

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 561 281**

51 Int. Cl.:

**C12N 1/20** (2006.01)

**C12R 1/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.11.2011 E 1179272 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.01.2016 EP 2640828**

54 Título: **Microorganismo y agente desodorizante que contiene el mismo**

30 Prioridad:

**15.11.2010 JP 2010255140**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**25.02.2016**

73 Titular/es:

**TOYOTA JIDOSHA KABUSHIKI KAISHA (100.0%)  
1, Toyota-cho  
Toyota-shi, Aichi-ken, 471-8571, JP**

72 Inventor/es:

**TADA, NOBUKI;  
MATSUSHITA, HIBIKI y  
KIMURA, TOSHIAKI**

74 Agente/Representante:

**ZUAZO ARALUZE, Alexander**

**ES 2 561 281 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**MICROORGANISMO Y AGENTE DESODORIZANTE QUE CONTIENE EL MISMO****DESCRIPCIÓN****5 Campo técnico**

La presente invención se refiere, por ejemplo, a microorganismos que tienen capacidad desodorizante y a un agente desodorizante que contiene los microorganismos.

**10 Técnica anterior**

Convencionalmente, ha existido el problema de volatilización de una gran cantidad de componentes de olor desagradable cuando se realiza el compostaje de restos orgánicos tales como excrementos de ganado. Los ejemplos del componente de olor desagradable incluyen ácidos grasos de cadena corta, e incluso a bajas concentraciones son problemáticos como componente de olor desagradable.

Como tecnología convencional en relación con el método de desodorización, se notifica una tecnología de desodorización microbiana en la que la desodorización se realiza usando microorganismos específicos y microorganismos complejos. Por ejemplo, en cuanto a los compuestos de azufre, se notifican la descomposición de sulfuro de dimetilo por un producto de cultivo mixto de *Thiobacillus thioparus* y *Pseudomonas sp.* (Takahiro Kanagawa y D.P. Kelly, FEMS Microbiology Letters, 1986, Vol. 34, págs. 13-19) y la descomposición de sulfuro de hidrógeno por *Pseudomonas* (publicación de patente japonesa (Kokai) n.º 4-262778A (1992)). Además, se notifica un método de descomposición de indol y escatol usando *Acinetobacter calcoaceticus* (publicación de patente japonesa (Kokai) n.º 2-53482A (1990)). Aunque estas tecnologías en relación con la desodorización microbiana de compuestos de azufre, indol y escatol son eficaces para obtener una reducción parcial de los componentes de olor desagradable de excrementos de ganado, etc., no son suficientes para reducir el olor desagradable, por ejemplo, de excrementos de ganado que contienen una gran cantidad de ácidos grasos de cadena corta.

En cambio, como tecnología de desodorización microbiana para ácidos grasos de cadena corta, se conoce que la cepa de *Bacillusadius* MA001 tiene capacidad desodorizante (FERM BP-4493) (patente japonesa n.º 2810308). Sin embargo, debido a que el intervalo de temperatura de actividad óptima para esta cepa de *Bacillusadius* MA001 está próximo a la temperatura normal (aproximadamente de 15°C a 45°C), su efecto es considerablemente limitado cuando se usa en el procedimiento de compostaje, etc., que se realiza en condiciones de alta temperatura.

**35 Sumario de Invención****Problema técnico**

Con el fin de lograr la desodorización microbiana de ácidos grasos de cadena corta, que son los componentes de olor desagradable durante el procedimiento de compostaje, son necesarios microorganismos que funcionen activamente en condiciones de alta temperatura en el procedimiento de compostaje.

En vista de la circunstancia mencionada anteriormente, un objeto de la presente invención es proporcionar microorganismos termófilos que tengan capacidad desodorizante para ácidos grasos de cadena corta, que son los componentes de olor desagradable.

**Solución al problema**

Se realizó una intensa investigación con el fin de resolver el problema mencionado anteriormente. Como resultado, se encontraron microorganismos termófilos que tienen capacidad desodorizante para ácidos grasos de cadena corta, completando de ese modo la presente invención.

Es decir, la presente invención proporciona microorganismos termófilos que tienen capacidad desodorizante para ácidos grasos de cadena corta, que pertenecen a *Bacillus licheniformis*, tales como los especificados mediante el número de registro NITE BP-998. En el presente documento, los ejemplos de los ácidos grasos de cadena corta que van a desodorizarse incluyen uno o más tipos seleccionados del grupo que consiste en ácido propiónico, ácido butírico (ácido n-butanico), ácido valérico (ácido n-pentanoico) y ácido isovalérico (ácido 3-metilbutanoico).

Además, la presente invención proporciona un agente desodorizante que comprende los microorganismos mencionados anteriormente como componente activo. Los microorganismos contenidos en el agente desodorizante pueden portarse por portadores de microorganismos.

Adicionalmente, la presente invención proporciona un método de producción de compost que comprende la etapa de añadir los microorganismos mencionados anteriormente o el agente desodorizante a restos orgánicos.

El contenido tal como se da a conocer en la descripción y/o los dibujos de la solicitud de patente japonesa n.º 2010-

255140, de la que la presente solicitud reivindica prioridad, se incorpora en el presente documento.

### Efectos ventajosos de la invención

5 Según la presente invención, puede reducirse la producción de ácidos grasos de cadena corta, que son los componentes de olor desagradable, y de ese modo se logra la desodorización en el procedimiento de compostaje, etc.

### Breve descripción de los dibujos

10 [Figura 1-1] La figura 1-1 es un diagrama que muestra los resultados del análisis de homología del gen de ARNr 16S de la cepa TAB7.

15 [Figura 1-2] La figura 1-2 es la continuación de la figura 1-1.

[Figura 2] La figura 2 muestra gráficos que indican la descomposición de ácidos grasos de cadena corta en excrementos de ganado por los materiales microbianos que portan la cepa TAB7.

### Descripción de las realizaciones

20 A continuación en el presente documento, se describirá en detalle la presente invención.

25 Los microorganismos de la presente invención son microorganismos termófilos que tienen capacidad desodorizante para ácidos grasos de cadena corta, que pertenecen a *Bacillus licheniformis*. En el presente documento, "capacidad desodorizante para ácidos grasos de cadena corta" se refiere a la capacidad para desodorizar el olor desagradable de los ácidos grasos de cadena corta descomponiendo y reduciendo los ácidos grasos de cadena corta. Además, los "microorganismos termófilos" se refieren a microorganismos que pueden crecer en condiciones de alta temperatura de 50°C o superior (por ejemplo, de 50°C a 60°C, preferiblemente de 55°C a 60°C). Los microorganismos de la presente invención son termófilos y funcionan activamente en condiciones de alta temperatura de 50°C o superior en el procedimiento de compostaje, y pueden descomponer ácidos grasos de cadena corta, que llegan a ser problemáticos como componentes de olor desagradable durante el compostaje (es decir, la producción de compost), mediante lo cual se desodoriza el olor desagradable producido durante el procedimiento de compostaje o emitido por el compost resultante.

35 Aunque no se impone ninguna limitación particular sobre los ácidos grasos de cadena corta que van a descomponerse por los microorganismos de la presente invención, los ejemplos de los mismos incluyen ácido acético, ácido propiónico, ácido butírico (ácido n-butanoico), ácido isobutírico (ácido 2-metilpropiónico), ácido valérico (ácido n-pentanoico), ácido hidrangélico (ácido 2-metilbutanoico), ácido isovalérico (ácido 3-metilbutanoico), ácido pivalico (ácido 2,2-dimetilpropiónico), ácido caproico (ácido n-hexanoico), ácido enántico (ácido n-heptanoico), ácido caprílico (ácido n-octanoico), ácido pelargónico (ácido n-nonanoico) y ácido cáprico (ácido n-decanoico). Los ejemplos particulares incluyen uno o más tipos seleccionados de ácido propiónico, ácido butírico (ácido n-butanoico), ácido valérico (ácido n-pentanoico) y ácido isovalérico (ácido 3-metilbutanoico).

45 Como fuente a partir de la cual se aíslan los microorganismos de la presente invención se usan, por ejemplo, excrementos de ganado en el procedimiento de compostaje. A partir de excrementos de ganado en el procedimiento de compostaje, pueden aislarse microorganismos que pertenecen a *Bacillus licheniformis* que funcionan activamente en los excrementos de ganado y pueden crecer en condiciones de alta temperatura y pueden descomponer eficazmente ácidos grasos de cadena corta y desodorizarlos de ese modo, como microorganismos de la presente invención. Los ejemplos del método de evaluación para determinar la capacidad desodorizante de los microorganismos aislados incluyen un método que incluye añadir los microorganismos aislados a un medio que contiene ácidos grasos de cadena corta y cultivarlos, y tras el cultivo, medir la cantidad de ácidos grasos de cadena corta en el producto de cultivo mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas, etc. Cuando la cantidad de ácidos grasos de cadena corta en el producto de cultivo al que se han añadido los microorganismos se reduce significativamente, entonces puede determinarse que los microorganismos tienen capacidad desodorizante para ácidos grasos de cadena corta. La cepa TAB7 que pertenece a *Bacillus licheniformis* pudo aislarse satisfactoriamente mediante este método.

60 La cepa TAB7 se depositó en la agencia administrativa incorporada, National Institute of Technology and Evaluation, Patent Microorganisms Depository (NPMD) (2-5-8 Kazusakamatari, Kisarazu-shi, Chiba 292-0818, Japón) el 29 de octubre de 2010, con el número de registro NITE P-998, y luego se convirtió en un depósito según el Tratado de Budapest en la agencia administrativa incorporada National Institute of Technology and Evaluation, Patent Microorganisms Depository (NPMD), el 28 de septiembre de 2011, con el número de registro NITE BP-998. Se identificó la cepa TAB7 como una cepa bacteriana novedosa que pertenece a *Bacillus licheniformis* según las propiedades bacteriológicas y el análisis de homología del gen de ARNr 16S, etc., que se presentarán en los ejemplos más adelante. Ha de observarse que un mutante termófilo de la cepa TAB7 obtenido mediante mutación espontánea o inducida artificialmente que conserva la capacidad desodorizante para ácidos grasos de cadena corta

queda abarcado por los microorganismos de la presente invención.

Por ejemplo, la cepa TAB7 puede cultivarse y hacerse crecer en un medio que contiene glucosa al 1%, extracto de levadura al 1%,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  al 0,1% y  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  al 0,1% en condiciones de pH de 6,0 a 9,0 (por ejemplo, un pH de 7,0) y una temperatura de 25°C a 55°C (preferiblemente, de 45°C a 52°C). Ha de observarse que el medio usado para cultivar la cepa TAB7 puede ser cualquiera de varios medios nutrientes empleados en la tecnología de fermentación general. Por ejemplo, puede usarse un medio que contiene una fuente de nutrientes orgánicos tal como caldo y peptona y una cantidad traza de fuente de nutrientes inorgánicos para cultivar la cepa TAB7.

En cambio, el agente desodorizante de la presente invención es un agente desodorizante que contiene los microorganismos mencionados anteriormente de la presente invención como componente activo. Por ejemplo, el olor desagradable generado durante el procedimiento de compostaje o el olor desagradable del compost pueden desodorizarse añadiendo el agente desodorizante de la presente invención a los excrementos de ganado en el procedimiento de compostaje y al compost. Como microorganismos de la presente invención en el agente desodorizante, también pueden usarse los portados por portadores de microorganismos. Aunque no se impone ninguna limitación particular sobre el portador de microorganismos, los ejemplos del mismo incluyen perlita, bentonita, zeolita, vermiculita, tierra de diatomeas, musgo de turba y carbón activado. Por ejemplo, se añaden 100 ml de un líquido de cultivo de los microorganismos de la presente invención (el valor de absorbancia a DO 660 nm es de aproximadamente 2,0) a 1 kg de perlita, seguido por agitación durante aproximadamente cinco minutos, mediante lo cual se permite que los microorganismos de la presente invención se adsorban a la perlita. Adicionalmente, además de los microorganismos de la presente invención, el agente desodorizante de la presente invención puede contener aditivos tales como almidón, aceite, salvado, serrín, celulosa, hidratos de carbono, quitina, gelatina, carbonato de calcio, sulfato de calcio, carbonato de magnesio, carbón activado, tierra de diatomeas, zeolita, vidrio, nailon, uretano, y poliéster.

Adicionalmente, el método de producción de compost de la presente invención (a continuación en el presente documento, denominado "el presente método") es un método de producción de compost que usa los microorganismos o el agente desodorizante mencionados anteriormente de la presente invención, en el que se someten a compostaje restos orgánicos a los que se han añadido los microorganismos o el agente desodorizante. Según el presente método, el olor desagradable emitido por los ácidos grasos de cadena corta durante el compostaje puede desodorizarse, y por tanto puede proporcionarse compost con poco o absolutamente nada de olor desagradable. Los ejemplos de restos orgánicos usados para el compostaje incluyen excrementos o una mezcla de heces y orina de animales incluyendo excrementos de seres humanos y ganado (tal como cerdos, vacas y pollos).

En el presente método, por ejemplo, a los restos orgánicos en los que el contenido en agua se ajusta apropiadamente de antemano (por ejemplo, hasta una razón de contenido en agua de aproximadamente el 60%), se añaden los microorganismos de la presente invención o el agente desodorizante de la presente invención que contiene los microorganismos en una cantidad de  $10^5$  a  $10^{13}$  bacterias por kg de restos orgánico. La adición puede realizarse en cualquier momento antes del compostaje. Posteriormente, los restos orgánicos a los que se han añadido los microorganismos o el agente desodorizante de la presente invención se someten a compostaje. El compostaje se lleva a cabo, por ejemplo, sometiendo una mezcla de los microorganismos o el agente desodorizante de la presente invención y los restos orgánicos a fermentación. Los ejemplos de las condiciones de fermentación incluyen una temperatura de 40°C a 75°C (preferiblemente de 50°C a 60°C) y un periodo de dos a cinco semanas (preferiblemente de tres a cinco semanas). Mediante este procedimiento, puede reducirse el olor desagradable emitido por los ácidos grasos de cadena corta durante el procedimiento de compostaje, y puede producirse compost con poco o absolutamente nada de olor desagradable de ácidos grasos de cadena corta.

Los ejemplos del método de evaluación para el olor desagradable de ácidos grasos de cadena corta en el compost durante el compostaje mediante el presente método o para el olor desagradable de ácidos grasos de cadena corta en el compost producido mediante el presente método incluyen un método de medición de la cantidad de ácidos grasos de cadena corta en el compost durante el compostaje o el compost así producido mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas, etc. Cuando la cantidad de ácidos grasos de cadena corta es significativamente reducida en comparación con el compost durante el compostaje usando restos orgánicos a los que no se añaden ni los microorganismos ni el agente desodorizante de la presente invención o con el compost así producido, entonces puede determinarse que el compost durante el compostaje mediante el presente método o el compost producido mediante el presente método tiene olor desagradable reducido, y por tanto es favorable.

Alternativamente, el olor desagradable de los ácidos grasos de cadena corta en el compost puede evaluarse organolépticamente. Es decir, una pluralidad de personas comprueban el olor del compost durante el compostaje mediante el presente método o el olor del compost producido mediante el presente método, y cuando se determina que el olor desagradable se ha reducido significativamente o está completamente ausente en comparación con el compost durante el compostaje usando restos orgánicos a los que no se añaden ni los microorganismos ni el agente desodorizante de la presente invención o con el compost así producido, entonces puede determinarse que el compost durante el compostaje mediante el presente método o el compost producido mediante el presente método tiene olor desagradable reducido, y por tanto es favorable.

**Ejemplos**

A continuación en el presente documento, se describirá la presente invención en más detalle con referencia a los ejemplos; sin embargo, el alcance técnico de la presente invención no se limita a estos ejemplos.

Ejemplo 1

Aislamiento de microorganismos que descomponen y desodorizan eficazmente ácidos grasos de cadena corta y propiedades taxonómicas de los microorganismos

1-1. Aislamiento de microorganismos

Con el fin de buscar microorganismos que actúen vigorosamente en el compostaje y puedan descomponer y desodorizar eficazmente los componentes de olor desagradable en el procedimiento de compostaje, se obtuvieron excrementos de ganado en el procedimiento de compostaje de ganaderos por todo Japón y se intentó el aislamiento de microorganismos que reducen el olor desagradable.

Como resultado, se adquirieron microorganismos que pueden funcionar activamente en los excrementos de ganado y crecer en condiciones de alta temperatura que pueden descomponer y desodorizar eficazmente ácidos grasos de cadena corta. La cepa bacteriana así obtenida se denomina cepa TAB7.

1-2. Propiedades fisiológicas de la cepa TAB7

Se investigaron las propiedades bacteriológicas de la cepa TAB7 usando los métodos descritos en "BERGEY'S MANUAL of Systematic Bacteriology, volumen tres" y en el "Manual for the Identification of Medical Bacteria, tercera edición" y mediante una prueba usando API50CHB (bioMerieux, Lyon, Francia). Como resultado, se obtuvieron los siguientes hallazgos.

[Tabla 1]

Hallazgos morfológicos y de crecimiento y propiedades bacteriológicas de la cepa TAB7

+: Positiva -: Negativa

<Propiedades morfológicas>	
Morfología celular	<i>Bacillus</i> (0,8-0,9x1,2-2,0 μm)
Tinción Gram	+
Formación de esporas	+
Motilidad	+
<Propiedades de cultivo>	
Morfología de colonias	Medio: agar nutritivo Tiempo de cultivo: 24 h Diámetro: 2,0-3,0 mm Color: Amarillo claro Forma: Ovalada Elevación: Lenticular Margen: Ondulado Forma de superficie, etc.: Lisa Transparencia: Opaca Viscosidad: Similar a mantequilla
Intervalo de temperatura del cultivo	25°C: + 30°C: + 37°C: + 45°C: + 50°C: + 55°C: + 60°C: -
Intervalo de pH de cultivo	pH 5: - pH 6: + pH 7: + pH 8: + pH 9: +
<Propiedades fisiológicas>	
Catalasa	+
Oxidasa	-

ES 2 561 281 T3

Producción de ácido/gas (glucosa)	-/-
Prueba de O/F (glucosa)	-/-
Crecimiento en NaCl al 10%	+
Hidrólisis de caseína	+
Hidrólisis de almidón	+
Beta-galactosidasa	+
Arginina hidrolasa	+
Lisina descarboxilasa	-
Ornitina descarboxilasa	-
Uso de ácido cítrico	-
Producción de H <sub>2</sub> S	-
Ureasa	-
Triptófano desaminasa	-
Producción de indol	-
Producción de acetoina	-
Gelatinasa	-
NIT Reducción de nitrato	-
<Prueba de fermentación>	
Glicerol	+
Eritritol	-
D-Arabinosa	-
L-Arabinosa	+
Ribosa	+
D-Xilosa	-
L-Xilosa	-
Adonitol	-
Beta-metil-D-xilosa	-
Galactosa	-
Glucosa	+
Fructosa	+
Manosa	+
Sorbosa	-
Ramnosa	-
Dulcitol	-
Inositol	-
Manitol	+
Sorbitol	+
Alfa-metil-D-manósido	-
Alfa-metil-D-glucósido	+
N-Acetilglucosamina	+
Amigdalina	+
Arbutina	+
Esculina	+
Salicina	+
Celobiosa	+
Maltosa	+
Lactosa	-
Melibiosa	-
Sacarosa	+
Trehalosa	+
Inulina	-
Melicitosa	-
Rafinosa	-
Almidón	-
Glucógeno	-
Xilitol	-
Gentiobiosa	+
D-Turanosa	-
D-Lixosa	-
D-Tagatosa	+
D-Fucosa	-
L-Fucosa	-
D-Arabitol	-

L-Arabitol	-
Gluconato	-
2-Cetogluconato	-
5-Cetogluconato	-

Tal como se entiende a partir de las propiedades bacteriológicas mostradas en la tabla 1, la cepa TAB7 es una bacteria Gram positiva móvil y forma esporas pero no mostró hinchamiento del cuerpo bacteriano debido a las esporas. Fue positiva para la reacción de catalasa y negativa para la reacción de oxidasa. Estas propiedades concordaban con las propiedades generales del género *Bacillus*.

Adicionalmente, la cepa TAB7 fermentó glicerol, ribosa, fructosa y similares, mientras que no fermentó L-xilosa, galactosa y similares. Además, mostró actividades de beta-galactosidasa y arginina dihidrolasa; no produjo acetoina; no mostró actividad gelatinasa; y no redujo nitrato. Adicionalmente, la cepa TAB7 creció en NaCl al 10% e hidrolizó caseína y almidón. Se confirmó que estas propiedades concordaban en gran medida con las propiedades de *Bacillus licheniformis*, lo que se sugirió mediante una prueba de identificación basada en el gen de ARNr 16S que se describirá más adelante. Sin embargo, hubo diferencias, y en particular la diferencia es que la cepa TAB7 ni produjo acetoina ni hidrolizó gelatina. En este aspecto, se observó que la cepa TAB7 era diferente de las cepas conocidas de *Bacillus licheniformis*.

#### 1-3. Identificación taxonómica de la cepa TAB7 mediante la secuencia génica de ARNr 16S

Con el fin de realizar la clasificación e identificación de la cepa TAB7 basándose en la secuencia génica, se obtuvo el gen de ARNr 16S a partir del ADN genómico de la cepa TAB7 y se determinó la secuencia de nucleótidos del gen según el método descrito en Biseibutsugaku jikkenho (traducción literal: técnica experimental microbiológica) (Kodansha Ltd.). Una parte de la secuencia de nucleótidos del gen de ARNr 16S de la cepa TAB7 así identificado se muestra como la secuencia de nucleótidos de SEQ ID NO: 1.

Además, se realizó una investigación de BLAST para la secuencia de nucleótidos del gen de ARNr 16S de la cepa TAB7 contra la base de datos de secuencia de nucleótidos de ADN (NCBI (GenBank)). Los resultados se muestran en las figuras 1-1 y 1-2. Tal como se muestra en las figuras 1-1 y 1-2, la cepa TAB7 mostró la mayor homología con *Bacillus licheniformis*.

A partir de los resultados anteriores, se identificó la cepa TAB7 como una cepa bacteriana novedosa de *Bacillus licheniformis*.

#### 1-4. Confirmación del crecimiento de la cepa TAB7 en excrementos de ganado

Con el fin de que la cepa TAB7 funcione de manera regular en el procedimiento de compostaje, es necesario que la cepa TAB7 crezca en los componentes de excrementos de ganado. En vista de esto, se examinó el crecimiento de la cepa TAB7 usando excrementos de ganado reales.

Se pesaron 100 g de cada uno de excrementos de cerdo (razón de contenido en agua de aproximadamente el 60%) y excrementos de pollo (razón de contenido en agua de aproximadamente el 60%) recogidos de una granja en funcionamiento. Entonces, tras añadir 400 ml de agua purificada a los excrementos de ganado, se añadió un agar para obtener un medio de modo que el contenido del mismo fuera del 1,5%, y se sometió la mezcla resultante a esterilización en autoclave (a 121°C durante 20 minutos).

Tras la esterilización en autoclave, se enfrió la mezcla hasta aproximadamente temperatura ambiente, y en una sala limpia, se añadió a una placa de Petri esterilizada y se solidificó.

En el interior del medio de excrementos de ganado preparado como anteriormente, se sembró la cepa TAB7 usando un asa de siembra de platino y se cultivó a 50°C durante 12 horas, y se confirmó que la cepa TAB7 crecía en los componentes de excrementos de ganado sin problema.

#### Ejemplo 2

#### Descomposición de ácidos grasos de cadena corta en excrementos de ganado por la cepa TAB7

##### 2-1. Cultivo de la cepa TAB7

Se cultivó la cantidad necesaria de la cepa TAB7 y proliferó en un medio de cultivo que contenía los componentes tal como se muestra en la tabla 2 a continuación.

[Tabla 2]

Componentes del medio de cultivo:

	(1) glucosa	1%
	(2) extracto de levadura	1%
	(3) Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,1%
5	(4) (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,1%

Se disolvieron los componentes del medio de cultivo anterior en agua purificada y se ajustó el pH a 7,0, y se mantuvo la disolución resultante a 121°C durante 15 minutos usando un autoclave para esterilización.

10 Posteriormente, se añadieron 300 ml del medio así producido a un matraz con deflectores de 500 ml, en cuyo interior se sembró una pequeña cantidad de la cepa TAB7 a partir de la disolución madre de glicerol que se había producido de antemano. Tras cultivar a 50°C durante 16 horas con agitación, se obtuvo un líquido de cultivo de la cepa TAB7 con un valor de absorbancia de aproximadamente 2,0 (DO 660 nm).

15 2-2. Unión de la cepa TAB7 a portadores de microorganismos

A 1 kg de perlita (el portador de microorganismos) se le añadieron 100 ml del líquido de cultivo de la cepa TAB7 obtenido en la sección 2-1 anterior. Entonces se agitó la mezcla resultante durante cinco minutos para permitir que la cepa TAB7 se adsorbiera sobre la perlita, mediante lo cual se obtuvieron los materiales microbianos.

20 2-3. Descomposición de ácidos grasos de cadena corta en excrementos de ganado por los materiales microbianos que portan la cepa TAB7

25 Se obtuvieron excrementos recientes (razón de contenido en agua de aproximadamente el 70%) de cerdos de tres a seis meses de edad de una granja porcina, y usando excrementos secos (razón de contenido en agua de aproximadamente el 20%) para el ajuste del contenido en agua, se ajustaron los excrementos para que tuvieran una razón de contenido en agua de aproximadamente el 60%.

30 A nueve kg de excrementos de cerdo con contenido en agua ajustado, se les añadieron 18 g de los materiales microbianos producidos en la sección 2-2 anterior (estaban presentes aproximadamente 10<sup>7</sup> bacterias vivas de la cepa TAB7 por g del material microbiano) para servir como grupo de prueba (que contenía aproximadamente 2 x 10<sup>4</sup> bacterias de la cepa TAB7 por g de excrementos de ganado). Además, se usó como grupo control un grupo que contenía excrementos de cerdo sin nada añadido a los mismos.

35 Se sometieron estos excrementos a compostaje usando la unidad experimental de compostaje de pequeño tamaño, KAGUYAHIME (producto de Fujihira Industry Co., Ltd.). Se midió la concentración de ácidos grasos de cadena corta, que es el componente de olor desagradable, en los excrementos de cerdo tras aproximadamente cuatro días de compostaje.

40 Para la medición de la concentración de ácidos grasos de cadena corta, en primer lugar se midió la razón de contenido en agua de la muestra de compost recogida, y tras mantenerla en el espacio de cabeza a 60°C durante 30 minutos (vial de 22 ml), se analizó el gas así volatilizado mediante cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas K9 (producto de JEOL Ltd.) para cuantificar la cantidad de ácidos grasos de cadena corta en el compost (columna usada: TC-WAX, DI 0,32 mm, 30 m, producto de GL Sciences Inc.). La cantidad de ácidos grasos de cadena corta así cuantificada se muestra en la figura 2.

45 En la figura 2, cada panel representa lo siguiente; (A): la concentración de ácido butírico volatilizado en el compost, (B): la concentración de ácido valérico volatilizado en el compost, (C): la concentración de ácido propiónico volatilizado en el compost y (D): la concentración de ácido isovalérico volatilizado en el compost.

50 Tal como se muestra en la figura 2, en comparación con el grupo control (el grupo sin material microbiano añadido), se confirmó que el ácido butírico, ácido valérico, ácido propiónico y ácido isovalérico habían disminuido en el 90,1%, el 77,5%, el 62,5% y el 90,1%, respectivamente, en el compost del grupo de prueba (el grupo con material microbiano añadido).

55 **Referencia al material biológico depositado**

NITE BP-998

60 **Lista de secuencias**

<110> TOYOTA JIDOSHA KABUSHIKI KAISHA

<120> Microorganismo y agente desodorizante que contiene el mismo

65 <130> PH-4978-PCT

ES 2 561 281 T3

<150> Documento JP 2010-255140  
 <151> 15-11-2010

5 <160> 1

<170> PatentIn versión 3.4

<210> 1

10 <211> 1447

<212> ADN

<213> *Bacillus licheniformis*

<400> 1.

15

```

acttccccca atcatctgtc ccaccttcgg cggctggctc caaaaggtta cctcacccgac      60
ttcgggtggtt acaaactctc gtggtgtgac gggcgggtgtg tacaaggccc gggaacgtat      120
tcaccgcggc atgctgatcc gcgattacta gcgattccag cttcacgcag tcgagttgca      180
gactgcgatc cgaactgaga acagatttgt gggattggct tagcctcgcg gcttcgctgc      240
cctttgttct gccattgta gcacgtgtgt agcccaggtc ataaggggca tgatgatttg      300
acgtcatccc caccttcctc cggtttgtca ccggcagtca ccttagagtg cccaactgaa      360
tgctggcaac taagatcaag ggttgcgctc gttgcgggac ttaaccaac atctcacgac      420
acgagctgac gacaaccatg caccacctgt cactctgccc ccgaagggga agccctatct      480
ctagggttgt cagaggatgt caagacctgg taaggttctt cgcgttgctt cgaattaaac      540
cacatgctcc accgcttgtg cgggcccccg tcaattcctt tgagtttcag tcttgcgacc      600
gtactccccca ggcggagtgc ttaatgcggt tgctgcagca ctaaagggcg gaaaccctct      660
aacacttagc actcatcggt tacggcgtgg actaccaggg tatctaatec tgttcgctcc      720
ccacgctttc gcgcctcagc gtcagttaca gaccagagag tcgccttcgc cactgggtgtt      780
cctccacatc tctacgcatt tcaccgctac acgtggaatt ccactctcct cttctgcaact      840
caagttcccc agtttccaat gaccctcccc ggttgagccg ggggctttca catcagactt      900
aagaaaccgc ctgcgcgcgc tttacgcccc ataattccgg acaacgcttg ccacctacgt      960
attaccgcgg ctgctggcac gtagttagcc gtggctttct ggtaggtac cgtcaaggta     1020
ccgccctatt cgaacggtac ttgttcttcc ctaacaacag agttttacga tccgaaaacc     1080
ttcatcactc acgcggcggt gctccgtcag actttcgtcc attgcggaag attccctact     1140
gctgcctccc gtaggagtct gggcctgtgc tcagtcctcag tgtggccgat caccctctca     1200
ggtcggctac gcatcgtcgc cttggtgagc cgttacctca ccaactagct aatgcgcccgc     1260
    
```

ES 2 561 281 T3

gggtccatct gtaagtggta gctaaaagcc accttttatg attgaaccat gcggttcaat	1320
caagcatccg gtattagccc cggtttcccg gagttatccc agtcttacag gcaggttacc	1380
cacgtgttac tcaccctcc gccgctgacc taagggagca agtcccgtc ggtccgctcg	1440
acttgca	1447

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Microorganismo termófilo que tiene capacidad desodorizante para ácidos grasos de cadena corta, que pertenece a *Bacillus licheniformis*, en el que dicho microorganismo es el microorganismo que se especifica mediante el número de registro NITE BP-998 de la agencia administrativa incorporada, National Institute of Technology and Evaluation, Patent Microorganisms Depositary (NPMD).
- 10 2. Microorganismo según la reivindicación 1, en el que los ácidos grasos de cadena corta son uno o más tipos seleccionados del grupo que consiste en ácido propiónico, ácido butírico, ácido valérico y ácido isovalérico.
- 15 3. Agente desodorizante que comprende el microorganismo según la reivindicación 1 ó 2 como componente activo.
- 20 4. Agente desodorizante según la reivindicación 3, en el que el microorganismo lo porta un portador de microorganismos seleccionado del grupo que consiste en perlita, bentonita, zeolita, vermiculita, tierra de diatomeas, musgo de turba y carbón activado.
5. Método de producción de compost que comprende la etapa de añadir el microorganismo según la reivindicación 1 ó 2 o el agente desodorizante según la reivindicación 3 ó 4 a excrementos o a una mezcla de heces y orina de animales.

[Fig. 1-1]

Id	Coincidencia	Descripción	Puntuación (bits)	Inicio con- sistencia	Fin con- sistencia	Longitud con- sistencia	Fin consulta	Solapa- miento	Identidad	% de identidad
110506189		Gen de ARN ribosómico 16S de cion de bacteria sin cultivar 1_gw1-u4-18, secuencia parcial	1,447	1,449	2	1,445	1,447	92,862	1,447	100
115055188		Gen de ARN ribosómico 16S de cion de bacteria sin cultivar 1_gw2-u4-10, secuencia parcial	1,447	2,663,36	5	1,445	1,447	99,852	1,447	100
301335051		Gen de ARN 16S parcial de Bacillus sp. ITT01, cepa ITT01	1,442	2,650,05	23	1,440	1,447	99,518	1,442	100
286083282		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa A1584, secuencia parcial	1,442	2,650,05	49	1,440	1,447	99,518	1,442	100
284681744		Gen para ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa A1584, secuencia parcial	1,442	2,650,05	54	1,440	1,447	99,518	1,442	100
290348911		Gen para ARN 16S de Bacillus sp. PT101, secuencia parcial	1,442	2,650,05	29	1,440	1,447	99,518	1,442	100
295388109		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa CICC 10087, secuencia parcial	1,442	2,650,05	24	1,440	1,447	99,518	1,442	100
164584532		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa MML2501, secuencia parcial	1,442	2,650,05	54	1,440	1,447	99,518	1,442	100
124553219		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa BCRK 11702, secuencia parcial	1,442	2,650,05	4,668	27	1,440	1,447	99,518	1,442
55584352		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa CICC 10218, secuencia parcial	1,442	2,650,05	28	1,440	1,447	99,518	1,442	100
53892854		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa EHD, secuencia parcial	1,442	2,650,05	28	1,440	1,447	99,518	1,442	100
87042182		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis, secuencia parcial	1,442	2,650,05	35	1,440	1,447	99,518	1,442	100
66226414		Gen para ARN 16S de Bacillus licheniformis, secuencia parcial, cepa SSH4	1,442	2,650,05	23	1,440	1,447	99,518	1,442	100
87773954		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa CICC 10100, secuencia parcial	1,442	2,650,05	1,464	23	1,440	1,447	99,518	1,442
67772653		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa CICC 10087, secuencia parcial	1,442	2,650,05	54	1,440	1,447	99,518	1,442	100
93589602		Gen para ARN 16S de Bacillus licheniformis, cepa: M1-1	1,442	2,650,05	1,455	54	1,440	1,447	99,518	1,442
312031		Gen para ARN 16S de B. licheniformis	1,442	2,652,05	1,497	53	1,440	1,447	99,518	1,442
210349218		Gen para ARN 16S de Bacillus sp. RT103, secuencia parcial	1,440	2,652,05	1,470	29	1,440	1,447	99,518	1,441
230390018		Gen para ARN 16S de Bacillus sp. SO507, secuencia parcial, versión 1 de dos tipos de secuencia	1,439	2,653,10	1,470	29	1,449	1,447	99,518	1,441
216089812		Gen de ARN 16S parcial de Bacillus sp. L164, aislado L164	1,439	2,653,12	1,474	35	1,437	1,447	99,269	1,439
235982285		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa A1S72, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,490	49	1,447	1,447	99,518	1,441
235032823		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa A1S68, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,490	49	1,446	1,447	99,518	1,441
235083278		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa A1S03, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,490	49	1,446	1,447	99,518	1,441
250346892		Gen para ARN 16S de Bacillus sp. TT402, secuencia parcial, versión 1 de dos tipos de secuencia	1,438	2,651,12	1,470	29	1,440	1,447	99,518	1,441
280349928		Gen para ARN 16S de Bacillus sp. TT307, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,470	29	1,440	1,447	99,518	1,440
290349928		Gen para ARN 16S de Bacillus sp. TT104, secuencia parcial, versión 1 de dos tipos de secuencia	1,438	2,651,12	1,470	29	1,440	1,447	99,518	1,440
280349912		Gen para ARN 16S de Bacillus sp. PT104, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,493	52	1,448	1,447	99,518	1,441
111092910		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa SB 3180, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,490	49	1,448	1,447	99,518	1,441
262527500		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa G7A, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,490	49	1,448	1,447	99,518	1,441
240248423		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus sp. WT143, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,470	29	1,440	1,447	99,518	1,441
222709149		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus sp. 24KZ, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,487	45	1,440	1,447	99,518	1,441
192804199		Gen de ARN 16S parcial de Bacillus sp. R-33575, cepa R-33575	1,438	2,651,12	1,490	39	1,440	1,447	99,518	1,441
171181144		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa HNL08, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,484	53	1,440	1,447	99,518	1,441
181089238		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus sp. DS(2007), secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,533	82	1,449	1,447	99,518	1,441
478348859		Gen de ARN (ms) ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa LMAt0L1, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,438	1	1,438	1,443	99,24	1,438
471181611		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus sp. MO12, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,470	29	1,448	1,447	99,518	1,441
6575830		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis aislado YB42, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,497	16	1,440	1,447	99,518	1,441
84043167		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus sp. 110, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,471	30	1,440	1,447	99,518	1,441
83416681		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus sp. OOA-X, secuencia parcial	1,438	2,651,12	1,489	32	1,440	1,447	99,518	1,441
33523226		Gen de ARN 16S parcial de Bacillus licheniformis, aislado R-13048	1,438	2,651,12	1,494	23	1,446	1,447	99,518	1,441
33523226		Gen de ARN 16S parcial de Bacillus licheniformis, aislado R-13048	1,438	2,651,12	1,470	29	1,440	1,447	99,518	1,441
2388428		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus sp.	1,438	2,651,12	1,470	29	1,440	1,447	99,518	1,441
281102841		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa SB 3181, secuencia parcial	1,438	2,647,18	1,468	52	1,435	1,447	99,771	1,437
295832284		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa A1S70, secuencia parcial	1,438	2,647,18	1,480	49	1,440	1,447	99,518	1,440
295832281		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa A1S39, secuencia parcial	1,438	2,647,18	1,480	49	1,440	1,447	99,518	1,440
295832278		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa A1S19, secuencia parcial	1,438	2,647,18	1,480	49	1,440	1,447	99,518	1,440
295832277		Gen de ARN ribosómico 16S de Bacillus licheniformis cepa A1S02, secuencia parcial	1,438	2,647,18	1,480	49	1,440	1,447	99,518	1,440
290350071		Gen para ARN 16S de Bacillus sp. SO107, secuencia parcial, versión 1 de dos tipos de secuencia	1,438	2,647,18	1,470	29	1,440	1,447	99,518	1,440
290350065		Gen para ARN 16S de Bacillus sp. P702, secuencia parcial	1,438	2,647,18	1,470	29	1,440	1,447	99,518	1,440
290350062		Gen para ARN 16S de Bacillus sp. P202, secuencia parcial	1,438	2,647,18	1,470	29	1,440	1,447	99,518	1,440
290350052		Gen para ARN 16S de Bacillus sp. M707, secuencia parcial	1,438	2,647,18	1,470	29	1,440	1,447	99,518	1,440

[Fig. 1-2]

Coincidencia	Descripción	Puntuación de bits	Inicio coincidencia	Fin coincidencia	Longitud de coincidencia	Fin comunidad	Solapamiento	Identidad	% de identidad
FJ411027	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa IMAUB1014, secuencia parcial	1,439	2,947,115	1,482	27	1,434	1,447	93,102	100
FJ411028	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa IMAUB1009, secuencia parcial	1,439	2,947,115	1,480	28	1,434	1,447	93,102	100
FJ411043	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus</i> sp. MO18, secuencia parcial	1,438	2,947,115	1,468	28	1,440	1,447	93,310	1,049
AY553108	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus</i> sp. MO14, secuencia parcial	1,439	2,947,115	1,469	28	1,440	1,447	93,318	1,040
AY553107	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus</i> sp. GSPE3, secuencia parcial	1,439	2,947,115	1,469	28	1,440	1,447	93,318	1,040
AY553108	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus</i> sp. MO11, secuencia parcial	1,439	2,947,115	1,472	31	1,440	1,447	93,516	1,040
AY553109	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa GSP30, secuencia parcial	1,438	2,947,115	1,468	25	1,440	1,447	93,518	1,040
AY553109	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa GSP30, secuencia parcial	1,438	2,947,115	1,470	29	1,441	1,447	93,518	1,040
AJ587271	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> , aislado R-13577	1,435	2,945,117	1,451	29	1,441	1,447	93,585	1,042
HM009309	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa Pb-WC09009, secuencia parcial	1,435	2,945,117	1,451	29	1,441	1,447	93,585	1,042
AB425161	Gen para ARNr 16S de <i>Bacillus</i> sp. S101, secuencia parcial	1,435	2,945,117	1,452	6	1,445	1,447	93,516	1,040
DO481180A	Gen de ARN ribosómico 16S de clon de bacteria sin cultivar L_gw2-sua-210, secuencia parcial	1,435	2,945,117	1,452	6	1,445	1,447	93,582	1,044
DO481180	Gen de ARN ribosómico 16S de clon de bacteria sin cultivar L_gw1-sua-26, secuencia parcial	1,435	2,945,117	1,452	7	1,444	1,447	93,783	1,045
AY553102	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus</i> sp. M09, secuencia parcial	1,435	2,945,117	1,459	26	1,440	1,447	93,516	1,040
AY553088	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus</i> sp. M05, secuencia parcial	1,435	2,945,117	1,469	26	1,440	1,447	93,516	1,040
GO224570	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa FLA 2028, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,441	4	1,438	1,442	95,24	1,037
GO224570	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa FLA 2027, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,441	4	1,438	1,442	95,24	1,037
HM008949	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa B3, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,488	49	1,439	1,447	93,447	1,041
HM008949	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa Pb-WC09010, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,488	49	1,440	1,447	93,518	1,040
HM008949	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa Pb-WC09004, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,488	49	1,440	1,447	93,518	1,040
HM008949	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa Pb-WC09002, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,488	49	1,440	1,447	93,518	1,040
HM008949	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa Pb-WC09003, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,488	49	1,440	1,447	93,518	1,040
HM008949	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa Pb-SH08003, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,488	49	1,440	1,447	93,518	1,040
HM008949	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa Pb-HK09002, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,488	49	1,440	1,447	93,518	1,040
GO224570	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa CICC 10085, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,453	33	1,438	1,447	93,447	1,041
GO224570	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa x8, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,453	33	1,440	1,447	93,516	1,040
EU231822	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa TCCC11009, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,480	49	1,440	1,447	93,516	1,040
EU231822	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa SS17, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,480	49	1,440	1,447	93,516	1,040
CP000002	<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580, genoma completo	1,434	2,943,119	1,445	4	1,440	1,447	93,516	1,040
CP000002	<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580, genoma completo	1,434	2,943,119	1,445	4	1,440	1,447	93,516	1,040
CP000002	<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580, genoma completo	1,434	2,943,119	35,086	34,555	1,440	1,447	93,516	1,040
CP000002	<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580, genoma completo	1,431	2,937,24	159,795	151,353	1,441	1,447	93,835	1,041
CP000002	<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580, genoma completo	1,431	2,937,24	922,424	920,982	1,441	1,447	96,508	1,041
CP000002	<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580, genoma completo	1,430	2,935,26	813,488	812,047	1,440	1,447	96,518	1,040
CP000002	<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580, genoma completo	1,427	2,929,21	85,599	85,397	1,441	1,447	93,885	1,040
CP000002	<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580, genoma completo	1,427	2,929,21	3,123,262	3,123,262	1,443	1,447	99,724	1,040
EF425169	<i>Bacillus licheniformis</i> ATCC 14580, genoma completo	1,434	2,943,119	1,480	51	1,438	1,445	93,378	1,038
AY842889	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa BCRC 14383, secuencia parcial	1,434	2,943,119	1,463	13	1,438	1,447	93,447	1,041
AY017333	<i>Bacillus licheniformis</i> DSM 13, genoma completo	1,434	2,943,119	11,202	9,761	1,440	1,447	93,447	1,041
AY017333	<i>Bacillus licheniformis</i> DSM 13, genoma completo	1,434	2,943,119	35,900	34,439	1,440	1,447	93,516	1,040
AY017333	<i>Bacillus licheniformis</i> DSM 13, genoma completo	1,431	2,937,24	159,598	158,157	1,441	1,447	93,505	1,041
AY017333	<i>Bacillus licheniformis</i> DSM 13, genoma completo	1,431	2,937,24	822,276	820,933	1,441	1,447	93,685	1,041
AY017333	<i>Bacillus licheniformis</i> DSM 13, genoma completo	1,430	2,935,26	813,294	811,853	1,440	1,447	93,516	1,040
AY017333	<i>Bacillus licheniformis</i> DSM 13, genoma completo	1,427	2,929,21	96,843	96,201	1,441	1,447	93,886	1,040
AY017333	<i>Bacillus licheniformis</i> DSM 13, genoma completo	1,427	2,929,21	3,121,892	3,122,104	1,443	1,447	99,724	1,040
AB425374	ADN para ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus</i> sp., cepa TGS1050	1,432	2,939,22	1,471	29	1,441	1,447	93,516	1,040
FJ411018	Gen para ARNr 16S de <i>Bacillus</i> sp. SG507, secuencia parcial, versión 2 de dos tipos de secuencia	1,432	2,939,22	1,482	27	1,434	1,447	93,595	1,041
EU692949	Gen de ARN (ms) ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa BG-B11, secuencia parcial	1,432	2,939,22	1,454	21	1,432	1,447	93,862	1,043
AB374329	Gen para ARNr 16S de <i>Bacillus</i> sp. TT402, secuencia parcial, versión 2 de dos tipos de secuencia	1,431	2,937,24	1,471	29	1,441	1,447	93,595	1,040
AB374329	Gen para ARNr 16S de <i>Bacillus</i> sp. TT402, secuencia parcial, versión 2 de dos tipos de secuencia	1,431	2,937,24	1,471	29	1,441	1,447	93,595	1,040
GU381534	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa Na1, secuencia parcial	1,431	2,937,24	1,493	30	1,435	1,442	93,171	1,035
FJ411025	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa IMAUB1012, secuencia parcial	1,431	2,937,24	1,464	30	1,433	1,447	93,032	1,034
EU679597	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus</i> sp. Epsas6, secuencia parcial	1,431	2,937,24	1,491	49	1,441	1,447	93,585	1,041
EU679597	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus</i> sp. BCL23-1, secuencia parcial	1,431	2,937,24	1,485	43	1,441	1,447	93,585	1,041
DO481823	Gen de ARN ribosómico 16S de clon de bacteria sin cultivar L_gw1-sua-1, secuencia parcial	1,431	2,937,24	1,445	3	1,441	1,447	93,585	1,041
DO481823	Gen de ARN ribosómico 16S de clon de bacteria sin cultivar L_gw1-sua-410, secuencia parcial	1,431	2,937,24	1,445	3	1,440	1,447	93,516	1,040
DO481823	Gen de ARN ribosómico 16S de clon de bacteria sin cultivar L_gw1-sua-4, secuencia parcial	1,431	2,937,24	1,445	3	1,440	1,447	93,516	1,040
DO481823	Gen de ARN ribosómico 16S de clon de bacteria sin cultivar L_gw1-sua-11, secuencia parcial	1,431	2,937,24	1,449	4	1,444	1,447	93,793	1,044
DO481823	Gen de ARN ribosómico 16S de clon de bacteria sin cultivar L_gw1-sua-4, secuencia parcial	1,431	2,937,24	1,437	1	1,435	1,442	93,171	1,035
DO481823	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus licheniformis</i> cepa FLA-2, secuencia parcial	1,429	2,933,28	1,470	28	1,441	1,447	93,585	1,040
AY553103	Gen de ARN ribosómico 16S de <i>Bacillus</i> sp. MO10, secuencia parcial	1,429	2,933,28	1,470	28	1,441	1,447	93,585	1,040
DO190042	Gen de ARN ribosómico 16S de bacteria B-gw2-5, secuencia parcial	1,427	2,929,21	1,469	22	1,445	1,447	93,892	1,043

[Fig. 2]

