



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 108751

(13) C2

(51) МПК

C12N 9/88 (2006.01)

C12N 15/82 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(21) Номер заявки:	а 2012 11937	(72) Винахідник(и):	Вантігем Херве (DE), Пфеннінг Маттіас (DE), Бремер Хаген (DE), Келер Рон (CA), Шюнхаммер Альфонс (DE)
(22) Дата подання заявки:	17.03.2011	(73) Власник(и):	БАСФ АГРОКЕМІКАЛ ПРОДАКТС Б.В., Gebouw Rijnpoort, Groningsingel 1, NL- 6835 EA Arnhem, The Netherlands (NL)
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.06.2015	(74) Представник:	Пахаренко Антоніна Павлівна, реєстр. №4
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/314,901, 61/410,802, 61/417,132	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	WO 2009046334 A1, 09.04.2009 US 5434283 A, 18.07.1995 RAY K ET AL: "Mutant acetolactate synthase gene is an efficient in vitro selectable marker for the genetic transformation of Brassica juncea (oilseed mustard)", JOURNAL OF PLANT PHYSIOLOGY, FISCHER, STUTTGART, DE, vol. 161, no. 9, 20.09.2004, pages 1079-1083.
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	17.03.2010, 05.11.2010, 24.11.2010		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US, US, US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	26.11.2012, Бюл.№ 22		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.06.2015, Бюл.№ 11		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/IB2011/000704, 17.03.2011		

(54) СПОСІБ БОРОТЬБИ З БУР'ЯНАМИ В ОЗИМІЙ КУЛЬТУРІ BRASSICA

(57) Реферат:

Даний винахід забезпечує спосіб боротьби з бур'янами в озимій культурі Brassica та толерантні до гербіцидів озимі рослини Brassica. Спосіб включає здійснення обробки толерантної до гербіцидів (HT) рослини Brassica вищезгаданої культури шляхом внесення гербіцидної композиції, яка містить сульфонілсечовину(и) (SU). Вищезгадана обробка може бути післясходовою обробкою, передсходовою обробкою або передпосівною обробкою. Рослини згідно з винаходом експресують фермент AHAS, який є толерантним до дії одного або кількох інгібіторів ферменту AHAS. Зокрема, вищезгадані рослини Brassica містять принаймні один толерантний до гербіцидів ген AHASL (HT-AHASL), причому лише один з генів HT-AHASL у рослині кодує мутацію толерантності до сульфонілсечовинного гербіциду (SU-HT), яка є W574X, і є геном моно-SU-HT-AHASL, який необов'язково може кодувати іншу(и) HT-мутацію(ї), і вищезгаданий ген моно-SU-HT-AHASL розташовується у геномі А вищезгаданої рослини Brassica.

UA 108751 C2

ПЕРЕХРЕСНЕ ПОСИЛАННЯ НА СПОРІДНЕНІ ЗАЯВКИ

Ця заявка заявляє пріоритет попередніх патентних заявок США № 61/314,901, поданої 17 березня 2010 р.; № 61/410,802, поданої 5 листопада 2010 р.; та № 61/417,132, поданої 24 листопада 2010 р., зміст яких включено до цього опису шляхом посилання у повному обсязі.

РІВЕНЬ ТЕХНІКИ

Синтаза ацетогідроксиациду (AHAS; EC 4.1.3.18) є першим ферментом, який каталізує біохімічний синтез розгалужених амінокислот валіну, лейцину та ізолейцину (Singh B.K., 1999 Biosynthesis of valine, leucine, and isoleucine in: Singh B.K. (Ed) Plant amino acids. Marcel Dekker Inc. New York, N.Y. Pg 227-247). AHAS є місцем дії чотирьох різних за структурою груп гербіцидів, які включають сульфонілсечовини (LaRossa R A and Falco S C, 1984 Trends Biotechnol. 2:158-161), імідазолінони (Shaner et al., 1984 Plant Physiol. 76:545-546), триазолопіримідини (Subramanian and Gerwick, 1989 Inhibition of acetolactate synthase by triazolopyrimidines in (ed) Whitaker J R, Sonnet P E Biocatalysis in agricultural biotechnology. ACS Symposium Series, American Chemical Society. Washington, D.C. Pg 277-288) та піримідинілбензоати (Subramanian et al., 1990 Plant Physiol 94: 239-244.). Гербіциди імідазолінон (IMI) та сульфонілсечовина (SU) широко застосовуються у сучасному сільському господарстві завдяки їхній ефективності у дуже малій кількості внесення та відносній нетоксичності для тварин. Через інгібування активності AHAS ці групи гербіцидів запобігають подальшому росту та розвитку чутливих до них рослин, включаючи багато видів бур'янів.

Толерантну до імідазолінону канолу було виведено через мутагенез та селекцію з застосуванням імідазолінонових гербіцидів (S. Tan et al., Pest Management Science 61, 2005, 246). Комерційні сорти виводили на основі двох найбільш толерантних мутантів, PM1 та PM2, і вони у даний час продаються на ринку під торговою маркою Clearfield®. Відомо, що PM1 є толерантним лише до імідазолінонів, а PM2 має перехресну толерантність як до імідазолінонів, так і до сульфонілсечовин.

Хоча мутантний ген PM2 може забезпечувати певний рівень толерантності до гербіцидів імідазолінону та/або сульфонілсечовини, рослини олійного рапсу (OSR), про які на даний час відомо і які містять єдиний мутантний ген PM2, демонструють недостатню толерантність до SU-гербіцидів. Наприклад, було виявлено, що застосування тифенсульфурону для ярового сорту B. napus, що містить PM-мутантний ген, 45A77, призводить до зниження біомаси канолу, симптомів гербіцидного пошкодження або затримки визрівання (R. Degenhardt et al., Weed Technology 19, 2005, 608).

Крім того, на ринку є чотири озимі лінії олійного рапсу (WOSR), які серед спеціалістів у даній галузі вважаються такими, що забезпечують толерантність до присутніх залишків сульфонілсечовинних гербіцидів у ґрунті, які переносяться від попередніх культур пшениці або гороху. Цими чотирма лініями є сорт B. napus "Sumner" від Канзаського державного університету; лінії Roundup Ready DKW46-5 та DKW47-15 від DeKalb; та лінія Roundup Ready HyClass 115W від Croplan Genetics.

Однак було виявлено, що толерантні до перенесення рослини WOSR демонструють обмежену толерантність до залишків SU-гербіцидів у ґрунті, присутніх у кількості, яка перевищує рівень перенесення, тобто, перевищує залишкову концентрацію приблизно 0,5х, яка залишається від внесеної дози гербіциду. Таким чином, у галузі залишається потреба у озимих рослинах Brassica, які б демонстрували толерантність до сульфонілсечовинних гербіцидів у кількості, більшій за рівень перенесення.

КОРОТКИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

Даний винахід забезпечує толерантні до гербіцидів (HT) озимі рослини Brassica, які експресують один або кілька толерантних до гербіцидів генів AHASL, та способи застосування таких рослин. Несподівано було виявлено, що толерантні до гербіцидів озимі рослини Brassica згідно з винаходом, які містять один ген AHASL або його частину, що кодує PM2 або подібні мутації, не інгібують значні пошкодження при контакті з кількістю SU-гербіциду, яка зазвичай викликає значне пошкодження нетолерантної рослини. Наприклад, при контакті з 1х SU-гербіциду за шкалою від 1 до 10, у якій 1 означає відсутність видимого пошкодження, а 10 означає загибель рослини, толерантна до гербіцидів рослина Brassica демонструє показник 1.

Даний винахід ґрунтується на несподіваному виявленні того факту, що озимі сорти Brassica (на прикладі озимих ліній олійного рапсу (WOSR), тобто, озимої канолу B. napus), які містять мутантні гени AHAS, які забезпечують толерантність до імідазолінону, або які містять мутантний ген AHAS, який зазвичай забезпечує недостатню толерантність до SU-гербіциду, наприклад, у ярових OSR, демонструють комерційно прийнятний рівень толерантності до певних сульфонілсечовинних гербіцидів, тобто, підгрупи сульфонілсечовинних гербіцидів. Однак у разі присутності таких самих генів у ярових типах таких самих культур Brassica, навіть якщо вони

забезпечують комерційно прийнятний рівень толерантності до імідазолінонового гербіциду, ці культури виявляються сприйнятливими до такого комерційного рівня сульфонілсечовинних гербіцидів.

Несподівано високий рівень толерантності до SU-гербіцидів, який демонструється озимими рослинами Brassica згідно з винаходом, може траплятися, коли потрібний толерантний до гербіцидів ген AHASL є присутнім у геномі Brassica A, в оптимальному варіанті – у разі, коли такий ген HT-AHASL є варіантом природного AHASL-локусу геному A рослини і розташовується в ньому. У деяких варіантах втілення такий HT-AHASL є одержаним шляхом мутагенезу, наприклад, випадкового мутагенезу AHASL геному A Brassica. Коли потрібний толерантний до гербіцидів ген AHASL є присутнім лише у геномі, відмінному від геному A Brassica, озимі рослини Brassica виявляються сприйнятливими до SU-гербіцидів, які застосовують на комерційному рівні. Ярові типи тих самих культур Brassica, які мають потрібний толерантний до гербіцидів ген AHASL у геномі A Brassica, також виявляються сприйнятливими до такого рівня SU-гербіцидів.

До толерантних до гербіцидів озимих рослин Brassica згідно з даним винаходом можуть належати рослини Brassica, які мають принаймні один толерантний до гербіцидів ген AHASL (HT-AHASL), причому лише один з генів HT-AHASL у рослині кодує мутацію толерантності до сульфонілсечовинного гербіциду (SU-HT), вибрану з-поміж P197X та W574X, і є геном моно-SU-HT-AHASL, який необов'язково може кодувати іншу(і) HT-мутацію(ї), і вищезгаданий ген моно-SU-HT-AHASL розташовується у геномі A вищезгаданої рослини Brassica. Озимі рослини Brassica згідно з даним винаходом, які мають такий ген моно-SU-HT-AHASL, також можуть включати у будь-якому геномі другий ген HT-AHASL, який не кодує заміщення P197X або W574X, але кодує інше HT-заміщення, наприклад, іншу HT-мутацію. Наприклад, озимі рослини Brassica згідно з даним винаходом, які мають ген HT-AHASL, який гомозиготно, гемізиготно або гетерозиготно кодує W574L у геномі A, також може мати другий ген HT-AHASL у геномі C Brassica, наприклад, ген AHAS, який кодує мутацію S653N.

Даний винахід забезпечує способи застосування таких толерантних до гербіцидів озимих рослин Brassica, включаючи способи боротьби з бур'янами, способи відбору толерантних до гербіцидів озимих рослин Brassica та способи забезпечення захисту врожаю для озимої культури Brassica. Ці способи можуть включати здійснення передсходової обробки або післясходової гербіцидної обробки толерантних до гербіцидів озимих рослин Brassica згідно з винаходом.

КОРОТКИЙ ОПИС ФІГУР

Фіг. 1 представляє часткову нуклеотидну послідовність (SEQ ID NO:1) гена AHASL B. napus, який кодує мутацію PM2 (BnAHASL1A_PM2).

Фіг. 2 представляє часткову нуклеотидну послідовність (SEQ ID NO:2) AHASL B. napus, яка кодує мутацію PM1 (BnAHASL1C_PM1).

Фіг. 3 представляє часткову амінокислотну послідовність (SEQ ID NO:3) гена AHASL B. Napus, який має мутацію PM2 (BnAHASL1A_PM2).

Фіг. 4 представляє часткову амінокислотну послідовність (SEQ ID NO:4) AHASL B. napus, яка має мутацію PM1 (BnAHASL1C_PM1).

Фіг. 5 представляє другу нуклеотидну послідовність (SEQ ID NO:5) гена AHASL Brassica, який кодує мутацію PM2 (AHASL1A_PM2).

Фіг. 6 представляє другу амінокислотну послідовність (SEQ ID NO:6) AHASL Brassica, яка має мутацію PM2 (AHASL1A_PM2).

Фіг. 7 є графіком, який показує ферментну активність AHAS у присутності імідазолінонового гербіциду.

Фіг. 8 є графіком, який показує ферментну активність AHAS у присутності сульфонілсечовинного гербіциду.

ДЕТАЛЬНИЙ ОПИС ВИНАХОДУ

Визначення

У контексті даного опису застосовуються стандартні однолітерні скорочення для амінокислот, наприклад, A означає аланін, P означає пролін, W означає триптофан, X означає будь-яку амінокислоту, і т. д. Мутації порівняно з послідовністю дикого типу позначаються вказуванням амінокислоти дикого типу та позиції з наступним вказуванням амінокислоти, присутньої у мутанті. Наприклад, P197X застосовують для вказування, що пролін у позиції 197 може бути заміщений будь-якою амінокислотою.

У контексті даного опису позиції амінокислот стосуються поліпептиду великої субодиниці пластидних ферментів AHAS Brassica (AHASL). Вказані авторами позиції амінокислот в AHASL Brassica нумеруються згідно з прийнятою у галузі стандартною нумерацією залишків, які

відповідають залишкам у послідовності AHASL *Arabidopsis thaliana* (At), і можуть мати позначку (At). Наприклад, P197(At) стосується пролінового залишку у позиції в AHASL *Brassica*, яка відповідає пролінові у позиції 197 AHASL *Arabidopsis thaliana*.

У контексті даного опису "толерантна" або "толерантна до гербіцидів" означає рослину або її частину, здатну рости у присутності кількості гербіциду, яка зазвичай викликає пригнічення росту нетолерантної (наприклад, дикої) рослини або її частини. Значення рівня гербіцидів, який зазвичай пригнічує ріст нетолерантної рослини, є відомими й легко визначаються спеціалістами у даній галузі. Прикладами можуть бути значення кількості, рекомендовані для внесення виробниками. Максимальним показником є приклад кількості гербіциду, який зазвичай пригнічує ріст нетолерантної рослини.

У контексті даного опису "толерантна до гербіцидів (HT) AHASL" стосується поліпептиду AHASL, який експресується з одного алеля HT AHASL гена AHASL у рослинній клітині та/або з будь-якого або обох гомологічних алелів одного гена HT AHASL, тобто, в тому самому геномі рослинної клітини, завдяки чому HT-AHASL може забезпечувати гербіцидну толерантність рослинної клітини до ферменту AHAS. Ген HT-AHASL може бути рекомбінантним або може бути одержаний шляхом застосування процесу мутагенезу, процесу розведення або іншого процесу, відомого спеціалістам у даній галузі. Такий ген може бути гемізиготним, гетерозиготним або гомозиготним.

У контексті даного опису "AHAS" та "AHASL" відповідно означають функціональні, пластидні ферменти AHAS та їх поліпептиди AHASL, тобто, ті, які функціонують у клітинах рослин *Brassica*, як описано авторами. Подібним чином такі терміни, як "ген" та "полінуклеотид", якщо вживаються у зв'язку з тими, що кодують такі "AHAS" та "AHASL", стосуються функціональних генів для них, тобто, генів, які можуть експресуватися в такій клітині.

Вжиті стосовно гербіцидів, які застосовуються у різних варіантах втілення, такі терміни, як інгібітор AHAS, інгібітор ACCази, інгібітор PPO, інгібітор EPSPS, імідазоліон, сульфонілсечовина і т. ін., стосуються агрономічно прийнятих гербіцидно активних інгредієнтів (A.I.), визнаних у даній галузі. Подібним чином такі терміни, як фунгіцид, нематодцид, пестицид і т. ін., стосуються інших агрономічно прийнятих активних інгредієнтів, визнаних у даній галузі.

Вжиті стосовно конкретного мутантного ферменту або його мутантного поліпептиду, такі терміни, як "толерантна до гербіцидів" (HT) та "толерантність до гербіцидів" стосуються здатності такого ферменту (або здатності поліпептиду надавати ферментові здатності) переносити активний інгредієнт гербіциду, який зазвичай інактивує або інгібує активність дикого (немутантного) варіанта вищезгаданого ферменту. При конкретному застосуванні до ферменту AHAS або поліпептиду AHASL, він конкретно стосується здатності переносити інгібітор AHAS. Класи інгібіторів AHAS включають сульфонілсечовини, імідазоліони, триазолопіримідини, сульфоніламінокарбонілтриазоліони та піримідинілбензоати.

У контексті даного опису "рекомбінантний" означає організм, який має генетичний матеріал з різних джерел в результаті застосування людиною рекомбіногенної технології.

У контексті даного опису "мутагенізований" означає організм, який має змінений генетичний матеріал порівняно з генетичним матеріалом відповідного організму дикого типу, причому зміни у генетичному матеріалі було викликано та/або вибрано під дією людини. Прикладами дій людини, які можуть застосовуватися для одержання мутагенізованого організму, можуть бути, крім інших, культивування культури рослинних клітин (наприклад, калюсу) у сублетальній концентрації гербіцидів (наприклад, сульфонілсечовинних гербіцидів), обробка рослинних клітин хімічним мутагеном та наступний відбір з гербіцидами (наприклад, сульфонілсечовинними гербіцидами); або обробка рослинних клітин рентгеновськими променями та наступний відбір гербіцидами (наприклад, сульфонілсечовинними гербіцидами). Для викликання мутацій може застосовуватися будь-який спосіб, відомий спеціалістам у даній галузі. Способи викликання мутацій можуть викликати мутації у випадкових позиціях у генетичному матеріалі або можуть викликати мутації у конкретних місцях у генетичному матеріалі (тобто, можуть бути способами спрямованого мутагенезу).

У контексті даного опису "генетично модифікований організм" (ГМО) є організмом, генетичні характеристики якого було змінено людськими зусиллями для вставлення генетичного матеріалу з іншого організму-джерела або його потомства, що зберігає вставлений генетичний матеріал. Організм-джерело може належати до іншого типу організму (наприклад, може бути ГМО-рослиною, яка містить бактеріальний генетичний матеріал) або з того самого типу організму (наприклад, ГМО-рослини, яка може містити генетичний матеріал з іншої рослини). У контексті даного опису "рекомбінантний" та "ГМО" вважаються синонімами і означають присутність генетичного матеріалу з іншого джерела, тоді, як "мутагенізований" означає змінений генетичний матеріал з відповідного організму дикого типу, але без генетичного

матеріалу з іншого організму-джерела.

У контексті даного опису "дикий тип" або "відповідна рослина дикого типу" означає типову форму організму або його генетичного матеріалу, у його звичній формі, на відміну, наприклад, від мутагенізованої та/або рекомбінантної форм.

5 У контексті даного опису викликаюча толерантність до гербіциду мутація або "НТ-мутація" означає зміну амінокислотної послідовності ферменту AHASL, що забезпечує толерантність до одного або кількох гербіцидів (тобто, сульфонілсечовинних гербіцидів, імідазолінонових гербіцидів і т. ін.).

10 У деяких варіантах втілення НТ-мутація може бути "SU-НТ-мутацією", тобто, мутацією, вибраною з групи, до якої належать P197X та W574X. У деяких варіантах втілення SU-НТ-мутація може бути вибраною з групи, до якої належать P197S, P197A, P197E, P197L, P197Q, P197R, P197S, P197V, P197W, P197Y, P197I, P197H, P197C та P197G. В інших варіантах втілення SU-НТ-мутація може бути вибраною з групи, до якої належать P197S, P197L та P197T. У деяких варіантах втілення SU-НТ-мутація може бути вибраною з групи, до якої належать W574L, W574M, W574C, W574S, W574R, W574G, W574A, W574F, W574Q та W574Y. У деяких

15 варіантах втілення SU-НТ-мутація може включати W574L.
У деяких варіантах втілення НТ-мутація може бути "іншою НТ-мутацією". У контексті даного опису "інша НТ-мутація" є зміною в амінокислотній послідовності ферменту AHASL, яка забезпечує толерантність до одного або кількох гербіцидів (тобто, сульфонілсечовинних гербіцидів, імідазолінонових гербіцидів і т. ін.), причому зміна відбувається у позиції, відмінній від проліну 197 або триптофану 574. Нижче у Таблиці 1 представлено перелік можливих місць інших НТ-мутацій, допустимих заміщень, бажаних заміщень та найкращих заміщень. X означає будь-яку амінокислоту.

Таблиця 1

Інші НТ-мутації

д. т. (At)	Допустиме заміщення	Бажане заміщення	Найкраще заміщення
G121	X	N SAD	
A122	X	TV DPY (або X)	TV
M124	X	E I	
R142	X	K	
V196	X	M	
R199	X	AE	AE
T203	X	I	
A205	X	V CDERTWYN	V
F206	X	RAHWY	
K256	X	DENPTG	
M351	X	CKVGPQY	
H352	X	FMQ	
R373	X	F	
D375	X	NAE	
D376	X	EVN GPSWAC	
R377	X	K	
M570	X	ANC	
V571	X	ACNYIQSW	
F578	X	CGLNRDEIKPSW	
S653	X	N IFT	N
G654	X	QCED	E

25 У деяких варіантах втілення інші НТ-мутації можуть бути вибраними з групи, до якої належать A122X, R199X, A205X, S653X та G654X та їх комбінації. В інших варіантах втілення інші НТ-мутації можуть бути вибраними з групи, до якої належать A122T, A122V, A122D, A122P, A122Y, R199A, R199E, A205V, A205C, A205D, A205E, A205R, A205T, A205W, A205Y, A205N, S653N, S653I, S653F, S653T, G654Q, G654C, G654E, G654D та їх комбінації. У деяких варіантах втілення інші НТ-мутації можуть бути вибраними з групи, до якої належать A122T, A122V, R199A, R199E, A205V, S653N, G654E та їх комбінації.

30 Рослини

Джерела корисних пластидних генів AHASL можуть забезпечуватися з будь-якої з представлених нижче перелічених у Таблиці 2 депонованих ліній клітин *Brassica napus* (Bn) та *Brassica juncea* (Bj), у яких їхні алелі толерантної до інгібітора AHAS (HT) великої субодиниці AHAS (AHASL) називаються, як показано нижче, де остання літера позначає геном *Brassica* (A, B або C), для якого алель є природним: BnAHASL1A або BnAHASL1C для *B. napus*, і BjAHASL1A або BjAHASL1B для *B. juncea*. Слід зазначити, що позиції мутації AHASL вказуються з посиланням на стандартизовану прийняту у галузі номенклатуру, за якою пластидний поліпептид AHASL *Arabidopsis thaliana* (At) представляє стандарт для нумерації позицій залишків.

Таблиця 2

Приклади джерел корисних генів AHASL лінії *Brassica*

Патент США № 5,545,821, виданий Wong et al.				
Назва лінії	Вид	Депоновано в ATCC	Алель AHAS	Мутація
PM-1	B. napus	40683	BnAHASL1C	S653(At)N
PM-2	B. napus	40684	BnAHASL1A	W574(At)L
Заявка PCT № PCT/US09/58169 на ім'я Beetham et al.				
Назва лінії	Вид	Депоновано в ATCC	Алель (алелі) AHAS	Мутація(ї)
BnCL120C7	B. napus	PTA-9278	BnAHASL1A	A122(At)T
BnCL131A1	B. napus	PTA-9279	BnAHASL1A	A122(At)T+S653(At)N
BnCL140B3	B. napus	PTA-9402	BnAHASL1A	A122(At)T+S653(At)N
BnCL140C7	B. napus	PTA-9403	BnAHASL1A	A122(At)T+S653(At)N
PM1PM2/CL131A1	B. napus	PTA-10321	BnAHASL1C	S653(At)N
			BnAHASL1A	W574(At)L
			BnAHASL1A	A122(At)T+S653(At)N
Патент США № 7,355,098, виданий Yao et al.				
Назва лінії	Вид	Депоновано в ATCC	Алель AHAS	Мутація
J04E-0044	B. juncea	PTA-6324	BjAHASL1B	S653(At)N
J04E-0122	B. juncea	PTA-7944	BjAHASL1A	A122(At)T
J04E-0130	B. juncea	PTA-7945	BjAHASLIB	A122(At)T
J04E-0139	B. juncea	PTA-7946	BjAHASLIA	S653(At)N
Публікація PCT WO 2009/031031 на ім'я Yao et al.				
Назва лінії	Вид	Депоновано в ATCC	Алель (алелі) AHAS	Мутація(ї)
J05Z-07801	B. juncea	PTA-8305	BjAHASL1B	S653(At)N
			BnAHASL1A	W574(At)L

Патентні документи, зазначені в Таблиці 2, включені до цього опису в повному обсязі. Так само, як документ WO 2009/046334 Schopke et al.

Хоча для прикладу наведено озимий тип толерантних до інгібітора AHAS сортів каноли / OSR *Brassica napus*, вважається, що у різних варіантах втілення описані авторами способи застосування сульфонілсечовинних гербіцидів можуть застосовуватися з іншими комерційно цінними озимими толерантними до інгібітора AHAS видами *Brassica*, такими, як *B. oleracea*, *B. rapa*, *B. nigra* та *B. juncea*. Толерантні до інгібітора AHAS лінії *Brassica*, які описуються авторами як корисні, можуть застосовуватися для боротьби з бур'янами, прямо або непрямо, тобто, як культури для обробки гербіцидами, або як донорні лінії, що забезпечують ознаку толерантності до інгібітора AHAS для розведення, наприклад, шляхом традиційної селекції рослин, для одержання інших озимих сортових та/або гібридних культур *Brassica*, які містять таку ознаку або ознаки. Усі одержані в результаті сортові або гібридні культури, які включають спадкову ознаку або ознаки толерантності до інгібітора AHAS, можуть називатися потомством спадкових толерантних до інгібітора AHAS ліній. У разі ознак AHASL A-, B- та C-геному *Brassica* вони

можуть бути виведені у озимий вид *Brassica*, який має відповідний геном, наприклад: сорти *B. napus* (AACC), *B. juncea* (AABB), *B. oleracea* (CC), *B. rapa* (AA), *B. nigra* (BB), *B. carinata* (BBCC) та *Raphanobrassica*, які є потомством від схрещування між будь-якими з вищезгаданих видів та *Raphanus*, наприклад, сорт *Raphanobrassica* "rabbage" (RRCC) з *B. oleracea* x *Raphanus sativus* або сорт *Raphanobrassica* "raparadish" (RRAA) з *B. rapa* x *Raphanus sativus*. Серед них *B. napus*, *B. rapa* та *B. juncea* являють особливий інтерес, причому в деяких варіантах втілення перевагу віддають *B. napus*.

До рослин згідно з винаходом належать рослини, які, крім надання толерантності до сульфонілсечовини, було піддано іншим генетичним модифікаціям шляхом селекції, мутагенезу або генної інженерії, наприклад, було надано толерантності до інших конкретних класів внесених гербіцидів, таких, як ауксинових гербіцидів, дикамба або 2,4-D; відбілювальних гербіцидів, таких, як інгібітори гідроксифенілпіруватдіоксигенази (HPPD) або інгібітори фітоїндесатурази (PDS); інгібітори енолпірувіл-шикимат-3-фосфат-синтази (EPSP), такі, як гліфосат; інгібітори глутамінсинтетази (GS), такі, як глюфосинат; інгібітори протопорфіриноген-IX-оксидази; інгібітори біосинтезу ліпідів, такі, як інгібітори ацетил-CoA-карбоксилази (ACCase); або оксинілові (тобто, бромоксинілові або іюксинілові) гербіциди, в результаті застосування традиційних способів селекції або генної інженерії; крім того, толерантним до сульфонілсечовини озимим лініям олійного рапсу (озима канола) може бути надана резистентність до багатьох класів гербіцидів через множинні генетичні модифікації, наприклад, резистентність до гліфосату та глюфосинату або до гліфосату та гербіциду іншого класу, такого, як інгібітори HPPD, ауксинові гербіциди, або інгібітори ACCase. Ці технології резистентності до гербіцидів описуються, наприклад, у публікаціях *Pest Management Science* (вказується том, рік та сторінка) 61, 2005, 246; 61, 2005, 258; 61, 2005, 277; 61, 2005, 269; 61, 2005, 286; 64, 2008, 326; 64, 2008, 332; *Weed Science* 57, 2009, 108; *Australian Journal of Agricultural Research* 58, 2007, 708; *Science* 316, 2007, 1185; та наведених у них джерелах.

Крім того, також включається толерантна до сульфонілсечовини озима лінія олійного рапсу (озима канола), яка через застосування технологій рекомбінантних ДНК набуває здатності синтезувати один або кілька інсектицидних білків, зокрема, взятих з бактерій роду *Bacillus*, зокрема, *Bacillus thuringiensis*, таких, як δ -ендотоксини, наприклад, CryIa(b), CryIa(c), CryIf, CryIf(a2), CryIIa(b), CryIIIA, CryIIIB(b1) або Cry9c; вегетативні інсектицидні білки (VIP), наприклад, VIP1, VIP2, VIP3 або VIP3A; інсектицидні білки бактерій, які колонізують нематоди, наприклад, видів *Photorhabdus* або видів *Xenorhabdus*; токсини, які виробляються тваринами, такі, як токсини скорпіона, токсини павукоподібних, токсини ос або інші специфічні до комах нейротоксини; токсини, які виробляються грибами, такі, як токсини стрептоміцет; рослинні лектини, такі, як лектини гороху або ячменю; аглютиніни; інгібітори протеїнази, наприклад, інгібітори трипсину, інгібітори серинпротеази, інгібітори пататину, цистатину або папаїну; білки, які інактивують рибосоми (RIP), такі, як ризин, RIP кукурудзи, абрин, луфін, сапорин або бріодин; ферменти метаболізму стероїдів, такі, як 3-гідроксистероїд-оксидаза, екдистероїд-IDP-глікозилтрансфераза, холестерин-оксидаза, інгібітори екдизону або HMG-CoA-редуктаза; блокатори іонних каналів, такі, як блокатори натрієвих або кальцієвих каналів; естераза ювенільного гормону; рецептори діуретичних гормонів (рецептори гелікокініну); стильбенсинтаза, бібензилсинтаза, хітинази або глюканази. У контексті даного винаходу ці інсектицидні білки або токсини слід прямо розуміти також як претоксини, гібридні білки, зрізані або іншим чином модифіковані білки. Гібридні білки характеризуються новою комбінацією білкових доменів (див., наприклад, документ WO 02/015701). Інші приклади таких токсинів або генетично модифікованих рослин, здатних синтезувати такі токсини, описуються, наприклад, у документах EP-A 374 753, WO 93/007278, WO 95/34656, EP-A 427 529, EP-A 451 878, WO 03/18810 та WO 03/52073. Способи одержання таких генетично модифікованих рослин в цілому є відомими спеціалістам у даній галузі і описуються, наприклад, у вищезгаданих публікаціях. Ці інсектицидні білки, які містяться у генетично модифікованих рослинах, надають рослинам, які виробляють ці білки, толерантності до шкідників з усіх таксономічних груп членистоногих, зокрема, жуків (Coeloptera), двокрилих комах (Diptera) та молей (Lepidoptera), а також до нематод (Nematoda).

Крім того, також включається толерантна до сульфонілсечовини озима лінія олійного рапсу (озима канола), яка через застосування технологій рекомбінантних ДНК набуває здатності до синтезування одного або кількох білків для підвищення резистентності або толерантності цих рослин до бактеріальних, вірусних або грибкових патогенів. Способи одержання таких генетично модифікованих рослин в цілому є відомими спеціалістам у даній галузі.

Крім того, також включається толерантна до сульфонілсечовини озима лінія олійного рапсу (озима канола), яка через застосування технологій рекомбінантних ДНК набуває здатності до

синтезування один або кілька білків для підвищення продуктивності (наприклад, вмісту олії), стійкості до посухи, засоленості або інших обмежуючих ріст чинників середовища або толерантності до паразитів та грибкових, бактеріальних або вірусних патогенів цих рослин.

Крім того, також включається толерантна до сульфонілсечовини озима лінія олійного рапсу (озима канола), яка містить, через застосування технологій рекомбінантних ДНК, модифіковану кількість речовин у складі або має у складі нові речовини, зокрема, для поліпшення харчування тварин та людини, наприклад, олійні культури, які продукують корисні для здоров'я довголанцюгові омега-3 жирні кислоти або ненасичені омега-9 жирні кислоти (наприклад, рапс Nexera®, Dow Agro Sciences, Канада).

У деяких варіантах втілення даний винахід забезпечує агрономічні продукти, наприклад, насінну олію, насінну макуху і т. ін. У деяких варіантах втілення вищезгадані агрономічні продукти можуть мати кормову якість або харчову якість. Агрономічні продукти можуть бути одержані з рослин, включаючи насіння вищезгаданих рослин, які було оброблено або одержано з застосуванням способів, описаних у цьому детальному описі.

Ферменти AHAS

У різних варіантах втілення можуть застосовуватися озимі рослини Brassica, які містять W574(At)X та S653(At)X у їх пластидних поліпептидах AHASL. Вони можуть бути присутні у різних алелях, наприклад, у різних геномах, причому кожен містить односпрямовану мутацію у відповідному гені AHASL, або ж вони можуть бути присутні у єдиному AHASL як алелі з подвійною мутацією. У різних варіантах втілення ними можуть бути W574(At)L та S653(At)N: перший може вказуватись як мутація "PM2", а другий – як мутація "PM1". На Фіг. 1 (SEQ ID NO: 1) та Фіг. 3 (SEQ ID NO:3) представлено часткову нуклеотидну послідовність та часткову амінокислотну послідовність, відповідно, для мутації PM2 у *B. napus*. На Фіг. 2 (SEQ ID NO:2) та Фіг. 4 (SEQ ID NO:4) представлено часткову нуклеотидну послідовність та часткову амінокислотну послідовність, відповідно, для мутації PM1 у *B. napus*. Фіг. 5 (SEQ ID NO:5), і на Фіг. 6 представлено другу нуклеотидну послідовність та другу амінокислотну послідовність, відповідно, для мутації PM2, наприклад, інтрогресії послідовності PM2 у *B. juncea* з *B. napus*.

Озимі рослини Brassica можуть бути інбредними сортами, наприклад, перехресно запиленими сортами, або гібридами, наприклад, гібридами F1.

Хоча згідно з даним винаходом у озимих культурах Brassica можуть застосовуватися трансгенні або нетрансгенні мутантні ознаки AHAS, у різних варіантах втілення ознака або ознаки можуть бути нетрансгенними, тобто, одержаними у процесі, який виключає технології рекомбінантних ДНК і включає мутагенез, генопластику та/або відокремлення спонтанно мutowаних рослин. Спеціалістам у даній галузі відомо багато способів мутагенезу, і вони включають застосування до насіння, частин рослин або культивованих рослинних клітин мутагенного хімічного агента або опромінення; в альтернативному або додатковому варіанті культивування рослинних клітин або умови, за яких культивують рослинні клітини, можуть збільшувати частоту випадків або накопичення спонтанних мутацій. Технології генопластики можуть включати способи мутації спрямованого типу, такі, як способи, які включають введення у ядро рослинної клітини олігонуклеотидів, які полегшують опосередковане системою виправлення похибок нуклеотидне заміщення.

Слід зазначити, що у ферментах AHAS існують два місця мутації, які відповідають за мутації, які забезпечують значний рівень толерантності до SU. Вони обидва трапляються в AHASL у позиціях P197(At) та W574(At).

У різних варіантах втілення WOSR та інші озимі культури Brassica можуть містити одну таку мутацію у пластидних AHASL; додатково до однієї або кількох інших мутацій в одному або кількох пластидних генах AHASL, які можуть бути вибрані з-поміж тих, які знаходяться у місцях, де мутації виявлялися здатними забезпечувати толерантність до одного або кількох інших інгібіторів AHAS, і приклади таких місць включають G121(At), A122(At), M124(At), R142(At), V196(At), R199(At), T203(At), A205(At), F206(At), K256(At), M351(At), H352(At), R373(At), D375(At), D376(At), R377(At), M570(At), V571(At), F578(At), S653(At) та G654(At).

Таким чином, у деяких варіантах втілення WOSR та інші озимі культури Brassica, які можуть застосовуватися згідно з даним винаходом, можуть містити одну SU-HT-мутацію у пластидних AHASL. У різних варіантах втілення рослина, яка може застосовуватися згідно з даним винаходом, може містити більше, ніж одну мутацію толерантності до гербіцидів у її популяції пластидних AHASL. У різних варіантах втілення вони можуть міститись у різних генах AHASL з односпрямованою мутацією.

Отже, WOSR або інша озима культура Brassica, яка може бути застосована згідно з даним винаходом, може містити до одного експресованого пластидного гена AHASL, що кодує мутацію у P197(At) або W574(At), незалежно від того, чи кодує цей ген AHASL також толерантність до

інгібітора мутацій AHAS [тобто, відмінних від будь-якої додаткової мутації у позиції, вибраній з-поміж P197(At) або W574(At)], і від того, чи є цей ген представленим єдиним алелем як гетерозигота, чи двома алелями як гомозигота. Така WOSR або інша культура Brassica не містить більш одного пластидного гена AHASL, що кодує мутацію, вибрану з-поміж тих, які трапляються у позиціях P197(At) або W574(At) у геномі A.

Якщо WOSR або інша озима культура Brassica містить експресований пластидний ген AHASL, який кодує мутацію у P197(At) або W574(At), в алелі A-геному Brassica, присутність такої додаткової мутації не вимагається у гені AHASL рослини. Такі варіанти втілення не включають озимі культури *B. oleracea* (CC), *B. nigra* (BB), *B. carinata* (BBCC) та *Raphanobrassica* сорту "rabbage" (RRCC), у яких відсутній A-геном Brassica.

Як описано авторами, рослини, які можуть застосовуватись у різних варіантах втілення, містять один або кілька мутантних генів AHASL, у яких принаймні одна мутація забезпечує толерантність до гербіцидів ферменту AHAS, частину якого складає кодована AHASL, і, таким чином, забезпечує толерантність до гербіцидів рослини, в якій вона міститься. Такий мутантний ген AHASL називається "геном HT-AHASL". Крім того, як описано авторами, рослини, які можуть застосовуватись у різних варіантах втілення, можуть містити, як один такий ген HT-AHASL, ген SU-HT-AHASL, тобто, ген HT-AHASL, який кодує мутацію, вибрану з-поміж P197X та W574X, причому такі мутації P197X та W574X називаються HT-мутаціями толерантності до сульфонілсечовини або мутаціями "SU-HT". Рослини можуть містити лише один такий ген SU-HT-AHASL, і він може бути геном "моно-SU-HT-AHASL". Вищезгаданий ген моно-SU-HT-AHASL може бути розташований у геномі A Brassica. У контексті даного опису ген "моно-SU-HT-AHASL" означає ген HT-AHASL, який кодує лише одну SU-HT-мутацію або лише одну SU-HT-мутацію на алель вищезгаданого одного гена. Таким чином, ген "моно-SU-HT-AHASL" означає ген HT-AHASL, який:

- кодує
 - (a) лише одну з P197X або W574X і кодує її гомозиготно або гемізиготно;
 - (b) лише одну з P197X або W574X і кодує її в одному алелі й кодує залишок дикого типу P197P або W574W, відповідно, у гомологічному алелі;
 - (c) дві різні мутації P197X гетерозиготно і є гомозиготним для залишків дикого типу W574W;
 - (d) дві різні мутації W574X гетерозиготно і є гомозиготним для залишків дикого типу P197P; або
 - (e) (i) одну мутацію P197X та залишок дикого типу W574W в одному алелі та (ii) одну мутацію W574X та залишок дикого типу P197P у гомологічному алелі; і
 - (2) необов'язково кодує інші HT-мутації, згідно з визначенням цього терміну.
- У деяких варіантах втілення ген моно-SU-HT-AHASL може не кодувати жодні інші HT-мутації.

Термін "гемізиготний", вжитий у контексті даного опису стосовно мутацій AHASL, які кодуються "гемізиготно", означає зв'язок між відповідними локусами двох гомологічних хромосом у геномі, причому один з двох локусів займається (функціонуючим) алелем AHASL, який містить амінокислотний залишок (замішувальної) мутації, а інший локус або займається нефункціонуючим алелем AHASL, або є незайнятим, наприклад, другий алель є відсутнім або є видаленим. Слід зазначити, що гени "моно-SU-HT-AHASL", перелічені вище під номерами (1)(b)-(1)(e), можуть називатися "гетерозиготними-моно-SU-HT-AHASL" генами, тобто, вони кодують кожен SU-HT-мутацію гетерозиготно.

Як описано авторами, рослини Brassica у різних варіантах втілення можуть містити принаймні один толерантний до гербіцидів ген AHASL (HT-AHASL), причому лише один з генів HT-AHASL у рослині кодує мутацію, що забезпечує толерантність до сульфонілсечовинного гербіциду (SU-HT), вибрану з-поміж P197X та W574X, і є геном моно-SU-HT-AHASL, який необов'язково може кодувати інші HT-мутації, і вищезгаданий ген моно-SU-HT-AHASL розташовується у геномі A вищезгаданої рослини Brassica.

Крім здатності переносити гербіциди, які інгібують активність AHAS, рослини згідно з винаходом також можуть бути здатні переносити гербіциди, які діють в інших фізіологічних процесах. Наприклад, рослини згідно з винаходом можуть бути толерантними до інгібіторів ацетил-кофермент А карбоксилази (АССази), таких, як "-дими" (наприклад, циклоксидим, сетоксидим, клетодим або тепралоксидим), "-фопи" (наприклад, клодинафоп, диклофоп, флуазифоп, галоксифоп або хізалопфоп) та "-дени" (такі, як піноксаден); до інгібіторів 5-енолпірувілшикимат-3-фосфат-синтази (EPSPS), такі, як гліфосат; до інгібіторів протопорфіриноген [IX] оксидази (PPO), таких, як сафлуфенацил; і до інгібіторів глутамінсинтетази, таких, як глюфосинат. Крім цих класів інгібіторів, рослини згідно з винаходом також можуть бути толерантними до гербіцидів, які мають інший спосіб дії, наприклад,

регуляторів росту ауксинового типу (наприклад, дикамби), інгібіторів пігментів хлорофілу / каротиноїду, руйнівників мембрани клітин, інгібіторів фотосинтезу, інгібіторів поділу клітин, інгібіторів коріння, інгібіторів паростків та їх комбінацій. Такі ознаки толерантності можуть експресуватися, наприклад: як мутантні білки ACCази, мутантні білки EPSPS або мутантні білки глутамінсинтеази; або як мутантні природні, інбредні або трансгенні білки ариллоксiалканоатдіоксигенази (AAD або DHT), галоарилнітрилази (BXN), дегалогенази 2,2-дихлоропропіонової кислоти (DEH), дикамба-монооксигенази (DMO), гліфосат-N-ацетилтрансферази (GAT), гліфосат декарбоксилази (GDC), гліфосат оксидоредуктази (GOX), глутатіон-S-трансферази (GST), фосфінотрицин ацетилтрансферази (PAT або bar) або цитохрому P450 (CYP450), які мають руйнівну для гербіциду дію. Озимим рослинам Brassica також можуть бути надані інші ознаки, включаючи, крім інших, пестицидні ознаки, такі, як Bt Cry та інші білки, які мають пестицидну активність стосовно жорсткокрилих, лускокрилих, нематод або інших шкідників; харчові або нутрицевтичні ознаки, такі, як модифіковані ознаки вмісту олії або олійного профілю, ознаки високої концентрації білка або амінокислоти та інші типи ознак, відомі спеціалістам у даній галузі.

Даний винахід також включає потомство рослин згідно з винаходом, а також насіння, одержане від толерантних до гербіцидів рослин згідно з винаходом та клітин, одержаних з толерантних до гербіцидів рослин згідно з винаходом. Даний винахід також забезпечує способи одержання насіння шляхом здійснення способів, описаних у даному детальному описі, та збирання насіння з толерантних до гербіцидів рослин. Даний винахід забезпечує насіння, зібране з рослин Brassica, які обробляються з застосуванням способів, описаних у детальному описі.

Молекули нуклеїнових кислот

Даний винахід також охоплює молекули нуклеїнових кислот, які кодують описані вище білки ANASL або їх частину. Молекули нуклеїнових кислот згідно з винаходом можуть включати нуклеїновокислотну послідовність, яка кодує амінокислотну послідовність, яка включає модифікований або, у відповідних випадках, немодифікований варіант послідовностей, перелічених у патентних документах, наведених у Таблиці 2, причому одержана в результаті послідовність кодує білок ANASL, який включає одну або кілька з таких ознак: амінокислота у позиції 197 є відмінною від проліну, тоді, як амінокислота у позиції 574 є триптофаном; або амінокислота у позиції 574 є відмінною від триптофану, тоді, як амінокислота у позиції 197 є проліном.

Даний винахід також охоплює нуклеїнові кислоти, які кодують ANASL Brassica, що має одну або кілька інших НТ-мутацій. Такі ANASL також можуть включати амінокислотні послідовності, які мають одну або кілька з таких ознак: амінокислота у позиції 197 є відмінною від проліну, тоді, як амінокислота у позиції 574 є триптофаном; або амінокислота у позиції 574 є відмінною від триптофану, тоді, як амінокислота у позиції 197 є проліном.

Молекула нуклеїнової кислоти згідно з винаходом може являти собою ДНК, яка походить від геномної ДНК або кДНК, або РНК. Молекула нуклеїнової кислоти згідно з винаходом може бути природною або може бути синтетичною. Молекула нуклеїнової кислоти згідно з винаходом може бути виділеною, рекомбінантною та/або мутагенізованою.

Молекули нуклеїнових кислот згідно з винаходом можуть включати некодуючі послідовності, які можуть бути або не бути транскрибовані. Некодуючі послідовності, які можуть бути включені у молекули нуклеїнових кислот згідно з винаходом, включають, крім інших, 5' та 3' UTR, сигнали поліаденілування та регуляторні послідовності, які контролюють експресію генів (наприклад, промотори). Молекули нуклеїнових кислот згідно з винаходом також можуть включати послідовності, які кодують транзитні пептиди, сайти розщеплення протеази, сайти ковалентної модифікації і т. ін. В одному варіанті втілення молекули нуклеїнових кислот згідно з винаходом кодують транзитну пептидну послідовність хлоропласта додатково до послідовності, яка кодує фермент ANAS.

В іншому варіанті втілення молекули нуклеїнових кислот згідно з винаходом можуть кодувати ANASL, що має принаймні 50 %, 60 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % або більше ідентичності послідовності з ANASL P197X або W574X, як описано вище, причому білок, який кодується послідовністю, включає одну або кілька таких ознак: амінокислота у позиції 197 є відмінною від проліну, тоді, як амінокислота у позиції 574 є триптофаном; або амінокислота у позиції 574 є відмінною від триптофану, тоді, як амінокислота у позиції 197 є проліном.

У контексті даного опису "відсоток (%) ідентичності послідовності" визначається як відсоток нуклеотидів або амінокислот у кандидатній похідній послідовності, ідентичних нуклеотидам або амінокислотам у досліджуваній послідовності (або її вказаній частині), після вирівнювання послідовностей та включення пробілів у разі необхідності для досягнення максимального

відсотка ідентичності послідовності, як визначається за допомогою програми BLAST, яку можна одержати на сайті <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>, з параметрами пошуку, встановленими за замовчуванням.

Даний винахід також охоплює молекули нуклеїнових кислот, які гібридизуються з молекулами нуклеїнових кислот, які кодують фермент AHAS згідно з винаходом, а також молекули нуклеїнових кислот, які гібридизуються зі зворотним комплементом молекул нуклеїнових кислот, які кодують фермент AHAS згідно з винаходом. В одному варіанті втілення молекули нуклеїнових кислот згідно з винаходом включають молекули нуклеїнових кислот, які гібридизуються з молекулою нуклеїнової кислоти, яка кодує AHASL P197X або W574X, як описано вище, причому білок, який кодується послідовністю, включає одну або кілька таких ознак: амінокислота у позиції 197 є відмінною від проліну, тоді, як амінокислота у позиції 574 є триптофаном; або амінокислота у позиції 574 є відмінною від триптофану, тоді, як амінокислота у позиції 197 є проліном, а також молекулами нуклеїнових кислот, комплементарними кодуючим послідовностям або їх частині, або зворотним комплементом таких молекул нуклеїнових кислот за жорстких умов. Жорсткість умов гібридизації може контролюватися за температурою, іонною силою, рівнем pH та присутністю денатуруючих агентів, таких, як формамід, під час гібридизації та промивання. До жорстких умов, які можуть бути застосовані, належать ті, які визначаються у публікаціях Current Protocols in Molecular Biology, Vol. 1, Chap. 2.10, John Wiley & Sons, Publishers (1994), та Sambrook et al., Molecular Cloning, Cold Spring Harbor (1989), які включено до цього опису як такі, що стосуються визначення жорстких умов.

В одному варіанті втілення молекул нуклеїнових кислот винахід охоплює олігонуклеотиди, які можуть бути гібридизаційними зондами, праймерами секвенування та/або праймерами ПЛР. Такі олігонуклеотиди можуть застосовуватися, наприклад, для визначення послідовності кодону у конкретній позиції у молекулі нуклеїнової кислоти, яка кодує фермент AHAS, наприклад, шляхом алель-специфічної ПЛР. Такі олігонуклеотиди можуть мати довжину від приблизно 15 до приблизно 30, від приблизно 20 до приблизно 30 або приблизно 20-25 нуклеотидів.

Гербіциди

Гербіцидні композиції згідно з винаходом включають один або кілька SU-гербіцидів, вибраних з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірсульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікосульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації. У деяких варіантах втілення гербіцидна композиція також не може включати значної кількості жодної іншої SU. Необов'язково гербіцидні композиції згідно з винаходом також можуть включати A.I., які належать до одного або кількох додаткових класів AHAS-інгібуючих гербіцидів, наприклад, імідазолінонових гербіцидів, та/або один або кілька A.I. інших класів, наприклад, агрономічних фунгіцидів, бактерицидів, альгіцидів, нематодцидів, інсектицидів і т. ін.

Така SU має власну рекомендовану інтенсивність одноразової дози. Інтенсивність одноразових доз для застосовуваних активних інгредієнтів SU показано нижче у таблиці; вони також стосуються їх сольових або естерних форм.

Таблиця 3

Сульфонілсечовинні гербіциди та норми внесення

Сульфонілсечовини	1x (г/га)
Флупірсульфурон	10
Імазосульфурон	25
Тифенсульфурон	30
Трибенурон	30
Амідосульфурон	30
Форамсульфурон	35
Йодосульфурон	10
Мезосульфурон	7,5
Нікосульфурон	30
Мезосульфурон + Йодосульфурон (5:1 мас./мас.)	14,4

Способи передсходової або передпосівної боротьби зі шкідниками, які застосовуються у різних варіантах втілення, передбачають застосування норми внесення SU >0,5х, які вносять у межах приблизно 30 днів до проростання; у деяких варіантах втілення норма може становити ≥0,6х, ≥0,7х, ≥0,8х, ≥0,9х або ≥1х SU.

Крім того, було виявлено, що рослини WOSR лише з перенесеною толерантністю не мають або демонструють недостатню толерантність до післясходової обробки SU. В результаті, способи післясходової боротьби зі шкідниками, які застосовуються у різних варіантах втілення, передбачають застосування норми внесення $SU \geq 0,25x$; у деяких варіантах втілення вона може становити $\geq 0,3x$, $\geq 0,4x$, $\geq 0,5x$, $\geq 0,6x$, $\geq 0,7x$, $\geq 0,8x$, $\geq 0,9x$ або $\geq 1x$ SU.

Способи відбору толерантних до гербіцидів озимих рослин Brassica також можуть здійснюватися з застосуванням цих параметрів способу обробки, за відсутності бур'янів у безпосередній близькості від рослини Brassica або її плантації.

Згідно зі способами передсходової або післясходової боротьби зі шкідниками, спосіб може передбачати застосування норми внесення SU $1x$ без значного пошкодження рослини; у деяких варіантах втілення норма внесення SU може перевищувати $1x$; у деяких варіантах втілення норма внесення SU може становити до $4x$, хоча у більш типовому варіанті вона становить приблизно $2,5x$ або менше або приблизно $2x$ або менше. Якщо застосовується комбінація цих активних інгредієнтів SU, норма внесення гербіциду в оптимальному варіанті забезпечує сумарний показник SU у межах від $>0,5x$ до $4x$ або від $0,25x$ до $4x$. Наприклад, комбінація 5:1 (мас./мас.) мезосульфурону та йодосульфурону, яка має інтенсивність одноразової дози 18 г/га , при внесенні в цій нормі, забезпечує приблизно 15 г/га та 3 г/га цих A.I. відповідно: це відповідає нормам внесення приблизно $2x$ та $0,3x$, що забезпечує сумарний показник обробки SU приблизно $2,3x$ SU.

Гербіцидні композиції, які включають гербіцид, вибраний з групи амідосульфурону, флупірссульфурону, форамсульфурону, імазосульфурону, йодосульфурону, мезосульфурону, нікосульфурону, тифенсульфурону та трибенурону, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації, та, необов'язково, інші агрономічні A.I., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери, можуть застосовуватись у будь-якому агрономічно прийнятному форматі. Наприклад, вони можуть бути рецептовані як готові до розпилення водні розчини, порошки, суспензії; як концентровані або висококонцентровані водні, олійні або інші розчини, суспензії або дисперсії; як емульсії, олійні дисперсії, пасту, дусту, гранули або інші придатні для розсіювання складу. Гербіцидні композиції можуть вноситися будь-якими способами, відомими спеціалістам у даній галузі, включаючи, наприклад, розприскування, розпилення, обпилення, поширення, поливання, обробку насіння або висівання у формі домішки до насіння. Форми застосування залежать від передбаченого призначення; у будь-якому разі, вони мають забезпечувати якомога кращий розподіл активних інгредієнтів згідно з винаходом.

Якщо необов'язковий A.I. включає ANAS-інгібітор, він може бути вибраний з групи, до якої належать: (1) імідазолінони, тобто, імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, імазахін та імазаметабенз, в оптимальному варіанті – імазамокс, імазетапір, імазапір та імазапик, у ще кращому оптимальному варіанті – імазамокс; (2) піримідинілбензоати, тобто, піримідинілоксибензоати (наприклад, біспірибак, піримінобак та пірибензоксим) та піримідинілтіобензоати (наприклад, піритіобак та пірифталід); та (3) сульфонаміди, тобто, сульфоніламінокарбонілтриазолінони (наприклад, флукарбазон та пропоксикарбазон) та триазолопіримідини (наприклад, клорансулам, диклосулам, флорасулам, флуметсулам, метосулам та пенокксулам). Також включаються агрономічно прийнятні солі та естери вищезазначених сполук, а також їх комбінації.

Якщо необов'язковий A.I. включає гербіцид з іншого класу, до якого озимі рослини Brassica зазвичай є сприйнятливими, озиму рослину Brassica вибирають з-поміж тих, які також включають ознаку толерантності до такого гербіциду. Такі додаткові ознаки толерантності можуть забезпечуватися для рослини у будь-який спосіб, відомий спеціалістам у даній галузі, який, наприклад, включає технології традиційної селекції для одержання гена ознаки толерантності шляхом гібридизації або інтрогресії, мутагенезу, генопластики та/або трансформації. Такі рослини можуть описуватись як такі, що мають "складені" ознаки.

Сульфонілсечовинні гербіцидні активні інгредієнти, які застосовуються у різних варіантах втілення, перелічено у Таблиці 4.

Таблиця 4

Сульфонілсечовинні гербіцидні активні інгредієнти

SU A.I.	Приклад солі або естеру	"Інші SU"
амідосульфурон		—
азимсульфурон		Інший
бенсульфурон	бенсульфурон-метил	Інший
хлоримурон	хлоримурон-етил	Інший
хлорсульфурон		Інший
циносульфурон		Інший
циклосульфамурон		Інший
етаметсульфурон	етаметсульфурон-метил	Інший
етокисульфурон		Інший
флазасульфурон		Інший
флуцетосульфурон		Інший
флупірсульфурон	флупірсульфурон-метил-натрій	—
форамсульфурон		—
галосульфурон	галосульфурон-метил	Інший
імазосульфурон		—
йодосульфурон	йодосульфурон-метил-натрій	—
мезосульфурон	мезосульфурон-метил	—
метазосульфурон		Інший
метсульфурон	метсульфурон-метил	Інший
нікосульфурон		—
ортосульфамурон		Інший
оксасульфурон		Інший
примісульфурон	примісульфурон-метил	Інший
пропірисульфурон		Інший
просульфурон		Інший
піразосульфурон	піразосульфурон-етил	Інший
римсульфурон		Інший
сульфометурон	сульфометурон-метил	Інший
сульфосульфурон		Інший
тифенсульфурон	тифенсульфурон-метил	—
триасульфурон		Інший
трибенурон	трибенурон-метил	—
трифлорисульфурон	трифлорисульфурон-натрій	Інший
трифлусульфурон	трифлусульфурон-метил	Інший
тритосульфурон		Інший

У деяких варіантах втілення гербіцидна композиція, яка включає SU, вибраний з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірсульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікосульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації, необов'язково також може включати кількість, як правило, не більшу за 50 % від вмісту SU у композиції, однієї або кількох інших SU. У контексті даного опису "інший SU" стосується тих SU A.I., які перелічено як "інші" у Таблиці 4, разом з їхніми агрономічно прийнятними солями та естерами, та їх комбінацій.

У деяких варіантах втілення вміст іншого SU у гербіцидній композиції може становити 50 % або менше за масою (мас. %) від вмісту SU у композиції, або приблизно або менше за 45 %, 40 %, 35 %, 30 %, 25 %, 20 %, 15 %, 10 %, 5 %, 3 %, 2 % або 1 % за масою; і, у цьому діапазоні, може становити: 0 мас. % або більше від вмісту SU у композиції або приблизно або більше за 1 %, 2 %, 3 %, 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 % або 45 % за масою.

У деяких варіантах втілення вміст іншого SU у гербіцидній композиції може бути не більшим за "суттєву" кількість, тобто, у цьому контексті означає менший за 50 мас. % від вмісту SU у композиції, наприклад, від приблизно 35 мас. % до менш, ніж 50 мас. %.

У деяких варіантах втілення вміст іншого SU у гербіцидній композиції може бути не більшим за "помірну" кількість, тобто, у цьому контексті означає приблизно або менший за 35 мас. % від

вмісту SU у композиції, наприклад, від приблизно 20 мас. % до приблизно 35 мас. %.

У деяких варіантах втілення вміст іншого SU у гербіцидній композиції може бути не більшим за "малу" кількість, тобто, у цьому контексті означає приблизно або менший за 20 мас. % від вмісту SU у композиції, наприклад, від приблизно 10 мас. % до приблизно 20 мас. %.

5 У деяких варіантах втілення вміст іншого SU у гербіцидній композиції може бути не більшим за "незначну" кількість, тобто, у цьому контексті означає приблизно або менший за 10 мас. % від вмісту SU у композиції, наприклад, від приблизно 5 мас. % до приблизно 10 мас. %.

У деяких варіантах втілення вміст іншого SU у гербіцидній композиції може бути не більшим за "мінімальну" кількість, тобто, у цьому контексті означає приблизно або менший за 5 мас. % від вмісту SU у композиції, наприклад, від приблизно 3 мас. % до приблизно 5 мас. %.

10 У деяких варіантах втілення вміст іншого SU у гербіцидній композиції може бути не більшим за "значну" кількість, тобто, у цьому контексті означає приблизно або менший за 3 мас. % від вмісту SU у композиції, наприклад, від приблизно 1 мас. % до приблизно 3 мас. %.

15 У деяких варіантах втілення вміст іншого SU у гербіцидній композиції може бути не більшим за "ультрамалу" кількість, тобто, у цьому контексті означає приблизно або менший за 1 мас. % від вмісту SU у композиції, наприклад, від приблизно 1 мас. % до більшого за 0 мас. %.

У деяких варіантах втілення вміст іншого SU у гербіцидній композиції може становити 0 мас. % або може становити приблизно 0 мас. %, наприклад, від приблизно 0.5 мас. % до 0 мас. %.

20 У представленому вище переліку діапазонів вмісту іншого SU у гербіцидній композиції, у юрисдикціях, у яких термін "приблизно" є недозволенним, цей перелік діапазонів слід читати без вищезгаданого терміну. У решті опис, де вживається термін "приблизно", опис слід читати без вищезгаданого терміну у юрисдикціях, у яких термін "приблизно" є недозволенним.

25 Необов'язкові A.I. інших класів гербіцидів включають інгібітори ACCази, інгібітори PPO, інгібітори EPSPS, інгібітори глутамінсинтетази, інгібітори р-гідроксифенілпіруватдіоксигенази (4-HPD). Необов'язкові A.I. інших типів включають, крім інших, фунгіциди, такі, як стробілурини, наприклад, піраклостробін; інсектициди, такі, як нематотициди, лепідоптерициди, колеоптерициди; молюскіциди та інші, відомі спеціалістам у даній галузі.

30 Гербіцидні композиції, які включають гербіцид, вибраний з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірсульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікосульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні A.I., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери, також можуть включати допоміжні речовини, які є звичними для рецептури засобів захисту врожаїв.

35 Прикладами допоміжних речовин, які є звичними для рецептури засобів захисту врожаїв, є інертні допоміжні речовини, тверді носії, поверхнево-активні речовини (такі, як диспергатори, захисні колоїди, емульгатори, зволожувальні агенти та речовини для підвищення клейкості), органічні та неорганічні загусники, просочувальні речовини (такі, як посилюючі проникнення кремнійорганічні поверхнево-активні речовини або кислі сульфатні хелати, наприклад, СТ-301™ від Cheltec, Inc.), антидоти, бактерициди, антифризи, протиспінювачі, барвники та адгезиви. Суміші гербіцидних композицій для застосування згідно з винаходом можуть бути одержані будь-яким способом, який застосовують для цього у галузі.

40 Прикладами загусників (тобто, сполук, які надають композиції змінених властивостей текучості, тобто, високої в'язкості у стані спокою та низької в'язкості у русі), є полісахариди, такі, як ксантанова камедь (Kelzan® від Kelco), Rhodopol® 23 (Rhône Poulenc) або Veegum® (від R.T. Vanderbilt), а також органічні та неорганічні листові мінерали, такі як Attaclay® (від Engelhardt).

45 Прикладами протиспінювачів є силіконові емульсії (такі, як, наприклад, Silikon® SRE, Wacker або Rhodorsil® від Rhodia), довголанцюгові спирти, жирні кислоти, солі жирних кислот, фтороорганічні сполуки та їх суміші.

50 Бактерицид може додаватися для стабілізації водних гербіцидних композицій. Прикладами бактерицидів є бактерицид на основі дихлорофену та напівформалю бензилового спирту (Proxel® від ICI або Acticide® RS від Thor Chemie та Kathon® MK від Rohm & Haas), а також похідні ізотіазолінону, такі як алкілізотіазолінони та бензізотіазолінони (Acticide MBS від Thor Chemie).

Прикладами антифризів є етиленгліколь, пропіленгліколь, сечовина або гліцерин.

60 Прикладами барвників є представники таких класів барвників, як важкорозчинні у воді пігменти та водорозчинні барвники. Деякими конкретними прикладами є барвники, відомі під назвами Rhodamin B, C.I. Пігмент червоний 112 та C.I. Розчинник Red 1, а також пігмент синій 15:4, пігмент синій 15:3, пігмент синій 15:2, пігмент синій 15:1, пігмент синій 80, пігмент жовтий 1,

пігмент жовтий 13, пігмент червоний 112, пігмент червоний 48:2, пігмент червоний 48:1, пігмент червоний 57:1, пігмент червоний 53:1, пігмент оранжевий 43, пігмент оранжевий 34, пігмент оранжевий 5, пігмент зелений 36, пігмент зелений 7, пігмент білий 6, пігмент коричневий 25, основний фіолетовий 10, основний фіолетовий 49, кислотний червоний 51, кислотний червоний 52, кислотний червоний 14, кислотний синій 9, кислотний жовтий 23, основний червоний 10, основний червоний 108.

Прикладами адгезивів є полівінілпіролідон, полівінілацетат, полівініловий спирт та тилоза.

Прийнятними інертними допоміжними речовинами є, наприклад, такі:

фракції мінеральних олій з точкою кипіння від середньої до високої, такі як керосин та дизельне паливо, а також кам'яновугільні олії та олії рослинного або тваринного походження, аліфатичні, циклічні та ароматичні вуглеводні, наприклад парафін, тетрагідронафталін, алкіловані нафталіни та їх похідні, алкіловані бензоли та їх похідні, спирти, такі, як метанол, етанол, пропанол, бутанол та циклогексанол, кетони, такі як циклогексанон або сильно полярні розчинники, наприклад, аміни, такі як N-метилпіролідон та вода.

Прийнятними носіями є рідкі та тверді носії.

До рідких носіїв належать, наприклад, неводні розчинники, такі як циклічні та ароматичні вуглеводні, наприклад, парафіни, тетрагідронафталін, алкіловані нафталіни та їх похідні, алкіловані бензоли та їх похідні, спирти, такі, як метанол, етанол, пропанол, бутанол та циклогексанол, кетони, такі як циклогексанон, сильно полярні розчинники, наприклад, аміни, такі як N-метилпіролідон та вода, а також їх суміші.

До твердих носіїв належать, наприклад, мінерали, такі, як кремнеземи, силікагелі, силікати, тальк, каолін, вапняк, вапно, крейда, бол, лес, глина, доломіт, діатомова земля, сульфат кальцію, сульфат магнію та оксид магнію, земельні синтетичні матеріали, добрива, такі, як сульфат амонію, фосфат амонію, нітрат амонію та сечовини та продукти рослинного походження, такі як зернове борошно, перемелена деревна кора, перемелена деревина та перемелене горіхове лушпиння, целюлозні порошки або інші тверді носії.

Прийнятними поверхнево-активними речовинами (ад'ювантами, зволожувальними агентами, речовинами для підвищення клейкості, диспергаторами, а також емульгаторами) є солі лужних металів, солі лужноземельних металів та амонієві солі ароматичних сульфонових кислот, наприклад, лігносульфонових кислот (наприклад, типи Borrespers, Borregaard), фенолсульфонових кислот, нафталінсульфонових кислот (типи Morwet, Akzo Nobel) та дибутилнафталінсульфонові кислоти (типи Nekal, BASF AG), та жирних кислот, алкіл- та алкіларилсульфонати, алкілсульфати, сульфати лаурилового етеру та сульфати жирних спиртів, та солі сульфатованих гекса-, гепта- та октадеканолів, а також гліколевих етерів жирних спиртів, конденсати сульфонатного нафталіну та його похідні з формальдегідом, конденсати нафталіну або нафталінсульфонових кислот з фенолом та формальдегідом, октилфеноловий етер поліоксіетилену, етоксирований ізооктил-, октил- або нонілфенол, полігліколевий етер алкілфенілу або трибутилфенілу, алкіларилполіетерні спирти, ізотридециловий спирт, конденсати жирного спирту/етиленоксиду, етоксирована рицинова олія, поліоксіетиленалкілові етери або поліоксипропіленалкілові етери, ацетат полігліколевого етеру лаурилового спирту, естери сорбіту, відпрацьовані рідини лігносульфіту та білки, денатуровані білки, полісахариди (наприклад, метилцелюлоза), гідрофобно модифіковані крохмалі, полівініловий спирт (типи Mowiol, Clariant), полікарбоксилати (BASF AG, типи Sokalan), поліалкоксилати, полівініламін (BASF AG, типи Lupamine), поліетиленімін (BASF AG, типи Lupasol), полівінілпіролідон та його співполімери.

Порошки, матеріали для поширення та дусти можуть приготуватися шляхом змішування або спільного перемелювання активних інгредієнтів разом з твердим носієм.

Гранули, наприклад, вкриті гранули, просочені гранули та гомогенні гранули можуть приготуватися шляхом зв'язування активних інгредієнтів з твердими носіями.

Водні форми можуть приготуватися з концентратів емульсій, суспензій, паст, змочуваних порошків або диспергованих у воді гранул шляхом додавання води.

Для приготування емульсій, паст або олійних дисперсій гербіцидні композиції, які включають гербіцид, вибраний з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірссульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікосульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні A.I., наприклад, один або кілька імідазолінонів вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапек, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери, як такі або розчинені в олії або розчиннику, гомогенізують у воді за допомогою зволожувального агента, речовини для підвищення клейкості, диспергатора або емульгатора. В альтернативному варіанті також можливим є

приготування концентратів, які містять активну сполуку, зволожувальний агент, речовину для підвищення клейкості, диспергатор або емульгатор та, у разі потреби, розчинник або олію, які є прийнятними для розведення водою.

Концентрація гербіцидів, вибраних з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірссульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікоссульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні А.І., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери у готових до застосування препаратах (композиціях), може коливатись у широких межах. Як правило, композиції включають приблизно від 0,001 до 98 % за масою, в оптимальному варіанті – від 0,01 до 95 % за масою принаймні одного активного інгредієнта. Активні інгредієнти застосовуються зі ступенем очищення від 90 % до 100 %, в оптимальному варіанті – від 95 % до 100 % (згідно зі спектром ЯМР).

У композиції гербіцидів, вибраних з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірссульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікоссульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні А.І., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери згідно з даним винаходом, активні інгредієнти, наприклад, гербіциди, вибрані з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірссульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікоссульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні А.І., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери є присутніми у суспендованій, емульгованій або розчиненій формі. Композиція згідно з винаходом може бути у формі водних розчинів, порошків, суспензій, а також висококонцентрованих водних, олійних або інших суспензій або дисперсій, водних емульсій, водних мікроемульсій, водних суспоемульсій, олійних дисперсій, паст, дустів, матеріалів для розсіювання або гранул.

Гербіциди, вибрані з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірссульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікоссульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні А.І., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери згідно з даним винаходом можуть бути рецептовані, наприклад, таким чином:

1. Продукти для розведення водою

А Водорозчинні концентрати

10 частин за масою активної сполуки розчиняють у 90 частинах за масою води або водорозчинного розчинника. В альтернативному варіанті додають зволожувальний(і) агент(и) або інші ад'юванти. Активна сполука розчиняється при розведенні водою. Це забезпечує композицію з вмістом активної сполуки 10 % за масою.

В Дисперговані концентрати

20 частин за масою активної сполуки розчиняють у 70 частинах за масою циклогексанону з додаванням 10 частин за масою диспергатора, наприклад, полівінілпіролідону. Розведення водою забезпечує дисперсію. Вміст активної сполуки становить 20 % за масою.

С Емульговані концентрати

15 частин за масою активної сполуки розчиняють у 75 частинах за масою органічного розчинника (наприклад, алкілароматичних сполук) з додаванням додецилбензолсульфонату кальцію та етоксилату рицинової олії (у кожному разі - 5 частин за масою). Розведення водою забезпечує емульсію. Композиція має вміст активної сполуки 15 % за масою.

Д Емульсії

25 частин за масою активної сполуки розчиняють у 35 частинах за масою органічного розчинника (наприклад, алкілароматичних сполук) з додаванням додецилбензолсульфонату кальцію та етоксилату рицинової олії (у кожному разі - 5 частин за масою). Цю суміш вводять у 30 частин за масою води за допомогою емульгатора (Ultraturrax) і перетворюють на гомогенну емульсію. Розведення водою забезпечує емульсію. Композиція має вміст активної сполуки 25 % за масою.

Е Суспензії

У кульовому млині з перемішуванням подрібнюють 20 частин за масою активної сполуки з додаванням 10 частин за масою диспергаторів та зволожувального(их) агента(ів) та 70 частин за масою води або органічного розчинника для одержання тонкої суспензії активної сполуки. Розведення водою забезпечує стійку суспензію активної сполуки. Вміст активної сполуки у композиції становить 20 % за масою.

F Дисперговані у воді гранули та водорозчинні гранули

50 частин за масою активної сполуки тонко перемелюють з додаванням 50 частин за масою диспергаторів та зволожувального(их) агента(ів) і перетворюють на дисперговані у воді або водорозчинні гранули за допомогою технічних засобів (наприклад, екструзії, розпилювальної сушарки, псевдорозрідженого шару). Розведення водою забезпечує стійку дисперсію або розчин активної сполуки. Композиція має вміст активної сполуки 50 % за масою.

G Дисперговані у воді порошки та водорозчинні порошки

75 частин за масою активної сполуки перемелюють у роторно-статорному млині з додаванням 25 частин за масою диспергаторів, зволожувального(их) агента(ів) та силікагелю. Розведення водою забезпечує стійку дисперсію або розчин активної сполуки. Вміст активної сполуки у композиції становить 75 % за масою.

H Гелеві композиції

У кульовому млині змішують 20 частин за масою активної сполуки, 10 частин за масою диспергатора, 1 частину за масою гелеутворювального агента та 70 частин за масою води або органічного розчинника для одержання тонкої суспензії. Розведення водою забезпечує стійку суспензію з вмістом активної сполуки 20 % за масою.

2. Продукти, які застосовують без розведення

I Дusti

5 частин за масою активної сполуки тонко перемелюють і ретельно змішують з 95 частинами за масою дрібнодисперсного каоліну. Це забезпечує порошок для обпилення з вмістом активної сполуки 5 % за масою.

J Гранули (GR, FG, GG, MG)

0,5 частин за масою активної сполуки тонко перемелюють і зв'язують з 99,5 частинами за масою носіїв. Способи передбачають застосування екструзії, висушування розпиленням або псевдорозрідженого шару. В результаті одержують гранули, які застосовують нерозведеними, з вмістом активної сполуки 0,5 % за масою.

K ULV-розчини (UL)

10 частин за масою активної сполуки розчиняють у 90 частинах за масою органічного розчинника, наприклад, ксилолу. Це забезпечує продукт, призначений для нанесення без розведення, з вмістом активної сполуки 10 % за масою.

Водні форми можуть приготуватися з концентратів емульсій, суспензій, паст, змочуваних порошоків або диспергованих у воді гранул шляхом додавання води.

Гербіциди, вибрані з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірссульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікосульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні A.I., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери, або гербіцидні композиції, які їх включають, можуть призначатися для передсходового, післясходового або передпосівного внесення або для внесення разом з насінням резистентних до імідазолінону озимих ліній рослин олійного рапсу. Також існує можливість внесення гербіцидної композиції або активних сполук шляхом висівання насіння культури, попередньо обробленого гербіцидними композиціями або активними сполуками.

У ще одному варіанті втілення гербіциди, вибрані з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірссульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікосульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні A.I., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери або гербіцидні композиції, можуть вноситися шляхом обробки насіння. Обробка насіння включає по суті всі процедури, відомі спеціалістам у даній галузі (протравлювання насіння, вкривання насіння, обпилення насіння, просочування насіння, вкривання насіння плівкою, багат шарове вкривання насіння, вкривання насіння кіркою, крапельна обробка насіння та дражування насіння), на основі гербіцидів, вибраних з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірссульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікосульфурон,

тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні А.І., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери згідно з винаходом або приготовлені з них композиції. У такому разі гербіцидні композиції можуть вноситися у розведеній або нерозведеній формі.

Термін "насіння" включає насіння всіх типів, наприклад, зерна, насіння, плоди, бульби, паростки та інші подібні форми. У контексті даного винаходу в оптимальному варіанті термін "насіння" означає зерна та насіння.

Застосовуване насіння може бути насінням вищезгаданих корисних рослин, але також може бути насінням трансгенних рослин або рослин, одержаних способами традиційної селекції.

Для розширення спектра дії А.І. SU-гербіцидів, вибрані з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірссульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікосульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні А.І., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери, можуть змішуватися з великою кількістю представників інших груп гербіцидних або регулюючих ріст активних інгредієнтів а потім вносять разом. Прийнятними компонентами для сумішей є, наприклад, 1,2,4-тіадіазоли, 1,3,4-тіадіазоли, аміди, амінофосфорна кислота та її похідні, амінотріазоли, аніліди, (гет)арилоксіалканові кислоти та їх похідні, бензойна кислота та її похідні, бензотіадіазинони, 2-ароїл-1,3-циклогександіони, 2-гетароїл-1,3-циклогексан-діони, гетариларилкетони, бензилізоксазолідини, похідні мета-CF₃-фенілу, карбамати, хінолінкарбонова кислота та її похідні, хлороацетаніліди, похідні етеру циклогексеноноксиму, діазини, дихлоропропіонова кислота та її похідні, дигідробензофурані, дигідрофуран-3-они, динітроаніліни, динітрофеноли, дифенілові етери, дипіридили, галокарбонові кислоти та їх похідні, сечовини, 3-фенілурацили, імідазоли, імідазоліони, N-феніл-3,4,5,6-тетрагідрофталіміди, оксадіазоли, оксирани, феноли, арилокси- та гетарилоксифеноксипропіонові естери, фенілоцтова кислота та її похідні, 2-фенілпропіонова кислота та її похідні, піразоли, фенілпіразоли, піридазини, піридинкарбонова кислота та її похідні, піримідилові етери, сульфонаміди, сульфонілсечовини, триазини, триазинони, триазоліони, триазолкарбоксаміди, урацили, фенілпіразоліни та ізоксазоліни та їх похідні.

Крім того, може бути вигідним внесення гербіцидів, вибраних з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірссульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікосульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні А.І., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери окремо або у комбінації з іншими гербіцидами, або у формі суміші з іншими засобами захисту рослин, наприклад, разом із засобами боротьби зі шкідниками або фітопатогенними грибами або бактеріями. Також викликає зацікавлення змішуваність з розчинами мінеральних солей, які застосовуються для лікування дефіциту поживних речовин та мікроелементів. Також можуть додаватися інші домішки, такі, як нефітотоксичні олії та олійні концентрати.

Крім того, корисним може бути внесення гербіцидів, вибраних з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірссульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікосульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні А.І., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери, у комбінації з антидотами. Антидотами є хімічні сполуки, які запобігають викликаному гербіцидами пошкодженню корисних рослин або знижують його без значного впливу на гербіцидну дію гербіцидів амідосульфурону, флупірссульфурону, форамсульфурону, імазосульфурону, йодосульфурону, мезосульфурону, нікосульфурону, тифенсульфурону та трибенурону, їх агрономічно прийнятних солей та естерів та їх комбінацій та, необов'язково, інших агрономічних А.І., наприклад, одного або кількох імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери, спрямовану на небажані рослини. Вони можуть вноситися до висівання (наприклад, при обробці насіння, паростків або сіянців) або у передсходовому або післясходовому режимі внесення для корисної рослини. Антидоти та гербіциди амідосульфурон, флупірссульфурон, форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон,

мезосульфурон, нікосульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації та, необов'язково, інші агрономічні А.І., наприклад, один або кілька імідазолінонів, вибраних з групи, до якої належать імазамокс, імазетапір, імазапір, імазапик, їх комбінації та їх прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та естери, можуть

вноситись одночасно або послідовно.

Прийнятними антидотами є, наприклад, (хінолін-8-окси)оцтові кислоти, 1-феніл-5-галоалкіл-1Н-1,2,4-триазол-3-карбонові кислоти, 1-феніл-4,5-дигідро-5-алкіл-1Н-піразол-3,5-дикарбонові кислоти, 4,5-дигідро-5,5-діарил-3-ізоксазолкарбонові кислоти, дихлороацетаміди, альфа-оксиминофенілацетонітрили, ацетофеноноксими, 4,6-дигало-2-фенілпіримідини, N-[[4-(амінокарбоніл)феніл]сульфоніл]-2-бензойні амід, 1,8-нафтоїний ангідрид, 2-гало-4-(галоалкіл)-5-тіазолкарбонові кислоти, фосфортіолати та N-алкіл-О-феніл-карбамати та їхні прийнятні для сільськогосподарського застосування солі та їхні прийнятні для сільськогосподарського застосування похідні, такі як амід, естери та тіоестери, за умови, що вони мають кислотну групу.

Способи боротьби з бур'янами

Толерантні до гербіцидів рослини згідно з винаходом можуть застосовуватись у поєднанні з гербіцидом, до якого вони є толерантними. Гербіциди можуть вноситись до рослин згідно з винаходом з застосуванням будь-яких способів, відомих спеціалістам у даній галузі. Гербіциди можуть вноситись у будь-який момент процесу культивування рослин. Наприклад, гербіциди можуть вноситись у перед сівбою, під час висаджування, у передсходовому, післясходовому режимі або у їх комбінації.

Гербіцидні композиції можуть вноситись, наприклад, шляхом обробки листя, обробки ґрунту, обробки насіння або просочування ґрунту. Внесення може здійснюватися, наприклад, шляхом розбризкування, обпилення, поширення або у будь-якому іншому режимі, відомому спеціалістам у даній галузі.

В одному варіанті втілення гербіциди можуть застосовуватись для стримування росту бур'янів, які можуть рости поблизу від толерантних до гербіцидів рослин згідно з винаходом. У варіантах втілення цього типу гербіцид може вноситись на ділянці, на якій ростуть толерантні до гербіцидів рослини згідно з винаходом поблизу від бур'янів. Гербіцид, до якого толерантна до гербіцидів рослина згідно з винаходом є толерантною, може бути внесений на ділянці у концентрації, достатній для знищення або пригнічення росту бур'янів. Значення концентрації гербіциду, достатньої для знищення або пригнічення росту бур'янів, є відомими спеціалістам у даній галузі і вказуються нижче.

Способи боротьби з бур'янами також можуть включати етап відбору озимої рослини Brassica, здатної витримувати SU-гербіцидну композицію. У контексті даного опису етап відбору озимої рослини Brassica, здатної витримувати SU-гербіцидну композицію, може здійснюватися через вибір людиною призначеної для вирощування рослини або через вибір першою людиною другої людини для вибору призначеної для вирощування рослини. Наприклад, виробник Brassica може діяти як насінник, що виробляє насіння, або діяти як хлібороб, що виробляє зерно, або інший виробник для ринку. У будь-якій ситуації виробник Brassica для себе може вибрати, який сорт Brassica він вирощуватиме, або може дозволити іншому вибрати, який сорт Brassica він вирощуватиме, або ж може попередньо вибрати через попередньо укладену угоду сорт Brassica, який має бути вибраний третьою стороною, наприклад, згідно з угодою про послуги, форвардною угодою або іншою угодою. Усі ці способи, за допомогою яких виробник Brassica вибирає, який сорт Brassica він вирощуватиме, можуть складати етап відбору озимої рослини Brassica.

Способи забезпечення захисту врожаю

Способи висаджування, вирощування та обробки SU-гербіцидними композиціями озимих рослин Brassica згідно з різними варіантами втілення даного винаходу можуть забезпечувати захисту врожаю озимої культури Brassica, вирощуваної у присутності сульфонілсечовинної (SU) гербіцидної композиції. Ці способи можуть включати:

висівання насіння озимої рослини Brassica у присутності SU-гербіцидної композиції; та вирощування насіння в умовах, які забезпечують озиму рослину Brassica;

причому вищезгадана рослина Brassica включає принаймні один толерантний до гербіцидів ген AHASL (HT-AHASL), причому лише один з генів HT-AHASL у рослині кодує мутацію толерантності до сульфонілсечовинного гербіциду (SU-HT), вибрану з-поміж P197X та W574X, і є геном моно-SU-HT-AHASL, який необов'язково може кодувати інші HT-мутації, і вищезгаданий ген моно-SU-HT-AHASL розташовується у геномі A вищезгаданої рослини Brassica;

причому врожай може бути таким самим або перевищувати той, який забезпечується диким типом того ж самого типу озимої рослини Brassica.

Ці способи також можуть включати:

висівання насіння озимої рослини Brassica;

вищезгадані способи в умовах, які забезпечують озиму рослину Brassica; та

здійснення гербіцидної обробки рослини шляхом внесення гербіцидної композиції, яка

5 включає сульфонілсечовину(и) (SU), до рослини та у безпосередній близькості до неї; причому вищезгадана рослина Brassica включає принаймні один толерантний до гербіцидів ген AHASL (HT-AHASL), причому лише один з генів HT-AHASL у рослині кодує мутацію толерантності до сульфонілсечовинного гербіциду (SU-HT), вибрано з-поміж P197X та W574X, і є геном моно-SU-HT-AHASL, який необов'язково може кодувати інші HT-мутації, і вищезгаданий ген моно-SU-HT-AHASL розташовується у геномі А вищезгаданої рослини Brassica;

10 причому врожай може бути таким самим або перевищувати той, який забезпечується диким типом того ж самого типу озимої рослини Brassica. Гербіцидна обробка може бути обробкою рослини перед цвітінням.

Способи забезпечення захисту врожаю також можуть включати етап вибору озимої рослини Brassica, здатної витримувати SU-гербіцидну композицію.

15 Способи забезпечення захисту врожаю також можуть включати збирання насіння, виробленого озимими рослинами Brassica. Ці способи також дозволяють стримувати ріст бур'янів поблизу від озимих рослин Brassica.

У контексті даного опису "захист врожаю" включає, крім іншого, знижений ризик втрати 20 врожаю, зниження врожайності, або і того, й іншого. Негативний вплив SU-гербіцидних композицій на озимі рослини Brassica може включати, крім іншого, загибель; тимчасове пошкодження рослини; затримку росту; змінене визрівання; симптоми значного видимого пошкодження; зниження густини рослин на полі (тобто, меншу кількість рослин у популяції); та збільшення частки рослин, які демонструють затримку визрівання, меншу висоту (меншу 25 кількість біомаси) та/або ураження від хвороб або інвазії комах, яке починається під час періодів тимчасового метаболічного стресу / фази в'янення (тобто, тимчасового ураження SU-гербіцидом). Нетолерантні до SU озимі рослини Brassica зазвичай страждають від негативних ефектів у присутності SU-гербіцидних композицій; та озимі рослини Brassica, які є толерантними виключно до залишкової кількості SU-гербіцидів, також можуть страждати від негативних 30 ефектів. Однак озимі рослини Brassica згідно з винаходом є стійкішими до дії таких SU-гербіцидних композицій. Таким чином, озима культура Brassica, вирощена з толерантних до SU озимих рослин Brassica згідно з винаходом, може забезпечувати більший врожай, ніж сприйнятливі до SU-гербіциду рослини або рослини з залишковою толерантністю, вирощені у присутності SU-гербіцидних композицій.

35 Необхідність етапу вибору озимої рослини Brassica, здатної витримувати SU-гербіцидні композиції може бути викликана багатьма причинами. Наприклад, виробник Brassica, крім іншого, може потребувати: (1) стримування росту бур'янів на плантації Brassica через застосування SU, причому внесення SU-гербіциду за інших умов не могло б бути здійснене для цієї культури Brassica без суттєвого ураження або втрати врожаю; або (2) уникнення або 40 зниження ризику остаточного або тимчасового ураження культури залишками SU у ґрунті, або уникнення або зниження такого ризику, яке є кращим, ніж при застосуванні рослини Brassica, яка є толерантною лише до залишку SU; або (3) уникнення або зниження ризику остаточного або тимчасового ураження культури залишками SU, присутніми у резервуарах, повторно застосовуваних для приготування або доставлення інших агрономічних продуктів до культури, 45 або уникнення або зниження такого ризику, яке є кращим, ніж при застосуванні рослини Brassica, яка є толерантною лише до залишку SU. Вибір озимих рослин Brassica згідно з винаходом дозволяє досягти цих цілей.

У деяких варіантах втілення виробник Brassica може вимагати стримування росту бур'янів, які пригнічують культуру Brassica, через застосування SU. До бур'янів, які пригнічують культуру 50 Brassica і які можуть піддаватись обробці у різних варіантах втілення даного винаходу, належать, наприклад, бур'яни родини Brassicaceae, такі як суріпка (*Brassica tournefortii*), грицики (*Capsella bursa-pastoris*), індійська гірчиця (*Conringia orientalis*), жовтушник лакфіолевидний (*Erysimum cheiranthoides*; *Treacle mustard*), гіршфельдія сіра (*Hirschfeldia incana*), клоповник звичайний (*Lepidium virginicum*; *Virginia pepperweed*), міагрум пронизанолистий (*Myagrum perfoliatum*), нив'янка (*Neslia paniculata*), редька польова (*Raphanus raphanistrum*), суріпиця (*Rapistrum rugosum*), гірчиця польова (*Sinapis arvensis*; *Charlock*), гулявник лікарський (*Sisymbrium orientale*), кучерявець Софії (*Sisymbrium sophia*; *Tansy mustard*; *Fluxweed*) та ярутка 55 польова (*Thlaspi arvense*; *Field pennycress*). Такі бур'яни родини Brassicaceae можуть важко піддаватися стримуванню серед традиційних культур Brassica. Вибір озимих рослин Brassica згідно з винаходом дозволяє досягти цих цілей. 60

У контексті даного опису етап вибору озимої рослини Brassica, здатної витримувати SU-гербіцидну композицію, може здійснюватися через вибір людиною призначеної для вирощування рослини або через вибір першою людиною другої людини для вибору призначеної для вирощування рослини. Наприклад, виробник Brassica може діяти як насінник, що виробляє насіння, або діяти як хлібороб, що виробляє зерно, або інший виробник для ринку. У будь-якій ситуації виробник Brassica для себе може вибрати, який сорт Brassica він вирощуватиме, або може дозволити іншому вибрати, який сорт Brassica він вирощуватиме, або ж може попередньо вибрати через попередньо укладену угоду сорт Brassica, який має бути вибраний третьою стороною, наприклад, згідно з угодою про послуги, форвардною угодою або іншою угодою. Усі ці способи, за допомогою яких виробник Brassica вибирає, який сорт Brassica він вирощуватиме, можуть складати етап відбору озимої рослини Brassica.

Культура озимих рослин Brassica згідно з винаходом, яку вирощують у ґрунті, який містить SU-гербіциди та, необов'язково, містить сульфонамідні та/або імідазолінонові AHAS-інгібуючі гербіциди, може досягати більшої врожайності порівняно з культурою озимих рослин Brassica відповідної ізоляції дикого типу, яку вирощують у такому самому середовищі з вмістом гербіцидів. Крім того, вирощувана культура озимих рослин Brassica згідно з винаходом, піддана дії SU-гербіцидів через забруднення обприскувачів SU-гербіцидами у вигляді залишків з резервуарів для змішування гербіцидів, забезпечує перевагу захисту врожаю порівняно з озимими рослинами Brassica відповідної ізоляції дикого типу.

Культури озимих рослин Brassica згідно з винаходом можуть забезпечувати по суті рівноцінні врожаї, коли піддаються дії SU-гербіцидів і коли не піддаються дії SU-гербіцидів при вирощуванні за однакових в інших відношеннях умов. Крім того, культури озимих рослин Brassica згідно з винаходом можуть досягати однакових врожаїв, коли піддаються дії SU-гербіцидів з забруднених обприскувачів і коли не піддаються дії SU-гербіцидів з забруднених обприскувачів при вирощуванні за однакових в інших відношеннях умов.

Озима культура Brassica, яка містить ген AHASL, який кодує мутацію у P197(At) або W574(At) і розташовується у будь-якому геномі Brassica.

Даний винахід також стосується озимих рослин Brassica, які мають експресований пластидний ген AHASL, який кодує мутацію у P197(At) або W574(At), розташований у будь-якому геномі, наприклад, А-, В- або С-геномі Brassica. Це є винятком з вищеписаних варіантів втілення, у яких толерантний до гербіцидів ген AHASL може бути розташований лише у геномі А Brassica. У варіантах втілення, у яких WOSR або інша озима культура Brassica містить експресований пластидний ген AHASL, який кодує мутацію у P197(At) або W574(At), якщо ця мутація кодується в алелі В- або С-геному Brassica, у рослині також повинна бути кодована принаймні одна додаткова мутація, у тому самому або іншому експресованому пластидному гені AHASL, причому ця мутація є вибраною з-поміж заміщень у сайтах: G121(At), A122(At), M124(At), R142(At), V196(At), R199(At), T203(At), A205(At), F206(At), K256(At), M351(At), H352(At), R373(At), D375(At), D376(At), R377(At), M570(At), V571(At), F578(At), S653(At) та G654(At); в оптимальному варіанті – у сайтах з-поміж A122(At), R199(At), A205(At), S653(At) та G654(At); у ще кращому варіанті – у S653(At). Озимі рослини Brassica за цим варіантом втілення можуть застосовуватися згідно зі способами, описаними у детальному описі цього винаходу, включаючи способи боротьби з бур'янами зі здійсненням післясходової гербіцидної обробки, способи відбору рослин та способи забезпечення захисту врожаю.

Даний винахід забезпечує спосіб боротьби з бур'янами в озимій культурі Brassica, який включає етапи: здійснення передсходової обробки толерантної до гербіцидів (HT) рослини Brassica вищезгаданої культури шляхом внесення гербіцидної композиції до рослини та у безпосередній близькості до неї при дозі у межах від 0,25х до приблизно 4х SU, причому вищезгадана гербіцидна композиція включає SU; і вищезгадана рослина Brassica (1) включає принаймні один толерантний до гербіцидів ген AHASL (HT-AHASL), причому один з генів HT-AHASL кодує мутацію HT-толерантності до сульфонілсечовини (SU-HT) вибрану з-поміж P197X та W574X, і принаймні одну додаткову мутацію, вибрану з-поміж G121X, A122X, M124X, V196X, R199X, T203X, A205X, F206X, K256X, M351X, H352X, R373X, D375X, D376X, R377X, M570X, V571X, F578X, S653X та G654X; або (2) включає принаймні два толерантні до гербіцидів гени AHASL (HT-AHASL), причому перший ген HT-AHASL кодує мутацію толерантності до сульфонілсечовини (SU-HT), вибрану з-поміж P197X та W574X, а другий ген HT-AHASL кодує мутацію, вибрану з-поміж G121X, A122X, M124X, V196X, R199X, T203X, A205X, F206X, K256X, M351X, H352X, R373X, D375X, D376X, R377X, M570X, V571X, F578X, S653X та G654X.

У деяких варіантах втілення вищезгадана гербіцидна композиція може включати інші застосовувані в агрономії форми сульфонілсечовин. У деяких варіантах втілення сульфонілсечовина є вибраною з групи, до якої належать амідосульфурон, флупірссульфурон,

форамсульфурон, імазосульфурон, йодосульфурон, мезосульфурон, нікосульфурон, тифенсульфурон та трибенурон, їх агрономічно прийнятні солі та естери та їх комбінації. У деяких варіантах втілення гербіцидна композиція не включає значної кількості іншого SU.

У деяких варіантах втілення вищезгадана SU-HT-мутація є вибраною з-поміж P197A, P197S, P197L та W574L. У деяких варіантах втілення лише один з генів HT-AHASL кодує SU-HT-мутацію, вибрану з-поміж P197X та W574X. У деяких варіантах втілення вищезгадана принаймні одна додаткова мутація є вибраною з-поміж A122T, A122Q, A122V, P197L, P197A, P197S, A205V, R199A, A205V, W574L, S653N, G654E та G654D. У деяких варіантах втілення вищезгадана принаймні одна додаткова мутація є вибраною з-поміж A122T, R199A, A205V, G654E та S653N.

Спеціалістові у даній галузі стане легко зрозуміло, що інші прийнятні модифікації та пристосування до описаних авторами способів та прикладів застосування є очевидними і можуть здійснюватися без відхилення від обсягу винаходу або будь-якого варіанта його втілення. Після детального опису даного винаходу він стане більш чітко зрозумілим з посиленням на представлені нижче приклади, які включаються лише з метою пояснення, але не обмеження обсягу винаходу.

ПРИКЛАДИ

Конкретні приклади одержання толерантних до гербіцидів рослин згідно з винаходом представлено нижче.

У контексті даного опису "незначне" ураження рослини прирівнюється до уражень з показником 5 або менше за шкалою 0-100 PHYTOX, як описано нижче, причому в оптимальному варіанті ураження має показник 4, 3, 2, 1 або менший. У деяких варіантах втілення "незначне" ураження рослини може бути тимчасовим ураженням, яке триває 5 днів або менше, в оптимальному варіанті - триває 4, 3, 2 або 1 день або менше.

Вжиті авторами скорочення та абревіатури визначаються таким чином:

ED₅₀ = ефективна доза (тобто, доза, яка вимагається для створення потрібного ефекту у 50 % популяції);

DAT = дні після обробки;

DALT = дні після останньої обробки;

DAP = дні після висаджування;

GS = стадія росту

BBCH = прийнятий у галузі стандарт для визначення фенологічних стадій росту каноли

ПРИКЛАД 1

Толерантність до гербіцидів у толерантних до AHAS-інгібітора ліній рослин WOSR порівняно зі сприйнятливими до AHAS-інгібітора (традиційними) лініями рослин WOSR.

Рослини толерантної до AHAS-інгібітора лінії WOSR, наприклад, лінії, репрезентативний зразок насіння якої є депонованим в ATCC під номером 40684, та рослини першої сприйнятливої до AHAS-інгібітора лінії WOSR висівають у 10 см горщики з супіском. У кожен горщик висаджують по дві рослини, рослини поливають знизу й удобрюють згідно з вимогами. Горщики зберігають поряд один з одним в оранжереї при 12 °C у фазі сходження. Температуру підвищують до 15-20 °C через три тижні після висівання.

Післясходову обробку гербіцидами застосовують до рослин за допомогою густо розподілених насадок і з нормою споживання води 200 л/га у стадії росту GS/ BBCH 12 (стадія 2 справжніх листів). Гербіциди випробують у різних кількостях. Для випробування кожної кількості беруть п'ять зразків сортів.

Підвищення ефективності оцінюють як ураження культури, викликане гербіцидами, за шкалою від 0 до 100 %, порівняно з необробленими контрольними рослинами. У даному разі 0 означає відсутність ураження, а 100 означає повне знищення рослин. Рівень ефективності оцінюють через 21-22 дні після обробки (DAT). Результати ефективності представлено як значення ED₅₀.

Таблиця 5

	Рослини першої сприйнятливої до АНАС-інгібітора лінії WOSR	Рослини толерантної до АНАС-інгібітора лінії WOSR
AI	ED ₅₀ (г/га/га)	ED ₅₀ (г/га/га)
Трибенурон-метил	2,59	25,88
Флорасулам	1,51	6,53
Флупірссульфурон-метил-натрій	0,58	63316,17
Метсульфурон-метил	0,57	5,06
Тритоссульфурон	0,39	42,30
Сульфоссульфурон	1,70	2417,06
Пропоксикарбазон-натрій	2,16	67,43
Йодоссульфурон мезоссульфурон	0,27	11,31
Хлорсульфурон	0,42	2,8
Триссульфурон-метил 500	3,36	41,81

ПРИКЛАД 2

Толерантність до гербіцидів у толерантних до АНАС-інгібітора ліній рослин WOSR порівняно зі сприйнятливими до АНАС-інгібітора (традиційними) лініями рослин WOSR.

Рослини толерантної до АНАС-інгібітора лінії WOSR та рослини другої сприйнятливої до АНАС-інгібітора лінії WOSR висівають у 10 см горщики з супіском. У кожен горщик висаджують по дві рослини, рослини поливають знизу й удобрюють згідно з вимогами. Горщики зберігають поряд один з одним в оранжереї при 12 °C у фазі сходження. Температуру підвищують до 15-20 °C через три тижні після висівання.

Післясходову обробку гербіцидами застосовують до рослин за допомогою густо розподілених насадок і з нормою споживання води 200 л/га у стадії росту GS/ BBCH 10. Гербіциди випробують у різних кількостях. Для випробування кожної кількості беруть дванадцять зразків сортів.

Підвищення ефективності оцінюють як ураження культури, викликане гербіцидами, за шкалою від 0 до 100 %, порівняно з необробленими контрольними рослинами. У даному разі 0 означає відсутність ураження, а 100 означає повне знищення рослин. Рівень ефективності оцінюють через 19 дні після обробки (DAT). Результати ефективності представлено як значення ED₅₀.

Таблиця 6

	Рослини другої сприйнятливої до АНАС-інгібітора лінії WOSR	Рослини толерантної до АНАС-інгібітора лінії WOSR
AI	ED ₅₀ (г/га/га)	ED ₅₀ (г/га/га)
Трибенурон-метил	0,11	9,11
Флорасулам	0,28	4,9
Флупірссульфурон-метил-натрій	0,79	147,97
Метсульфурон-метил	0,17	2,28
Тритоссульфурон	1,76	2,96
Сульфоссульфурон	0,01	3,29
Пропоксикарбазон-натрій	0,17	42,07
Йодоссульфурон мезоссульфурон	0,07	0,62
Хлорсульфурон	0,04	11,2
Триссульфурон-метил 500	0,03	4,48

ПРИКЛАД 3

Підвищена толерантність до гербіцидів у рослин АНАС-толерантних ліній рослин WOSR порівняно з рослинами АНАС-толерантних ліній рослин ярового олійного рапсу (SOSR).

Рослини толерантної до АНАС-інгібітора лінії WOSR та рослини АНАС-толерантної лінії SOSR висівають поряд одна з одною на ділянці. Післясходову обробку гербіцидами застосовують до рослин за допомогою густо розподілених насадок у стадії росту GS/ BBCH

12/13. Для кожної обробки беруть по чотири зразки.

Оцінку толерантності культури визначають як симптом згідно з PHYTOX, викликаний хімічними сполуками, за шкалою від 0 до 100 %, порівняно з необробленими контрольними рослинами. У даному разі 0 означає відсутність ураження, а 100 означає повне знищення рослин.

Таблиця 7

		Сорт культури	WOSR	SOSR
		Стадія росту культури від/до/спосіб	14/15/B	13/14/B
		DAT/DALT/DAP	15/15/37	15/15/37
		Одиниця оцінки	PHYTOX %	PHYTOX %
AI	Кількість продукту (кг/га)	Кількість AI (г/га)		
Флупірссульфурон-метил-натрій	0,01	5	11	19
Тифенсульфурон-метил	0,03	15	13	23
Тритосульфурон	0,035	25	43	53
Трибенурон-метил	0,03	15	17	25

ПРИКЛАД 4

Підвищена толерантність до гербіцидів у рослин толерантних до AHAS-інгібітора ліній рослин WOSR порівняно з рослинами сприйнятливих до AHAS-інгібітора (традиційних) ліній рослин WOSR.

Рослини толерантної до AHAS-інгібітора лінії WOSR та рослини сприйнятливої до AHAS-інгібітора лінії WOSR висівають поряд одна з одною на ділянці. Передсходову обробку гербіцидів застосовують до рослин за допомогою густо розподілених насадок. Для кожної обробки беруть по чотири зразки.

Оцінку толерантності культури визначають як симптом згідно з PHYTOX, викликаний хімічними сполуками, за шкалою від 0 до 100 %, порівняно з необробленими контрольними рослинами. У даному разі 0 означає відсутність ураження, а 100 означає повне знищення рослин.

Таблиця 8

		Резистентність/сорт	Толерантна до AHAS-інгібітора лінія WOSR	Толерантна до AHAS-інгібітора лінія WOSR
		Стадія росту культури від/до	10/11	11/13
		DAT/DALT/DAP	10/10/10	29/29/29
		Одиниця оцінки	PHYTOX %	PHYTOX %
		Кількість AI (г/га)		
AI	Кількість продукту (г/га)			
Пропоксикарбазон	10	7	0	0
Сульфоссульфурон	2,5	2	0	0
Флупірссульфурон-метил	50	1,8	0	0
Амідосульфурон	20	2,75	0	0

Таблиця 9

AI	Кількість продукту (г/га)	Резистентність/сорт	Сприйнятлива до AHAS-інгібітора лінія WOSR	Сприйнятлива до AHAS-інгібітора лінія WOSR
		Стадія росту культури від/до	10/11	11/13
		DAT/DALT/DAP	10/10/10	29/29/29
		Одиниця оцінки	PHYTOX %	PHYTOX %
		Кількість AI (г/га)		
Пропоксикарбазон	10	7	100	100
Сульфосульфурон	2,5	2	99	99
Флупірсульфурон-метил	50	1,8	100	100
Амідосульфурон	20	2,75	100	100

ПРИКЛАД 5

Активність AHAS у присутності імідазолінонових гербіцидів

- 5 Ферменти AHAS з різними мутаціями піддавали реакції з піруватом і обробляли водою та розчинами з послідовно змінюваною концентрацією імазамоксу для визначення активності AHAS. Реакції відбуваються при 37 °C протягом 45 хвилин і припиняються шляхом додавання 20 мкл розчину 5 % сірчаної кислоти з нагріванням при 60 °C протягом 15-30 хвилин для перетворення ацетолактату на ацетоїн. Одержаний в результаті ацетоїн інкубують з креатином та нафтилом (креатин-нафтиловий комплекс) у розчині гідроксиду натрію при 60 °C протягом 15 хвилин для одержання забарвленого продукту для вимірювання та кореляції з активністю ферментів AHAS. Фіг. 7 показує ферментну активність AHAS.

ПРИКЛАД 6

Активність AHAS у присутності сульфонілсечовинних гербіцидів

- 15 Ферменти AHAS з різними мутаціями піддавали реакції з піруватом і обробляли водою та розчинами з послідовно змінюваною концентрацією хлорсульфурон для визначення активності AHAS. Реакції відбуваються при 37 °C протягом 45 хвилин і припиняються шляхом додавання 20 мкл розчину 5 % сірчаної кислоти з нагріванням при 60 °C протягом 15-30 хвилин для перетворення ацетолактату на ацетоїн. Одержаний в результаті ацетоїн інкубують з креатином та нафтилом (креатин-нафтиловий комплекс) у розчині гідроксиду натрію при 60 °C протягом 15 хвилин для одержання забарвленого продукту для вимірювання та кореляції з активністю ферментів AHAS. Фіг. 8 показує ферментну активність AHAS.

- 20 Хоча вищеописаний винахід було описано в певних деталях з метою кращого розуміння, спеціалістові у даній галузі по ознайомленню з цим описом стане зрозумілою можливість різних змін у формі та деталях без відхилення від дійсного обсягу винаходу та супровідної формули винаходу. Всі наведені в цьому описі патенти та публікації є включеними у повному обсязі шляхом посилання.

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

- 30 <110> БАСФ АГРОКЕМІКАЛ ПРОДАКТС Б.В.
Вантігем, Херве
Пфеннінг, Маттіас
Бремер, Хаген
35 Келер, Рон
- <120> ТОЛЕРАНТНІ ДО ГЕРБІЦИДІВ РОСЛИНИ
- <130> B248 1360PCT
- 40 <140> PCT/IB2011/000704
<141> 2011-03-17
- <150> 61/314,901
45 <151> 2010-03-17

<150> 61/410,802

<151> 2010-11-05

<150> 61/417,132

5 <151> 2010-11-24

<160> 6

<170> PatentIn, версія 3.5

10

<210> 1

<211> 1758

<212> ДНК

<213> Brassica napus

15

<400> 1

actttcatct cccgctacgc tcccgacgag ccccgcaagg gtgctgatat cctcgtggaa 60

gccctcgagc gtcaaggcgt cgaaaccgct ttcgcttacc ccggagggtgc ctccatggag 120

20

atccaccaag ccttgactcg ctctccacc atccgtaacg tcctcccccg tcacgaacaa 180

ggaggagtct tcgccgccga ggggtacgct cgctcctccg gcaaaccggg aatctgcata 240

25

gccacttcgg gtcccggagc taccaacctc gtcagcgggt tagccgacgc gatgcttgac 300

agtgttctct tcgtcgccat cacaggacag gtccctcgcc ggatgatcgg tactgacgcg 360

ttccaagaga cgccaatcgt tgaggtaacg aggtctatta cgaaacataa ctatctggtg 420

30

atggatgttg atgacatacc taggatcgtt caagaagcat tcttctagc tacttccggt 480

agacccggac cggtttgggt tgatgttctt aaggatattc agcagcagct tgcgattcct 540

35

aactgggatac aacctatgag cttgcctggc tacatgtcta ggctgcctca gccaccggaa 600

gtttctcagt taggccagat cgtagggtg atctcggagt ctaagaggcc tgtttgtac 660

gttggtggtg gaagcttgaa ctcgagtga gaactgggga gatttgctga gcttactggg 720

40

atccctgttg cgagtacgtt gatggggcct ggctcttacc ctgtaacga tgagttgtcc 780

ctgcagatgc ttggcatgca cgggactgtg tatgctaact acgctgtgga gcatagtgat 840

45

ttgttgctgg cgttgggtgt taggtttgat gaccgtgtca cgggaaagct cgaggcggtt 900

gcgagcaggg ctaagattgt gcacatagac attgattctg ctgagattgg gaagaataag 960

acacctcacg tgtctgtgtg tggatgata aagctggctt tgcaagggaat gaacaagggt 1020

50

cttgagaacc gggcgaggga gctcaagctt gatttcggtg ttggaggag tgagttgagc 1080

gagcagaaac agaagttccc gttgagcttc aaaacgtttg gagaagccat tcctccgcag 1140

55

tacgcgattc aggtcctaga cgagctaacc caagggaagg caattatcag tactggtgtt 1200

ggacagcatc agatgtgggc ggcgcagttt tacaagtaca ggaagccgag gcagtggctg 1260

tcgtcctcag gactcggagc tatgggtttc ggacttcctg ctgcgattgg agcgtctgtg 1320

60

gcgaaccctg atgcgattgt tgtggacatt gacggtgatg gaagcttcat aatgaacgtt 1380
caagagctgg ccacaatccg ttagagagaat ctctctgtga agatactctt gttaaacaac 1440
5 cagcatcttg ggatggatcat gcaattggaa gatcgggtct acaaagctaa cagagctcac 1500
acttatctcg gggacccggc aaggggagaac gagatcttcc ctaacatgct gcagtttgca 1560
10 ggagcttgcg ggattccagc tgcgagagtg acgaagaaag aagaactccg agaagctatt 1620
cagacaatgc tggatacacc tggaccgtac ctgttgatg tcactgttcc gcaccaagaa 1680
catgtgttac cgatgatccc aagtgggtggc actttcaaag atgtaataac cgaaggggat 1740
15 ggtcgacta agtactga 1758
<210> 2
<211> 1758
<212> ДНК
20 <213> Brassica napus
<400> 2
actttcgtct cccgctacgc tcccgcagag ccccgcaagg gtgctgatat cctcgtcgaa 60
25 gccctcgagc gtcaaggcgt cgaaaccgtc ttgcttacc ccggagggtgc ttccatggag 120
atccaccaag ccttgactcg ctctccacc atccgtaacg tcctccccg tcacgaacaa 180
ggaggagtct tcgccgccga ggggtacgct cgttctccg gcaaaccggg aatctgcata 240
30 gccacttcgg gtcccggagc taccaacctc gtcagcgggt tagcagacgc gatgcttgac 300
agtgttctc ttgtcgccat tacaggacag gtccctcgcc ggatgatcgg tactgacgcc 360
35 ttccaagaga caccaatcgt tgaggtaacg aggtctatta cgaaacataa ctatttggtg 420
atggatgttg atgacatacc taggatcgtt caagaagctt tcttctagc tacttccggt 480
agacccggac cgtttttgtg tgatgttctt aaggatattc agcagcagct tgcgattcct 540
40 aactgggatc aacctatgcg ctacctggc tacatgtcta gttgcctca gcctccggaa 600
gtttctcagt taggtcagat cgttaggttg atctcggagt ctaagaggcc tgtttgtac 660
45 gttggtggtg gaagcttgaa ctcgagtga gaactgggga gattgtcga gcttactggg 720
atccccgttg cgagtacttt gatggggctt ggctcttacc ctgttaacga tgagttgtcc 780
ctgcagatgc ttggcatgca cgggactgtg tatgctaact acgctgtgga gcatagtgat 840
50 ttgttgctgg cgtttggtg taggtttgat gaccgtgtca cgggaaagct cgaggctttc 900
gctagcaggg ctaaaattgt gcacatagac attgattctg ctgagattgg gaagaataag 960
55 acacctcacg tgtctgtgtg tggatgata aagctggctt tgcaagggat gaacaaggtt 1020
cttgagaacc gggcggagga gctcaagctt gatttcggtg ttggaggag tgagttgagc 1080
gagcagaaac agaagttccc ttgagcttc aaaacgttg gagaagccat tcctccgcag 1140
60 tacgcgattc agatcctga cgagctaacc gaagggaagg caattatcag tactggtgtt 1200

ggacagcatc agatgtgggc ggcgcagttt tacaagtaca ggaagccgag acagtggctg 1260
 tcgtcatcag gcctcggagc tatgggtttt ggacttcctg ctgcgattgg agcgtctgtg 1320
 5 gcgaaccctg atgcgattgt tgtggatatt gacggtgatg gaagcttcat aatgaacgtt 1380
 caagagctgg ccacaatccg ttagagagaat cttcctgtga agatactctt gttaaacaac 1440
 cagcatcttg ggatggatcat gcaatgggaa gatcgggtct acaaagctaa cagagctcac 1500
 10 acttatctcg gggacccggc aaggggagaac gagatcttcc ctaacatgct gcagtttgca 1560
 ggagcttgcg ggattccagc tgcgagagtg acgaagaaag aagaactccg agaagctatt 1620
 15 cagacaatgc tggatacacc aggaccatac ctgttgatg tgatatgtcc gcaccaagaa 1680
 catgtgttac cgatgatccc aaatgggtggc actttcaaag atgtaataac agaaggggat 1740
 ggtcgcacta agtactga 1758
 20
 <210> 3
 <211> 585
 <212> PRT
 <213> Brassica napus
 25
 <400> 3
 Thr Phe Ile Ser Arg Tyr Ala Pro Asp Glu Pro Arg Lys Gly Ala Asp
 1 5 10 15
 30
 Ile Leu Val Glu Ala Leu Glu Arg Gln Gly Val Glu Thr Val Phe Ala
 20 25 30
 35
 Tyr Pro Gly Gly Ala Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser
 35 40 45
 40
 Ser Thr Ile Arg Asn Val Leu Pro Arg His Glu Gln Gly Gly Val Phe
 50 55 60
 45
 Ala Ala Glu Gly Tyr Ala Arg Ser Ser Gly Lys Pro Gly Ile Cys Ile
 65 70 75 80
 50
 Ala Thr Ser Gly Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Gly Leu Ala Asp
 85 90 95
 55
 Ala Met Leu Asp Ser Val Pro Leu Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Pro
 100 105 110
 60
 Arg Arg Met Ile Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu
 115 120 125
 Val Thr Arg Ser Ile Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Met Asp Val Asp
 130 135 140

Asp Ile Pro Arg Ile Val Gln Glu Ala Phe Phe Leu Ala Thr Ser Gly
 145 150 155 160

5 Arg Pro Gly Pro Val Leu Val Asp Val Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln
 165 170 175

10 Leu Ala Ile Pro Asn Trp Asp Gln Pro Met Arg Leu Pro Gly Tyr Met
 180 185 190

15 Ser Arg Leu Pro Gln Pro Pro Glu Val Ser Gln Leu Gly Gln Ile Val
 195 200 205

Arg Leu Ile Ser Glu Ser Lys Arg Pro Val Leu Tyr Val Gly Gly Gly
 210 215 220

20 Ser Leu Asn Ser Ser Glu Glu Leu Gly Arg Phe Val Glu Leu Thr Gly
 225 230 235 240

25 Ile Pro Val Ala Ser Thr Leu Met Gly Leu Gly Ser Tyr Pro Cys Asn
 245 250 255

30 Asp Glu Leu Ser Leu Gln Met Leu Gly Met His Gly Thr Val Tyr Ala
 260 265 270

35 Asn Tyr Ala Val Glu His Ser Asp Leu Leu Leu Ala Phe Gly Val Arg
 275 280 285

Phe Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Leu Glu Ala Phe Ala Ser Arg Ala
 290 295 300

40 Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Ser Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys
 305 310 315 320

45 Thr Pro His Val Ser Val Cys Gly Asp Val Lys Leu Ala Leu Gln Gly
 325 330 335

50 Met Asn Lys Val Leu Glu Asn Arg Ala Glu Glu Leu Lys Leu Asp Phe
 340 345 350

55 Gly Val Trp Arg Ser Glu Leu Ser Glu Gln Lys Gln Lys Phe Pro Leu
 355 360 365

Ser Phe Lys Thr Phe Gly Glu Ala Ile Pro Pro Gln Tyr Ala Ile Gln
 370 375 380

60

Val Leu Asp Glu Leu Thr Gln Gly Lys Ala Ile Ile Ser Thr Gly Val
385 390 395 400

5 Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln Phe Tyr Lys Tyr Arg Lys Pro
405 410 415

10 Arg Gln Trp Leu Ser Ser Ser Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu
420 425 430

15 Pro Ala Ala Ile Gly Ala Ser Val Ala Asn Pro Asp Ala Ile Val Val
435 440 445

20 Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Ile Met Asn Val Gln Glu Leu Ala
450 455 460

Thr Ile Arg Val Glu Asn Leu Pro Val Lys Ile Leu Leu Leu Asn Asn
465 470 475 480

25 Gln His Leu Gly Met Val Met Gln Leu Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala
485 490 495

30 Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asp Pro Ala Arg Glu Asn Glu Ile
500 505 510

35 Phe Pro Asn Met Leu Gln Phe Ala Gly Ala Cys Gly Ile Pro Ala Ala
515 520 525

40 Arg Val Thr Lys Lys Glu Glu Leu Arg Glu Ala Ile Gln Thr Met Leu
530 535 540

Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Val Ile Cys Pro His Gln Glu
545 550 555 560

45 His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Gly Thr Phe Lys Asp Val Ile
565 570 575

Thr Glu Gly Asp Gly Arg Thr Lys Tyr
580 585

50

<210> 4
<211> 585
<212> PRT
55 <213> Brassica napus

<400> 4

60 Thr Phe Val Ser Arg Tyr Ala Pro Asp Glu Pro Arg Lys Gly Ala Asp
1 5 10 15

Ile Leu Val Glu Ala Leu Glu Arg Gln Gly Val Glu Thr Val Phe Ala
20 25 30

5 Tyr Pro Gly Gly Ala Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu Thr Arg Ser
35 40 45

10 Ser Thr Ile Arg Asn Val Leu Pro Arg His Glu Gln Gly Gly Val Phe
50 55 60

15 Ala Ala Glu Gly Tyr Ala Arg Ser Ser Gly Lys Pro Gly Ile Cys Ile
65 70 75 80

Ala Thr Ser Gly Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Gly Leu Ala Asp
85 90 95

20 Ala Met Leu Asp Ser Val Pro Leu Val Ala Ile Thr Gly Gln Val Pro
100 105 110

25 Arg Arg Met Ile Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro Ile Val Glu
115 120 125

30 Val Thr Arg Ser Ile Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Met Asp Val Asp
130 135 140

35 Asp Ile Pro Arg Ile Val Gln Glu Ala Phe Phe Leu Ala Thr Ser Gly
145 150 155 160

Arg Pro Gly Pro Val Leu Val Asp Val Pro Lys Asp Ile Gln Gln Gln
165 170 175

40 Leu Ala Ile Pro Asn Trp Asp Gln Pro Met Arg Leu Pro Gly Tyr Met
180 185 190

45 Ser Arg Leu Pro Gln Pro Pro Glu Val Ser Gln Leu Gly Gln Ile Val
195 200 205

50 Arg Leu Ile Ser Glu Ser Lys Arg Pro Val Leu Tyr Val Gly Gly Gly
210 215 220

55 Ser Leu Asn Ser Ser Glu Glu Leu Gly Arg Phe Val Glu Leu Thr Gly
225 230 235 240

Ile Pro Val Ala Ser Thr Leu Met Gly Leu Gly Ser Tyr Pro Cys Asn
245 250 255

60

	Asp Glu Leu Ser Leu Gln Met Leu Gly Met His Gly Thr Val Tyr Ala
	260 265 270
5	Asn Tyr Ala Val Glu His Ser Asp Leu Leu Leu Ala Phe Gly Val Arg
	275 280 285
10	Phe Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Leu Glu Ala Phe Ala Ser Arg Ala
	290 295 300
15	Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Ser Ala Glu Ile Gly Lys Asn Lys
	305 310 315 320
20	Thr Pro His Val Ser Val Cys Gly Asp Val Lys Leu Ala Leu Gln Gly
	325 330 335
25	Met Asn Lys Val Leu Glu Asn Arg Ala Glu Glu Leu Lys Leu Asp Phe
	340 345 350
30	Gly Val Trp Arg Ser Glu Leu Ser Glu Gln Lys Gln Lys Phe Pro Leu
	355 360 365
35	Ser Phe Lys Thr Phe Gly Glu Ala Ile Pro Pro Gln Tyr Ala Ile Gln
	370 375 380
40	Ile Leu Asp Glu Leu Thr Glu Gly Lys Ala Ile Ile Ser Thr Gly Val
	385 390 395 400
45	Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln Phe Tyr Lys Tyr Arg Lys Pro
	405 410 415
50	Arg Gln Trp Leu Ser Ser Ser Gly Leu Gly Ala Met Gly Phe Gly Leu
	420 425 430
55	Pro Ala Ala Ile Gly Ala Ser Val Ala Asn Pro Asp Ala Ile Val Val
	435 440 445
60	Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Ile Met Asn Val Gln Glu Leu Ala
	450 455 460
65	Thr Ile Arg Val Glu Asn Leu Pro Val Lys Ile Leu Leu Leu Asn Asn
	465 470 475 480
70	Gln His Leu Gly Met Val Met Gln Trp Glu Asp Arg Phe Tyr Lys Ala
	485 490 495

Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asp Pro Ala Arg Glu Asn Glu Ile
500 505 510

5 Phe Pro Asn Met Leu Gln Phe Ala Gly Ala Cys Gly Ile Pro Ala Ala
515 520 525

10 Arg Val Thr Lys Lys Glu Glu Leu Arg Glu Ala Ile Gln Thr Met Leu
530 535 540

15 Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Val Ile Cys Pro His Gln Glu
545 550 555 560

His Val Leu Pro Met Ile Pro Asn Gly Gly Thr Phe Lys Asp Val Ile
565 570 575

20 Thr Glu Gly Asp Gly Arg Thr Lys Tyr
580 585

25 <210> 5
<211> 1959
<212> ДНК
<213> Brassica

30 <400> 5
atggcgggcg caacatcgtc ttctccgata tccttaaccg ctaaaccctc ttccaaatcc 60
cctctaccca ttccagatt ctcccttccc ttctccttaa cccacagaa accctctcc 120
35 cgtctccacc gtccactcgc catctccgcc gttctcaact caccggtcaa tgtcgcacct 180
gaaaaaaccg acaagatcaa gactttcatc tcccgtacg ctcccgacga gccccgcaag 240
gggtgctgata tcctcgtgga agccctcgag cgtcaaggcg tcgaaaccgt ctctgcttat 300
40 cccggagggtg cctccatgga gatccaccaa gccttgactc gctcctccac catccgtaac 360
gtcctcccc gtcacgaaca aggaggatgc ttgcgcgcg aggggtacgc tcgttctcc 420
45 ggcaaaccgg gaatctgcat agccactcg ggtcccggag ctaccaacct cgtcagcggg 480
ttagccgacg cgatgctga cagtgttct ctctcgcca tcacaggaca ggtcctcgc 540
cgatgatcg gtactgacgc gttccaagag acgccaatcg ttgaggtaac gaggtctatt 600
50 acgaaacata actatctggt gatggatgtt gatgacatac ctaggatcgt tcaagaagca 660
ttcttctag ctactccgg tagaccgga ccggttttg ttgatgtcc taaggatatt 720
55 cagcagcagc ttgcgattcc taactgggat caacctatgc gctgcctgg ctacatgtct 780
aggctgcctc agccaccgga agtttctcag ttaggccaga tcgttaggtt gatctcgag 840
tctaagaggc ctgttttga cgttggtggt ggaagctga actcgagtga agaactggg 900
60

agatttgcg agcttactgg gatccctgtt gcgagtacgt tgatggggct tggctcttat 960
 ccttgtaacg atgagttgtc cctgcagatg ctggcatgc acgggactgt gtatgctaac 1020
 5 tacgctgtgg agcatagtga ttgttgctg gcgtttggtg ttaggtttga tgaccgtgtc 1080
 acgggaaagc tcgaggcgtt tgcgagcagg gctaagattg tgcacataga cattgattct 1140
 gctgagattg ggaagaataa gacacctcac gtgtctgtgt gtggtgatgt aaagctggct 1200
 10 ttgcaaggga tgaacaaggt tcttgagaac cgggcggagg agctcaagct tgatttcggt 1260
 gtttgaggga gtgagttgag cgagcagaaa cagaagttcc cgttgagctt caaacggtt 1320
 15 ggagaagcca ttctccgca gtacgcgatt caggctctag acgagctaac ccaagggaag 1380
 gcaattatca gtactggtgt tggacagcat cagatgtggg cggcgagatt ttacaagtac 1440
 aggaagccga ggcagtggct gtcgtcctca ggactcggag ctatgggttt cggacttcct 1500
 20 gctgcgattg gagcgtctgt ggcgaaccct gatgcgattg ttgtggacat tgacggtgat 1560
 ggaagcttca taatgaacgt tcaagagctg gccacaatcc gtgtagagaa tcttctgtg 1620
 25 aagatactct tgttaaaca ccagcatctt gggatggta tgcaattgga agatcgggtc 1680
 taaaagcta acagagctca cacttatctc ggggacccgg caaggagaa cgagatcttc 1740
 cctaacatgc tgcagttgc aggagcttg gggattccag ctgcgagagt gacgaagaaa 1800
 30 gaagaactcc gagaagctat tcagacaatg ctggatacac ctggaccgta cctgttgat 1860
 gtcatctgtc cgcaccaaga acatgtgtta ccgatgatcc caagtgggtg cacttcaaa 1920
 35 gatgtaataa ccgaagggga tggcgcact aagtactga 1959

<210> 6
 <211> 652
 40 <212> PRT
 <213> Brassica

<400> 6
 45 Met Ala Ala Ala Thr Ser Ser Ser Pro Ile Ser Leu Thr Ala Lys Pro
 1 5 10 15
 Ser Ser Lys Ser Pro Leu Pro Ile Ser Arg Phe Ser Leu Pro Phe Ser
 50 20 25 30
 Leu Thr Pro Gln Lys Pro Ser Ser Arg Leu His Arg Pro Leu Ala Ile
 35 40 45
 55 Ser Ala Val Leu Asn Ser Pro Val Asn Val Ala Pro Glu Lys Thr Asp
 50 55 60

60

	Lys Ile Lys Thr Phe Ile Ser Arg Tyr Ala Pro Asp Glu Pro Arg Lys
	65 70 75 80
5	Gly Ala Asp Ile Leu Val Glu Ala Leu Glu Arg Gln Gly Val Glu Thr
	85 90 95
10	Val Phe Ala Tyr Pro Gly Gly Ala Ser Met Glu Ile His Gln Ala Leu
	100 105 110
15	Thr Arg Ser Ser Thr Ile Arg Asn Val Leu Pro Arg His Glu Gln Gly
	115 120 125
20	Gly Val Phe Ala Ala Glu Gly Tyr Ala Arg Ser Ser Gly Lys Pro Gly
	130 135 140
25	Ile Cys Ile Ala Thr Ser Gly Pro Gly Ala Thr Asn Leu Val Ser Gly
	145 150 155 160
30	Leu Ala Asp Ala Met Leu Asp Ser Val Pro Leu Val Ala Ile Thr Gly
	165 170 175
35	Gln Val Pro Arg Arg Met Ile Gly Thr Asp Ala Phe Gln Glu Thr Pro
	180 185 190
40	Ile Val Glu Val Thr Arg Ser Ile Thr Lys His Asn Tyr Leu Val Met
	195 200 205
45	Asp Val Asp Asp Ile Pro Arg Ile Val Gln Glu Ala Phe Phe Leu Ala
	210 215 220
50	Thr Ser Gly Arg Pro Gly Pro Val Leu Val Asp Val Pro Lys Asp Ile
	225 230 235 240
55	Gln Gln Gln Leu Ala Ile Pro Asn Trp Asp Gln Pro Met Arg Leu Pro
	245 250 255
60	Gly Tyr Met Ser Arg Leu Pro Gln Pro Pro Glu Val Ser Gln Leu Gly
	260 265 270
65	Gln Ile Val Arg Leu Ile Ser Glu Ser Lys Arg Pro Val Leu Tyr Val
	275 280 285
70	Gly Gly Gly Ser Leu Asn Ser Ser Glu Glu Leu Gly Arg Phe Val Glu
	290 295 300

Leu Thr Gly Ile Pro Val Ala Ser Thr Leu Met Gly Leu Gly Ser Tyr
 305 310 315 320

 5 Pro Cys Asn Asp Glu Leu Ser Leu Gln Met Leu Gly Met His Gly Thr
 325 330 335

 Val Tyr Ala Asn Tyr Ala Val Glu His Ser Asp Leu Leu Leu Ala Phe
 10 340 345 350

 Gly Val Arg Phe Asp Asp Arg Val Thr Gly Lys Leu Glu Ala Phe Ala
 15 355 360 365

 Ser Arg Ala Lys Ile Val His Ile Asp Ile Asp Ser Ala Glu Ile Gly
 370 375 380

 20 Lys Asn Lys Thr Pro His Val Ser Val Cys Gly Asp Val Lys Leu Ala
 385 390 395 400

 25 Leu Gln Gly Met Asn Lys Val Leu Glu Asn Arg Ala Glu Glu Leu Lys
 405 410 415

 Leu Asp Phe Gly Val Trp Arg Ser Glu Leu Ser Glu Gln Lys Gln Lys
 30 420 425 430

 Phe Pro Leu Ser Phe Lys Thr Phe Gly Glu Ala Ile Pro Pro Gln Tyr
 35 435 440 445

 Ala Ile Gln Val Leu Asp Glu Leu Thr Gln Gly Lys Ala Ile Ile Ser
 450 455 460

 40 Thr Gly Val Gly Gln His Gln Met Trp Ala Ala Gln Phe Tyr Lys Tyr
 465 470 475 480

 45 Arg Lys Pro Arg Gln Trp Leu Ser Ser Ser Gly Leu Gly Ala Met Gly
 485 490 495

 Phe Gly Leu Pro Ala Ala Ile Gly Ala Ser Val Ala Asn Pro Asp Ala
 50 500 505 510

 Ile Val Val Asp Ile Asp Gly Asp Gly Ser Phe Ile Met Asn Val Gln
 55 515 520 525

 Glu Leu Ala Thr Ile Arg Val Glu Asn Leu Pro Val Lys Ile Leu Leu
 530 535 540

 60

Leu Asn Asn Gln His Leu Gly Met Val Met Gln Leu Glu Asp Arg Phe
545 550 555 560

5 Tyr Lys Ala Asn Arg Ala His Thr Tyr Leu Gly Asp Pro Ala Arg Glu
565 570 575

10 Asn Glu Ile Phe Pro Asn Met Leu Gln Phe Ala Gly Ala Cys Gly Ile
580 585 590

15 Pro Ala Ala Arg Val Thr Lys Lys Glu Glu Leu Arg Glu Ala Ile Gln
595 600 605

Thr Met Leu Asp Thr Pro Gly Pro Tyr Leu Leu Asp Val Ile Cys Pro
610 615 620

20 His Gln Glu His Val Leu Pro Met Ile Pro Ser Gly Gly Thr Phe Lys
625 630 635 640

25 Asp Val Ile Thr Glu Gly Asp Gly Arg Thr Lys Tyr
645 650

ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

- 30 1. Спосіб боротьби з бур'янами в озимій культурі *Brassica*, який включає:
здійснення обробки толерантної до гербіцидів (HT) рослини *Brassica* вищезгаданої культури
шляхом внесення гербіцидної композиції, яка містить сульфонілсечовину(и) (SU), причому
(А) вищезгадана обробка є:
(1) післясходовою обробкою при дозі внесення у межах від 0,25х до приблизно 4х SU, а
35 гербіцидна композиція:
(а) містить SU, вибрану з групи, яка складається з амідосульфурону, флупірссульфурону,
форамсульфурону, імазосульфурону, йодосульфурону, мезосульфурону, нікосульфурону,
тифенсульфурону та трибенурону, їх агрономічно прийнятних солей і естерів та їх комбінацій, і
(b) містить не більше ніж 10 мас. % будь-якої іншої SU; або
40 (2) передсходовою обробкою або передпосівною обробкою за 0-30 днів ділянки висівання та її
безпосереднього оточення при дозі внесення у межах від більше за 0,5х до приблизно 4х SU, а
гербіцидна композиція:
(а) містить SU, вибрану з групи, яка складається з амідосульфурону, флупірссульфурону,
форамсульфурону, імазосульфурону, йодосульфурону, мезосульфурону, нікосульфурону,
45 тифенсульфурону та трибенурону, їх агрономічно прийнятних солей і естерів та їх комбінацій, і
(b) містить не більше ніж 3 мас. % будь-якої іншої SU; і
(В) вищезгадана рослина *Brassica* містить принаймні один толерантний до гербіцидів ген AHASL
(HT-AHASL), причому лише один з генів HT-AHASL у рослині кодує мутацію толерантності до
сульфонілсечовинного гербіциду (SU-HT), яка є W574X, і є геном моно-SU-HT-AHASL, який
50 необов'язково може кодувати іншу(і) HT-мутацію(ї), і вищезгаданий ген моно-SU-HT-AHASL
розташовується у геномі А вищезгаданої рослини *Brassica*; і
вищезгадана рослина *Brassica* здатна витримувати вищезгадану обробку з застосуванням SU
при дозі внесення 1х SU без значного викликаного SU-гербіцидом ураження від вищезгаданої
обробки.
- 55 2. Спосіб забезпечення захисту врожаю озимої культури *Brassica*, вирощеної в присутності
сульфонілсечовинної (SU) гербіцидної композиції, який включає:
висівання насіння озимої рослини *Brassica* в присутності SU гербіцидної композиції; вказана
гербіцидна композиція містить (1) SU, вибрану з групи, яка складається з амідосульфурону,
флупірссульфурону, форамсульфурону, імазосульфурону, йодосульфурону, мезосульфурону,
60 нікосульфурону, тифенсульфурону та трибенурону, їх агрономічно прийнятних солей і естерів

- та їх комбінацій, і (2) не більше ніж 3 мас. % будь-якої іншої SU; і вирощування насіння в умовах, які дозволяють вирощувати озиму рослину *Brassica*; причому вищезгадана рослина *Brassica* містить принаймні один толерантний до гербіцидів ген AHASL (HT-AHASL), і причому лише один з генів HT-AHASL у рослині кодує мутацію
- 5 толерантності до сульфонілсечовинного гербіциду (SU-HT), яка є W574X, і є геном моно-SU-HT-AHASL, який необов'язково може кодувати іншу(і) HT-мутацію(ї), і вищезгаданий ген моно-SU-HT-AHASL розташовується у геномі А вищезгаданої рослини *Brassica*; і врожай може бути таким самим або перевищувати той, який забезпечується диким типом того ж самого типу озимої рослини *Brassica*.
- 10 3. Спосіб забезпечення захисту врожаю озимої культури *Brassica*, який включає: висівання насіння озимої рослини *Brassica*; вирощування насіння в умовах, які дозволяють вирощувати озиму рослину *Brassica*; і здійснення гербіцидної обробки рослини шляхом застосування гербіцидної композиції, яка
- 15 містить сульфонілсечовину(и) (SU), вказана гербіцидна композиція містить (1) SU, вибрану з групи, яка складається з амідосульфурону, флупірсульфурону, форамсульфурону, імазосульфурону, йодосульфурону, мезосульфурону, нікосульфурону, тифенсульфурону та трибенурону, їх агрономічно прийнятних солей і естерів, та їх комбінацій, і (2) не більше ніж 3 мас. % будь-якої іншої SU до рослини та її безпосереднього околу; причому вищезгадана рослина *Brassica* містить принаймні один толерантний до гербіцидів ген
- 20 AHASL (HT-AHASL), і причому лише один з генів HT-AHASL у рослині кодує мутацію толерантності до сульфонілсечовинного гербіциду (SU-HT), яка є W574X, і є геном моно-SU-HT-AHASL, який необов'язково може кодувати іншу(і) HT-мутацію(ї), і вищезгаданий ген моно-SU-HT-AHASL розташовується у геномі А вищезгаданої рослини *Brassica*; і врожай може бути таким самим або перевищувати той, який забезпечується диким типом того ж
- 25 самого типу озимої рослини *Brassica*.
4. Спосіб за будь-яким з пп. 1-3, який **відрізняється** тим, що додатково включає вибір, до обробки гербіцидною композицією, вищезгаданої толерантної до гербіцидів рослини *Brassica*.
5. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що додатково включає вибір насіння, з якого може виростати вищезгадана толерантна до гербіцидів рослина *Brassica*, висівання вищезгаданого
- 30 насіння та вирощування вищезгаданої толерантної до гербіцидів рослини *Brassica* з вищезгаданого насіння.
6. Спосіб за будь-яким з пп. 1-3, який **відрізняється** тим, що вищезгаданий ген моно-SU-HT-AHASL, що кодує W574X мутацію :
- (а) кодує W574X мутацію гомозиготно або гемізіготно;
- 35 (b) кодує W574X мутацію в одному алелі й кодує залишок дикого типу W574W у гомологічному алелі; або
- (c) кодує дві різні мутації W574X гетерозиготно і є гомозиготним для залишків дикого типу P197P.
7. Спосіб відбору толерантної до гербіцидів озимої рослини *Brassica*, який включає:
- 40 (I) здійснення післясходової обробки згідно з підпунктами (A)(1) та (B) за п. 1 або здійснення передсходової обробки, або передпосівної обробки за 0-30 днів, згідно з підпунктами (A)(2) та (B) за п. 1; та
- (II) відбір рослини *Brassica*, здатної витримувати вищезгадану післясходову обробку з застосуванням SU при нормі дози SU принаймні 1х без значного викликаного SU-гербіцидом
- 45 ураження від вищезгаданої обробки.
8. Спосіб за будь-яким з пп. 1-7, який **відрізняється** тим, що вищезгадана гербіцидна композиція також включає один або кілька імідазолінонових гербіцидів.
9. Спосіб за п. 8, який **відрізняється** тим, що імідазолінон являє собою імазамокс або його агрономічно прийнятну сіль або естер.
- 50 10. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, який **відрізняється** тим, що SU-HT-мутація є вибраною з групи, яка складається з W574L, W574M, W574C, W574S, W574R, W574G, W574A, W574F, W574Q та W574Y.
11. Спосіб за п. 10, який **відрізняється** тим, що SU-HT-мутація є W574L.
12. Спосіб за будь-яким з пп. 1-11, який **відрізняється** тим, що рослина *Brassica* містить іншу
- 55 HT-мутацію, вибрану з групи, яка складається з A122X, R199X, A205X, S653X, G654X та їх комбінацій.
13. Спосіб за п. 12, який **відрізняється** тим, що рослина *Brassica* містить іншу HT-мутацію, вибрану з групи, яка складається з A122T, A122V, A122D, A122P, A122Y, R199A, R199E, A205V, A205C, A205D, A205E, A205R, A205T, A205W, A205Y, A205N, S653N, S653I, S653F, S653T,
- 60 G654Q, G654C, G654E, G654D та їх комбінацій.

14. Спосіб за будь-яким з пп. 1-9, який **відрізняється** тим, що рослина *Brassica* містить один ген HT-AHASL/574, SU-HT-мутація якого є W574X.
15. Спосіб за п. 14, який **відрізняється** тим, що вищезгадана рослина *Brassica* додатково містить принаймні одну іншу HT-мутацію.
- 5 16. Спосіб за п. 15, який **відрізняється** тим, що інша HT-мутація є вибраною з групи, яка складається з A122X, R199X, A205X, S653X, G654X та їх комбінацій.
17. Спосіб за п. 16, який **відрізняється** тим, що інша HT-мутація є вибраною з групи, яка складається з A122T, A122V, R199A, R199E, A205V, S653N, G654E та їх комбінацій.
18. Спосіб за будь-яким з пп. 15-17, який **відрізняється** тим, що інша HT-мутація кодується
- 10 геном HT-AHASL, розташованим в А-геномі рослини *Brassica*.
19. Спосіб за будь-яким з пп. 15-17, який **відрізняється** тим, що інша HT-мутація кодується геном моно-SU-HT-AHASL.
20. Спосіб за будь-яким з пп. 2-3, який **відрізняється** тим, що додатково включає збирання насіння, виробленого озимою рослиною *Brassica*.
- 15 21. Спосіб за будь-яким з пп. 2-3 який **відрізняється** тим, що ріст бур'янів, присутніх у безпосередньому околі до вищезгаданої озимої рослини *Brassica*, стримується вищезгаданою SU-гербіцидною композицією.
22. Спосіб за п. 2 який **відрізняється** тим, що SU-гербіцидна композиція є присутньою як залишок у ґрунті SU-гербіцидної композиції, яку вносили для попередньої культури.
- 20 23. Спосіб за будь-яким з пп. 2-3, який **відрізняється** тим, що врожайність озимої культури *Brassica* є вищою за врожайність культури озимих рослин *Brassica* відповідної ізоляції дикого типу, яку вирощують у такому самому середовищі з вмістом гербіцидів.
24. Спосіб за будь-яким з пп. 2-3, який **відрізняється** тим, що врожайність озимої культури *Brassica* є по суті рівноцінною врожайності за умов, коли озиму культуру *Brassica* вирощують за
- 25 відсутності SU-гербіцидної композиції.
25. Спосіб за п. 4 який **відрізняється** тим, що вибрана рослина *Brassica* здатна витримувати вищезгадану гербіцидну обробку при дозі внесення принаймні 1х SU без значного викликаного SU-гербіцидом ураження від вищезгаданої обробки.
26. Спосіб за будь-яким з пп. 1-25, який **відрізняється** тим, що вищезгадана гербіцидна композиція включає принаймні один додатковий активний інгредієнт, вибраний з: інгібіторів EPSPS, гліфосату; інгібіторів глутамінсинтетази, глюфосинату; інгібіторів ACCази, "-димів" (dime), "-фопів" (fops) або "-денів" (dens); інгібіторів PPO, сафлуфенацилу; фунгіцидів, піраклостробіну; або їх агрономічно прийнятних солей або естерів; і рослина *Brassica* проявляє ознаку толерантності до вищезгаданого(их) іншого(их) активного(их) інгредієнту(ів).
- 30 27. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що вищезгадана гербіцидна композиція (А) (1) необов'язково включає не більше ніж 5 мас. % іншої SU, не більше ніж 3 мас. % іншої SU або не більше ніж 1 мас. % іншої SU, або включає 0 мас. % іншої SU.
- 35 28. Спосіб боротьби з бур'янами в озимій культурі *Brassica*, який включає:
- здійснення післясходової обробки толерантної до гербіцидів (HT) рослини *Brassica*
- 40 вищезгаданої культури шляхом внесення гербіцидної композиції, яка включає сульфонілсечовину(и) (SU), при дозі внесення у межах від 0,25х до приблизно 4х SU, причому
- (А) вищезгадана гербіцидна композиція
- (1) містить SU, вибрану з групи, яка складається з амідосульфурону, флупірссульфурону, форамсульфурону, імазосульфурону, йодосульфурону, мезосульфурону, нікосульфурону,
- 45 тифенсульфурону та трибенурону, їх агрономічно прийнятних солей і естерів та їх комбінацій, і
- (2) містить не більше ніж 3 мас. % будь-якої іншої SU; і
- (В) вищезгадана рослина *Brassica*
- (1) містить принаймні один толерантний до гербіцидів ген AHASL (HT-AHASL), причому один з генів HT-AHASL кодує мутацію HT-толерантності до сульфонілсечовини (SU-HT), яка є W574X,
- 50 та принаймні одну додаткову мутацію, вибрану з G121X, A122X, M124X, V196X, R199X, T203X, A205X, F206X, K256X, M351X, H352X, R373X, D375X, D376X, R377X, M570X, V571X, F578X, S653X та G654X; або
- (2) містить принаймні два толерантні до гербіцидів гени AHASL (HT-AHASL), причому перший ген HT-AHASL кодує мутацію толерантності до сульфонілсечовини (SU-HT), яка є W574X, а
- 55 другий ген HT-AHASL кодує мутацію, вибрану з G121X, A122X, M124X, V196X, R199X, T203X, A205X, F206X, K256X, M351X, H352X, R373X, D375X, D376X, R377X, M570X, V571X, F578X, S653X та G654X;
- причому вищезгадана рослина *Brassica* здатна витримувати вищезгадану післясходову обробку з застосуванням SU при дозі внесення 1х SU без значного викликаного SU-гербіцидом
- 60 ураження від вищезгаданої обробки.

29. Спосіб за будь-яким з пп. 1, 21 та 28, який **відрізняється** тим, що гербіцидна композиція необов'язково включає до 1 мас. % іншої SU або включає 0 мас. % іншої SU.

```
>BnAHASL1A_PM2 часткова<
actttcatctcccgtacgctccccgacgagccccgcaagggtgctgatatcctcgtggaagccctcgagcgtcaagg
cgtcgaaaccgtcttctgcttatccccggagggtgctccatggagatccaccaagccttgactcgtctctccaccatcc
gtaacgtcctccccgtcacgaacaaggaggaggtcttcgcccgcgagggttacgctcgttctccggcaaacccggga
atctgcatagccacttcgggtcccgagctaccaacctcgtcagcgggttagccgacgcgatgcttgacagtgttcc
tctcgtcgccatcacaggacaggtccctcgccggatgatcggtactgacgcgttccaagagacgccaatcgttgagg
taacgaggtctattacgaacataactatctggtgatggatggtgatgacatacctaggatcggtcaagaagcattc
ttctagctacttccggtagaccggaccgggttttggttgatgttccaaaggatattcagcagcagcttgcgattcc
taactgggatcaacctatgcgcttgctggctacatgtctaggctgctcagccaccggaagtcttctcagttaggcc
agatcgttaggttgatctcggagtctaaaggccctgttttgtagcttggttggtggaagcctgaaactcgagtgaagaa
ctggggagatttgcgagcttactgggacccctgttgcgagtacgttgatggggcttggtctcttactccttgtaacga
tgagttgctcctgcagatgcttggtgatgcagggtctgtgtatgtaactacgctgtggagcatagtgtattgttgc
tgccgttttggttgtaggtttgatgacctgtgcagggaagctcgaggcgtttgcgagcagggctaaagattgtgcac
atagacattgattctgctgagattgggaagaataagacacctcacgtgtctgtgtgtggtgatgtaagctggcttt
gcaagggtgaaacaagggtcttgagaaccgggaggagagctcaagccttgatttccgtgtttggaggagtaggttga
gcgagcagaacaagaagtctccgttgagcttcaaaacgtttggagaagccattcctccgcagtagcgcgattcaggctc
tagacgagctaaaccaagggaaggcaattatcagtagctggtgttgagacagcatcagatgtgggcggcgagctttta
caagtagcagggaagccgagcagtggtgctgctcctcaggactcggagctatgggttccggacttctgctgcgattg
gagcgtctgtggcgaacctgatgcgattgttgtggacattgacggtgatggaagcttcataatgaacgttcaagag
ctggccacaatccgtgtagagaatcttctgtgaagatactcttgttaaacaccagcatcttgggatggctcatgca
atgggaagatcggttctacaaagctaacagagctcacacttatctcggggaccggcgaaggagagaacgagatcttcc
ctaactgctgcagtttgcaggagcttgcgggattccagctgcgagagtgacgaagaagaagaactccgagaagct
attcagacaatgctggatatacctggaccgtacctgttgatgtcatctgctccgaccacaagaacatgtgttaccgat
gatcccaagtggtggcactttcaaatgtagtaataaccgaagggtggtgcgactaagtactga
```

ФІГ. 1

```
>BnAHASL1C_PM1 часткова<
actttcgtctcccgtacgctccccgacgagccccgcaagggtgctgatatcctcgtcgaaagccctcgagcgtcaagg
cgtcgaaaccgtcttctgcttatccccggagggtgctccatggagatccaccaagccttgactcgtctctccaccatcc
gtaacgtcctccccgtcacgaacaaggaggaggtcttcgcccgcgagggttacgctcgttctccggcaaacccggga
atctgcatagccacttcgggtcccgagctaccaacctcgtcagcgggttagcagacgcgatgcttgacagtgttcc
tcttctcgtccattacaggacaggtccctcgccggatgatcggtactgacgccttccaagagacaccaatcgttgagg
taacgaggtctattacgaacataactatttggtgatggatggtgatgacatacctaggatcggtcaagaagcttctc
ttctagctacttccggtagaccggaccgggttttggttgatgttccaaaggatattcagcagcagcttgcgattcc
taactgggatcaacctatgcgcttactggctacatgtctagggtgctcagccctccggaagtcttctcagttaggctc
agatcgttaggttgatctcggagtctaaaggccctgttttgtagcttggttggtggaagcctgaaactcgagtgaagaa
ctggggagatttgcgagcttactgggacccctgtgcgagtactttgatggggcttggtcttctccttgtaacga
tgagttgctcctgcagatgcttggtgatgcaggagctgtgtatgctaaactacgctgtggagcatagtgtattgttgc
tgccgttttggttgtaggtttgatgacctgtgcagggaagctcgaggcgttctcgttagcagggctaaaattgtgcac
atagacattgattctgctgagattgggaagaataagacacctcacgtgtctgtgtgtggtgatgtaagctggcttt
gcaagggtgaaacaagggtcttgagaaccgggaggagagctcaagccttgatttccgtgtttggaggagtgagttga
gcgagcagaacaagaagtctcccttgagcttcaaaacgtttggagaagccattcctccgcagtagcgcgattcagatc
ctgcagcagctaaaccgaagggaaggcaattatcagtagctggtgttgagacagcatcagatgtgggcggcgagctttta
caagtagcagggaagccgagacagtggtgctgctcatcaggccctcggagctatgggttttggaacttctgctgcgattg
gagcgtctgtggcgaacctgatgcgattgttgtggatattgacggtgatggaagcttcataatgaacgttcaagag
ctggccacaatccgtgtagagaatcttctgtgaagatactcttgttaaacaccagcatcttgggatggctcatgca
atgggaagatcggttctacaaagctaacagagctcacacttatctcggggaccggcgaaggagagaacgagatcttcc
ctaactgctgcagtttgcaggagcttgcgggattccagctgcgagagtgacgaagaagaagaactccgagaagct
attcagacaatgctggatatacaccaggaccatacctgttgatgtgatgtcgcgaccacaagaacatgtgttaccgat
gatcccaaatggtggcactttcaaatgtagtaataaccgaagggtggtgcgactaagtactga
```

ФІГ. 2

```
>BnAHASL1A_PM2 часткова<
TFISRYAPDEPRKGADILVEALERQGVETVFAYPGGASMEIHQALTRSSSTIRNVLP RHEQGGVF AEGYARSSGKPG
ICATSGPGATNLVSLADAMLDVPLVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSTIKHNYLVMDVDDIPRIVQEA
FLATSGRPGPVLVDVPKDIQQQLAIPNWDQPMRLPGYMSRLPQPPEVSQLGQIVRLISESKRPVLYVGGGSLNSSE
LGRFVELTGIPVASTLMGLGSPCNDLSLQMLGMHGT VYANYAVEHSDLLAFGVRFDRTVTKLEAFASRAKIVH
IDIDSAEIGKNKTPHVSVCGLVKKLALQGMNKVLENRAEELKLDGFWVRSELSEQKQKPLSFKTFGEAIPPOYAIQV
LDELTOGKAIISTGVGQHQMWAQFYKYRKPQWLSSSLGAMGFLPAAIGASVANPDIAI VVDIDGDSGFI MNVQE
LATIRVENLVPKILLNNQHLGMVMQLED RFYKANRAHTYLGDPARENEIFPNMLQFAGACGIPAA RVTKKEELREA
IQTMLDTPGPYLLDVICPHQEHVLPMPISGGTFKDVITEGDRGTKY
```

ФІГ. 3

>BnAHASL1C_PM1 чакткова<
 TFVSRYPADPRKGADILVEALERQGVETVFAYPPGGASMEIHQALTRSSSTIRNVLPREHQQGVFAAEGYARSSGKPG
 ICIATSGPGATNLVSGLADAMLDSVPLVAITGQVPRRMIGTDAFQETPIVEVTRSIKHNLYLMDVDDIPRIVQEAFF
 FLATSGRPGPVLVDVPKDIQQQLAIPNWDQPMRLPGYMSRLPQPPEVSQLGQIVRLISESKRPVLYVGGGSLNSSEE
 LGRFVELTGIPVASTLMGLGSPCNDLSLQMLGMHGTVYANYAVEHSDLLAFGVRFDDRVTGKLEAFASRAKIVH
 IDIDSAEIGKNKTPHVSVCGLVQMLQGMNKVLENRAEELKLDGFWVRSELSEQKQKFPPLSFKTFGEAIPQYAIQI
 LDELTEGKAIISTGVGQHQMWAQFYKYRKPQWLSSSGLGAMGFLPAAIGASVANPDIVVDIDGDSFIMNVQE
 LATIRVENLPVKILLNNQHLGMVMQWEDRFYKANRAHTYLGDPARENEIFPNMLQFAGACGIPAARVTKKEELREA
 IQTMLDTPGPYLLDVICPHQEHVLPMPNGGTFKDVITEGDRTKY

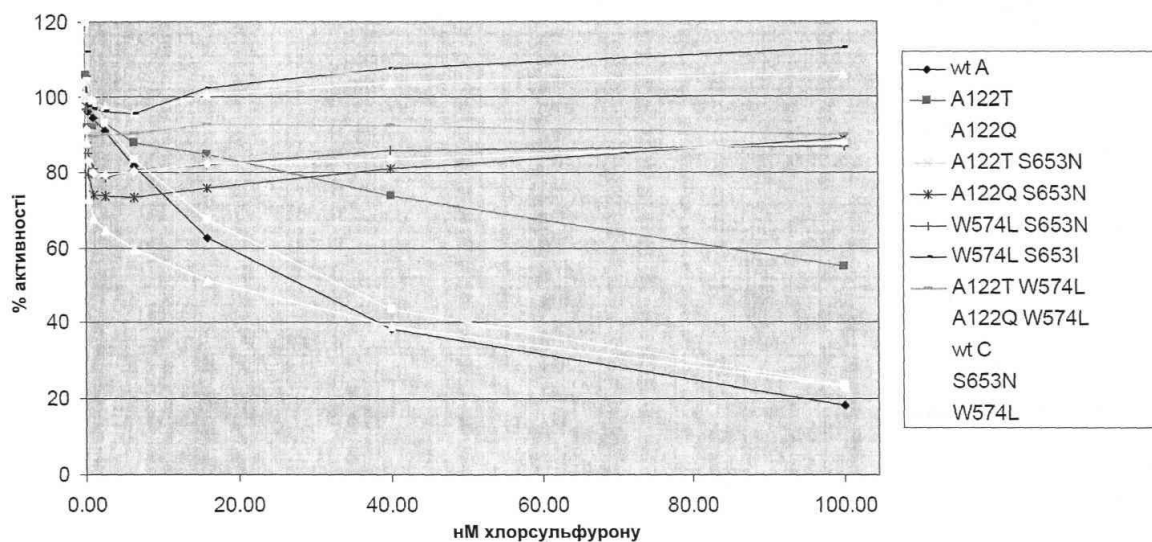
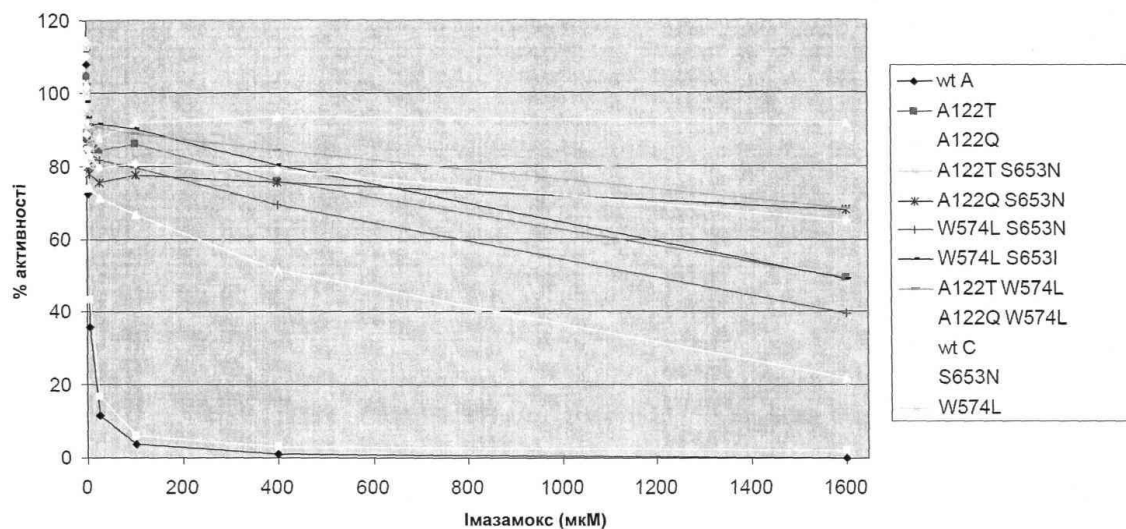
Фиг. 4

PM2
 atggcggcggaacatcgctcttctccgatctccttaaccgctaaaccttcttccaaatccccctctacccatttccag
 attctcccttcccttctccttaacccacagaaacccctcctcccgctctccaccgctccactcgccatctcccgcttc
 tcaactcaccctgcaatggtgcacctgaaaaaacgcgacaagatcaagacttctcctcctcccgctacgctcccgacgag
 ccccgcaagggtgctgatctcctcgtagaagcctcgagcgtcaaggcgtcgaaacgctcttcgcttatcccgaggg
 tgctccatggagatccaccaagccttgactcgctcctccaccatccgtaacgctcctcccccgctcacgaacaaggag
 gactcttcgcgcggcagggttacgctcgttctccggcaaacgggaatctgcatagecacttcgggtcccgagct
 accaacctcgctcagcgggttagccgacgcgagctgttgacagtgttctcctcctcgctcgccatcacaggacagggtccctcg
 ccggatgatcggtactgacgcgttccaagagacgcgaatcggtgaggtaacgaggtctattacgaaacataactatc
 tgggtgatgatgttgatgacatacctaggatcggttcaagaagcattcttcttagctacttccggttagaccggacgg
 gttttggttgatgttccctaaggatattcagcagcagcttgcgattcctaactgggatcaacctatgctggtcctgg
 ctacatgtctagggtcctcagccaccggaagtcttcagtgtaggacagatcggttaggttgatctcggagcttaaga
 ggctctgtttgtacgttggtggtggaagcttgaaactcgagtgagaactggggagatttgctcgagcttactgggac
 cctgttgcgagtacgttgatggggccttggtcttctccttgtaacgatgagttgtccctgcagatgcttgccatgca
 cgggactgtgtatgctaactacgctgttgagcatagtgattgttgctggtggttgggtgttaggtttgatgacgtg
 tcacgggaaagctcgaggcgtttgcgagcagggttaagattgtgcacatagacattgatctcgtgagattgggaag
 aataagacacctcagctgtctgtgtgtggtgatgtaagctggccttgcaagggtgaacaagggttcttgagaaccg
 ggcggaggagctcaagcttgatttcggtgtttggaggagtgagttgagcagcagaaacagaagttcccgcttgagct
 tcaaaacgttttgagaagccattcctccgcagtcacgcgattcaggtcctagacgagctaaaccaagggaaggcaatt
 atcagtagtctggtgttgacagcatcagatgtggcgcgcgagcttttacaagtacagggaagccgaggcagtggtgtc
 gtccctcaggactcggagctatgggtttcggacttctcgtcgcgattggagcgtctgtggcgaaacctgatgcgattg
 ttgtggacattgacggtgatggaaagcttcataatgaacggttcaagagctggccacaatccgtgtagagaattctcct
 gtgaagatactctgttaaaacaaccagcatcttgggatggctcatgcaattggaagatcggttctacaagctaacag
 agctcacacttatctcggggaccgggcaagggaagacagatcttccctaacatgctgcagtttgaggagcttgcg
 ggattccagctgcgagagtgacgaagaagaagaactccgagaagctattcagacaaatgctggatcacctggaccg
 tacctgttggtgatgcatctgtccgcaccaagaacatgtgttaccgatgatcccaagtggtggcactttcaaagatgt
 aataaccgaagggtggtgcactaagtactga

Фиг. 5

PM2
 MAAATSSSPISLTAKPSSKSPPLISRFSLPFSLTPQKPSSRLHRPLAISAVLNSPUNVAP
 EKTDKIKTFISRYAPDEPRKGADILVEALERQGVETVFAYPPGGASMEIHQALTRSSSTIRN
 VLPREHQQGVFAAEGYARSSGKPGICATSGPGATNLVSGLADAMLDSVPLVAITGQVPR
 RMIGTDAFQETPIVEVTRSIKHNLYLMDVDDIPRIVQEAFFLATSGRPGPVLVDVPKDI
 QQQLAIPNWDQPMRLPGYMSRLPQPPEVSQLGQIVRLISESKRPVLYVGGGSLNSSEELG
 RFVELTGIPVASTLMGLGSPCNDLSLQMLGMHGTVYANYAVEHSDLLAFGVRFDDRVT
 GLEAFASRAKIVHIDIDSAEIGKNKTPHVSVCGLVQMLQGMNKVLENRAEELKLDGFW
 VRSELSEQKQKFPPLSFKTFGEAIPQYAIQVLDLDTQKAIISTGVGQHQMWAQFYKY
 RKPRQWLSSSGLGAMGFLPAAIGASVANPDIVVDIDGDSFIMNVQELATIRVENLPV
 KILLNNQHLGMVMQLEDRFYKANRAHTYLGDPARENEIFPNMLQFAGACGIPAARVTKK
 EELREAIQTMLDTPGPYLLDVICPHQEHVLPMPISGGTFKDVITEGDRTKY

Фиг. 6



Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601