgt	1800
cgaaatcgca	tcttgactct	ggagtctctt	gggttcctct	ggtgagttct	ttctaataag	1860
acgtcccttt	ttcagataca	agaactgctt	cgaggggcca	cggatgtcat	gtcgttcgog	1920
caggtatatg	accataatTT	tctcgatttg	gctgtgcaat	ggtttcctgc	tttgtgatgt	1980
tatttaaggt	taatggaaca	agcacgaaac	ggaaagtcaa	acgaaagcag	aacggattaa	2040
tgggagtcga	tcattcttata	gcaattcgct	cccaaagggt	ttctgtcaat	tgttcaagtt	2100
gaaatgtact	actgtagttc	ggtacagttc	atttgctacg	tttcgtgtaa	caaatcatac	2160
tgtttttact	tgtatttctt	gaatagttct	tatgttgccg	aagtgggaca	ttcgtatgta	2220
atctaactag	tgacatgcgt	gtcttttagt	gtcctattag	catgacccga	ccatatgata	2280
tttatttctg	agaaattcgt	ttctgttctt	cactttttgt	aaatcctgaa	tgcagggagt	2340
tgtttactgg	caacctcctg	agtcagctct	ggataagatc	gaaaaaatcg	tcagggaaacc	2400
aacagtcagt	aagtatgggt	ctgatgatgg	acttcctgag	cttcgagaag	cacttctcga	2460
aaaggtaact	tctttttatc	atagaatata	taatataatt	tgcccataca	ctgactaaag	2520
caggccatgc	tcttgagtat	taccacattg	ccatgccttt	gtcattggga	actagggatc	2580
ctgcttctaa	accactacac	cgtaaccaaa	ttttaataga	gatatttgat	cttaactcac	2640
agtcgcatca	gcaatctcaa	gtgaccgatg	caatggttca	gaaattactt	tgtcaaaaaca	2700
aaggttccaa	aaaatctttt	tgttcccaga	gttacattcc	tgggaagcat	ctaattttct	2760
gaatattggc	agagtgtgtc	ataaaactct	ctattcatca	actgagaaat	gggaacaata	2820
ttcattattg	tgagtttggtg	actcctctgg	aaattcagaa	gagaaattca	tgggtggtgct	2880
aagagttgca	aagtctctct	gccatgttgt	ttgtctaaca	gttgagatga	aatcctgaga	2940
tgattttaggt	gctctaaccg	ttagcctaaa	tgtccacat	cgcacagtta	tctttagaat	3000
ttgttccacc	gttttgcac	ctactgggct	aagattttta	ttgctgtttg	gaccaccaat	3060

gtgttaaaat	tagtactgca	ttgcaagcat	cttgtatatc	tttcctgatg	tctactgtat	3120
ttttggcagc	tacgcagaga	gaataagctt	accaagtcac	cagtcacggg	caactgctgg	3180
gcaaatacag	taaaaactta	ctttcctatt	ttgccttgta	aagttttcaa	actgggcctt	3240
acgtttccca	atttacttat	gtttattact	tctttagggg	cacactcttc	ctttcctttt	3300
tcactgctag	accttgaact	tgtcttacia	tctgggtctt	tgttacattg	attttttcag	3360
gcttttgtga	acttggctct	cactccttgt	gatgctgggt	attctgttgt	catgtttgca	3420
ccatattatt	tcaatgccta	catgtcattc	cagatgacag	gtgttactga	catattaatt	3480
gggtggtgag	atcccaagac	acttcactct	gatgttggtg	agatgattct	cttcttcttt	3540
ctgtttcatt	ggagaaattg	gtgagatgtc	ttatatcaat	agtctgttgt	aagaaatttg	3600
ttgtacttag	tgctgggtca	ggagcatctg	cttcattggc	acatgttcaa	tttccgttat	3660
aagtctacat	tatcttttag	ctgatgagaa	gatatgcttt	tgtaaaatac	aacgcattca	3720
gtataagaaa	ttatgcattg	gacgtagtgt	ataatatttc	attttggaag	catacattac	3780
aattatgtct	aaaactgcag	attggttgga	gaaggttctg	aaagaaaatg	accctatccc	3840
taaacttggt	actgttgtga	atccggggaa	cccctctgga	gcttttgttc	ccaggcctat	3900
gcttgaggct	atctctctcc	actaacactt	gtgtttggaa	tcactatcca	atatttccca	3960
atattgcatt	gtcattccag	agaatttcag	atctgtgcaa	aaatgctggg	gcatggcttg	4020
tggttgacaa	tacctatgag	taagtcaata	ctgtaaagtg	atcattttca	caagcaatta	4080
tataatcttt	tgtggtatct	gttagagaga	acttagaaga	gccggggaat	tatggttgta	4140
gtcaaaggga	cagatcatat	aagccattag	agctcttctg	cctcctcttg	aatctgtgtc	4200
cagatgaaag	acactctgat	ggcatatagg	atctctagta	tctttgcagt	ttccacaagg	4260
aagggaaaat	cagaatattg	tgcccatagg	agattcagaa	agtagtcgtc	ctgcacagat	4320
atgttgtgtg	agaatatgtc	gaatacagtt	atcctgtgtt	tgtttttttg	gttttaggata	4380
agttctctta	ttcaaattca	ttccagctgc	caagccttta	taaatacgtt	ttaggctcta	4440
aacttggtga	tgttaaaaaat	aagccctcca	atcacactta	ctgctttata	ctttatacag	4500
gccagggttt	atgtttgcct	gaaagagtca	gggtgttcagg	tccatgttga	ggaactaata	4560
gtaattaata	aaggaccttt	tccctctaag	cttaaagaaa	catacaagtt	tttgtctgtg	4620
agctgcgatt	agccaacctat	atgtgaagtg	gtagcataaa	gaatggagtc	caaacatgtc	4680
gagtggaaca	cagaaagtgg	cttattcctt	ttactccctg	caaacgaatt	ctgctcctta	4740
ttggaattta	gttatgtgtc	ttagcatttg	agctttgtta	gatttgatgc	ttaggtcagt	4800
tttcctgtgt	ctttttgcag	atactttatg	tatgatggaa	tggagcacta	ttgcttagaa	4860
gatactcata	ttgtcaacct	cttctcattc	tcaaaggctt	atggaatgat	ggggtggcgt	4920
gtaggatacg	tgagtgcata	atactcttcg	tttatcattt	tattatgctt	tactccactt	4980
tttggtgtgt	gctgctgtta	attgtcactg	taacagtaag	tcatacatgg	actgtctgct	5040
gcagattgca	tttccaaatg	aagctgatgg	cttccacgat	cagctcctca	aagtgcaga	5100
caacatacct	atctgtgcct	ccatcatcgg	gcagcgcttg	gcgctctact	caactggaggc	5160
tggccccgag	tggatcaaag	aaagggtgaa	agacttggtg	aaaaaccgag	caactgctcgt	5220
ggaggcgctg	tccccgctcg	gtgaggacaa	tgtgaagggc	ggggagggcg	ccatctacct	5280
ctgggccaaa	ctgccggaca	actgctccaa	cgattttgaa	gttgtcaggt	ggcttgcaaa	5340
caagcacggg	gtcgtgtgtg	tccctggcag	cgccagtggg	ggccccggat	acatccgcgt	5400
ctccttcgga	gggtcacaag	aagaagacac	caggctcgct	gctgagaggc	taaggcgcgg	5460
cttgccaggag	ctggtgactg	atggaatggg	acagtaa			5497

Número de secuencia (ID): 3

Longitud: 515

Tipo de molécula: AA

Localización de los rasgos/Calificadores:

- 5 - fuente, 1..515
- > mol_type, proteína
- > organismo, Sorgo bicolor
- VARIANTE, 445

Residuos:

	MVHGASATTQ	FMRAATQQQQ	QGKDRVPVGA	GRQKPPRP RR	GIGSSRTAAC	TTAERQAARP	60
	EPDASCPGAP	AVRPRASALG	RDPNPGRLSC	LLWLSEQFLL	PLGGGLQPAP	CRGERAGGDG	120
	DMGSFAKLAK	RAVETDAPVM	VKIQELLRGA	TDVMSLAQGV	VYWQPPESAL	DKIEKIVREP	180
	TVSKYGSDDG	LPELREALLE	KLRRENKLTK	SSVMVTAGAN	QAFVNLVLT	CDAGDSVVMF	240
	APYYFNAYMS	FQMTGVT DIL	IGGCDPKTLH	PDVDWLEKVL	KENDPIPKLV	TVVNP GNPSG	300
	AFVPRPMLER	ISDLCKNAGA	WLVVDNTY EY	FMYDGMEHYC	LEDTHIVNLF	SFSKAYGMMG	360
	WRVG YIAFPN	EADGFHDQLL	KVQDNIPICA	SIIGQRLALY	SLEAGPEWIK	ERVKDLVKNR	420
	ALLVEALSPL	GEDNVKG GEG	AIYLSAKLPD	NCSNDFEVVR	WLANKHGVAV	IPGSASGGPG	480
10	YIRVSFGGLK	EEDTRLAAER	LRRGLQELVT	DGMVQ			515

Número de secuencia (ID): 4

Longitud: 515

Tipo de molécula: AA

Localización de los rasgos/Calificadores:

- 15 - fuente, 1..515
- > mol_type, proteína
- > organismo, Residuos de Sorgo bicolor;

MVHGASATTQ	FMRAATQQQQ	QGKDRVPVGA	GRQKPPRPRR	GIGSSRTAAC	TTAERQAARP	60
EPDASCPGAP	AVRPRASALG	RDPNPGRLSC	LLWLSEQFL	PLGGGLQPAP	CRGERAGGDG	120
DMGSFAKLAK	RAVETDAPVM	VKIQELLRGA	TDVMSLAQGV	VYWQPPEAL	DKIEKIVREP	180
TVSKYGSDDG	LPELREALLE	KLRRENKLT	SSVMVTAGAN	QAFVNLVLT	CDAGDSVVMF	240
APYYFNAYMS	FQMTGVTDIL	IGGCDPKTLH	PDVDWLEKVL	KENDPIPKLV	TVVNPNGNSG	300
AFVPRPMLER	ISDLCKNAGA	WLVVDNTY	FMYDGMHYC	LEDTHIVNLF	SFSKAYGMMG	360
WRVGYIAFPN	EADGFHDQLL	KVQDNIPICA	SIIGQRLALY	SLEAGPEWIK	ERVKDLVKNR	420
ALLVEALSPL	GEDNVKGGEG	AIYLWAKLPD	NCSNDFEVVR	WLANKHGVAV	IPGSASGGPG	480
YIRVSFGGLK	EEDTRLAER	LRRGLQELVT	DGMVQ			515

Número de secuencia (ID): 5

Longitud: 42

Tipo de molécula: ADN

5 Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..42

> mol_type, otro ADN

> organismo, constructo sintético

Residuos:

10	gaaggtgacc	aagttcatgc	tggagggcgc	catctacctc	tc	42
----	------------	------------	------------	------------	----	----

Número de secuencia (ID): 6

Longitud: 41

Tipo de molécula: ADN

Localización de los rasgos/Calificadores:

15 - fuente, 1..41

> mol_type, otro ADN

> organismo, Residuos de constructo sintético:

	gaaggtcgga	gtcaacggat	tgagggcgcc	atctacctct	g	41
--	------------	------------	------------	------------	---	----

Número de secuencia (ID): 7

20 Longitud: 22

Tipo de molécula: ADN

Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..22

> mol_type, otro ADN

> organismo, Residuos de constructo sintético:

5 gttggagcag ttgtccggca gt

22

Número de secuencia (ID): 8

Longitud: 101

Tipo de molécula: ADN

Localización de los rasgos/Calificadores:

10 - fuente, 1..101

> mol_type, otro ADN

> organismo, constructo sintético

- variación, 51

> alelo, c o g

15 Residuos:
 cccgctcggg gaggacaatg tgaagggcgg ggagggcgcc atctacctct nggccaaact 60
 gccggacaac tgctccaacg attttgaagt tgtcagggtg c 101

Número de secuencia (ID): 9

Longitud: 2001

Tipo de molécula: ADN

20 Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..2001

> mol_type, otro ADN

> organismo, constructo sintético

- misc_feature, 1001

25 > alelo, c/g

Residuos:

cccataggag	attcagaaaag	tagtcgtcct	gcacagatat	gttgtgtgag	aatatgtcga	60
atacagttat	cctgtgtttg	tttttttgg	ttaggataag	ttctcttatt	caaattcatt	120
ccagctgcc	agcctttata	aatacgtttt	aggctctaaa	cttgggtgatg	ttaaaaaataa	180
gcctccaat	cacacttact	gctttatact	ttatacaggc	cagggtttat	gtttgcctga	240
aagagtcagg	tggttcaggc	catgttgagg	aactaatagt	aattaataaa	ggaccttttc	300
cctctaagct	taaagaaaac	tacaagtttt	tgctgtggag	ctgcgattag	ccaaccatat	360
ttgaagtgg	agcataaaga	atggagtcca	aacatgtcga	gtggaacaca	gaaagtggct	420
tattcctttt	actccctgca	aacgaattct	gctccttatt	ggaatttagt	tatggctctt	480
agcatttgag	ctttgtgaag	tttgatgctt	aggctagttt	tcctgtgtct	ttttgcagat	540
actttatgta	tgatggaatg	gagcactatt	gcttagaaga	tactcatatt	gtcaacctct	600
tctcattctc	aaaggccttat	ggaatgatgg	gggtggcgtgt	aggatacgtg	agtgcacatc	660
actcttcgtt	tatcatttta	ttatgcttta	ctccactttt	tggctgctgc	tgctgttaat	720
tgtcactgta	acagtaagtc	atacatggac	tgtctgctgc	agattgcatt	tccaaatgaa	780
gctgatggct	tccacgatca	gctcctcaaa	gtgcaagaca	acatacctat	ctgtgcctcc	840
atcatcgggc	agcgctggc	gctctactca	ctggaggctg	gccccgagtg	gatcaaagaa	900
agggtgaaag	acttggtgaa	aaaccgagca	ctgctcgtgg	aggcgctgtc	cccgcctcgg	960
gaggacaatg	tgaaggcg	ggaggcgcc	atctacctct	nggccaaact	gccggacaac	1020
tgctccaacg	atgttgaaag	tgtcaggtgg	cttgcaaaca	agcacggtgt	cgctgtgatc	1080
cctggcagcg	ccagtggagg	ccccggatac	atccgcgtct	ccttcggagg	gctcaaagaa	1140
gaagacacca	ggctcgtgct	tgagaggcta	aggcgcggtc	tgcaggagct	ggtgactgat	1200
ggaatggtag	agtaactggt	cccttggtgt	aagtaaaaaac	gtagcattga	agttttacag	1260
aactccaatt	ttccaatggt	ataattctat	accgggatta	attcgagaga	agactatttt	1320
caagaatata	ttgttcggac	gagagccggg	gacagaataa	ataaaaggta	tccggtctgc	1380
agagtaacct	atgttataaa	atataaatag	tacatatatc	atcagttagt	acttgtttct	1440
gtttgacatt	cagttatcta	tattactgat	ggcagcaatt	gtacacagtc	aaaagtataa	1500
gcaagaattg	tgagctgctc	ttgacgtaca	gagctgcctg	ttagtaattt	gcttggtcta	1560
gcttgagaat	gaataactaat	gtccaaataa	cgtcagcatc	tgcttgagata	attcataatt	1620
caagtgtctg	caagtaagat	agatctacta	tatctataaa	gcagtgttaa	aaaggactcc	1680
tcaagtttgc	acatagaaat	tacgggatta	ataaaaaatg	cagttggatt	ttaagataat	1740
ctaattggtat	agatgtacta	gaaattacca	gaaaatagaa	ccaatggttt	tttttaataga	1800
cctaatagtc	taaatccaaa	ggaaaatgta	tgccaaatat	aatctgcatt	taaacttttt	1860
ccgtacctac	ggtgctgtaa	gccaaaaact	cttctcctat	tttaataaac	acgtcttcaa	1920
ggaaaaatat	aaaagtcatc	aagaccaata	aagtttattt	atagaaaagt	tacagacatc	1980
aaattacggt	tggaagaata	g				2001

Número de secuencia (ID): 10

5 Longitud: 1548

Tipo de molécula: ARN

Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..1548

> mol_type, ARNm

5

> organismo, Residuos de Sorgo bicolor;

atggttcacg	gcgcctccgc	gacaacgcaa	ttcatgcgcg	ccgcgacgca	gcagcagcag	60
caaggaaagg	accgcgtgcc	cgtgggcgcc	ggtcgacaaa	aacctcctcg	cccccgagg	120
ggcatcggat	ccagccgaac	cgcagcgtgt	acgaccgcgg	agcggcaagc	ggcgcgaccc	180
gaacccgacg	cgagctgccc	gggcgcaccc	gcagtccggc	ctcgtgcttc	tgcattgggt	240
cgcgatccaa	atcctgggag	gctctcctgt	cttctctggc	tatccgaaca	gttcttgctt	300
cctcttgagg	gagggtgca	gctgcacccc	tgcaggggag	agagagcagg	aggggacgga	360
gacatgggta	gcttcgctaa	gctggcgaag	agggcggtgg	agacggacgc	gccggtcatg	420
gtgaagatac	aagaactgct	tcgaggggcc	acggatgtca	tgtcgcttgc	gcagggagtt	480
gtttactggc	aacctcctga	gtcagctctg	gataagatcg	aaaaaatcgt	cagggaacca	540
acagtcagta	agtatggttc	tgatgatgga	cttcctgagc	ttcgagaagc	acttctcgaa	600
aagctacgca	gagagaataa	gcttaccaa	tcatacgtca	tggctactgc	tgggtgcaaat	660
caggcttttg	tgaacttggt	cctcactcct	tgtgatgctg	gtgattctgt	tgtcatgttt	720
gcaccatatt	atttcaatgc	ctacatgtca	ttccagatga	cagggtgttac	tgacatatta	780
attggtgggt	gcgatcccaa	gacacttcat	cctgatgttg	attggttggga	gaaggttctg	840
aaagaaaatg	accctatccc	taaacttggt	actggttgta	atccggggaa	cccctctgga	900
gcttttggtc	ccaggcctat	gcttgagaga	atttcagatc	tgtgcaaaaa	tgctggtgca	960
tggcttggtg	ttgacaatac	ctatgaatac	tttatgtatg	atggaatgga	gcactattgc	1020
ttagaagata	ctcatattgt	caacctcttc	tcattctcaa	aggcttatgg	aatgatgggg	1080
tggcgtgtag	gatacattgc	atttccaaat	gaagctgatg	gcttccacga	tcagctcctc	1140
aaagtgcga	acaacatacc	tatctgtgcc	tccatcatcg	ggcagcgcct	ggcgcctctac	1200
tcactggagg	ctggccccga	gtggatcaaa	gaaaggggtga	aagacttggt	gaaaaaccga	1260
gcactgctcg	tggaggcgct	gtccccgctc	ggtgaggaca	atgtgaagg	cggggagggc	1320
gccatctacc	tctgggccaa	actgccggac	aactgctcca	acgattttga	agttgtcagg	1380
tggcttgcaa	acaagcacgg	tgtcgctgtg	atccctggca	gcgccagtgg	aggccccgga	1440
tacatccgcg	tctccttcgg	agggtcctaa	gaagaagaca	ccaggctcgc	tgctgagagg	1500
ctaaggcgcg	gcttgccagg	gctggtgact	gatggaatgg	tacagtaa		1548

Número de secuencia (ID): 11

Longitud: 1548

Tipo de molécula: ARN

Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..1548

> mol_type, ARNm

> organismo, Sorgo bicolor

5 - variación, 1334

Residuos:

atggttcacg	gcgcctccgc	gacaacgcaa	ttcatgcgcg	ccgcgacgca	gcagcagcag	60
caaggaaagg	accgcgtgcc	cgtgggcgcc	ggtcgacaaa	aacctcctcg	cccccgagg	120
ggcatcgcat	ccagccgaac	cgcagcgtgt	acgaccgcgg	agcggcaagc	ggcgcgaccc	180
gaaccgcagc	cgagctgccc	gggcgcaccg	gcagtcgggc	ctcgtgcttc	tgcattgggt	240
cgcgatccaa	atcctgggag	gctctcctgt	cttctctggc	tatccgaaca	gttcttgctt	300
cctcttgagg	gagggctgca	gcctgcaccc	tgcaggggag	agagagcagg	aggggacgga	360
gacatgggta	gcttcgctaa	gctggcgaa	agggcggtgg	agacggacgc	gccggtcattg	420
gtgaagatac	aagaactgct	tcgaggggcc	acggatgtca	tgtcgcttgc	gcagggagtt	480
gtttactggc	aacctcctga	gtcagctctg	gataagatcg	aaaaaatcgt	caggggaacca	540
acagtcagta	agtatggttc	tgatgatgga	cttcctgagc	ttcgagaagc	acttctcgaa	600
aagctacgca	gagagaataa	gcttaccaag	tcatcagtca	tggtcactgc	tggtgcaaat	660
caggcttttg	tgaacttgg	cctcactctt	tgtgatgctg	gtgattctgt	tgtcatgttt	720
gcaccatatt	atttcaatgc	ctacatgtca	ttccagatga	cagggtgttac	tgacatatta	780
attggtgggt	gcgatcccaa	gacacttcat	cctgatgttg	attggttgga	gaaggttctg	840
aaagaaaatg	accctatccc	taaacttggt	actgttgtga	atccggggaa	ccctcttgga	900
gcttttggtc	ccaggcctat	gcttgagaga	atttcagatc	tgtgcaaaaa	tgctggtgca	960
tggcttggtg	ttgacaatac	ctatgaatac	tttatgtatg	atggaatgga	gcactattgc	1020
ttagaagata	ctcatattgt	caacctcttc	tcattctcaa	aggcttatgg	aatgatgggg	1080
tggcgtgtag	gatacattgc	atttccaaat	gaagctgatg	gcttccacga	tcagctcctc	1140
aaagtgcaag	acaacatacc	tatctgtgcc	tccatcatcg	ggcagcgcct	ggcgcctctac	1200
tacttgagg	ctggccccga	gtggatcaaa	gaaaggggtga	aagacttggt	gaaaaaccga	1260
gcactgctcg	tggaggcgct	gtccccgctc	ggtgaggaca	atgtgaagg	cggggagggc	1320
gccatctacc	tctcggccaa	actgccggac	aactgctcca	acgattttga	agttgtcagg	1380
tggcttgcaa	acaagcacgg	tgtcgctgtg	atccctggca	gcgccagtgg	aggccccgga	1440
tacatccgcg	tctccttcgg	agggtcaaaa	gaagaagaca	ccaggctcgc	tgctgagagg	1500
ctaaggcgcg	gcttgccagga	gctggtgact	gatggaatgg	tacagtaa		1548

Número de secuencia (ID): 12

Longitud: 1548

Tipo de molécula: ARN

Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..1548

5

> mol_type, ARNm

> organismo, Sorgo bicolor - variación, 1334

- variación, 1335

Residuos:

atggttcacg	gcgcctccgc	gacaacgcaa	ttcatgcgcg	ccgcgacgca	gcagcagcag	60
caaggaaagg	accgcgtgcc	cgtgggcgcc	ggtcgacaaa	aacctcctcg	cccccgagg	120
ggcatcgcat	ccagccgaac	cgcagcgtgt	acgaccgcgg	agcggcaagc	ggcgcgaccc	180
gaacccgacg	cgagctgccc	gggcgcaccg	gcagtcgcgg	ctcgtgcttc	tgcattgggt	240
cgcgatccaa	atcctgggag	gctctcctgt	cttctctggc	tatccgaaca	gttcttgctt	300
cctcttgagg	gagggtgca	gcctgcaccc	tgcaggggag	agagagcagg	aggggacgga	360
gacatgggta	gcttcgctaa	gctggcgaag	agggcggtgg	agacggacgc	gccggtcatg	420
gtgaagatac	aagaactgct	tcgaggggcc	acggatgtca	tgtcgcttgc	gcagggagtt	480
gtttactggc	aacctcctga	gtcagctctg	gataagatcg	aaaaaatcgt	cagggaacca	540
acagtcagta	agtatggttc	tgatgatgga	cttcctgagc	ttcgagaagc	acttctcgaa	600
aagctacgca	gagagaataa	gcttaccaag	tcatcagtca	tggctactgc	tggtgcaaat	660
caggcttttg	tgaacttggg	cctcactctt	tgtgatgctg	gtgattctgt	tgtcatgttt	720
gcaccatatt	atttcaatgc	ctacatgtca	ttccagatga	cagggtgttac	tgacatatta	780
attggtgggt	gcgatcccaa	gacacttcat	cctgatgttg	attggttgga	gaaggttctg	840
aaagaaaatg	accctatccc	taaacttggt	actggttgta	atccggggaa	cccctctgga	900
gcttttggtc	ccaggcctat	gcttgagaga	atttcagatc	tgtgcaaaaa	tgtggtgca	960
tggcttgtgg	ttgacaatac	ctatgaatac	tttatgtatg	atggaatgga	gcactattgc	1020
ttagaagata	ctcatattgt	caacctcttc	tcattctcaa	aggcttatgg	aatgatgggg	1080
tggcgtgtag	gatacattgc	atttccaaat	gaagctgatg	gcttccacga	tcagctcctc	1140
aaagtgcaag	acaacatacc	tatctgtgcc	tccatcatcg	ggcagcgctc	ggcgctctac	1200
tcaactggagg	ctggccccga	gtggatcaaa	gaaagggtga	aagacttggg	gaaaaaccga	1260
gcactgctcg	tggaggcgct	gtccccgctc	ggtgaggaca	atgtgaaggg	cggggagggc	1320
gccatctacc	tctctgccaa	actgccggac	aactgctcca	acgattttga	agttgtcagg	1380
tggcttgcaa	acaagcacgg	tgtcgctgtg	atccctggca	gcgccagtgg	agggcccgga	1440
tacatccgcg	tctccttcgg	agggtcacia	gaagaagaca	ccaggctcgc	tgtgagagg	1500
ctaaggcgcg	gcttgccagg	gctgggtgact	gatggaatgg	tacagtaa		1548

Número de secuencia (ID): 13

Longitud: 1548

Tipo de molécula: ARN

Localización de los rasgos/Calificadores:

- 5 - fuente, 1..1548
 - > mol_type, ARNm
 - > organismo, Sorgo bicolor
- variación, 1334
- variación, 1335

10 **Residuos:**

```
atggttcacg  ggcctccgc  gacaacgcaa  ttcattgcgcg  ccgcgacgca  gcagcagcag  60
caaggaaagg  accgcgtgcc  cgtgggcgcc  ggtcgacaaa  aacctcctcg  cccccggagg  120
```

```

ggcatcggat ccagccgaac cgcagcgtgt acgaccgcgg agcggcaagc ggcgcgaccc 180
gaacccgacg cgagctgccc gggcgcaccg gcagtcgggc ctctgtcttc tgcattgggt 240
cgcgatccaa atcctgggag gctctcctgt cttctctggc tatccgaaca gttcttgctt 300
cctcttgagg gagggctgca gcctgcaccc tgcaggggag agagagcagg aggggacgga 360
gacatgggta gcttcgctaa gctggcgaag agggcggtgg agacggacgc gccggtcatg 420
gtgaagatac aagaactgct tcgaggggcc acggatgtca tgtcgcttgc gcaggaggtt 480
gtttactggc aacctcctga gtcagctctg gataagatcg aaaaaatcgt cagggaacca 540
acagtcagta agtatggttc tgatgatgga cttcctgagc ttcgagaagc acttctcgaa 600
aagctacgca gagagaataa gcttaccaag tcatcagtc tggtcactgc tggtgcaaat 660
caggcttttg tgaacttggc cctcactctt tgtgatgctg gtgattctgt tgtcatgttt 720
gcaccatatt atttcaatgc ctacatgtca ttccagatga cagggtgttac tgacatatta 780
attggtgggt gcgatcccaa gacacttcat cctgatgttg attggttga gaaggttctg 840
aaagaaaatg accctatccc taaacttggt actggtgtga atccggggaa cccctctgga 900
gcttttggtc ccaggcctat gcttgagaga atttcagatc tgtgcaaaaa tgctgggtgca 960
tggcttgtgg ttgacaatac ctatgaatac tttatgtatg atggaatgga gcactattgc 1020
ttagaagata ctcatattgt caacctcttc tcattctcaa aggcttatgg aatgatgggg 1080
tggcgtgtag gatacattgc atttccaaat gaagctgatg gcttccacga tcagctcctc 1140
aaagtgcaag acaacatacc tatctgtgcc tccatcatcg ggcagcgctt ggcgctctac 1200
tacttgagg ctggccccga gtggatcaaa gaaaggggtg aagacttggg gaaaaaccga 1260
gcactgctcg tggaggcgct gtccccgctc ggtgaggaca atgtgaaggg cggggagggc 1320
gccatctacc tctccgccaa actgcggac aactgctcca acgattttga agttgtcagg 1380
tggcttgcaa acaagcacgg tgtcgctgtg atccctggca gcgccagtgg agggccccga 1440
tacatccgct tctccttcgg agggctcaaa gaagaagaca ccaggctcgc tgctgagagg 1500
ctaaggcgcg gcttgagga gctgggtgact gatggaatgg tacagtaa 1548

```

Número de secuencia (ID): 14

Longitud: 1548

Tipo de molécula: ARN

5 Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..1548

> mol_type, ARNm

> organismo, Sorgo bicolor

- variación, 1335

10 - variación, 1334

Residuos:

atggttcacg	gcgcctccgc	gacaacgcaa	ttcatgcgcg	ccgcgacgca	gcagcagcag	60
caaggaaagg	accgcgtgcc	cgtgggcgcc	ggtcgacaaa	aacctcctcg	cccccgagg	120
ggcatcggat	ccagccgaac	cgcagcgtgt	acgaccgcgg	agcggaagc	ggcgcgaccc	180
gaacccgacg	cgagctgccc	gggcgcaccg	gcagtcgggc	ctcgtgcttc	tgcattgggt	240
cgcgatccaa	atcctgggag	gctctcctgt	cttctctggc	tatccgaaca	gttcttgctt	300
cctcttgag	gagggctgca	gcctgcaccc	tgcaggggag	agagagcagg	aggggacgga	360
gacatgggta	gcttcgctaa	gctggcgaag	agggcggtgg	agacggacgc	gccggtcatg	420
gtgaagatac	aagaactgct	tcgaggggcc	acggatgtca	tgtcgcttgc	gcagggagtt	480
gtttaactggc	aacctcctga	gtcagctctg	gataagatcg	aaaaaatcgt	cagggaacca	540
acagtcagta	agtatggttc	tgatgatgga	cttcctgagc	ttcgagaagc	acttctcgaa	600
aagctacgca	gagagaataa	gcttaccgaag	tcatcagtca	tggtcactgc	tggtgcaaat	660
caggcttttg	tgaacttggg	cctcactctt	tgtgatgctg	gtgattctgt	tgtcatgttt	720
gcaccatatt	atttcaatgc	ctacatgtca	ttccagatga	cagggtgttac	tgacatatta	780
attggtgggt	gcgatcccaa	gacacttcat	cctgatgttg	attggttgga	gaagggtctg	840
aaagaaaatg	acctatccc	taaacttggt	actggttgga	atccggggaa	cccctctgga	900
gcttttggtc	ccaggcctat	gcttgagaga	atttcagatc	tgtgcaaaaa	tgctggtgca	960
tggcttggtg	ttgacaatac	ctatgaatac	tttatgtatg	atggaatgga	gcactattgc	1020
ttagaagata	ctcatattgt	caacctcttc	tcattctcaa	aggcttatgg	aatgatgggg	1080
tggcgtgtag	gatacattgc	atttccaaat	gaagctgatg	gcttccacga	tcagctcctc	1140
aaagtgcagg	acaacatacc	tatctgtgcc	tccatcatcg	ggcagcgcc	ggcgctctac	1200
tcaactggagg	ctggccccga	gtggatcaaa	gaaagggtga	aagacttggt	gaaaaaccga	1260
gcactgctcg	tggaggcgct	gtccccgctc	ggtgaggaca	atgtgaaggg	cggggagggc	1320
gccatctacc	tctcagccaa	actgccggac	aactgctcca	acgattttga	agttgtcagg	1380
tggcttgcaa	acaagcacgg	tgtcgtgtg	atccctggca	gcgccagtgg	aggccccgga	1440
tacatccgcg	tctccttcgg	agggtcaaa	gaagaagaca	ccaggctcgc	tgctgagagg	1500
ctaaggcgcg	gcttgcagga	gctggtgact	gatggaatgg	tacagtaa		1548

Número de secuencia (ID): 15**5 Longitud: 1548****Tipo de molécula: ARN****Localización de los rasgos/Calificadores:****- fuente, 1..1548****> mol_type, ARNm**

> organismo, Sorgo bicolor

- variación, 1333

- variación, 1335

Residuos:

5	atggttcacg	gcgcctccgc	gacaacgcaa	ttcatgcgcg	ccgcgacgca	gcagcagcag	60
	caaggaaagg	accgcgtgcc	cgtgggcgcc	ggtcgacaaa	aacctcctcg	cccccgagg	120
	ggcatcgat	ccagccgaac	cgcagcgtgt	acgaccgcgg	agcggcaagc	ggcgcgaccc	180
	gaacccgacg	cgagctgccc	gggcgcaccg	gcagtcgggc	ctcgtgcttc	tgcattgggt	240
	cgcgatccaa	atcctgggag	gctctcctgt	cttctctggc	tatccgaaca	gttcttgctt	300
	cctcttgag	gagggctgca	gcctgcaccc	tgcaggggag	agagagcagg	aggggacgga	360
	gacatgggta	gcttcgctaa	gctggcgaag	agggcggtgg	agacggacgc	gccggtcatg	420
	gtgaagatac	aagaactgct	tcgaggggcc	acggatgtca	tgtcgcttgc	gcaggagatt	480
	gtttactggc	aacctcctga	gtcagctctg	gataagatcg	aaaaaatcgt	cagggaacca	540
	acagtcagta	agtatggttc	tgatgatgga	cttcctgagc	ttcgagaagc	acttctcgaa	600
	aagctacgca	gagagaataa	gcttaccgaag	tcatacgtca	tggctactgc	tggtgcaaat	660
	caggcttttg	tgaacttggg	cctcactcct	tgtgatgctg	gtgattctgt	tgtcatgttt	720
	gcaccatatt	atttcaatgc	ctacatgtca	ttccagatga	caggtgttac	tgacatatta	780
	attggtgggt	gcgatcccaa	gacacttcat	cctgatgttg	attggttggg	gaagggttctg	840
	aaagaaaatg	accctatccc	taaacttggt	actgttggtg	atccggggaa	cccctctgga	900
	gcttttggtc	ccaggcctat	gcttgagaga	atttcagatc	tgtgcaaaaa	tgtggtgca	960
	tggcttggtg	ttgacaatac	ctatgaatac	tttatgtatg	atggaatgga	gcactattgc	1020
	ttagaagata	ctcatattgt	caacctcttc	tcattctcaa	aggcttatgg	aatgatgggg	1080
	tggcgtgtag	gatacattgc	atttccaaat	gaagctgatg	gcttccacga	tcagctcctc	1140
	aaagtgcaag	acaacatacc	tatctgtgcc	tccatcatcg	ggcagcgctc	ggcgtctctac	1200
	tactggagg	ctggccccga	gtggatcaaa	gaaaggggtg	aagacttggg	gaaaaaccga	1260
	gactgctcg	tggaggcgct	gtccccgctc	ggtgaggaca	atgtgaaggg	cggggaggggc	1320
	gccatctacc	tcagtgccaa	actgccggac	aactgctcca	acgattttga	agttgtcagg	1380
	tggcttgcaa	acaagcacgg	tgtcgtctgt	atccctggca	gcgccagtgg	agggccccgga	1440
	tacatccgcg	tctccttcgg	agggtcctaa	gaagaagaca	ccaggctcgc	tgtctgagagg	1500
	ctaaggcgcg	gcttgccagga	gctggtgact	gatggaatgg	tacagtaa		1548

Número de secuencia (ID): 16

Longitud: 1548

Tipo de molécula: ARN

Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..1548

> mol_type, ARNm

> organismo, Sorgo bicolor

5 - variación, 1333

- variación, 1335

Residuos:

atggttcacg	gcgcctccgc	gacaacgcaa	ttcatgcgcg	ccgcgacgca	gcagcagcag	60
caaggaaagg	accgcgtgcc	cgtgggcgcc	ggtcgacaaa	aacctcctcg	cccccgagg	120
ggcatcgat	ccagccgaac	cgcagcgtgt	acgaccgcgg	agcggcaagc	ggcgcgaccc	180
gaacccgacg	cgagctgccc	gggcgcaccg	gcagtcgggc	ctcgtgcttc	tgcattgggt	240
cgcgatccaa	atcctgggag	gctctcctgt	cttctctggc	tatccgaaca	gttcttgctt	300
cctcttgagg	gagggtgca	gcctgcaccc	tgcaggggag	agagagcagg	aggggacgga	360
gacatgggta	gcttcgctaa	gctggcgaa	agggcggtgg	agacggacgc	gccggtcatg	420
gtgaagatac	aagaactgct	tcgaggggcc	acggatgtca	tgtcgcttgc	gcagggagtt	480
gtttactggc	aacctcctga	gtcagctctg	gataagatcg	aaaaaatcgt	cagggaacca	540
acagtcagta	agtatggttc	tgatgatgga	cttcctgagc	ttcgagaagc	acttctcgaa	600
aagctacgca	gagagaataa	gcttaccaag	tcatcagtca	tggctactgc	tggtgcaaat	660
caggcttttg	tgaacttgg	cctcactctt	tgtgatgctg	gtgattctgt	tgtcatgttt	720
gcaccatatt	atttcaatgc	ctacatgtca	ttccagatga	caggtgttac	tgacatatta	780
attggtgggt	gcgatcccaa	gacacttcat	cctgatgttg	attggttgg	gaaggttctg	840
aaagaaaatg	accctatccc	taaacttggt	actgttgtga	atccggggaa	cccctctgga	900
gcttttggtc	ccaggcctat	gcttgagaga	atttcagatc	tgtgcaaaaa	tgctggtgca	960
tggcttggtg	ttgacaatac	ctatgaatac	tttatgtatg	atggaatgga	gcactattgc	1020
ttagaagata	ctcatattgt	caacctcttc	tcattctcaa	aggttatgg	aatgatgggg	1080
tggcgtgtag	gatacattgc	atttccaaat	gaagctgatg	gcttccacga	tcagctcctc	1140
aaagtgaag	acaacatacc	tatctgtgcc	tccatcatcg	ggcagcgcc	ggcgcctctac	1200
tcactggagg	ctggccccga	gtggatcaaa	gaaaggggtga	aagacttgg	gaaaaaccga	1260
gcactgctcg	tggaggcgct	gtccccgctc	ggtgaggaca	atgtgaagg	cggggagggc	1320
gccatctacc	tcagcgccaa	actgccggac	aactgctcca	acgattttga	agttgtcagg	1380
tggcttgcaa	acaagcacgg	tgtcgctgtg	atccctggca	gcgccagtgg	aggccccgga	1440
tacatccgcg	tctccttcgg	agggctcaaa	gaagaagaca	ccaggctcgc	tgctgagagg	1500
ctaaggcgcg	gcttgagga	gctggtgact	gatggaatgg	tacagtaa		1548

10 Número de secuencia (ID): 17

Longitud: 2001

Tipo de molécula: ADN

Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..2001

5 > mol_type, ADN genómico

> organismo, Sorgo bicolor

Residuos:

tcgaggctct	tgagcgctgc	ggcgtcgcgc	acgtcttcgc	ctaccccggc	ggcacgtcca	60
tggagatcca	ccaggcactc	acccgttccc	ccgtcatcgc	caaccacctc	ttccgccacg	120
agcaagggga	ggccttcgcc	gcctctggct	tcgcgcgcctc	ctcggggcgc	gtcggcgctct	180
gcgtcgccac	ctccggcccc	ggcgccacca	acctagtctc	cgcgcctgcc	gacgcgcctgc	240
tcgaactcgt	ccccatggtc	gcatcacagg	gacaggttcc	gcggcgcatg	attggcaaccg	300
acgccttcca	ggagacgccc	atcgtcgagg	tcacccgctc	catcaccaaa	cataactacc	360
tggtcctcga	cgtcgacgac	atccccgcgc	tcgtgcagga	ggctttcttc	ctcgcctcct	420
ccggtcgccc	gggaccgggtg	cttgtcgaca	tccccaaagg	catccagcag	cagatggccg	480
tgcgggtctg	ggacacgccc	atgagtctgc	ctgggtacat	tgcgcgcctt	cccaagcctc	540
ctgcgactga	attgcttgag	cagggtgctgc	gtcttggttg	tgaatcaagg	cgcctgttct	600
tttatgttgg	tggtggctgc	gcagcatctg	gcgaggagtt	gcgcgccttt	gtggagatga	660
ctggaatccc	agtcacaact	actcttatgg	gccttggtcaa	tttccctggc	gacgacccac	720
tgtctctgcg	catgcttggt	atgcatggca	cgggtgatgc	aaattatgca	gtggataagg	780
cggatctgtt	gcttgcatth	ggtgtgcggt	ttgatgatcg	tgtgacaggg	aagattgagg	840
cttttgcaag	cagggtctaag	attgtgcaca	ttgatattga	tcccgctgag	attggcaaga	900
acaagcagcc	acatgtgtcc	atctgtgcag	acgttaagct	tgctttgcag	ggcatgaatg	960
ctcttctgga	aggaagcaca	tcaaagaaga	gctttgactt	tggctcatgg	caagctgagt	1020
tggatcagca	gaagagagag	ttcccccttg	ggtataaaac	ttttgatgac	gagatccagc	1080
cacaatatgc	tattcagggt	cttgatgagc	tgacaaaagg	ggaggccatc	attgccacag	1140
gtgttgggca	gcaccagatg	tgggcggcac	agtactacac	ttacaagcgg	ccaaggcagt	1200

```

ggttgtcttc agctggctctt ggggctatgg gatttggttt gccggctgct gctggcgctg 1260
ctgtggccaa cccaggtatc actgttggtg acatcgacgg agatggtagc ttctcatga 1320
acattcagga gctagctatg atccgaattg agaacctccc agtgaaggtc tttgtgctaa 1380
acaaccagca cctggggatg gtggtgcagt gggaggacag gttctataag gccaatagag 1440
cacacacata cttgggaaac ccagagaatg aaagtgagat atatccagat ttctgacaa 1500
ttgcaaagg gttcaacatt ccagcagtc gtgtgacaaa gaagagcgaa gtccatgcag 1560
caatcaagaa gatgcttgag actccagggc catacctctt ggatataatc gtcccgacc 1620
aggagcatgt gttgcctatg atccctagt gtggggcttt caaggatatg atcctggatg 1680
gtgatggcag gactgtgtat tgatctaaat ttcagcatgc acatctccct gcctttcttt 1740
gacatgcata tgagctggtg caagggtgat gtgttattta tgtgatgttc tctgtgttc 1800
tatctttttg taagccgtca gctatctata gtgtgcttgt ttgatgtact ctgttatggg 1860
aatcttaagt agtttcctac cttgtagtgg tgtagtctgt tgtttcgtgc tggcatatct 1920
gtcatcagag gtcattgtaag tgccttttgc tacagataaa taaggaaata agcattgcta 1980
tgcagtgggt ctgtacgcct c 2001

```

Número de secuencia (ID): 18

Longitud: 737

Tipo de molécula: AA

5 Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..737

> mol_type, proteína

> organismo, Sorgo bicolor

- VARIANTE, 93

10 Residuos:

MATTAAAAAA	ALAGATTAAP	KARRRAHLLA	ARRALAAPIR	CSAAPPATLT	VTAPPATPLR	60
PWGPTDPRKG	ADILVEALER	CGVRDVFAYP	GGTSMEIHQA	LTRSPVIANH	LFRHEQGEAF	120
AASGFARSSG	RVGVCVATSG	PGATNLVSAL	ADALLDSVPM	VAITGQVPRR	MIGTDAFQET	180
PIVEVTRSIT	KHNYLVLDVD	DIPRVVQEAF	FLASSGRPGP	VLVDIPKDIQ	QQMAVPVWDT	240
PMSLPGYIAR	LPKPPATELL	EQVLRVLGES	RRPVLYVGGG	CAASGEELRR	FVEMTGIPVT	300
TTLMGLGNFP	GDDPLSLRML	GMHGTVYANY	AVDKADLLLA	FGVRFDDRVT	GKIEAFASRA	360
KIVHIDIDPA	EIGKNKQPHV	SICADVKLAL	QGMNALLEGS	TSKKSFDGFS	WQAEELDQQKR	420
EFPLGYKTFD	DEIQPQYAIQ	VLDELTKGEA	IIATGVGQHQ	MWAAQYYTYK	RPRQWLSSAG	480
LGAMGFGLPA	AAGAAVANPG	ITVVDIDGDG	SFLMNIQELA	MIRIENLPVK	VFVLNNQHLG	540
MVVQWEDRFY	KANRAHTYLG	NPENESEIYP	DFVTIAKGFN	IPAVRVTKKS	EVHAAIKKML	600
ETPGPYLLDI	IVPHQEHVLP	MIPSGGAFKD	MILDGDGRTV	YWEDRFYKAN	RAHTYLGNP	660
NESEIYPDFV	TIAGFNIPA	VRVTKKSEVH	AAIKKMLET	GPYLLDIIVP	HQEHVLPMP	720
SGGAFKDMIL	DGDGRTV					737

Número de secuencia (ID): 19

Longitud: 737

Tipo de molécula: AA

5 Localización de los rasgos/Calificadores:

- fuente, 1..737

> mol_type, proteína

> organismo, Sorgo bicolor

Residuos:

MATTAAAAAA	ALAGATTAAP	KARRRAHLLA	ARRALAAPIR	CSAAPPATLT	VTAPPATPLR	60
PWGPTDPRKG	ADILVEALER	CGVRDVFAYP	GGASMEIHQA	LTRSPVIANH	LFRHEQGEAF	120
AASGFARSSG	RVGVCVATSG	PGATNLVSAL	ADALLDSVPM	VAITGQVPRR	MIGTDAFQET	180
PIVEVTRSIT	KHNYLVLDVD	DIPRVVQEAF	FLASSGRPGP	VLVDIPKDIQ	QQMAVPVWDT	240
PMSLPGYIAR	LPKPPATELL	EQVLRVLGES	RRPVLYVGGG	CAASGEELRR	FVEMTGIPVT	300
TTLMGLGNFP	GDDPLSLRML	GMHGTVYANY	AVDKADLLLA	FGVRFDDRVT	GKIEAFASRA	360
KIVHIDIDPA	EIGKNKQPHV	SICADVKLAL	QGMNALLEGS	TSKKSFDGFS	WQAEELDQQKR	420
EFPLGYKTFD	DEIQPQYAIQ	VLDELTKGEA	IIATGVGQHQ	MWAAQYYTYK	RPRQWLSSAG	480
LGAMGFGLPA	AAGAAVANPG	ITVVDIDGDG	SFLMNIQELA	MIRIENLPVK	VFVLNNQHLG	540
MVVQWEDRFY	KANRAHTYLG	NPENESEIYP	DFVTIAKGFN	IPAVRVTKKS	EVHAAIKKML	600
ETPGPYLLDI	IVPHQEHVLP	MIPSGGAFKD	MILDGDGRTV	YWEDRFYKAN	RAHTYLGNP	660
NESEIYPDFV	TIAGFNIPA	VRVTKKSEVH	AAIKKMLET	GPYLLDIIVP	HQEHVLPMP	720
SGGAFKDMIL	DGDGRTV					737