

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 732 578**

51 Int. Cl.:

C12N 1/20 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.08.2015 PCT/EP2015/067925**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.02.2016 WO16020371**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.08.2015 E 15744949 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2019 EP 3194566**

54 Título: **Cepas de Paenibacillus antifúngicas, compuestos de tipo Fusaricidina, y su uso**

30 Prioridad:

04.08.2014 EP 14179620

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

25.11.2019

73 Titular/es:

**BASF SE (100.0%)
Carl-Bosch-Strasse 38
67056 Ludwigshafen am Rhein, DE**

72 Inventor/es:

**SIEPE, ISABELLA;
BRÜSER, HEIKE;
KLAPPACH, KRISTIN;
SCHNEIDER, KARL-HEINRICH;
SPRÖTE, PETRA;
HAGE, KERSTIN;
BLANZ, BIRGIT;
THINES, ECKHARD;
ANTELO, LUIS;
SANDJO, LOUIS PERGAUD y
OPATZ, TILL**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 732 578 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).

DESCRIPCIÓN

Cepas de *Paenibacillus* antifúngicas, compuestos de tipo Fusaricidina, y su uso

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a nuevas cepas bacterianas aisladas, que son miembros del género *Paenibacillus*, originalmente aisladas del suelo y que muestran actividad antagonista contra una amplia gama de patógenos y que son capaces de producir metabolitos antimicrobianos. La presente invención también se refiere a composiciones de plaguicidas microbianos como se define en las reivindicaciones. La presente invención también se refiere a un método para controlar o suprimir patógenos de plantas o prevenir infecciones de patógenos de plantas aplicando dicha composición. La presente invención también se refiere a nuevos compuestos de tipo fusaricidina que son metabolitos
10 producidos por las cepas de la presente invención.

Antecedentes de la invención

15 En el campo técnico del control de hongos fitopatógenos que afectan a plantas o cultivos, se conoce bien la aplicación de composiciones de compuestos activos que comprenden bioplaguicidas, por ejemplo, seleccionados de bacterias, tales como bacterias formadoras de esporas, u hongos que no son perjudiciales para la planta o el cultivo que se va a tratar y cuyos agentes de control biológico pueden combinarse además con antagonistas químicos orgánicos clásicos de patógenos de plantas.

Los bioplaguicidas se han definido como una forma de plaguicidas basados en microorganismos (bacterias, hongos, virus, nematodos, etc.) o productos naturales (compuestos o extractos de fuentes biológicas) (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos: <http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/>).

20 Los bioplaguicidas se crean típicamente mediante el crecimiento y la concentración de organismos naturales y/o sus metabolitos, incluyendo bacterias y otros microbios, hongos, virus, nematodos, proteínas, etc. A menudo se consideran componentes importantes del manejo integrado de plagas programas (IPM), y han recibido mucha atención práctica como sustitutos de productos químicos sintéticos para protección de plantas (PPP).

Los bioplaguicidas se clasifican en dos clases principales, plaguicidas microbianos y bioquímicos:

25 (1) Los plaguicidas microbianos consisten en bacterias, hongos o virus (y con frecuencia incluyen los metabolitos que producen las bacterias y los hongos). Los nematodos entomopatógenos también se clasifican como plaguicidas microbianos, aunque son multicelulares.

(2) Los plaguicidas bioquímicos son sustancias naturales que controlan las plagas o proporcionan otros usos de protección de cultivos como se define a continuación, pero son relativamente no tóxicos para los mamíferos.

30 Para controlar los hongos fitopatógenos, se han descrito anteriormente varios plaguicidas microbianos que comprenden bacterias formadoras de esporas, tales como *Bacillus subtilis*, véase, por ejemplo, los documentos WO 1998/050422; WO 2000/029426; WO 1998/50422 y WO 2000/58442.

35 El documento WO 2009/0126473 describe composiciones acuosas agrícolamente aceptables que comprenden esporas bacterianas o fúngicas contenidas en un disolvente acuoso/orgánico y que pueden comprender además agentes de control de insectos, plaguicidas, fungicidas o combinaciones de los mismos. Las esporas de bacterias del género *Bacillus* son una especie preferida.

40 El documento WO 2006/017361 describe composiciones para controlar patógenos de plantas y que comprenden al menos una bacteria beneficiosa, al menos un hongo benéfico, al menos un nutriente y al menos un compuesto que prolonga la vida útil de una composición de este tipo. El grupo de bacterias beneficiosas comprende cada uno bacterias de *Paenibacillus polymyxa* y *Paenibacillus durum*.

45 El documento EP-A-1 168 922 se refiere a composiciones para afectar el crecimiento de plantas y/o impartir resistencia a enfermedades que comprenden al menos dos cepas de Rhizobacteria promotoras de crecimiento de plantas y un compuesto quitinoso, en el que dichas cepas se seleccionan de los géneros *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus*, *Virgibacillus*, *Alicyclobacillus*, y *Aneurinibacillus*. Sin embargo, no se ejemplifican cepas particulares de *Paenibacillus* en apoyo de las combinaciones reivindicadas.

El documento WO 1999/059412 describe una cepa de PKB1 de *Paenibacillus polymyxa* (con el número de acceso 202127 de la ATCC) activa contra varios hongos fitopatógenos.

50 El documento WO 2006/016558 describe las cepas BS-0048, BS-0074, BS-0277 de *Paenibacillus* sp. y la cepa BS-0105 *P. polymyxa*, así como fusaricidina A y fusaricidina B para la protección de plantas contra infecciones con hongos. Otra cepa antifúngica BRF-1 de *Paenibacillus* ha sido aislada de la rizosfera de soja (African J. Microbiol. Res. 4 (24), 2692-2698, 2010).

El documento WO 2011/069227 describe una cepa JB05-01-1 de *P. polymyxa* (con el número de acceso PTA-10436 de la ATCC) que tiene un efecto altamente inhibitorio contra bacterias patógenas, bacterias patógenas humanas predominantemente transmitidas por los alimentos.

5 Budi et al., (Appl Environ Microbiol, 1999, 65, 5148-5150) han aislado la cepa B2 *Paenibacillus* sp. de la micorrizosfera de *Sorghum bicolor* que tiene actividad antagonica hacia patógenos fúngicos del suelo como *Phytophthora parasitica*.

Una cepa 11.D.3 de *Paenibacillus peoriae* aislada por Delaporte, B. (Lab Cytol Veg, París, Francia) y depositada en la colección abierta del Servicio de Investigación Agrícola, USDA, USA, con el número de acceso del NRRL BD-62. (Int. J. Syst Bacteriol. 46 (4), 988-1003, 1996, en lo sucesivo, denominada como la cepa BD-62) del suelo en Cote d'Ivoire mostró actividad antifúngica contra varias bacterias y hongos fitopatógenos (J. Appl. Microbiol. 95, 1143-1151, 10 2003). NRRL es la abreviatura para la Colección de Cultivos del Servicio de Investigación Agrícola, una autoridad internacional de depósito para el propósito de depositar cepas de microorganismos en virtud del TRATADO DE BUDAPEST SOBRE EL RECONOCIMIENTO INTERNACIONAL DEL DEPÓSITO DE MICROORGANISMOS PARA LOS FINES DE PROCEDIMIENTOS DE PATENTE, con la dirección del Centro Nacional para la Investigación de Utilización Agrícola, Servicio de Investigación Agrícola, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, 1815 15 North University Street, Peoria, Illinois 61604, EE. UU.

La actividad antimicrobiana de numerosas cepas de *Paenibacillus*, es decir una cepa de *P. peoriae*, contra numerosos patógenos bacterianos, fúngicos y de levadura se ha reportado en otra parte (Lett. Appl. Microbiol. 43, 541-547, 2006).

20 Raza et al., (Brazilian Arch. Biol. Technol. 53, 1145-1154, 2010; Eur. J. Plant Pathol. 125: 471-483, 2009) describen una cepa SQR-21 de *Paenibacillus polymyxa* que produce compuestos de tipo fusaricidina, efectivos contra *Fusarium oxysporum*.

Las fusaricidinas son un grupo de antibióticos aislados de *Paenibacillus* spp., Que pertenecen a la clase de lipodepsipéptidos cíclicos. Sus características estructurales comunes que se conservan en toda la familia son las siguientes: un anillo macrocíclico que consta de 6 residuos de aminoácidos, tres de los cuales son L-Thr, D-alo-Thr y D-Ala, así como la cola del ácido 15-guanidino 3-hidroxi-pentadecanoico unida al residuo L-Thr del extremo terminal N por un enlace amida (ChemMedChem 7, 871-882, 2012; J. Microbiol. Meth. 85, 175-182, 2011, Tabla 1 del presente documento). Estos compuestos se ciclan mediante un puente de lactona entre el grupo hidroxilo L-Thr del extremo terminal N y el grupo carbonilo D-Ala del extremo terminal C. La posición de los residuos de aminoácidos dentro del ciclo de depsipéptidos generalmente se numera comenzando con el L-Thr mencionado anteriormente, que por sí mismo también lleva la cadena GHPD y termina con el D-Ala del extremo terminal C. Los ejemplos no limitantes de fusaricidinas aisladas de *Paenibacillus* se designan como LI-F03, LI-F04, LI-F05, LI-F07 y LI-F08 (J. Antibiotics 40 (11), 1506-1514, 1987; Heterocycles 53(7) , 1533-1549, 2000; Peptides 32, 1917-1923, 2011) y fusaricidinas A (también llamadas LI-F04a), B (también llamadas LI-F04b), C (también llamadas LI-F03a) y D (también llamadas LI - F03b) (J. Antibiotics 49 (2), 129-135, 1996; J. Antibiotics 50 (3), 220-228, 1997). La cadena de aminoácidos de una fusaricidina no se genera de forma ribosómica, sino que se genera mediante un péptido sintetasa no ribosomal. Las fórmulas estructurales de las fusaricidinas conocidas se muestran en la Tabla 1 (Bio-technol Lett. 34, 1327-1334, 2012; Fig. 1 en la misma). Los compuestos designados como LI-F03a, LI-F03b hasta LI-F08a y LI-F08b también se denominan en este documento fusaricidinas LI-F03a, LI-F03b hasta LI-F08a y LI-F08b debido a su estructura dentro de la familia fusaricidina (véase Tabla 1).

Tabla 1: Estructuras de la familia fusaricidina.

Fusaricidina	x2	x3	x5
A (LI-F04a)	D-Val	L-Val	D-Asn
B (LI-F04b)	D-Val	L-Val	D-Gln
C (LI-F03a)	D-Val	L-Tyr	D-Asn
D (LI-F03b)	D-Val	L-Tyr	D-Gln
LI-F05a	D-Val	L-Ile	D-Asn
LI-F05b	D-Val	L-Ile	D-Gln
LI-F06a	D-alo-Ile	L-Val	D-Asn
LI-F06b	D-alo-Ile	L-Val	D-Gln
LI-F07a	D-Val	L-Phe	D-Asn

Sus beneficios incluyen: un intervalo de 0 días previo a la cosecha y la capacidad de usar una presión de moderada a severa de la enfermedad.

5 Un área importante de crecimiento para bioplaguicidas se encuentra en el área de tratamientos de semillas y correcciones del suelo. Los tratamientos de semillas con bioplaguicidas son por ejemplo, utilizados para controlar patógenos fúngicos del suelo que causan pudriciones de semillas, caída del almácigo, pudrición de la raíz y plagas de plántulas. También se pueden usar para controlar patógenos fúngicos internos transmitidos por semillas, así como patógenos fúngicos que se encuentran en la superficie de la semilla. Muchos productos bioplaguicidas también muestran capacidades para estimular las defensas de las plantas huésped y otros procesos fisiológicos que pueden hacer que los cultivos tratados sean más resistentes a una variedad de estreses bióticos y abióticos.

10 Sin embargo, los bioplaguicidas bajo ciertas condiciones también pueden tener desventajas, tales como una alta especificidad (que requiere una identificación exacta de la plaga/patógeno y el uso de múltiples productos), baja velocidad de acción (lo que los hace inadecuados si un brote de plaga es una amenaza inmediata para un cultivo), eficacia variable debido a las influencias de diversos factores bióticos y abióticos (ya que los bioplaguicidas suelen ser organismos vivos, que producen el control de plagas/patógenos al multiplicarse dentro de la plaga/patógenos del insecto objetivo), y el desarrollo de resistencia.

15 Por lo tanto, existe la necesidad de cepas bacterianas adicionales y de otros metabolitos antimicrobianos que antagonicen los microorganismos fitopatógenos, en particular los hongos, que se caracterizan por un amplio espectro de actividad contra todas las clases de hongos fitopatógenos.

Descripción de la invención

20 Dicho problema se resolvió, sorprendentemente, proporcionando nuevas cepas de bacterias del género *Paenibacillus* que se caracterizan por un perfil único de actividad antagonista contra hongos fitopatógenos, que también se extiende a patógenos de hojas de plantas, como por ejemplo seleccionadas de *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* y *Sclerotinia sclerotiorum*. Dichas cepas bacterianas se han depositado en la Autoridad Internacional de Depósitos: Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstraße 7 B, 38124 Braunschweig, Alemania (en adelante DSMZ).

25 Además, el caldo de cultivo completo, el medio de crecimiento y los extractos sin células de estas cepas bacterianas mostraron actividad inhibitoria al menos contra *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea* y *Phytophthora infestans*. El fraccionamiento guiado por bioactividad de extractos orgánicos condujo al aislamiento de dos nuevos compuestos de tipo fusaricidina (compuestos 1A y 1B), cuya estructura se aclaró mediante espectroscopia de RMN 1D y 2D, así como espectrometría de masas.

30 Por lo tanto, la presente invención se refiere a un microorganismo aislado, que es un miembro de la familia *Paenibacillus*, que tiene al menos una de las características de identificación de una de las siguientes cepas:

- 1) cepa Lu16774 de *Paenibacillus* sp. depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26969,
- 2) cepa Lu17007 de *Paenibacillus* sp. la depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26970, y
- 35 3) cepa Lu17015 de *Paenibacillus* sp. depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26971.

Como se usa en el presente documento, el término cepa de *Paenibacillus* sp. es idéntico al término cepa de *Paenibacillus*.

40 Como se usa en el presente documento, "aislado" se refiere a un cultivo microbiano puro separado de su origen natural, tal como el aislado obtenido mediante el cultivo de una única colonia microbiana. Un aislado es un cultivo puro derivado de una población heterogénea de microorganismos silvestres.

Como se usa en el presente documento, "cepa" se refiere a aislado o a un grupo de aislados que exhiben rasgos fenotípicos, fisiológicos, metabólicos y/o genotípicos que pertenecen al mismo linaje, distintos de los de otros aislados o cepas de la misma especie.

45 Una realización adicional se refiere a un caldo de cultivo completo, un sobrenadante o un extracto sin células o una fracción o al menos un metabolito de al menos uno de los microorganismos como se definió anteriormente, que preferiblemente exhiben actividad antagonista contra al menos un patógeno de la planta.

Como se usa en el presente documento, "caldo de cultivo completo" se refiere a un cultivo líquido de un microorganismo que contiene células vegetativas y/o esporas suspendidas en el medio de crecimiento y, opcionalmente, metabolitos producidos por el microorganismo respectivo.

50 Como se usa en el presente documento, "medio de crecimiento", se refiere a un medio que se puede obtener cultivando el microorganismo en dicho medio, preferiblemente un caldo líquido, y que permanece cuando se eliminan las células que crecen en el medio, por ejemplo, el sobrenadante que queda cuando las células que crecen en un caldo líquido se eliminan mediante centrifugación, filtración, sedimentación u otros medios bien conocidos en la técnica; que

comprende por ejemplo, metabolitos producidos por el microorganismo respectivo y secretados en el medio de crecimiento. El "medio de crecimiento" a veces también denominado "sobrenadante" se puede obtener por ejemplo mediante centrifugación a temperaturas de aproximadamente 2 a 30 °C (más preferiblemente a temperaturas de 4 a 20 °C) durante aproximadamente 10 a 60 min (más preferiblemente aproximadamente 15 a 30 min) a aproximadamente 5.000 a 20.000 x g (más preferiblemente a aproximadamente 15.000 x g).

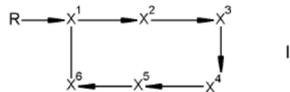
Como se usa en el presente documento, "extracto sin células" se refiere a un extracto de células vegetativas, esporas y/o el caldo de cultivo completo de un microorganismo que comprende metabolitos celulares producidos por el microorganismo respectivo obtenible por métodos de ruptura celular conocidos en la técnica, tales como, con base en el disolvente (por ejemplo, disolventes orgánicos, tales como alcoholes algunas veces en combinación con sales adecuadas), a base de temperatura, aplicación de fuerzas de corte, ruptura de células con un ultrasonificador. El extracto deseado puede concentrarse mediante técnicas de concentración convencionales tales como secado, evaporación, centrifugación o similares. Ciertas etapas de lavado que utilizan disolventes orgánicos y/o medios a base de agua también se pueden aplicar al extracto crudo preferiblemente antes de su uso.

Como se usa en el presente documento, el término "metabolito" se refiere a cualquier componente, compuesto, sustancia o subproducto (incluidos, entre otros, metabolitos secundarios de molécula pequeña, policétidos, productos de ácido graso sintasa, péptidos no ribosómicos, péptidos ribosómicos, proteínas y enzimas) producidas por un microorganismo (como hongos y bacterias, en particular las cepas de la invención) que tienen algún efecto beneficioso como se describe en este documento, tal como la actividad plaguicida o la mejora del crecimiento de la planta, la eficiencia del uso del agua de la planta, la salud de la planta, la apariencia de la planta, o la población de microorganismos benéficos en el suelo alrededor de la actividad de la planta en este documento.

Como se usa en el presente documento, "aislado" se refiere a un cultivo microbiano puro separado de su origen natural, tal como el aislado obtenido mediante el cultivo de una única colonia microbiana. Un aislado es un cultivo puro derivado de una población heterogénea de microorganismos silvestres.

Como se usa en el presente documento, "cepa" se refiere a un aislado o a un grupo de aislados que exhiben rasgos fenotípicos y/o genotípicos que pertenecen al mismo linaje, distintos de los de otros aislados o cepas de la misma especie.

Una realización adicional se refiere a nuevos compuestos de fórmula I



en donde

R se selecciona del ácido 15-guanidino-3-hidroxipentadecanoico (GHPD) y del ácido 12-guanidinododecanoico (12-GDA);

X¹ es treonina;

X² es isoleucina;

X³ es tirosina;

X⁴ es treonina;

X⁵ se selecciona de glutamina y asparagina;

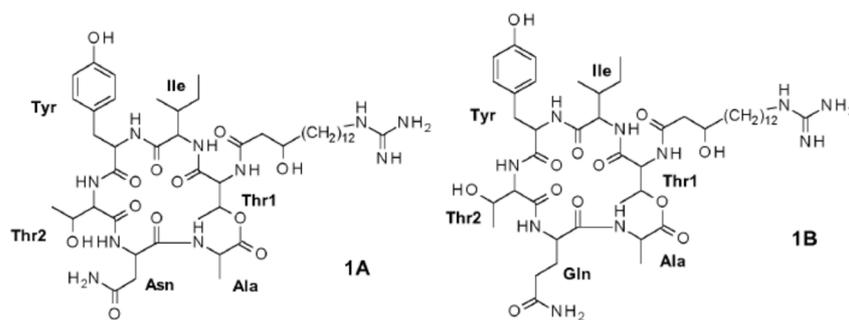
X⁶ es alanina; y

en donde una flecha define un enlace sencillo (amida) entre la fracción carbonilo de R y el grupo amino del aminoácido X¹ o entre el grupo carbonilo de un aminoácido y el grupo amino de un aminoácido vecino, en donde la punta de la flecha indica la unión al grupo amino de dicho aminoácido X¹ o de dicho aminoácido vecino; y

en donde la línea sencilla (sin una punta de flecha) define un enlace sencillo (éster) entre el grupo carbonilo de X⁶ y el grupo hidroxilo de X¹;

y las sales agrícolamente aceptables de los mismos, y a los métodos para preparar compuestos de fórmula I de la invención, cuyo método comprende cultivar las cepas de la invención y aislar dichos compuestos de fórmula I de todo el caldo de cultivo.

De acuerdo con una realización adicional, la invención se refiere además a los compuestos 1A y 1B, que son de fórmula I, en donde R es GHPD y en donde X⁵ es asparagina en el caso del compuesto 1A y X⁵ es glutamina en el caso del compuesto 1B:



La presente invención se refiere además a composiciones que comprenden las cepas, caldo de cultivo completo, extractos sin células, medios de cultivo o compuestos de fórmula I y sus sales de la invención, así como a su uso para controlar o suprimir patógenos de plantas o prevenir la infección por patógenos de plantas o para la protección de materiales contra la destrucción de la infestación por microorganismos dañinos, y los métodos correspondientes que comprenden el tratamiento de los patógenos, su hábitat o los materiales o plantas a proteger contra el ataque de patógenos, o el suelo o material de propagación con una cantidad eficaz de las composiciones, cepas, caldo de cultivo completo, extractos sin células, medios de cultivo o compuestos de fórmula I y sus sales de la invención.

Se describen realizaciones adicionales de la invención en la siguiente descripción detallada de la invención, las reivindicaciones y las figuras.

La invención se refiere a las cepas de microorganismos.

- 1) cepa Lu16774 de *Paenibacillus* sp. depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26969,
- 2) cepa Lu17007 de *Paenibacillus* sp. depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26970, y
- 3) cepa Lu17015 de *Paenibacillus* sp. depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26971.

Las cepas Lu16774, Lu 17007 y Lu17015 se han aislado de muestras de suelo de una variedad de lugares europeos, incluida Alemania, y se depositaron bajo el Tratado de Budapest en la Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) bajo los números de acceso antes mencionados el 20 de febrero, 2013 por BASF SE, Alemania.

El género *Paenibacillus* (anteriormente bacilos del grupo 3 de ARNr) se ha caracterizado fenotípicamente y fisiológicamente (Antonie van Leeuwenhoek 64, 253-260 (1993)) por:

- células en forma de bastón de estructura grampositiva,
- reacción débil con la tinción de Gram, a menudo incluso con tinción negativa,
- diferenciación en endosporas elipsoidales que hinchan claramente el esporangio (célula madre),
- crecimiento anaeróbico facultativo con fuerte crecimiento en ausencia de aire, independientemente de que haya nitrato presente o no,
- fermentación de una variedad de azúcares,
- formación de ácidos y gas a partir de diversos azúcares, incluida la glucosa,
- no hay producción de ácido a partir de adonitol y sorbitol,
- negativo para ureasa (con excepción de *P. validus*),
- arginina dihidrolasa negativa,
- sin utilización de citrato,
- sin crecimiento en presencia de cloruro de sodio al 10%,
- secreción de numerosas enzimas hidrolíticas extracelulares que degradan el ADN, las proteínas y el almidón; y/o
- contenido de G + C de ADN del 40% al 54%.

El género *Paenibacillus* (anteriormente bacilos del grupo 3 de ARNr) también se ha caracterizado por el análisis de ADNr 16S (Antonie van Leeuwenhoek 64, 253-260 (1993)):

- que tiene una secuencia específica de 22 bases en una región variable V5 del ADNr 16S (5' a 3'): TCGATACCCTTGGTGCCGAAGT (Antonie van Leeuwenhoek 64, 253-260 (1993), véase la Tabla 3 en la misma); y/o
- por hibridación de ADN cromosómico aislado o amplificado por PCR con la sonda BG3 (5'-TCGATACCCTTGGTGCCGAAGT-3') (véase Antonie van Leeuwenhoek 64, 253-260 (1993)).

Se determinó que las cepas depositadas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 de la invención pertenecen al género *Paenibacillus* en las siguientes observaciones morfológicas y fisiológicas (véase el Ejemplo 2.3 en este documento):

- células en forma de bastón
- esporas elipsoidales
- 10 - esporangio hinchado
- crecimiento anaerobio
- fermentación de una variedad de azúcares que incluyen glucosa, arabinosa, xilosa, manitol, fructosa, rafinosa, trehalosa y glicerol con formación de ácido
- producción de gas a partir de glucosa
- 15 - arginina dihidrolasa negativa
- sin utilización de citrato
- no hay crecimiento en presencia de 5% o más de cloruro de sodio.
- producción de enzimas hidrolíticas extracelulares que degradan almidón, gelatina, caseína y esculina.

Además, también se determinó que las cepas depositadas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 de la invención pertenecen al género *Paenibacillus* mediante análisis de ADNr 16S teniendo la secuencia de 22 bases específica de *Paenibacillus* en ADNr 16S (5' a 3'):

5'-TCGATACCCTTGGTGCCGAAGT-3'

(véase la SEQ ID NO: 1 (nucleótidos 840-861), la SEQ ID NO: 2 (840-861), la SEQ ID NO: 3 (844-865) y la SEQ ID NO: 4 (840-861) en las listas de secuencias en el presente documento).

Además, la secuenciación del ADNr 16S completo en comparación con 24 cepas diferentes de *Paenibacillus* dio como resultado el agrupamiento de las cepas depositadas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 con las cepas de tipo de *Paenibacillus* *brasiliensis*, *P. kribbensis*, *P. jamilae*, *P. peoriae*, y *P. polymyxa*, más preferiblemente de *P. peoriae*, en particular la cepa BD-62 de *Paenibacillus peoriae* (véanse las Figuras 1 y 2 de este documento). Se sabe que *P. polymyxa* y *P. peoriae* tienen valores de identidad de secuencia de ADNr 16S de 99.6 a 99.7% (J. Gen. Appl. Microbiol. 48, 281-285 (2002)).

"Porcentaje de identidad" o "porcentaje de similitud" entre dos secuencias de nucleótidos significa el porcentaje de identidad de los residuos en toda la longitud de las secuencias alineadas y se determina comparando dos secuencias alineadas de manera óptima localmente en una ventana de comparación definida por la longitud de la alineación local entre las dos secuencias, como, por ejemplo, la identidad calculada (para secuencias bastante similares) después de la alineación manual con la ayuda del programa AE2 (Editor de alineación 2). La alineación local entre dos secuencias solo incluye segmentos de cada secuencia que se consideran suficientemente similares de acuerdo con el criterio que depende del algoritmo utilizado para realizar la alineación (por ejemplo, AE2, BLAST, estructura secundaria de la molécula de ARNr o similar). El porcentaje de identidad se calcula determinando el número de posiciones en las que se produce el ácido nucleico idéntico en ambas secuencias para obtener el número de posiciones coincidentes, dividiendo el número de posiciones coincidentes por el número total de posiciones en la ventana de comparación y multiplicando el resultado por 100.

Para determinar el porcentaje de identidad de secuencia de dos secuencias de ácido nucleico (por ejemplo, una de las secuencias de nucleótidos de la Tabla 1 y un homólogo de la misma), las secuencias se alinean con fines de comparación óptimos (por ejemplo, se pueden introducir espacios en la secuencia de un ácido nucleico para una alineación óptima con el otro ácido nucleico). Luego se comparan las bases en las posiciones correspondientes. Cuando una posición en una secuencia está ocupada por la base como la posición correspondiente en la otra secuencia, entonces las moléculas son idénticas en esa posición. Debe entenderse que a los efectos de determinar la identidad de secuencia cuando se compara una secuencia de ADN con una secuencia de ARN, un nucleótido de timidina es equivalente a un nucleótido de uracilo.

Para la alineación, los datos de secuencia se colocaron en el programa AE2 (<http://iubio.bio.indiana.edu/soft/molbio/unix/ae2.readme>), alineados manualmente de acuerdo con la estructura secundaria de la molécula del ARNr resultante y se compara con las secuencias representativas del gen de ARNr 16S de organismos pertenecientes a los *Firmicutes* (Nucl. Acids Res. 27, 171-173, 1999). Para obtener los valores de % de identidad para múltiples secuencias, todas las secuencias se alinearon entre sí (alineación de secuencias múltiples). Además, para obtener los valores de % de identidad entre dos secuencias en un tramo más largo de secuencias alineadas en comparación con la alineación múltiple, se realizó una alineación de secuencia por pares manual como se describió anteriormente utilizando AE2 (alineación de secuencia por pares).

Además, la ribotipificación estandarizada y automatizada se lleva a cabo utilizando el sistema Qualicon RiboPrinter con las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 de *Paenibacillus*, en comparación con la cepa BD-62 de *P. peoriae* que utiliza la enzima de restricción EcoRI. Lo que resulta en la similitud de las tres cepas nuevas con la cepa BD-62 de *P. peoriae* de entre 0,24 y 0,5 (Ejemplo 2.2 y Fig. 12).

En resumen, las cepas se han designado para los siguientes grupos taxonómicos.

Las cepas Lu16774 y Lu17007 de *Paenibacillus* pertenecen ambas a la especie *Paenibacillus polymyxa*.

Por lo tanto, la invención se refiere a las cepas de microorganismos.

- 1) cepa Lu16774 de *Paenibacillus polymyxa*, depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26969,
- 2) cepa Lu17007 de *Paenibacillus polymyxa*, depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26970, y
- 3) cepa Lu17015 de *Paenibacillus* sp. depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26971.

De acuerdo con los resultados del análisis filogenético presentado en este documento (Figuras 12 a 22) y los resultados no publicados del profesor Borriss, Alemania, se propone que la especie heterogénea *Paenibacillus polymyxa* requiere una nueva clasificación taxonómica en dos subespecies: 1) *Paenibacillus polymyxa* ssp. *polymyxa*; y 2) *Paenibacillus polymyxa* ssp. *plantarum*; y 3) una nueva especie de *Paenibacillus* nov. especie *epiphyticus*.

El tipo de cepa DSM 36 de *P. polymyxa* junto con las cepas de SQR-21, CF05, CICC 10580, NRRL B-30509 y A18 de *P. polymyxa* se forman en cada uno de los dendrogramas de probabilidad máxima analizados para cinco genes de mantenimiento conservados (*dnaN*, *gyrB*, *recA*, *recN* y *rpoA*) un grupo separado (Figs. 17-21).

Se han obtenido resultados muy similares mediante la determinación de la identidad de aminoácidos promedio (AAI) que se usa frecuentemente para determinar la relación filogenética entre las especies bacterianas. Este método se basa en el cálculo de la identidad promedio de un genoma central a nivel de aminoácidos (Proc. Natl. Acad. USA 102, 2567-2572, 2005). De acuerdo con la matriz de AAI resultante en la Fig. 22, DSM 36 de *P. polymyxa* forma, junto con la cepa SQR-21 de *P. polymyxa*, un subgrupo que es diferente de los otros dos subgrupos que se muestran en este documento.

Las cepas Lu16674 y Lu17007 junto con la cepa M-1, 1-43, SC2 y Sb3-1 de *P. polymyxa* forman el segundo subgrupo en cada uno de los dendrogramas de probabilidad máxima analizados para cinco genes de mantenimiento conservados (*dnaN*, *gyrB*, *recA*, *recN* y *rpoA*) (Figs. 17-21). De acuerdo con la matriz AAI de la Fig. 22, con base en el análisis del genoma central, este segundo subgrupo se confirma por sus cepas representativas Lu16674 y Lu17007 junto con las cepas M-1 y SC2 de *P. polymyxa*.

La diferencia entre los dos subgrupos no es tan significativa para justificar una nueva especie, pero los niveles de identidad de AAI entre los representantes de ambos grupos es de aproximadamente el 97,5% lo que justifica la clasificación en dos subespecies separadas.

De este modo, se propone denominar al primer subgrupo de acuerdo con el tipo de cepa DSM 36^T de *P. polymyxa*, *Paenibacillus polymyxa* ssp. *polymyxa*. Además de la cepa DSM 36, las cepas SQR-21, CF05, CICC 10580, NRRL B-30509 y A18 de *P. polymyxa* pertenecerán a la subespecie *Paenibacillus polymyxa* ssp. *polymyxa*.

Además, se propone denominar al segundo subgrupo como nueva subespecie *Paenibacillus polymyxa* ssp. *plantarum*. Además las cepas Lu16674 y Lu17007, las cepas M-1, 1-43, SC2 y Sb3-1 de *P. polymyxa* deben pertenecer a *Paenibacillus polymyxa* ssp. *plantarum*.

La cepa Lu17015 tiene solo un 94,9% de identidad (AAI) entre los genes del genoma central con la cepa tipo DSM36 de *Paenibacillus polymyxa* = ATCC 842 (Fig. 22). Por lo tanto, la cepa Lu17015 no podría haber sido designada para la especie *Paenibacillus polymyxa* ni para ninguna otra especie conocida de *Paenibacillus*. Se encontraron valores similares para las cepas E681 (94.7%) y CR2 (94.9%). Entre ellas, estas tres cepas tienen al menos un 98,1% de identidad (AAI). De acuerdo con la definición de especies de Konstantinides y Tiedje (Proc Natl. Acad. Sci. USA. 102, 2567-2572, 2005), la cepa Lu17015 y también las cepas E681 y CR2 se pueden designar para una nueva especie. De este modo, se propone aquí una nueva especie *Paenibacillus* especie nueva *epiphyticus*. En consecuencia, la cepa de Lu17015 de *Paenibacillus* pertenece a *Paenibacillus epiphyticus*. Se propone que dicha cepa sea la cepa tipo. Del mismo modo, los dendrogramas con base en las comparaciones de secuencia de los cinco genes de mantenimiento

(Figs. 17-21) muestran que este grupo dista de todas las otras cepas de *P. polymyxa*. Además de Lu17015, se propone que las cepas E681, CR2 TD94, DSM 365 y WLY78 de *P. polymyxa* pertenezcan a *Paenibacillus* nueva especie *epiphyticus*.

Por lo tanto, la invención se refiere a las cepas de microorganismos.

5 4) cepa Lu16774 de *Paenibacillus polymyxa* ssp. *plantarum* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26969,

5) cepa Lu17007 de *Paenibacillus polymyxa* ssp. *plantarum* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26970, y

6) cepa Lu17015 de *Paenibacillus epiphyticus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26971.

10 Además de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015, la presente descripción se refiere a cualquier cepa de *Paenibacillus*, ya sea físicamente derivada del depósito original de cualquiera de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 o independientemente aislada, siempre que ellas conserven al menos una de las características de identificación de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 depositadas de *Paenibacillus*. Tales cepas de *Paenibacillus* incluyen cualquier progenie de cualquiera de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015, incluyendo mutantes de dichas cepas.

15 El término "mutante" se refiere a un microorganismo obtenido por selección directa de mutantes, pero también incluye microorganismos que han sido mutagenizados o manipulados de otra manera (por ejemplo, a través de la introducción de un plásmido). Por consiguiente, las realizaciones incluyen mutantes, variantes y derivados del microorganismo respectivo, tanto mutantes naturales como inducidos artificialmente. Por ejemplo, los mutantes se pueden inducir sometiéndolo al microorganismo a mutágenos conocidos, tales como rayos X, radiación UV o N-metil-nitrosoguanidina, utilizando métodos convencionales. Después de dichos tratamientos, se puede realizar una selección de cepas mutantes que muestren las características deseadas.

20 Las cepas mutantes pueden obtenerse mediante cualquier método conocido en la técnica, tal como la selección directa del mutante, la mutagénesis química o la manipulación genética (por ejemplo, a través de la introducción de un plásmido). Por ejemplo, tales mutantes se pueden obtener aplicando un mutágeno conocido, tal como rayos X, radiación UV o N-metil-nitrosoguanidina. Después de dichos tratamientos, se puede realizar una selección de cepas mutantes que muestren las características deseadas.

25 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser en particular una que comprende una secuencia de ADN que muestra al menos un 99,6%, preferiblemente al menos un 99,8%, incluso más preferiblemente al menos un 99,9%, y en particular una identidad de secuencia de nucleótidos del 100,0% con cualquiera de las secuencias de ADNr 16S de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015, es decir, para cualquiera de esas secuencias de nucleótidos expuestas en el listado de secuencias que son las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 3.

30 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser en particular una que comprende una secuencia de ADN que muestra una identidad de secuencia de nucleótidos del 100% con cualquiera de las secuencias de ADNr 16S de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015, es decir, con cualquiera de esas secuencias de nucleótidos expuestas en la lista de secuencias que son las SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 o SEQ ID NO: 3.

35 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una cuya secuencia de ADNr 16S completa tenga, después de la alineación óptima dentro de la ventana de secuencia alineada, al menos un 99,6% de identidad con al menos una de las secuencias SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2 o al menos 99,8 % de identidad con la SEQ ID NO: 3; preferiblemente al menos 99,8% de identidad con al menos una de las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID: 2 y SEQ ID NO: 3; más preferiblemente al menos 99,9% de identidad con al menos una de las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 3; incluso más preferiblemente mayor que el 99,9% de identidad con al menos una de las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID: 2 y SEQ ID NO: 3; en particular, 100% de identidad con al menos una de las secuencias SEQ ID NO: 1, SEQ ID: 2 y SEQ ID NO: 3.

40 De acuerdo con una realización adicional, una cepa de *Paenibacillus* de la invención se selecciona del grupo que consiste en:

a) la cepa Lu16774 depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26969;

b) la cepa Lu17007 depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26970;

c) la cepa Lu17015 depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26971.

45 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una que comprende una secuencia de ADN de *dnaN* que muestra al menos un 99,6% de identidad de secuencia de nucleótidos con las secuencias de ADN SEQ ID NO: 4 o SEQ ID NO: 9 o que comprende una secuencia de ADN que muestra al menos un 99,8% de identidad de secuencia de nucleótidos con la secuencia de ADN SEQ ID NO: 14.

- 5 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una cuya secuencia completa de ADN de *dnaN* tenga, después de la alineación óptima dentro de la ventana de secuencia alineada, al menos un 99.6% de identidad con al menos una de las secuencias de ADN SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 9 o al menos 99.8% de identidad con la SEQ ID NO: 14; preferiblemente al menos 99.9% de identidad con la SEQ ID NO: 14; en particular, 100% de identidad a la SEQ ID NO: 14.
- Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una que comprende una secuencia de ADN que muestra al menos el 99,8%, en particular 100, 0% de identidad de secuencia de nucleótidos con cualquiera de las secuencias de ADN de *dnaN* de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015, es decir, con cualquiera de aquellas secuencias de ADN SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 9 y SEQ ID NO: 14.
- 10 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una que comprende una secuencia de ADN de *gyrB* que muestra al menos un 99,9% de identidad de secuencia de nucleótidos con las secuencias de ADN SEQ ID NO: 5 o SEQ ID NO: 10 o que comprende una secuencia de ADN que muestra al menos 99,2% de identidad de secuencia de nucleótidos con la secuencia de ADN SEQ ID NO: 15.
- 15 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una cuya secuencia completa de ADN de *gyrB* tenga, después del alineamiento óptimo dentro de la ventana de secuencia alineada, al menos 99,9% de identidad con al menos una de las secuencias de ADN SEQ ID NO: 5 y SEQ ID NO: 10 o al menos 99.9% de identidad con la SEQ ID NO: 15; preferiblemente al menos 99.9% de identidad con la SEQ ID NO: 15; en particular, 100% de identidad con la SEQ ID NO: 15.
- 20 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una que comprenda una secuencia de ADN que muestre un 100% de identidad de secuencia de nucleótidos con cualquiera de las secuencias de ADN de *gyrB* de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015, es decir, con cualquiera de las secuencias de ADN SEQ ID NO: 5 , SEQ ID NO: 10 y SEQ ID NO: 15.
- Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una que comprende una secuencia de ADN de *recF* que muestra al menos un 99,2% de identidad de secuencia de nucleótidos con las secuencias de ADN SEQ ID NO: 6 o SEQ ID NO: 11 o que comprende una secuencia de ADN que muestra al menos 99,8% identidad de secuencia de nucleótidos con la secuencia de ADN SEQ ID NO: 16.
- 25 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una cuya secuencia completa de ADN de *recF* tenga, después del alineamiento óptimo dentro de la ventana de secuencia alineada, al menos un 99,2% de identidad con al menos una de las secuencias de ADN SEQ ID NO: 6 y SEQ ID NO: 11 o al menos 99,8% de identidad con la SEQ ID NO: 16; preferiblemente al menos 99,9% de identidad con la SEQ ID NO: 16; en particular, 100% de identidad con la SEQ ID NO: 16.
- 30 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una que comprende una secuencia de ADN que muestra al menos el 99,8%, en particular 100,0% de identidad de secuencia de nucleótidos con cualquiera de las secuencias de ADN de *recF* de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015, es decir, con cualquiera de aquellas secuencias de ADN SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 11 y SEQ ID NO: 16.
- 35 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una que comprende una secuencia completa de ADN de *recN* que muestra al menos un 99,8% de identidad de secuencia de nucleótidos con las secuencias de ADN SEQ ID NO: 7 o SEQ ID NO: 12 o que comprende una secuencia de ADN que muestra al menos un 99,3% de identidad de secuencia de nucleótidos con la secuencia de ADN SEQ ID NO: 17.
- 40 Una cepa de *Paenibacillus* de la invención puede ser una cuya secuencia de ADN de *recN* tiene, después del alineamiento óptimo dentro de la ventana de secuencia alineada, al menos el 99,8% de identidad con al menos una de las secuencias de ADN SEQ ID NO: 7 y SEQ ID NO: 12 o al menos 99,3% de identidad con la SEQ ID NO: 17; preferiblemente al menos 99,6% de identidad con la SEQ ID NO: 17; en particular, el 100% de identidad con la SEQ ID NO: 17.
- 45 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una que comprende una secuencia de ADN que muestra al menos el 99,8%, en particular 100,0% de identidad de secuencia de nucleótidos con cualquiera de las secuencias de ADN de *recN* de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015, es decir, con cualquiera de aquellas secuencias de ADN SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 12 y SEQ ID NO: 17.
- 50 Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una que comprenda una secuencia de ADN de *rpoA* que muestre 100,0% de identidad de secuencia de nucleótidos con las secuencias de ADN SEQ ID NO: 8 o SEQ ID NO: 13 o que comprenda una secuencia de ADN que muestre al menos 99,8% de identidad de secuencia de nucleótidos con la secuencia de ADN SEQ ID NO: 18.
- Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una cuya secuencia completa de ADN de *rpoA* tiene, después del alineamiento óptimo dentro de la ventana de secuencia alineada, 100, de identidad con al menos una de las secuencias de ADN SEQ ID NO: 8 y SEQ ID NO: 13 o al menos el 99,8% de identidad con la SEQ ID NO: 18; preferiblemente al menos 99,9% de identidad con la SEQ ID NO: 17; en particular, 100% de identidad con la SEQ ID NO: 18.

Una cepa de *Paenibacillus* puede ser una que comprenda una secuencia de ADN que muestre 100% de identidad de secuencia de nucleótidos con cualquiera de las secuencias de ADN de *rpoA* de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015, es decir, con cualquiera de aquellas secuencias de ADN SEQ ID NO: 8 , SEQ ID NO: 13 y SEQ ID NO: 18.

5 Se describe un microorganismo aislado, que es un miembro de la familia *Paenibacillus*, que tiene al menos una de las características de identificación de una de las siguientes cepas:

- 1) cepa Lu16774 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de registro DSM 26969,
- 2) cepa Lu17007 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26970, o
- 3) cepa Lu17015 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26971.

Una realización adicional se refiere a una cepa de *Paenibacillus*, que se selecciona del grupo que consiste en:

- 10
- 1) la cepa Lu16774 depositada en DSMZ bajo el número de registro DSM 26969,
 - 2) la cepa Lu17007 depositada en DSMZ bajo el número de registro DSM 26970, y
 - 3) la cepa Lu17015 depositada en DSMZ bajo el número de registro DSM 26971,
 - 4) cepas que tienen al menos una de las características de identificación de una de dichas cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015.

15 Se describe un microorganismo aislado seleccionado de las cepas:

- 1) cepa Lu16774 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de registro DSM 26969,
 - 2) cepa Lu17007 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26970, y
 - 3) cepa Lu17015 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26971; que muestra actividad antagonista contra al menos un patógeno de la planta, y que es capaz de producir al menos un compuesto de tipo fusaricidina; o una cepa mutante de la misma que retiene dicha capacidad, es decir, que retiene dicha actividad antagonista contra al menos un patógeno de la planta, y que retiene dicha capacidad de producir al menos un compuesto de tipo fusaricidina.
- 20

Una realización adicional se refiere a un microorganismo seleccionado de:

- 1) cepa Lu16774 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de registro DSM 26969,
- 25 2) cepa Lu17007 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26970, y
- 3) cepa Lu17015 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26971.

Una característica de identificación de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 depositadas de *Paenibacillus* es que son capaces de producir al menos un compuesto de fórmula I, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B, en particular que producen los compuestos 1A y 1B, que son metabolitos de las cepas respectivas; y sus sales agrícolamente aceptables.

30

De este modo, de acuerdo con un aspecto de la invención, las cepas de *Paenibacillus* de la invención son capaces de producir al menos un compuesto de fórmula I, más preferiblemente de producir los compuestos 1A o 1B, en particular de producir los compuestos 1A y 1B; y sus sales agrícolamente aceptables.

35 De este modo, de acuerdo con un aspecto de la invención, las cepas de *Paenibacillus* de la invención son capaces de producir al menos un compuesto de fórmula I, más preferiblemente producir los compuestos 1A o 1B, en particular producir los compuestos 1A y 1B; y sus sales agrícolamente aceptables, en un medio de crecimiento que comprende al menos una fuente de carbono y una fuente de nitrógeno como se define en el presente documento.

40 Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto de la invención, las cepas de *Paenibacillus* de la invención en un medio de crecimiento que comprende al menos una fuente de carbono y una fuente de nitrógeno como se definen en el presente documento producen al menos un compuesto de fórmula I, más preferiblemente producen compuestos 1A o 1B, en particular producen compuestos 1A y 1B; y sus sales agrícolamente aceptables.

Otra realización de la invención se refiere a un microorganismo aislado seleccionado de

- 1) cepa Lu16774 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de registro DSM 26969,
- 2) cepa Lu17007 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26970, y
- 45 3) cepa Lu17015 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26971;

que muestra actividad antagonista contra al menos un patógeno de la planta, y que es capaz de producir al menos un compuesto de tipo fusaricidina de fórmula I, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B, en particular que produce compuestos 1A y 1B; o una cepa mutante de la misma que retiene dicha capacidad, es decir, que retiene dicha actividad antagonista contra al menos un patógeno de la planta, y que retiene dicha capacidad de producir al menos un compuesto tipo fusaricidina de fórmula I, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B, en particular que produce los compuestos 1A y 1B.

Otra realización de la invención se refiere a un microorganismo aislado seleccionado de

- 1) cepa Lu16774 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de registro DSM 26969,
- 2) cepa Lu17007 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26970, y
- 3) cepa Lu17015 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26971;

que muestra actividad antagonista contra al menos un patógeno de la planta, y que está en un medio de crecimiento que comprende al menos una fuente de carbono y una fuente de nitrógeno como se define en el presente documento, capaz de producir al menos un compuesto de tipo fusaricidina de fórmula I, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B, en particular que produce los compuestos 1A y 1B; o una cepa mutante de la misma que retiene dicha capacidad, es decir, que retiene dicha actividad antagonista contra al menos un patógeno de la planta, y que retiene dicha capacidad de producir al menos un compuesto tipo fusaricidina de fórmula I, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B, en particular produciendo compuestos 1A y 1B.

Otra realización de la invención se refiere a un microorganismo aislado seleccionado de

- 1) cepa Lu16774 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de registro DSM 26969,
- 2) cepa Lu17007 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26970, y
- 3) cepa Lu17015 de *Paenibacillus* depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26971;

que muestra actividad antagonista contra al menos un patógeno de la planta, y que produce al menos un compuesto de tipo fusaricidina de fórmula I, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B, en particular que produce los compuestos 1A y 1B; o una cepa mutante de la misma que retiene dicha capacidad, es decir, que retiene dicha actividad antagonista contra al menos un patógeno de la planta, y que retiene dicha capacidad de producir al menos un compuesto de tipo fusaricidina de fórmula I, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B, en particular que produce los compuestos 1A y 1B.

Una característica de identificación adicional de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 depositadas de *Paenibacillus* o una cepa mutante de la misma es aquella que es capaz de producir al menos un compuesto seleccionado del grupo que consiste en fusaricidina A, fusaricidina B, fusaricidina C, fusaricidina D, LI-F06a, LI-F06b y LI-F08b además de su capacidad de producir al menos un compuesto de fórmula I, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B, en particular que produce los compuestos 1A y 1B.

Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto adicional de la invención, las cepas de *Paenibacillus* de la invención son capaces de producir al menos una fusaricidina de fórmula I, preferiblemente seleccionada de los compuestos 1A y 1B, en particular que produce los compuestos 1A y 1B, como se describe en el presente documento, y son capaces de producir al menos un compuesto seleccionado del grupo que consiste en fusaricidina A, fusaricidina B, fusaricidina C, fusaricidina D, LI-F06a, LI-F06b y LI-F08b.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, las cepas de *Paenibacillus* de la invención son capaces de producir al menos una fusaricidina de fórmula I, preferiblemente seleccionada de los compuestos 1A y 1B, en particular que produce los compuestos 1A y 1B, como se describe en el presente documento, y son capaces de producir al menos tres compuestos seleccionados del grupo que consiste en fusaricidina A, fusaricidina B, fusaricidina C, fusaricidina D, LI-F06a, LI-F06b y LI-F08b.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, las cepas de *Paenibacillus* de la invención son capaces de producir al menos una fusaricidina de fórmula I, preferiblemente seleccionada de los compuestos 1A y 1B, en particular produciendo los compuestos 1A y 1B, como se describe en el presente documento, y son capaces de producir al menos cinco compuestos seleccionados del grupo que consiste en fusaricidina A, fusaricidina B, fusaricidina C, fusaricidina D, LI-F06a, LI-F06b y LI-F08b.

De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, las cepas de *Paenibacillus* de la invención son capaces de producir al menos una fusaricidina de fórmula I, preferiblemente seleccionada de los compuestos 1A y 1B, en particular que produce los compuestos 1A y 1B, como se describe en el presente documento, y son capaces de producir fusaricidina A, fusaricidina B, fusaricidina C, fusaricidina D y LI-F08b.

Una característica de identificación adicional de las cepas de *Paenibacillus* depositadas es su actividad antifúngica. En particular, se encontró que estas cepas son efectivas contra la infestación con patógenos de plantas que incluyen

Alternaria spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* y *Sclerotinia sclerotiorum*; en donde *Alternaria* spp. se selecciona preferiblemente de *A. solani* y *A. alternata*, en particular *A. solani*.

5 Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto adicional de la invención, las cepas de *Paenibacillus* de la invención tienen actividad antifúngica, particularmente contra un patógeno de la planta seleccionado del grupo que consiste en *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, y *Sclerotinia sclerotiorum*, en donde *Alternaria* spp. se selecciona preferiblemente de *A. solani* y *A. alternata*, en particular *A. solani*. Más particularmente, las cepas de *Paenibacillus* de la invención tienen actividad antifúngica contra al menos dos o contra los cuatro patógenos mencionados.

10 De acuerdo con un aspecto adicional de la invención, las cepas de *Paenibacillus* de la invención tienen actividad antifúngica contra los patógenos de plantas *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

15 La actividad antagonista de las cepas de *Paenibacillus* contra patógenos de plantas puede mostrarse en ensayos de confrontación *in vitro* utilizando los hongos fitopatógenos deseados tales como *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* y *Sclerotinia sclerotiorum* en donde *Alternaria* spp. se selecciona preferiblemente de *A. solani* y *A. alternata*, en particular *A. solani*.

20 Como medio de crecimiento para estos hongos fitopatógenos, se usa el medio ISP2 que comprende por litro: 10 g de extracto de malta (Sigma Aldrich, 70167); 4 g de extracto de levadura Bacto (Becton Dickinson, 212750); 4 g monohidrato de glucosa (Sigma Aldrich, 16301); 20 g de agar (Becton Dickinson, 214510), pH de aproximadamente 7, agua bidestilada. Como medio de crecimiento para PHYTIN, se usa el medio V8 que comprende por litro: 200 mL de jugo vegetal, 3 g de carbonato de calcio (Merck Millipore, 1020660250); 30 g de agar (Becton Dickinson, 214510), pH 6,8, agua bidestilada.

25 Las cepas de *Paenibacillus* se inoculan puntualmente en un lado de la placa de agar. En el centro de la placa se colocó un bloque de agar (aproximadamente 0,3 cm²) que contenía un patógeno de la planta en crecimiento activo. Después de incubar durante 7-14 días a aproximadamente 25 °C, se examina el crecimiento del patógeno de la planta, especialmente en las zonas de inhibición. Se pueden evaluar los siguientes efectos antagonistas: antibiosis se califica mediante la evaluación del diámetro de la zona libre de hongos (zona de inhibición). La competencia se califica comparando el diámetro del crecimiento del patógeno fúngico en placas con cepas bacterianas en comparación con las placas de control. El micoparasitismo se puede documentar en caso de que las bacterias superen en crecimiento al patógeno fúngico y también micoparásite a los patógenos. Esto se puede visualizar por microscopía.

30 Otra característica de identificación de las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 depositadas de *Paenibacillus* es que son capaces de producir y secretar al menos una enzima lítica preferiblemente seleccionada de quitinasa, celulasa y amilasa (véase el Ejemplo 6), incluso más preferiblemente al menos quitinasa y celulasa; en particular en un medio de crecimiento que comprende al menos una fuente de carbono y una fuente de nitrógeno como se define en el presente documento.

35 Por tanto, de acuerdo con un aspecto adicional de la invención, las cepas de *Paenibacillus* de la invención son capaces de producir y secretar al menos una enzima lítica seleccionada preferiblemente de quitinasa, celulasa y amilasa, incluso más preferiblemente al menos quitinasa y celulasa; en particular en un medio de crecimiento que comprende al menos una fuente de carbono y una fuente de nitrógeno como se define en el presente documento.

40 Más específicamente, la presente invención se refiere a las cepas depositadas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 y se describe cualquier cepa de *Paenibacillus* que tenga una o más de las características de identificación de la cepa depositada, en donde las características de identificación se seleccionan del grupo que consiste en:

(a) actividad antifúngica contra un patógeno de la planta seleccionado del grupo que consiste en *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* y *Sclerotinia sclerotiorum*, en donde *Alternaria* spp. se selecciona preferiblemente de *A. solani* y *A. alternata*, en particular *A. solani*, como se describe en este documento;

45 (b) la capacidad de producir al menos un compuesto de tipo fusaricidina de fórmula I, en particular los compuestos 1A y/o 1B, como se describe en el presente documento;

(c) la capacidad de producir al menos un compuesto seleccionado del grupo que consiste en fusaricidinas A, B, C, D, LI-F06a, LI-F06b y LI-F08b, como se describe en el presente documento; y

50 (d) la capacidad de producir y secretar al menos una enzima lítica seleccionada del grupo que consiste en quitinasa, celulosa y amilasa, como se describe en el presente documento.

Más preferiblemente, dicha cepa de *Paenibacillus* tiene las capacidades denominadas (b), (c) y (d) en un medio de crecimiento que comprende al menos una fuente de carbono y una fuente de nitrógeno como se define en el presente documento.

En particular, las cepas de *Paenibacillus* tienen dos o más de las características de identificación de la cepa depositada, siendo particularmente preferidas las cepas que tienen al menos las características (a) y (b). Por ejemplo, de acuerdo con una realización preferida, las cepas de la invención (a) tienen una actividad antifúngica contra un patógeno de la planta seleccionado del grupo que consiste en *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* y *Sclerotinia sclerotiorum*, en donde *Alternaria* spp. se selecciona preferiblemente de *A. solani* y *A. alternata*, en particular *A. solani* y (b) son capaces de producir al menos un compuesto de fórmula I, y particularmente el compuesto 1B. De acuerdo con una realización preferida adicional, las cepas de la invención (a) tienen una actividad antifúngica contra tres o contra todos los patógenos de la planta seleccionados del grupo que consiste en *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* y *Sclerotinia sclerotiorum*, en donde *Alternaria* spp. se selecciona preferiblemente de *A. solani* y *A. alternata*, en particular *A. solani* y (b) son capaces de producir al menos un compuesto de fórmula I, más preferiblemente que produce los compuestos 1A o 1B, en particular que produce los compuestos 1A y 1B.

De acuerdo con una realización de la invención, las cepas de la invención se proporcionan en forma aislada o sustancialmente purificada.

Los términos "aislada" o "sustancialmente purificada" pretenden indicar que las cepas de la invención se han eliminado de un entorno natural y se han aislado o separado, y están al menos 60% libres, preferiblemente al menos 75% libres, y más preferiblemente al menos 90% libres, incluso más preferiblemente al menos 95% libres, y lo más preferiblemente al menos 99% libres de otros componentes con los cuales se asociaron naturalmente. Un aislado obtenido cultivando una única colonia microbiana es un ejemplo de una cepa aislada de la invención.

Las cepas de la invención pueden proporcionarse en cualquier estado fisiológico tal como activo o inactivo. Las cepas inactivas pueden proporcionarse, por ejemplo, congeladas, secas o liofilizadas o parcialmente desecadas (los procedimientos para producir organismos parcialmente desecados se proporcionan en el documento WO 2008/002371) o en forma de esporas.

De acuerdo con una realización de la invención, las cepas de la invención se proporcionan en forma de esporas.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, las cepas de la invención se proporcionan como un caldo de cultivo completo que comprende una cepa de la invención.

El cultivo es preferiblemente un cultivo aislado o sustancialmente purificado.

Un "cultivo aislado" o "cultivo sustancialmente purificado" se refiere a un cultivo de las cepas de la invención que no incluye cantidades significativas de otros materiales que normalmente se encuentran en el hábitat natural en el que crece la cepa y/o del cual normalmente se puede obtener la cepa. En consecuencia, dicho "cultivo aislado" o "cultivo sustancialmente purificado" está al menos 60%, libre, preferiblemente al menos 75%, libre y más preferiblemente al menos 90% libre, aún más preferiblemente al menos 95% libre, y lo más preferiblemente al menos 99% libre de otros materiales que normalmente se encuentran en el hábitat natural en el que crece la cepa y/o del que normalmente se puede obtener la cepa. Dicho "cultivo aislado" o "cultivo sustancialmente purificado" no incluye normalmente ningún otro microorganismo en cantidades suficientes para interferir con la replicación de la cepa de la invención. Sin embargo, los cultivos aislados de la invención pueden combinarse para preparar un cultivo mixto de las cepas de la invención y un bioplaguicida adicional, preferiblemente un plaguicida microbiano.

La invención se refiere a métodos para la producción fermentativa de bioplaguicidas antipatogénicos como se describe en el presente documento.

Las cepas como se usan de acuerdo con la invención se pueden cultivar de forma continua o discontinua en el proceso por lotes o en el proceso alimentado por lotes o en los procesos alimentados por lotes repetidos. Una revisión de los métodos de cultivo conocidos se encontrarán en el libro de texto de Chmiel (Bioprozesstechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1991)) o en el libro de texto de Storhas (Bioreaktoren und periphere Einrichtungen (Vieweg Verlag, Braunschig/Wiesbaden, 1994)).

El medio que se va a usar para el cultivo del microorganismo debe satisfacer los requisitos de las cepas particulares de una manera apropiada. Las descripciones de los medios de cultivo para diversos microorganismos se encuentran en el manual "Manual of Methods for General Bacteriology" de la Sociedad Americana de Bacteriología (Washington D. C., EE. UU., 1981).

Estos medios que pueden usarse de acuerdo con la invención generalmente comprenden una o más fuentes de carbono, fuentes de nitrógeno, sales inorgánicas, vitaminas y/o oligoelementos. Las fuentes preferidas de carbono son los azúcares, tales como los monosacáridos, disacáridos o polisacáridos. Muy buenas fuentes de carbono son, por ejemplo, glucosa, fructosa, manosa, galactosa, ribosa, sorbosa, ribulosa, lactosa, maltosa, sacarosa, rafinosa, almidón o celulosa. Los azúcares también se pueden agregar a los medios a través de compuestos complejos, como la melaza u otros subproductos del refinamiento de azúcar. También puede ser ventajoso agregar mezclas de varias fuentes de carbono. Otras posibles fuentes de carbono son los aceites y grasas tales como el aceite de soja, el aceite de girasol, el aceite de cacahuete y el aceite de coco, los ácidos grasos tales como el ácido palmítico, el ácido esteárico o el ácido linoleico, los alcoholes como el glicerol, el metanol o el etanol y los ácidos orgánicos como el ácido acético o ácido láctico. Las fuentes de nitrógeno suelen ser compuestos orgánicos o inorgánicos de nitrógeno o materiales que

contienen estos compuestos. Ejemplos de fuentes de nitrógeno incluyen gas amoníaco o sales de amonio, tales como sulfato de amonio, cloruro de amonio, fosfato de amonio, carbonato de amonio o nitrato de amonio, nitratos, urea, aminoácidos o fuentes complejas de nitrógeno, tales como licor de maíz fermentado, harina de soja, proteína de soja, extracto de levadura, extracto de carne y otros. Las fuentes de nitrógeno se pueden utilizar por separado o como una mezcla. Los compuestos de sales inorgánicas que pueden estar presentes en los medios comprenden las sales de cloruro, fosfato o sulfato de calcio, magnesio, sodio, cobalto, molibdeno, potasio, manganeso, zinc, cobre y hierro. Como fuentes de azufre se pueden usar compuestos inorgánicos que contienen azufre, por ejemplo sulfatos, sulfitos, ditionitos, tetratiónatos, tiosulfatos, sulfuros, pero también compuestos orgánicos de azufre, como mercaptanos y tioles. Como fuentes de fósforo se pueden usar ácido fosfórico, dihidrogenofosfato de potasio o hidrogenofosfato dipotásico o las sales correspondientes que contienen sodio. Se pueden agregar agentes quelantes al medio para mantener los iones metálicos en solución. Los agentes quelantes especialmente adecuados comprenden dihidroxifenoles, tales como catecol o protocatecolato, o ácidos orgánicos, tales como ácido cítrico. Los medios de fermentación utilizados de acuerdo con la invención también pueden contener otros factores de crecimiento, tales como vitaminas o promotores del crecimiento, que incluyen, por ejemplo, biotina, riboflavina, tiamina, ácido fólico, ácido nicotínico, pantotenato y piridoxina. Los factores de crecimiento y las sales a menudo provienen de componentes complejos de los medios, tales como extracto de levadura, melaza, licor de maíz fermentado y similares. Además, se pueden añadir precursores adecuados al medio. La composición precisa de los compuestos en el medio depende en gran medida del experimento en particular y debe decidirse individualmente para cada caso específico. La información sobre la optimización de los medios se puede encontrar en el libro de texto "Applied Microbiol. Physiology, A Practical Approach" (Publ. P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) páginas 53-73, ISBN 0 19 963577 3). Los medios de cultivo también se pueden obtener de proveedores comerciales, tales como Standard 1 (Merck) o BHI ((Brain heart infusion, DIFCO), etc.

Los medios de crecimiento preferidos que se pueden usar de acuerdo con la invención comprenden una o más fuentes de carbono seleccionadas de L-arabinosa, N-acetil-D-glucosamina, D-galactosa, ácido L-aspartico, D-trehalosa, D-manosa, glicerol, ácido D-glucónico, D-xilosa, D-manitol, D-ribosa, D-fructosa, α -D-glucosa, maltosa, D-melibiosa, timidina, α -metil-D-galactósido, α -D-lactosa, lactulosa, sacarosa, uridina, ácido α -hidroxiglutarico- γ -lactona, β -metil-D-glucósido, adonitol, maltotriosa, 2-desoxiadenosina, adenosina, ácido cítrico, ácido místico, D-celobiosa, inosina, L-serina, L-alanil-glicina, ácido D-galacturónico, α -ciclodextrina, β -ciclodextrina, dextrina, inulina, pectina, amigdalina, gentiobiosa, lactitol, D-melecitosa, α -metil-D-glucósido, β -metil-D-galactósido, β -metil-D-xilósido, palatinosa, D-rafinosa, estaquiosa, turanosa, ácido γ -amino butírico, D-glucosamina, ácido D-láctico, L-lisina, 3-hidroxi-2-butanona; y una o más fuentes de nitrógeno seleccionadas de amoníaco, nitrito, nitrato, L-alanina, L-asparagina, ácido L-aspartico, ácido L-glutámico, L-glutamina, glicina, dímeros de aminoácidos: Ala-Asp, Ala-Gln, Ala-Glu, Ala-His, Gly-Gln, Gly-Glu, Gly-Met y Met-Ala; en particular nitrato. Estos medios pueden complementarse con sales inorgánicas y vitaminas y/o oligoelementos. Las cepas son capaces de producir los compuestos 1A y 1B en estos medios de crecimiento.

Todos los componentes del medio se esterilizan, ya sea por calentamiento (20 min a 2,0 bar y 121 °C) o por filtración estéril. Los componentes se pueden esterilizar juntos o, si es necesario, por separado. Todos los componentes del medio pueden estar presentes al comienzo del crecimiento, u opcionalmente pueden agregarse de forma continua o alimentarse por lotes.

La temperatura del cultivo normalmente está entre 15 °C y 36 °C, preferiblemente de 25 °C a 33 °C y se puede mantener constante o se puede variar durante el experimento. El valor de pH del medio debe estar en el intervalo de 5 a 8,5, preferiblemente alrededor de 7,0. El valor de pH para el crecimiento puede controlarse durante el crecimiento mediante la adición de compuestos básicos como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, amoníaco o agua amoniacal o compuestos ácidos tales como ácido fosfórico o ácido sulfúrico. Agentes antiespumantes, por ejemplo ésteres de poliglicol de ácido graso, se pueden utilizar para controlar la formación de espuma. Para mantener la estabilidad de los plásmidos, se pueden añadir al medio sustancias adecuadas con acción selectiva, por ejemplo, antibióticos. Se alimentan en el cultivo oxígeno o mezclas de gases que contienen oxígeno, por ejemplo, el aire ambiente, con el fin de mantener las condiciones aeróbicas. La temperatura del cultivo es normalmente de 20 °C a 45 °C. El cultivo se continúa hasta que se haya formado un máximo del producto deseado. Esto normalmente se logra dentro de 10 horas a 160 horas.

En particular, las cepas de la invención se pueden cultivar en un medio de una variedad de medios de microbiología estándar, tales como el caldo Luria-Bertani (LB), el caldo de tripticasa-soja (TSB), el caldo de extracto de levadura/extracto de malta/glucosa (YMG, ISP2) de 15 °C a 36 °C durante 18 a 360 h en medio líquido o en medio solidificado de agar en una placa de Petri. La aireación puede ser necesaria. Las células bacterianas (células vegetativas y esporas) se pueden lavar y concentrar (por ejemplo, mediante centrifugación a temperaturas de aproximadamente 15 a 30 °C durante aproximadamente 15 min a 7.000 x g).

La invención también se refiere a un medio de cultivo que se puede obtener cultivando las cepas de la invención en un medio y separando el medio del caldo de cultivo (por lo tanto, permanecen cuando las células que crecen en el medio se eliminan de todo el caldo de cultivo), por ejemplo, el sobrenadante de un caldo de cultivo completo, es decir, el caldo líquido que queda cuando las células cultivadas en caldo y otros desechos se eliminan por centrifugación, filtración, sedimentación u otros medios bien conocidos en la técnica. El sobrenadante se puede obtener por ejemplo mediante centrifugación a temperaturas de aproximadamente 2 a 30 °C (más preferiblemente a temperaturas de 4 a

20 °C) durante aproximadamente 10 a 60 min (más preferiblemente aproximadamente 15 a 30 min) a aproximadamente 5.000 a 20.000 x g (más preferiblemente a aproximadamente 15.000 x g).

Dicho medio de crecimiento contiene metabolitos plaguicidas que son producidos por la cepa cultivada.

5 La invención también se refiere a extractos sin células de las cepas de la invención. Para producir un extracto sin células, las cepas de la invención pueden cultivarse como se describe anteriormente. Las células también pueden romperse por ultrasonido de alta frecuencia, por alta presión, por ejemplo en una celda de presión francesa, por osmólisis, por la acción de detergentes, enzimas líticas o disolventes orgánicos, por medio de homogeneizadores o por una combinación de varios de los métodos enumerados. La extracción puede llevarse a cabo preferiblemente con un disolvente orgánico o una mezcla de disolventes, más preferiblemente un alcohol (por ejemplo, metanol, etanol, n-propanol, 2-propanol o similar), incluso más preferiblemente con 2-propanol (por ejemplo, en una relación 1:1 con respecto al volumen de cultivo). La separación de fases puede mejorarse mediante la adición de sales tales como NaCl. La fase orgánica se puede recoger y el disolvente o la mezcla de disolventes se pueden eliminar mediante destilación y/o secado convencionales, seguido de una resuspensión en metanol y filtración.

Dicho extracto contiene metabolitos plaguicidas que son producidos por la cepa cultivada.

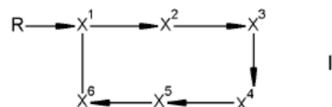
15 Los metabolitos plaguicidas que son específicos de las cepas de la invención pueden recuperarse de dicho medio o extracto de acuerdo con métodos convencionales, en particular cuando las cepas de la invención se han cultivado como se describió anteriormente.

La metodología de la presente invención puede incluir además una etapa de recuperación de metabolitos plaguicidas individuales.

20 El término "recuperación" incluye extraer, cosechar, aislar o purificar el compuesto de medios de cultivo o extractos sin células. La recuperación del compuesto se puede realizar de acuerdo con cualquier metodología de aislamiento o purificación convencional conocida en la técnica, que incluye, entre otros, el tratamiento con una resina convencional (por ejemplo, resina de intercambio aniónico o catiónico, resina de adsorción no iónica, etc.), tratamiento con un adsorbente convencional (por ejemplo, carbón activado, ácido silícico, gel de sílice, celulosa, alúmina, etc.), alteración del pH, extracción con disolvente (por ejemplo, con un disolvente convencional, como un alcohol, acetato de etilo, hexano y similares), destilación, diálisis, filtración, concentración, cristalización, recristalización, ajuste de pH, liofilización y similares. Por ejemplo, los metabolitos se pueden recuperar de los medios de cultivo eliminando primero los microorganismos. El caldo restante se pasa luego a través o sobre una resina de intercambio catiónico para eliminar los cationes no deseados y luego a través o sobre una resina de intercambio aniónico para eliminar aniones inorgánicos y ácidos orgánicos no deseados.

35 Se han encontrado varios metabolitos en el caldo de cultivo completo de las nuevas cepas de *Paenibacillus*. Se estudiaron detalladamente e identificaron nueve metabolitos (véase Ejemplo 7, Fig. 1). Se encontró que dos de ellos eran nuevos (compuesto 1A y compuesto 1B). Se ha encontrado que los compuestos 1A y 1B son producidos por las tres cepas de *Paenibacillus* de la invención (véase Tabla 17) pero ninguna de ellas se encontró en el caldo de cultivo completo de la cepa NRRL BD-62 relacionada de *Paenibacillus peoriae*.

Por lo tanto, la presente invención también se refiere a compuestos de fórmula I



en donde

R se selecciona del ácido 15-guanidino-3-hidroxipentadecanoico (GHPD) y del ácido 12-guanidinododecanoico (12-

40 GDA);

X¹ es treonina;

X² es isoleucina;

X³ es tirosina;

X⁴ es treonina;

45 X⁵ se selecciona de glutamina y asparagina;

X⁶ es alanina; y

en donde una flecha define un enlace sencillo (amida) entre la fracción carbonilo de R y el grupo amino del aminoácido X¹ o entre el grupo carbonilo de un aminoácido y el grupo amino de un aminoácido vecino, en donde la punta de la flecha indica la unión al grupo amino de dicho aminoácido vecino; y

- 5 en donde la línea sencilla (sin una punta de flecha) define un enlace sencillo (éster) entre el grupo carbonilo de X⁶ y el grupo hidroxilo de X¹;

y sus sales agrícolamente aceptables.

De acuerdo con una realización adicional, X¹ en la fórmula I es preferiblemente L-treonina.

De acuerdo con una realización adicional, X² en la fórmula I es preferiblemente D-isoleucina o D-alo-isoleucina.

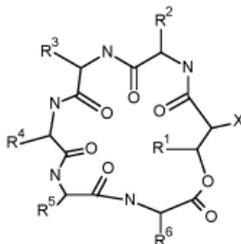
De acuerdo con una realización adicional, X³ en la fórmula I es preferiblemente L-tirosina.

- 10 De acuerdo con una realización adicional, X⁴ en la fórmula I es preferiblemente D-alo-treonina.

De acuerdo con una realización adicional, X⁵ en la fórmula I es preferiblemente D-glutamina o D-asparagina.

De acuerdo con una realización adicional, R en la fórmula I es preferiblemente GHPD.

El esquema de la fórmula I para los compuestos de fórmula I también puede representarse de la siguiente manera:



- 15 en donde

X se selecciona de -NH-(C=O)-CH₂-CH(OH)-(CH₂)₁₂-NH-C(=NH)NH₂ y -NH-(C=O)-(CH₂)₁₁-NH-C(=NH)NH₂;

R¹ es 1-hidroxietilo;

R² es 1-metilpropilo (sec-butilo);

R³ es 4-hidroxibencilo;

- 20 R⁴ es 1-hidroxietilo;

R⁵ se selecciona de carbamoiletilo y carbamoilmetilo;

R⁶ es metil

Del mismo modo, las realizaciones preferidas con base en este esquema alternativo de fórmula I son las siguientes:

R¹ en esta fórmula I es preferiblemente (1S, 2R)-1-hidroxietilo.

- 25 R² en esta fórmula I es preferiblemente (1R, 2R)-1-metilpropilo o (1R, 2S)-1-metilpropilo.

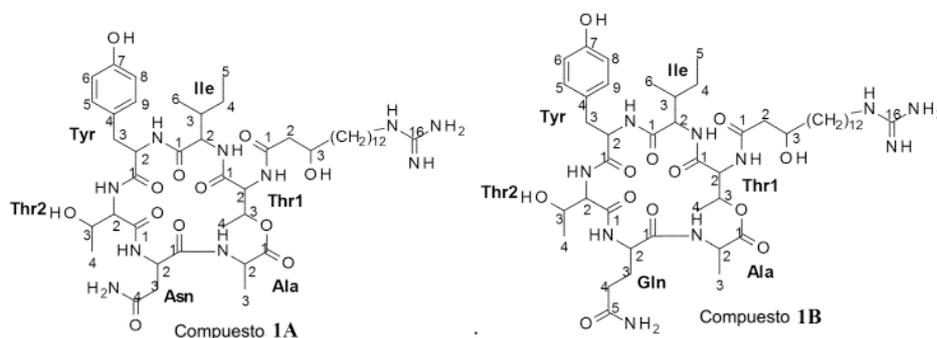
R³ en esta fórmula I es preferiblemente (S)-4-hidroxibencilo.

R⁴ en esta fórmula I es preferiblemente (1S, 2R)-1-hidroxietilo.

R⁵ en esta fórmula I es preferiblemente (R)-carbamoiletilo y (R)-carbamoilmetilo.

X en esta fórmula I es preferiblemente -NH-(C=O)-CH₂-CH(OH)-(CH₂)₁₂-NH-C(=NH)NH₂.

- 30 De acuerdo con una realización adicional, la invención se refiere además a los compuestos 1A y 1B, que son de fórmula I, en donde R es GHPD y en donde X⁴ es asparagina en el caso del compuesto 1A y X⁴ es glutamina en el caso del compuesto 1B:



Los metabolitos plaguicidas de las cepas de la invención se seleccionan preferiblemente de compuestos de fórmula I en donde R es GHPD, en particular se seleccionan de los compuestos 1A y 1B, que pueden obtenerse por extracción y aislamiento de cultivos, es decir, caldos de cultivo completos, de las cepas de la invención.

- 5 Además, los compuestos de tipo fusaricidina de fórmula I que incluyen aquellos en los que R es GHTD se pueden sintetizar por analogía con los métodos conocidos en la técnica (Biopolymers 80 (4), 541, 2005; J. Peptide Sci. 12S, 219, 2006; Tetrahedron Lett. 47 (48), 8587-90, 2006; Biopolymers 88 (4), 568, 2007; ChemMedChem 7, 871-882, 2012).

- 10 La invención también se refiere a las sales agrícolamente aceptables, particularmente sales de adición de ácido de dichos compuestos de tipo fusaricidina de fórmula I. Dichas sales pueden obtenerse mediante métodos convencionales bien conocidos en la técnica, por ejemplo haciendo reaccionar los compuestos de la invención con un ácido adecuado para formar una sal de adición de ácido. Los aniones de sales de adición de ácido útiles son principalmente cloruro, bromuro, fluoruro, yoduro, hidrogenosulfato, metilsulfato, sulfato, dihidrogenofosfato, hidrogenofosfato, nitrato, bicarbonato, carbonato, hexafluorosilicato, hexafluorofosfato, benzoato y también los aniones de ácidos alcanóicos C₁-C₄, preferiblemente formiato, acetato, propionato y butirato.

Por consiguiente, la invención también se refiere a un caldo de cultivo completo de un microorganismo que comprende al menos un compuesto de fórmula I o una sal agrícolamente aceptable del mismo, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B o una sal agrícolamente aceptable de los mismos, en particular dicho conjunto. el caldo de cultivo comprende los compuestos 1A y 1B o una sal agrícolamente aceptable de los mismos.

- 20 De acuerdo con una realización adicional, la invención también se refiere a un caldo de cultivo completo de un microorganismo del género *Paenibacillus* que comprende al menos un compuesto de fórmula I o una de sus sales agrícolamente aceptables, preferiblemente seleccionados de los compuestos 1A y 1B o una sal agrícolamente aceptable de los mismos, en particular dicho caldo de cultivo completo comprende los compuestos 1A y 1B o una sal agrícolamente aceptable de los mismos.

- 25 De acuerdo con una realización adicional, la invención también se refiere a un caldo de cultivo completo de al menos una cepa de *Paenibacillus* de la invención como se identificó y definió anteriormente que comprende al menos un compuesto de fórmula I o una sal agrícolamente aceptable del mismo, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B o una sal agrícolamente aceptable de los mismos, en particular dicho caldo de cultivo completo comprende los compuestos 1A y 1B o una sal agrícolamente aceptable de los mismos.

- 30 Dichos compuestos de tipo fusaricidina se secretan en el medio de cultivo del microorganismo respectivo capaz de producirlo.

- 35 En consecuencia, la invención también se refiere a un medio de cultivo y/o un extracto sin células de un microorganismo que comprende al menos un compuesto de fórmula I o una sal agrícolamente aceptable del mismo, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B o una sal agrícolamente aceptable de los mismos, en particular dicho medio de cultivo y/o un extracto sin células comprende los compuestos 1A y 1B o una sal agrícolamente aceptable de los mismos aceptable desde el punto de vista agrícola.

- 40 De acuerdo con una realización adicional, la invención también se refiere a un medio de cultivo y/o un extracto sin células de un microorganismo del género *Paenibacillus* que comprende al menos un compuesto de fórmula I o una sal agrícolamente aceptable del mismo, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B o una sal agrícolamente aceptable de los mismos, en particular dicho medio de cultivo y/o un extracto sin células comprenden los compuestos 1A y 1B o una sal agrícolamente aceptable de los mismos.

- 45 De acuerdo con una realización adicional, la invención también se refiere a un medio de cultivo y/o un extracto sin células de al menos una cepa de *Paenibacillus* de la invención como se identificó y definió anteriormente que comprende al menos un compuesto de fórmula I o una sal agrícolamente aceptable del mismo, preferiblemente seleccionado de los compuestos 1A y 1B o una sal agrícolamente aceptable de los mismos, en particular dicho medio

de cultivo y/o un extracto sin células comprende los compuestos 1A y 1B o una sal agrícolamente aceptable de los mismos.

5 La invención se refiere además a composiciones agroquímicas que comprenden un auxiliar como se define a continuación y al menos una o más de las cepas, caldos de cultivo completo, extractos sin células, medios de cultivo y compuestos de fórmula I, de la invención, respectivamente.

Como se usa en este documento, "composición" en referencia a un producto (cepa microbiana, agente o formulación) de la presente invención se refiere a una combinación de ingredientes, en donde "formulación" es el proceso de usar una fórmula, tal como una receta, para una combinación de ingredientes, para agregar a la formulación. Dicha composición también se denomina en este documento como formulación.

10 Las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, son adecuados como agentes antifúngicos o fungicidas.

Se distinguen por una eficacia sobresaliente contra un amplio espectro de hongos fitopatógenos, incluidos los hongos transmitidos por el suelo, que se derivan especialmente de las clases de Plasmodiiformicetos, Peronosporomicetos (sinónimo Oomicetos), Citridiomicetos, Zigomicetos, Ascomicetos, Bascidiomicetos (sinónimo hongos imperfectos).
15 Algunos son sistémicamente efectivos y se pueden usar en la protección de cultivos como fungicidas foliares, fungicidas para la preparación de semillas y fungicidas para el suelo. Además, son adecuados para controlar los hongos nocivos, que, entre otras cosas, se producen en la madera o en las raíces de las plantas.

Las cepas, caldos de cultivo completo, extractos sin células, medios de cultivo, compuestos de fórmula I y composiciones de la invención, respectivamente, son particularmente importantes en el control de una multitud de hongos fitopatógenos en diversas plantas cultivadas, tales como cereales, por ejemplo trigo, centeno, cebada, triticale, avena o arroz; remolacha, por ejemplo remolacha azucarera o remolacha forrajera; frutos, tales como pomos, frutos de hueso o frutos suaves, por ejemplo manzanas, peras, ciruelas, duraznos, almendras, cerezas, fresas, frambuesas, moras o grosellas; plantas leguminosas, tales como lentejas, guisantes, alfalfa o soja; plantas de aceite, tales como colza, mostaza, aceitunas, girasoles, coco, granos de cacao, plantas de aceite de ricino, palmas de aceite, nueces molidas o soja; cucurbitáceas, tales como calabazas, pepinos o melones; plantas de fibra, tales como algodón, lino, cáñamo o yute; cítricos, tales como naranjas, limones, pomelos o mandarinas; vegetales, tales como espinaca, lechuga, espárragos, coles, zanahoria, cebolla, tomate, patatas, cucurbitáceas o paprika; plantas lauráceas, tales como aguacates, canela o alcanfor; plantas de energía y materia prima, como maíz, soja, colza, caña de azúcar o palma de aceite; maíz; tabaco; nueces; café; té; plátanos, viñedos (uvas de mesa y uvas de jugo de uva); lúpulo; césped; hoja dulce (también llamada Stevia); plantas de caucho natural o plantas ornamentales y forestales, tales como flores, arbustos, árboles de hoja ancha o árboles de hoja perenne, por ejemplo coníferas; y en el material de propagación de plantas, como las semillas, y el material de cultivo de estas plantas.
20
25
30

Preferiblemente, las cepas, los caldos de cultivo completos, los medios de cultivo de extractos sin células, los compuestos de fórmula I; y las composiciones de la invención, respectivamente, se utilizan para controlar una multitud de hongos en cultivos de campo, tales como patatas, remolacha azucarera, tabaco, trigo, centeno, cebada, avena, arroz, maíz, algodón, soja, colza, legumbres, girasoles, café o caña de azúcar; frutos; viñedos ornamentales; o vegetales, tales como pepinos, tomates, frijoles o calabazas.
35

Se entiende que el término "material de propagación de la planta" denota todas las partes generativas de la planta, tales como semillas y material vegetativo de la planta, tal como esquejes y tubérculos (por ejemplo, patatas), que se pueden usar para la multiplicación de la planta. Esto incluye semillas, raíces, frutos, tubérculos, bulbos, rizomas, brotes, retoños y otras partes de las plantas, incluidas las plántulas y las plantas jóvenes, que se trasplantan después de la germinación o después de emerger del suelo. Estas plantas jóvenes también pueden protegerse antes del trasplante mediante un tratamiento total o parcial mediante inmersión o vertido.
40

Preferiblemente, el tratamiento de materiales de propagación de plantas con las cepas, caldos de cultivo completos, medios de cultivo de extractos sin células, compuestos de fórmula I; y las composiciones de la invención, respectivamente, se usan para controlar una multitud de hongos en cereales, tales como trigo, centeno, cebada y avena; arroz, maíz, algodón y soja.
45

El término "plantas cultivadas" debe entenderse que incluye plantas que han sido modificadas por fitomejoramiento, mutagénesis o ingeniería genética, incluyendo, entre otros, productos de biotecnología agrícola en el mercado o en desarrollo (consultar, <http://cera-gmc.org/>, véase allí la base de datos de cultivos GM). Las plantas modificadas genéticamente son plantas, cuyo material genético se ha modificado tanto mediante el uso de técnicas de ADN recombinante que, en circunstancias naturales, no pueden obtenerse fácilmente mediante cruzamiento, mutaciones o recombinación natural. Típicamente, uno o más genes se han integrado en el material genético de una planta modificada genéticamente para mejorar ciertas propiedades de la planta. Dichas modificaciones genéticas también incluyen, entre otras, la modificación postranslacional dirigida de proteína o proteínas, oligopéptidos o polipéptidos, por ejemplo, por glicosilación o adiciones de polímeros tales como fracciones preniladas, acetiladas o farnesiladas o fracciones de PEG.
50
55

Las plantas que han sido modificadas por fitomejoramiento, mutagénesis o ingeniería genética, por ejemplo, se han vuelto tolerantes a las aplicaciones de clases específicas de herbicidas, tales como los herbicidas auxina tales como dicamba o 2,4-D; herbicidas blanqueadores como los inhibidores de la hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD) o los inhibidores de la fitoeno desaturasa (PDS); inhibidores de la acetolactato sintasa (ALS), tales como sulfonilureas o imidazolinonas; inhibidores de enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), tales como glifosato; inhibidores de la glutamina sintetasa (GS) tales como glufosinato; inhibidores de la protoporfirinógeno-IX oxidasa; inhibidores de la biosíntesis de lípidos, tales como inhibidores de acetil CoA carboxilasa (ACCase); o los herbicidas oxinilo (es decir, bromoxinilo o ioxinilo) como resultado de los métodos convencionales de fitomejoramiento o ingeniería genética. Además, las plantas se han hecho resistentes a múltiples clases de herbicidas a través de múltiples modificaciones genéticas, tales como resistencia tanto al glifosato como al glufosinato o al glifosato y a un herbicida de otra clase, tal como los inhibidores de ALS, inhibidores de HPPD, herbicidas de auxina o inhibidores de ACCase. Estas tecnologías de resistencia a herbicidas son por ejemplo descrito en Pest Managem. Sci. 61, 2005, 246; 61, 2005, 258; 61, 2005, 277; 61, 2005, 269; 61, 2005, 286; 64, 2008, 326; 64, 2008, 332; Weed Sci. 57, 2009, 108; Austral. J. Agricult. Res. 58, 2007, 708; Science 316, 2007, 1185; y referencias citadas allí. Varias plantas cultivadas se han vuelto tolerantes a los herbicidas por métodos convencionales de fitomejoramiento (mutagénesis), por ejemplo colza de verano Clearfield® (Canola, BASF SE, Alemania) que es tolerante a las imidazolinonas, por ejemplo Imazamox o los girasoles ExpressSun® (DuPont, EE. UU.) que son tolerantes a las sulfonilureas, por ejemplo tribenurón. Los métodos de ingeniería genética se han utilizado para volver a las plantas cultivadas tales como la soja, el algodón, el maíz, la remolacha y la colza, tolerantes a los herbicidas tales como el glifosato y el glufosinato, algunos de los cuales están comercialmente disponibles bajo los nombres comerciales RoundupReady® (tolerante al glifosato, Monsanto, USA), Cultivance® (tolerante a imidazolinona, BASF SE, Alemania) y LibertyLink® (tolerante al glufosinato, Bayer CropScience, Alemania).

Además, también se cubren plantas mediante el uso de técnicas de ADN recombinante capaces de sintetizar una o más proteínas insecticidas, especialmente las conocidas del género bacteriano *Bacillus*, particularmente de *Bacillus thuringiensis*, tales como las δ -endotoxinas, por ejemplo CryIA(b), CryIA(c), CryIF, CryIF(a2), CryIIA(b), CryIIIA, CryIIIB (b1) o Cry9c; proteínas insecticidas vegetativas (VIP), por ejemplo VIP1, VIP2, VIP3 o VIP3A; proteínas insecticidas de nematodos colonizadores de bacterias, por ejemplo, *Photorhabdus* spp. o *Xenorhabdus* spp.; toxinas producidas por animales, tales como toxinas de escorpión, toxinas arácnidas, toxinas de avispa u otras neurotoxinas específicas de insectos; toxinas producidas por hongos, tales como toxinas de estreptomicetos, lectinas de plantas, tales como lectinas de guisantes o cebada; aglutininas; inhibidores de proteínasa, tales como inhibidores de tripsina, inhibidores de serina proteasa, inhibidores de patatina, cistatina o papaína; proteínas inactivadoras de ribosomas (RIP), tales como ricina, maíz RIP, abrina, lufina, saporina o briodina; enzimas del metabolismo de los esteroides, tales como la 3-hidroxiesteroide oxidasa, ecdisteroide-IDP-glicosil-transferasa, colesterol oxidasa, inhibidores de ecdisona o HMG-CoA-reductasa; bloqueadores de los canales iónicos, tales como los bloqueadores de los canales de sodio o calcio; hormona juvenil esterasa; receptores de hormonas diuréticas (receptores de helicoquinina); estilbeno sintasa, bibencil sintasa, quitinasas o glucanasas. En el contexto de la presente invención, estas proteínas o toxinas insecticidas deben entenderse expresamente también como pre-toxinas, proteínas híbridas, proteínas truncadas o bien modificadas. Las proteínas híbridas se caracterizan por una nueva combinación de dominios de proteínas (véase, por ejemplo, el documento WO 02/015701). Otros ejemplos de tales toxinas o plantas modificadas genéticamente capaces de sintetizar tales toxinas se describen, por ejemplo, en los documentos EP-A 374 753, WO 93/007278, WO 95/34656, EP-A 427 529, EP-A 451 878, WO 03/18810 y WO 03/52073. Los métodos para producir tales plantas modificadas genéticamente son generalmente conocidos por los expertos en la técnica y se describen, por ejemplo, en las publicaciones mencionadas anteriormente. Estas proteínas insecticidas contenidas en las plantas modificadas genéticamente imparten a las plantas que producen estas proteínas tolerancia a plagas dañinas de todos los grupos taxonómicos de artrópodos, especialmente a escarabajos (Coleóptera), insectos de dos alas (Díptera) y polillas (Lepidóptera) y nematodos (Nematoda). Las plantas modificadas genéticamente capaces de sintetizar una o más proteínas insecticidas son, por ejemplo, descritas en las publicaciones mencionadas anteriormente, y algunas de las cuales están disponibles comercialmente, tales como YieldGard® (variedades de maíz que producen la toxina Cry1Ab), YieldGard® Plus (variedades de maíz que producen las toxinas Cry1Ab y Cry3Bb1), Starlink® (variedades de maíz que producen la Toxina Cry9c), Herculex® RW (variedades de maíz que producen Cry34Ab1, Cry35Ab1 y la enzima fosfotricina-N-acetiltransferasa [PAT]); NuCOTN® 33B (variedades de algodón que producen la toxina Cry1Ac), Bollgard® I (variedades de algodón que producen la toxina Cry1Ac), Bollgard® II (variedades de algodón que producen las toxinas Cry1Ac y Cry2Ab2); VIPCOT® (variedades de algodón que producen una toxina VIP); NewLeaf® (variedades de patata que producen la toxina Cry3A); Bt-Xtra®, NatureGard®, KnockOut®, BiteGard®, Protecta®, Bt11 (por ejemplo, Agrisure® CB) y Bt176 de Syngenta Seeds SAS, Francia (variedades de maíz que producen la toxina Cry1Ab y la enzima PAT), MIR604 de Syngenta Seeds SAS, Francia (variedades de maíz que producen una versión modificada de la toxina Cry3A, consultar el documento WO 03/018810), MON 863 de Monsanto Europe SA, Bélgica (variedades de maíz que producen la toxina Cry3Bb1), IPC 531 de Monsanto Europe SA, Bélgica (variedades de algodón que producen una versión modificada de la toxina Cry1Ac) y 1507 de Pioneer Overseas Corporation, Bélgica (variedades de maíz que producen la toxina Cry1F y la enzima PAT).

Además, también se cubren las plantas que son para el uso de técnicas de ADN recombinante capaces de sintetizar una o más proteínas para aumentar la resistencia o tolerancia de esas plantas a patógenos bacterianos, virales o fúngicos. Ejemplos de tales proteínas son las denominadas "proteínas relacionadas con la patogénesis" (proteínas PR, véase, por ejemplo, el documento EP-A 392 225), genes de resistencia a enfermedades de las plantas (por

ejemplo, variedades de patata, que expresan genes de resistencia que actúan en contra de la *Phytophthora infestans* derivada de la patata silvestre mexicana *Solanum bulbocastanum*) o T4-lisozima (por ejemplo, variedades de patata capaces de sintetizar estas proteínas con mayor resistencia contra bacterias tales como *Erwinia amylovora*). Los métodos para producir tales plantas modificadas genéticamente son generalmente conocidos por el experto en la materia y se describen, por ejemplo en las publicaciones mencionadas anteriormente.

Además, también están cubiertas las plantas por el uso de técnicas de ADN recombinante capaces de sintetizar una o más proteínas para aumentar la productividad (por ejemplo, producción de biomasa, rendimiento de grano, contenido de almidón, contenido de aceite o contenido de proteína), tolerancia a la sequía, salinidad u otros factores ambientales que limitan el crecimiento o tolerancia a plagas y patógenos fúngicos, bacterianos o virales de esas plantas.

Además, también están cubiertas las plantas por el uso de técnicas de ADN recombinante, cantidades modificadas de sustancias o cantidades de nuevas sustancias, específicamente para mejorar la nutrición humana o animal, por ejemplo cultivos oleaginosos que producen ácidos grasos omega-3 de cadena larga que promueven la salud o ácidos grasos omega-9 insaturados (por ejemplo, colza Nexera®, DOW Agro Sciences, Canadá).

Además, también están cubiertas las plantas por el uso de técnicas de ADN recombinante cantidades modificadas de sustancias o cantidades de nuevas sustancias, específicamente para mejorar la producción de materia prima, por ejemplo, patatas que producen mayores cantidades de amilopectina (por ejemplo, patata Amflora®, BASF SE, Alemania).

Las cepas, caldos de cultivo completos, extractos sin células, medios de cultivo, compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, son particularmente adecuados para controlar las siguientes enfermedades de las plantas:

Albugo spp. (óxido blanco) en plantas ornamentales, vegetales (por ejemplo, *A. candida*) y girasoles (por ejemplo, *A. tragopogonis*); *Alternaria* spp. (Mancha de la hoja de *Alternaria*) en vegetales, colza (*A. brassicola* o *brassicae*), remolachas azucareras (*A. tenuis*), frutos, arroz, semillas de soja, patatas (por ejemplo, *A. solani* o *A. alternata*), tomates (por ejemplo, *A. solani* o *A. alternata*) y trigo; *Aphanomyces* spp. en remolacha azucarera y vegetales; *Ascochyta* spp. en cereales y vegetales, por ejemplo *A. tritici* (antracnosis) en trigo y *A. hordei* en cebada; *Bipolaris* y *Drechslera* spp. (teleomorfo: *Cochliobolus* spp.), por ejemplo Tizón de la hoja del sur (*D. maydis*) o tizón de la hoja del norte (*B. zeicola*) en el maíz, por ejemplo pústula manchada (*B. sorokiniana*) en cereales y por ejemplo, *B. oryzae* en arroz y césped; *Blumeria* (anteriormente *Erysiphe*) *graminis* (mildió pulverulenta) en cereales (por ejemplo, en trigo o cebada); *Botrytis cinerea* (teleomorfo: *Botryotinia fuckeliana*: moho gris) en frutos y bayas (por ejemplo, fresas), vegetales (lechuga, zanahorias, apio y coles), colza, flores, viñedos, plantas forestales y trigo; *Bremia lactucae* (mildió veloso) en lechuga; *Ceratocystis* (sinónimo *Ophiostoma*) spp. (podredumbre o marchitamiento) en árboles de hoja ancha y árboles de hoja perenne, por ejemplo, *C. ulmi* (enfermedad del olmo holandés) en olmos; *Cercospora* spp. (manchas foliares de Cercospora) en maíz (por ejemplo, mancha gris de la hoja: *C. zeae-maydis*), arroz, remolacha azucarera (por ejemplo *C. beticola*), caña de azúcar, vegetales, café, semillas de soja (por ejemplo, *C. Sojina* o *C. Kikuchii*) y arroz; *Cladosporium* spp. en tomates (por ejemplo, *C. fulvum*: moho de la hoja) y cereales, por ejemplo, *C. herbarum* (espiga negra) en trigo; *Claviceps purpurea* (cornezuelo) en cereales; *Cochliobolus* (anamorfo: *Helminthosporium* de *Bipolaris*) spp. (manchas foliares) en maíz (*C. carbonum*), cereales (por ejemplo, *C. sativus*, anamorfo: *B. sorokiniana*) y arroz (por ejemplo, *C. miyabeanus*, anamorfo: *H. oryzae*); *Colletotrichum* (teleomorfo: *Glomerella*) spp. (antracnosis) en algodón (por ejemplo, *C. gossypii*), maíz (por ejemplo, *C. graminicola*: podredumbre del tallo por antracnosis), frutos blandos, patatas (por ejemplo, *C. coccodes*: puntos negros), frijoles (por ejemplo, *C. lindemuthianum*) y semillas de soja (por ejemplo, *C. truncatum* o *C. gloeosporioides*); *Corticium* spp., por ejemplo, *C. sasakii* (tizón de la vaina) en arroz; *Corynespora cassiicola* (manchas foliares) en semillas de soja y plantas ornamentales; *Cyloconium* spp., por ejemplo *C. oleaginum* en olivos; *Cylindrocarpon* spp. (por ejemplo, cancro del árbol frutal o declive del viñedo joven, teleomorfo: *Nectria* o *Neonectria* spp.) en frutales, viñedos (por ejemplo, *C. liriiodendri*, teleomorfo: *Neonectria liriiodendri*: enfermedad del pie negro) y ornamentales; *Dematophora* (teleomorfo: *Rosellinia*) necatrix (podredumbre de la raíz y el tallo) en semillas de soja; *Diaporthe* spp., por ejemplo, *D. Phaseolorum* (caída del almácigo) en semillas de soja; *Drechslera* (sinónimo *Helminthosporium*, teleomorfo: *Pyrenophora*) spp. en el maíz, cereales, tal como la cebada (por ejemplo *D. teres*, mancha de red) y trigo (por ejemplo *D. tritici-repentis*: mancha canela), arroz y césped; Esca (área angostada, apoplejía) en viñedos, causada por *Formitiporia* (sinónimo *Phellinus*) *punctata*, *F. mediterranea*, *Phaeoconiella chlamydospora* (anteriormente *Phaeoacremonium chlamydosporum*), *Phaeoacremonium aleophilum* y/o *Botryosphaeria obtusa*; *Elsinoe* spp en frutos de pepita (*E. pyri*), frutos blandos (*E. veneta*: antracnosis) y viñedos (*E. ampelina*: antracnosis); *Etyloma oryzae* (tizón de la hoja) en arroz; *Epicoccum* spp. (moho negro) en trigo; *Erysiphe* spp. (mildió pulverulento) en remolachas azucareras (*E. betae*), vegetales (por ejemplo, *E. pisi*), tal como cucurbitáceas (por ejemplo, *E. cichoracearum*), coles, colza (por ejemplo, *E. cruciferarum*), *Eutypa lata* (cancro o área angostada Eutypa, anamorfo: *Cytosporina lata*, sinónimo *Libertella blepharis*) en árboles frutales, viñedos y maderas ornamentales; *Exserohilum* (sinónimo *Helminthosporium*) spp. en maíz (por ejemplo, *E. turcicum*); *Fusarium* (teleomorfo: *Gibberella*) spp. (marchitamiento, podredumbre de la raíz o del tallo) en varias plantas, tales como *F. graminearum* o *F. culmorum* (podredumbre de la raíz, sarna o tizón de la cabeza) en cereales (por ejemplo, trigo o cebada), *F. oxysporum*, en tomates *F. solani* (f. sp. *glycines* ahora sinónimo *F. virguliforme*) y *F. tucumaniae* y *F. brasiliense* y cada que causa el síndrome de muerte súbita en las semillas de soja, y *F. verticillioides* en maíz; *Gaeumannomyces graminis* (mal del pie) en cereales (por ejemplo, trigo o cebada) y maíz; *Gibberella* spp. en cereales (por ejemplo, *G. zeae*) y arroz (por ejemplo, *G. fujikuroi*: enfermedad de Bakanae);

Glomerella cingulata en viñedos, frutos de pepita y otras plantas y *G. gossypii* en algodón; complejo de tinción del grano en arroz; *Guignardia bidwellii* (podredumbre negra) en viñedos; *Gymnosporangium* spp. en plantas rosáceas y enebros, por ejemplo, *G. sabinae* (roya) en peras; *Helminthosporium* spp. (sinónimo *Drechslera*, teleomorfo: *Cochliobolus*) en maíz, cereales y arroz; *Hemileia* spp., por ejemplo, *H. vastatrix* (roya de la hoja del café) en el café; *Isariopsis clavispora* (sinónimo *Cladosporium vitis*) en los viñedos; *Macrophomina phaseolina* (sinónimo *phaseoli*) (podredumbre de la raíz y el tallo) en semillas de soja y algodón; *Microdochium* (sinónimo *Fusarium*) *nivale* (moho de la nieve rosa) en cereales (por ejemplo, trigo o cebada); *Microsphaera diffusa* (mildió pulverulento) en semillas de soja; *Monilinia* spp., por ejemplo, *M. laxa*, *M. fructicola* y *M. frutigena* (tizón de la floración y la ramita, podredumbre parda) en frutos de hueso y otras plantas rosáceas; *Mycosphaerella* spp. en cereales, bananas, frutos suaves y nueces molidas, tales como por ejemplo, *M. graminicola* (anamorfo: *Septoria tritici*, mancha Septoria) en trigo o *M. fijiensis* (enfermedad de Sigatoka negra) en bananos; *Peronospora* spp. (mildió veloso) en col (por ejemplo *P. brassicae*), colza (por ejemplo, *P. parasitica*), cebollas (por ejemplo, *P. destructor*), tabaco (*P. tabacina*) y semillas de soja (por ejemplo, *P. manshurica*); *Phakopsora pachyrhizi* y *P. meibomia* (roya de la soja) en semillas de soja; *Phialophora* spp. por ejemplo, en viñedos (por ejemplo, *P. tracheiphila* y *P. tetraspora*) y semillas de soja (por ejemplo, *P. gregata*: podredumbre del tallo); *Phoma lingam* (podredumbre de la raíz y el tallo) en colza y col y *P. betae* (mancha foliar y caída del almácigo) en la remolacha azucarera; *Phomopsis* spp. en girasoles, viñedos (por ejemplo, *P. viticola*: lata y mancha foliar) y semillas de soja (por ejemplo, pudrición del tallo: *P. phaseoli*, teleomorfo: *Diaporthe phaseolorum*); *Physoderma maydis* (manchas marrones) en el maíz; *Phytophthora* spp. (marchitamiento, podredumbre de la raíz, hoja, fruta y tallo) en varias plantas, tales como paprika y cucurbitáceas (por ejemplo, *P. capsici*), semillas de soja (por ejemplo, *P. megasperma*, sinónimo *P. sojae*), patatas y tomates (por ejemplo, *P. infestans*: tizón tardío) y árboles de hoja ancha (por ejemplo *P. ramorum*: muerte súbita del roble); *Plasmodiophora brassicae* (podredumbre del palo) en coles, colza, rábano y otras plantas; *Plasmopara* spp., por ejemplo, *P. viticola* (moho veloso) en vides y *P. halstedii* en girasoles; *Podosphaera* spp. (mildió pulverulento) en plantas rosáceas, lúpulo, pepas y frutos blandos, por ejemplo, *P. leucotricha* en manzanas; *Polymyxa* spp., por ejemplo, en cereales, tales como cebada y trigo (*P. graminis*) y la remolacha azucarera (*P. betae*) y, por lo tanto, las enfermedades virales transmitidas; *Pseudocercospora herpotrichoides* (mancha ocular, teleomorfo: *Tapesia yallundae*) en los cereales, por ejemplo trigo o cebada; *Pseudoperonospora* (mildió veloso) en varias plantas, por ejemplo, *P. cubensis* en cucurbitáceas o *P. humili* en lúpulo; *Pseudopezizula tracheiphila* (enfermedad de fuego rojo o, rotbrenner, anamorfo: *Phialophora*) en viñedos; *Puccinia* spp. (royas) en varias plantas, por ejemplo, *P. triticea* (roya marrón o foliar), *P. striiformis* (vetas o roya amarilla), *P. hordei* (roya enana), *P. graminis* (roya del tallo o negra) o *P. recondita* (roya marrón o de la hoja) en cereales, tales como por ejemplo, trigo, cebada o centeno, *P. kuehnii* (roya naranja) en caña de azúcar y *P. asparagi* en espárragos, *Pyrenophora* (anamorfo: *Drechslera*) *tritici-repentis* (mancha marrón) en trigo o *P. teres* (mancha de red) en cebada; *Pyricularia* spp., por ejemplo, *P. Oryzae* (teleomorfo: *Magnaporthe grisea*, barreno de arroz) en arroz y *P. grisea* en césped y cereales; *Pythium* spp. (caída del almácigo) en césped, arroz, maíz, trigo, algodón, colza, girasol, soja, remolacha azucarera, vegetales y otras plantas (por ejemplo, *P. ultimum* o *P. aphanidermatum*); *Ramularia* spp., por ejemplo, *R. collo-cygni* (manchas foliares de Ramularia, manchas foliares fisiológicas) en cebada y *R. beticola* en las remolachas azucareras; *Rhizoctonia* spp. en algodón, arroz, patatas, césped, maíz, colza, patatas, remolacha azucarera, vegetales y otras plantas, por ejemplo, *R. solani* (podredumbre de raíz y tallo) en semillas de soja, *R. solani* (tizón de la vaina) en arroz o *R. cerealis* (tizón de primavera de Rhizoctonia) en trigo o cebada; *Rhizopus stolonifer* (moho negro, pudrición blanda) en fresas, zanahorias, coles, viñedos y tomates; *Rhynchosporium secalis* (escaldadura) en cebada, centeno y triticale; *Sarocladium oryzae* y *S. attenuatum* (podredumbre de la vaina) en el arroz; *Sclerotinia* spp. (podredumbre del tallo o moho blanco) en vegetales y cultivos de campo, como colza, girasoles (por ejemplo, *S. sclerotiorum*) y semillas de soja (por ejemplo, *S. rolfsii* o *S. sclerotiorum*); *Septoria* spp. en varias plantas, por ejemplo, *S. glycines* (mancha marrón) en semillas de soja, *S. tritici* (mancha de Septoria) en trigo y *S.* (sinónimo *Stagonospora*) *nodorum* (mancha de Stagonospora) en cereales; *Uncinula* (sinónimo *Erysiphe*) *necator* (mildió pulverulento, anamorfo: *Oidium tuckeri*) en viñedos; *Setosphaeria* spp. (tizón de la hoja) en el maíz (por ejemplo *S. turcicum*, sinónimo *Helminthosporium turcicum*) y césped; *Sphaelotheca* spp. (tizón) en maíz, (por ejemplo, *S. reiliana*: tizón de cabeza), sorgo y caña de azúcar; *Sphaerotheca fuliginea* (mildió pulverulento) en cucurbitáceas; *Spongospora subterranea* (costra pulverulenta) en patatas y, por lo tanto, enfermedades virales transmitidas; *Stagonospora* spp. en cereales, por ejemplo, *S. nodorum* (mancha de estagonospora, teleomorfo: *Leptosphaeria* [sinónimo *Phaeosphaeria*] *nodorum*) en trigo; *Synchytrium endobioticum* en patatas (enfermedad de la verruga de la patata); *Taphrina* spp., por ejemplo, *T. deformans* (enfermedad de enrollamiento de la hoja) en melocotones y *T. pruni* (bolsillo de ciruela) en ciruelas; *Thielaviopsis* spp. (podredumbre de la raíz negra) en tabaco, frutos de pepitas, vegetales, semillas de soja y algodón, por ejemplo, *T. basicola* (sinónimo *Chalara elegans*); *Tilletia* spp. (tizón común o tizón fétido) en cereales, tales como por ejemplo, *T. tritici* (sinónimo *T. caries*, tizón de trigo) y *T. controversa* (tizón enano) sobre trigo; *Typhula incarnata* (moho de la nieve gris) en cebada o trigo; *Urocystis* spp., por ejemplo, *U. occulta* (tizón del tallo) en centeno; *Uromyces* spp. (roya) en vegetales, tales como frijoles (por ejemplo, *U. appendiculatus*, sinónimo *U. phaseoli*) y remolacha azucarera (por ejemplo, *U. betae*); *Ustilago* spp. (tizón suelto) en cereales (por ejemplo, *U. nuda* y *U. avenae*), maíz (por ejemplo, *U. maydis*: tizón de maíz) y caña de azúcar; *Venturia* spp. (costra) en manzanas (por ejemplo, *V. inaequalis*) y peras; y *Verticillium* spp. (marchitamiento) en varias plantas, tales como frutos y ornamentales, viñedos, frutos blandos, vegetales y cultivos de campo, por ejemplo, *V. dahliae* en fresas, colza, patatas y tomates.

Las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, también son adecuados para controlar patógenos dañinos, especialmente hongos, en la protección de productos almacenados o cosecha y en la protección de materiales.

El término "protección de materiales" debe entenderse que denota la protección de materiales técnicos y no vivos, tales como adhesivos, pegamentos, madera, papel y cartón, textiles, cuero, dispersiones de pintura, plásticos, lubricantes refrigerantes, fibras o tejidos, contra la infestación y destrucción por microorganismos nocivos, como hongos y bacterias. En cuanto a la protección de la madera y otros materiales, se presta especial atención a los siguientes hongos nocivos: Ascomicetos tales como *Ophiostoma* spp., *Ceratocystis* spp., *Aureobasidium pullulans*, *Sclerophoma* spp., *Chaetomium* spp., *Humicola* spp., *Petriella* spp., *Trichurus* spp.; Basidiomicetos tales como *Coniophora* spp., *Coriolus* spp., *Gloeophyllum* spp., *Lentinus* spp., *Pleurotus* spp., *Poria* spp., *Serpula* spp. y *Tyromyces* spp., Deuteromicetos tales como *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Trichorma* spp., *Alternaria* spp., *Paecilomyces* spp. y Zigomicetos tales como *Mucor* spp., y además en la protección de productos almacenados y cosecha, los siguientes hongos de levadura son dignos de mención: *Candida* spp. y *Saccharomyces cerevisiae*.

El método de tratamiento de acuerdo con la invención también se puede usar en el campo de la protección de productos almacenados o cosecha contra el ataque de hongos y microorganismos. De acuerdo con la presente invención, se entiende que el término "productos almacenados" denota sustancias naturales de origen vegetal o animal y sus formas procesadas, que se han tomado del ciclo de vida natural y para las cuales se desea una protección a largo plazo. Los productos almacenados de origen vegetal, tales como plantas o partes de las mismas, por ejemplo, tallos, hojas, tubérculos, semillas, frutos o granos, pueden protegerse en estado recién cosechado o en forma procesada, tal como presecada, humedecida, triturada, molida, prensada o tostada, cuyo proceso también se conoce como tratamiento poscosecha. También se incluye en la definición de productos almacenados la madera, ya sea en forma de madera en bruto, como madera de construcción, torres y barreras eléctricas, o en forma de artículos terminados, como muebles u objetos hechos de madera. Los productos almacenados de origen animal son pellejos, cueros, pieles, pelos y similares. Las combinaciones de acuerdo con la presente invención pueden evitar efectos desventajosos tales como decaimiento, decoloración o moho. Preferiblemente, se entiende que "productos almacenados" denota sustancias naturales de origen vegetal y sus formas procesadas, más preferiblemente frutos y sus formas procesadas, tales como pepitas, frutos de hueso, frutos blandos y frutos cítricos y sus formas procesadas.

Las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, se pueden usar para mejorar la salud de una planta. La invención también se refiere a un método para mejorar la salud de las plantas mediante el tratamiento de una planta, su material de propagación y/o el lugar donde la planta está creciendo o ha de crecer con una cantidad efectiva de las cepas, caldos de cultivo completos, extractos sin células, medios de cultivo, compuestos de fórmula I, y composiciones.

Se debe entender que el término "sanidad vegetal" denota una condición de la planta y/o sus productos que se determina mediante varios indicadores solos o en combinación con otros, tales como rendimiento (por ejemplo, mayor biomasa y/o mayor contenido de ingredientes valiosos), vigor de la planta (por ejemplo, crecimiento de la planta mejorado y/o hojas más verdes ("efecto de reverdecimiento")), calidad (por ejemplo, contenido mejorado o composición de ciertos ingredientes) y tolerancia al estrés abiótico y/o biótico. Los indicadores identificados anteriormente para el estado de salud de una planta pueden ser interdependientes o pueden ser el resultado de la combinación entre ellos.

Las plantas más sanas son deseables ya que dan como resultado, entre otros, mejores rendimientos y/o una mejor calidad de las plantas o cultivos, específicamente mejor calidad de las partes de las plantas cosechadas. Las plantas más sanas también resisten mejor al estrés biótico y/o abiótico. Una alta resistencia contra el estrés biótico, a su vez, permite a los expertos en la técnica reducir la cantidad de plaguicidas aplicados y, en consecuencia, frenar el desarrollo de resistencias contra los plaguicidas respectivos.

Se debe enfatizar que los efectos mencionados anteriormente de las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, es decir, la salud mejorada de la planta, están también presentes cuando la planta no está bajo estrés biótico y, en particular, cuando la planta no está bajo presión de una plaga.

Por ejemplo, para el tratamiento de semillas y aplicaciones en el suelo, es evidente que una planta que sufre un ataque de hongos o insecticida muestra una germinación y emergencia reducidas que conducen a un establecimiento y un vigor más pobres de las plantas o cultivos, y en consecuencia, a un rendimiento reducido en comparación con un material de propagación de la planta que ha sido sometido a un tratamiento curativo o preventivo contra la plaga relevante y que puede crecer sin el daño causado por el factor de estrés biótico. Sin embargo, los métodos de acuerdo con la invención conducen a una mejor salud de la planta incluso en ausencia de cualquier estrés biótico. Esto significa que los efectos positivos de las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, no pueden explicarse simplemente por las actividades plaguicidas de las cepas, los caldos de cultivo completos, los extractos sin células, medios de cultivo, compuestos de fórmula I y composiciones de la invención, respectivamente, pero se basan en perfiles de actividad adicionales. Por consiguiente, la aplicación de las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, también se pueden llevar a cabo en ausencia de la presión por plagas.

En una realización igualmente preferida, la presente invención se refiere a un método para mejorar la salud de plantas cultivadas a partir de dicho material de propagación de plantas, en el que el material de propagación de plantas se trata con una cantidad eficaz de al menos una cepa, caldos de cultivo completos, extracto sin células, medio de cultivo, compuesto de fórmula I, o una composición de la invención.

- 5 Cada indicador de sanidad vegetal enumerado a continuación, que se selecciona de los grupos que consisten en rendimiento, vigor de la planta, calidad y tolerancia de la planta al estrés abiótico y/o biótico, debe entenderse como una realización preferida de la presente invención, ya sea cada uno por su cuenta o preferiblemente en combinación entre ellos.

- 10 De acuerdo con la presente invención, el "rendimiento incrementado" de una planta significa que el rendimiento de un producto de la planta respectiva se incrementa en una cantidad medible sobre el rendimiento del mismo producto de la planta producido en las mismas condiciones, pero sin la aplicación de las cepas, caldos de cultivo completo, extractos sin células, medios de cultivo, compuestos de fórmula I y composiciones de la invención, respectivamente.

- 15 Para el tratamiento de semillas por ejemplo como formas de aplicación de inoculantes y/o foliares, el aumento del rendimiento se puede caracterizar, entre otras, por las siguientes propiedades mejoradas de la planta: aumento del peso de la planta; y/o aumento de la altura de la planta; y/o aumento de la biomasa, como un mayor peso fresco total (FW); y/o mayor número de flores por planta; y/o mayor rendimiento de granos y/o frutos; y/o más retoños o brotes laterales (ramas); y/o hojas más grandes; y/o aumento del crecimiento de los brotes; y/o mayor contenido de proteínas; y/o mayor contenido de aceite; y/o mayor contenido de almidón; y/o mayor contenido de pigmento; y/o mayor contenido de clorofila (el contenido de clorofila tiene una correlación positiva con la tasa de fotosíntesis de la planta y, en consecuencia, cuanto mayor sea el contenido de clorofila mayor será el rendimiento de una planta) y/o mayor calidad de una planta.

- 20 "Grano" y "fruto" deben entenderse como cualquier producto vegetal que se utilice más después de la cosecha, por ejemplo frutas en el sentido adecuado, vegetales, nueces, granos, semillas, madera (por ejemplo, en el caso de las plantas de silvicultura), flores (por ejemplo, en el caso de plantas de jardinería, ornamentales), etc., que es algo de valor económico producido por la planta.

De acuerdo con la presente invención, el rendimiento aumenta al menos en un 4%. En general, el aumento del rendimiento puede ser incluso mayor, por ejemplo, de 5 a 10%, más preferible de 10 a 20%, o incluso de 20 a 30%.

- 25 De acuerdo con la presente invención, el rendimiento, si se mide en ausencia de la presión por la plaga, aumenta al menos en un 2%. En general, el aumento en el rendimiento puede ser incluso mayor, por ejemplo, de 4% a 5% o incluso más.

Otro indicador del estado de la planta es el vigor de la planta. El vigor de la planta se manifiesta en varios aspectos, como la apariencia visual general.

- 35 En aplicaciones foliares, el vigor mejorado de la planta se puede caracterizar, entre otras, por las siguientes propiedades mejoradas de la planta: mejor vitalidad de la planta; y/o mejor crecimiento de la planta; y/o mejor desarrollo de la planta; y/o mejor apariencia visual; y/o posición más erguida de la planta (menor pandeo /inclinación y/o mayor borde de la hoja; y/o mayor tamaño de la planta; y/o mayor altura de la planta; y/o mayor cantidad de vástagos; y/o mayor número de brotes laterales; y/o un mayor número de flores por planta y/o un mayor crecimiento de los brotes; y/o una mayor actividad fotosintética (por ejemplo, con base en un aumento de la conductancia estomática y/o un aumento de la tasa de asimilación de CO₂); y/o floración más temprana; y/o aparición más temprana de los frutos; y/o madurez más temprana del grano; y/o menos vástagos no productivos; y/o menos hojas basales muertas; y/o menos insumos necesarios (como fertilizantes o agua); y/o hojas más verdes; y/o maduración completa en periodos de vegetación más cortos; y/o cosechas más fáciles; y/o maduración más rápida y uniforme; y/o mayor vida útil; y/o panículas más largas; y/o retraso de la senescencia; y/o vástagos más fuertes y/o más productivos; y/o mejor capacidad de extracción de los ingredientes; y/o mejor calidad de las semillas (para ser sembradas en las siguientes temporadas para la producción de semillas); y/o producción reducida de etileno y/o la inhibición de su recepción por la planta.

- 40 Otro indicador para el estado de la planta es la "calidad" de una planta y/o sus productos. De acuerdo con la presente invención, calidad mejorada significa que ciertas características de la planta, como el contenido o la composición de ciertos ingredientes, se incrementan o mejoran en una cantidad medible o notable sobre el mismo factor de la planta producida en las mismas condiciones, pero sin la aplicación de las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente. La calidad mejorada se puede caracterizar, entre otras, siguiendo las propiedades mejoradas de la planta o su producto: mayor contenido de nutrientes; y/o mayor contenido de proteínas; y/o mayor contenido de aceite; y/o mayor contenido de almidón; y/o mayor contenido de ácidos grasos; y/o mayor contenido de metabolitos; y/o mayor contenido de carotenoides; y/o mayor contenido de azúcar; y/o mayor cantidad de aminoácidos esenciales; y/o composición mejorada de nutrientes; y/o composición proteica mejorada; y/o composición mejorada de ácidos grasos; y/o composición mejorada de metabolitos; y/o composición mejorada de carotenoides; y/o composición mejorada de

azúcares; y/o composición mejorada de aminoácidos; y/o color mejorado u óptimo del fruto; y/o color mejorado de la hoja; y/o mayor capacidad de almacenamiento; y/o mejor procesabilidad de los productos cosechados.

Otro indicador para el estado de la planta es la tolerancia o resistencia de la planta a factores de estrés bióticos y/o abióticos. El estrés biótico y abiótico, especialmente a largo plazo, puede tener efectos nocivos en las plantas.

- 5 El estrés biótico es causado por organismos vivos, mientras que el estrés abiótico es causado, por ejemplo, por extremos ambientales. De acuerdo con la presente invención, "mayor tolerancia o resistencia a los factores de estrés bióticos y/o abióticos" significa (1) que ciertos factores negativos causados por el estrés biótico y/o abiótico disminuyen en una cantidad medible o notable en comparación con las plantas expuestas a las mismas condiciones, pero sin ser tratadas con las cepas, caldos de cultivo completo, extractos sin células, medios de cultivo, compuestos de fórmula I
- 10 y composiciones de la invención, respectivamente, y (2) que los efectos negativos no disminuyen por una acción directa de las cepas, caldos de cultivo completo, extractos sin células, medios de cultivo, compuestos de fórmula I y composiciones de la invención, respectivamente, sobre los factores de estrés, por ejemplo por su acción fungicida o insecticida que destruye directamente los microorganismos o plagas, sino por una estimulación de las propias reacciones defensivas de las plantas contra dichos factores de estrés.
- 15 Los factores negativos causados por el estrés biótico, tales como patógenos y plagas, son ampliamente conocidos y están causados por organismos vivos, tales como plantas competidoras (por ejemplo, malezas), microorganismos (tales como hongos y/o bacterias fitopatógenas) y/o virus.

Los factores negativos causados por el estrés abiótico también son bien conocidos y, a menudo, se pueden observar como una disminución del vigor de la planta (véase más arriba), por ejemplo:

- 20 menos rendimiento y/o menos vigor, para ambos efectos, los ejemplos pueden ser hojas quemadas, menos flores, maduración prematura, maduración posterior del cultivo, valor nutricional reducido, entre otros.

- El estrés abiótico puede ser causado, por ejemplo, por: temperaturas extremas, como calor o frío (estrés por calor/estrés por frío); y/o fuertes variaciones en la temperatura; y/o temperaturas inusuales para la temporada específica; y/o sequía (estrés por sequía); y/o humedad extrema; y/o alta salinidad (estrés salino); y/o radiación (por ejemplo, mediante un aumento de la radiación UV debido a la disminución de la capa de ozono); y/o aumento de los niveles de ozono (estrés por ozono); y/o contaminación orgánica (por ejemplo, por cantidades fitotóxicas de plaguicidas); y/o contaminación inorgánica (por ejemplo, por contaminantes de metales pesados).
- 25

- Como resultado de los factores de estrés biótico y/o abiótico, la cantidad y la calidad de las plantas estresadas disminuyen. En lo que respecta a la calidad (como se definió anteriormente), el desarrollo reproductivo suele verse gravemente afectado con consecuencias en los cultivos que son importantes para los frutos o semillas. La síntesis, la acumulación y el almacenamiento de proteínas se ven afectados principalmente por la temperatura; el crecimiento se ve frenado por casi todos los tipos de estrés; la síntesis de polisacáridos, tanto estructurales como de almacenamiento, se reduce o modifica: estos efectos resultan en una disminución en la biomasa (rendimiento) y en cambios en el valor nutricional del producto.
- 30

- Como se señaló anteriormente, los indicadores identificados anteriormente para el estado de salud de una planta pueden ser interdependientes y pueden ser resultado uno del otro. Por ejemplo, una mayor resistencia al estrés biótico y/o abiótico puede llevar a un mejor vigor de la planta, por ejemplo a cultivos mejores y más grandes, y por lo tanto a un mayor rendimiento. Por el contrario, un sistema de raíces más desarrollado puede resultar en una mayor resistencia al estrés biótico y/o abiótico. Sin embargo, estas interdependencias e interacciones no se conocen ni se comprenden completamente, por lo que los diferentes indicadores se describen por separado.
- 35
- 40

- En una realización, las cepas, los caldos de cultivo completos, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, producen un aumento del rendimiento de una planta o su producto. En otra realización, las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, efectúan un aumento del vigor de una planta o su producto. En otra realización, las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, producen una mayor calidad de una planta o su producto. En otra realización más, las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, producen una mayor tolerancia y/o resistencia de una planta o su producto contra el estrés biótico. En otra realización más, las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, producen una mayor tolerancia y/o resistencia de una planta o su producto contra el estrés abiótico.
- 45
- 50

- Las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo y los compuestos de fórmula I, respectivamente, se emplean como tales o en forma de composiciones para tratar los hongos o las plantas, los materiales de propagación de plantas, como las semillas, suelo, superficies, materiales o ambientes a proteger del ataque de hongos con una cantidad fungicida efectiva de las sustancias activas. La aplicación puede llevarse a cabo tanto antes como después de la infección de las plantas, materiales de propagación de plantas, tales como semillas, suelo, superficies, materiales o ambientes para los hongos.
- 55

- El término "cantidad efectiva" denota una cantidad que es suficiente para controlar los hongos dañinos en las plantas cultivadas o en la protección de materiales y que no produce un daño sustancial a las plantas tratadas. Dicha cantidad puede variar en un amplio intervalo y depende de varios factores, tales como las especies de hongos a controlar, la planta o material cultivado tratado, las condiciones climáticas y las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo y los compuestos de fórmula I o sus sales, de la invención, respectivamente, utilizados.
- Los materiales de propagación de plantas pueden tratarse con las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, profilácticamente ya sea durante o antes de la siembra o el trasplante.
- Las cepas de la invención se pueden formular como un inoculante para una planta. El término "inoculante" significa una composición que incluye una cepa aislada de la invención y, opcionalmente, un vehículo, que puede incluir un medio biológicamente aceptable.
- Dichos inoculantes y otras composiciones adecuadas pueden prepararse como composiciones que comprenden, además de los ingredientes activos, al menos un auxiliar (ingrediente inerte) por medios habituales (véase, por ejemplo, H.D. Burges: Formulation of Microbial Biopesticides, Springer, 1998).
- Para producir una formulación seca, las células bacterianas, preferiblemente las esporas, pueden suspenderse en un vehículo seco adecuado (por ejemplo, arcilla). Para producir una formulación líquida, las células, preferiblemente las esporas, pueden resuspenderse en un vehículo líquido adecuado (por ejemplo, a base de agua) hasta la densidad de esporas deseada. El número de la densidad de esporas, es decir el número de esporas por mL se puede determinar identificando el número de unidades formadoras de colonias (CFU) en medio de agar, por ejemplo agar con dextrosa de patata después de la incubación durante varios días a temperaturas de aproximadamente 20 a aproximadamente 30 °C.
- De acuerdo con una realización, los componentes individuales de la composición de acuerdo con la invención, tales como partes de un kit o partes de una mezcla binaria o ternaria, pueden ser mezcladas por el propio usuario en un tanque de rociado o en cualquier otro tipo de recipiente utilizado para aplicaciones (por ejemplo, tambores de tratamiento de semillas, maquinaria de granulación de semillas, rociador de mochila) y otros auxiliares pueden agregarse, si corresponde. Cuando los microorganismos vivos, tal como las cepas de *Paenibacillus* de la invención, forman parte de dicho kit, se debe tener cuidado de que la elección y las cantidades de las otras partes del kit (por ejemplo, agentes químicos plaguicidas) y de los auxiliares adicionales no deben influir en la viabilidad de los plaguicidas microbianos en la composición mezclada por el usuario. Especialmente para los bactericidas y disolventes, se debe tener en cuenta la compatibilidad con el pesticida microbiano correspondiente.
- Las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo y/o los compuestos de fórmula I de la invención se pueden convertir en tipos habituales de composiciones agroquímicas, por ejemplo, soluciones, emulsiones, suspensiones, polvos o polvillo, pastas, gránulos, prensados, cápsulas y mezclas de los mismos. Ejemplos de tipos de composición son suspensiones (por ejemplo, SC, OD, FS), concentrados emulsionables (por ejemplo, EC), emulsiones (por ejemplo, EW, EO, ES, ME), cápsulas (por ejemplo, CS, ZC), pastas, pastillas, polvos o polvillo humectables (por ejemplo, WP, SP, WS, DP, DS), prensados (por ejemplo, BR, TB, DT), gránulos (por ejemplo, WG, SG, GR, FG, GG, MG), artículos insecticidas (por ejemplo, LN), así como formulaciones en gel para el tratamiento de materiales de propagación de plantas tales como semillas (por ejemplo, GF). Estos y otros tipos de composiciones se definen en el "Catalogue of pesticide formulation types and international coding system", Monografía Técnica No. 2, 6ta Ed. Mayo 2008, CropLife International.
- Las composiciones se preparan de una manera conocida, tal como se describe en Mollet y Grubemann, Formulation Technology, Wiley VCH, Weinheim, 2001; o Knowles, New developments in crop protection product formulation, Agrow Reports DS243, T&F Informa, Londres, 2005.
- Los auxiliares adecuados son disolventes, vehículos líquidos, vehículos o rellenos sólidos, agentes tensioactivos, dispersantes, emulsionantes, humectantes, adyuvantes, solubilizantes, mejoradores de la penetración, coloides protectores, agentes de adhesión, espesantes, humectantes, repelentes, atrayentes, estimulantes de alimentación, compatibilizadores, bactericidas, agentes anticongelantes, agentes antiespumantes, colorantes, adherentes y aglutinantes.
- Los disolventes y vehículos líquidos adecuados son agua y disolventes orgánicos, tales como fracciones de aceite mineral de punto de ebullición medio a alto, por ejemplo queroseno, aceite diésel; aceites de origen vegetal o animal; hidrocarburos alifáticos, cíclicos y aromáticos, por ejemplo tolueno, parafina, tetrahidronaftaleno, naftalenos alquilados; alcoholes, por ejemplo etanol, propanol, butanol, alcohol bencílico, ciclohexanol; glicoles; DMSO; cetonas, por ejemplo ciclohexanona; ésteres, por ejemplo lactatos, carbonatos, ésteres de ácidos grasos, gamma-butirolactona; ácidos grasos; fosfonatos; aminas, amidas, por ejemplo N-metilpirrolidona, dimetilamidas de ácidos grasos; y mezclas de los mismos.
- Los vehículos sólidos o rellenos adecuados son tierras minerales, por ejemplo silicatos, geles de sílice, talco, caolines, piedra caliza, cal, tiza, arcillas, dolomita, tierra de diatomeas, bentonita, sulfato de calcio, sulfato de magnesio, óxido

de magnesio; polisacáridos, por ejemplo celulosa, almidón; fertilizantes, por ejemplo sulfato de amonio, fosfato de amonio, nitrato de amonio, ureas; productos de origen vegetal, por ejemplo harina de cereal, harina de corteza de árbol, harina de madera, harina de cáscara de nuez y mezclas de los mismos.

5 Los tensioactivos adecuados son compuestos tensioactivos, tales como tensioactivos aniónicos, catiónicos, no iónicos y anfóteros, polímeros de bloque, polielectrolitos y mezclas de los mismos. Dichos tensioactivos se pueden usar como emulsificantes, dispersantes, solubilizantes, humectantes, mejoradores de la penetración, coloides protectores o adyuvantes. Los ejemplos de tensioactivos se enumeran en McCutcheon's, Vol.1: Emulsifiers & Detergents, McCutcheon's, Directories Glen Rock, EE. UU., 2008 (International Ed. o North American Ed.).

10 Los tensioactivos aniónicos adecuados son sales alcalinas, alcalinotérricas o de amonio de sulfonatos, sulfatos, fosfatos, carboxilatos y mezclas de los mismos. Ejemplos de sulfonatos son: alquilarilsulfonatos, difenilsulfonatos, sulfonatos de alfaolefina, sulfonatos de lignina, sulfonatos de ácidos grasos y aceites, sulfonatos de alquilfenoles etoxilados, sulfonatos de arilfenoles alcoxilados sulfonatos de naftalenos condensados sulfonatos de dodecibencenos y tridecibencenos, sulfonatos de naftalenos alquilnaftalenos, sulfosuccinatos o sulfosuccinamatos. Ejemplos de sulfatos son sulfatos de ácidos grasos y aceites, de alquilfenoles etoxilados, de alcoholes, de alcoholes etoxilados o de ésteres de ácidos grasos. Ejemplos de fosfatos son los ésteres de fosfato. Ejemplos de carboxilatos son carboxilatos de alquilo y alcohol carboxilado o etoxilatos de alquilfenol.

15 Los tensioactivos no iónicos adecuados son alcoxilatos, amidas de ácidos grasos sustituidos en N, óxidos de amina, ésteres, tensioactivos a base de azúcar, tensioactivos poliméricos y mezclas de los mismos. Ejemplos de alcoxilatos son compuestos tales como alcoholes, alquilfenoles, aminas, amidas, arilfenoles, ácidos grasos o ésteres de ácidos grasos que han sido alcoxilados con 1 a 50 equivalentes. Se puede emplear óxido de etileno y/u óxido de propileno para la alcoxilación, preferiblemente óxido de etileno. Ejemplos de amidas de ácidos grasos sustituidas en N son glucamidas de ácidos grasos o alcanolamidas de ácidos grasos. Ejemplos de ésteres son ésteres de ácidos grasos, ésteres de glicerol o monoglicéridos. Ejemplos de tensioactivos con base en azúcares son sorbitanos, sorbitanos etoxilados, ésteres de sacarosa y glucosa o alquilpoliglucósidos. Ejemplos de agentes tensioactivos poliméricos son homopolímeros o los copolímeros de vinilpirrolidona, alcoholes vinílicos o acetato de vinilo.

20 Los tensioactivos catiónicos adecuados son tensioactivos cuaternarios, por ejemplo, compuestos de amonio cuaternario con uno o dos grupos hidrófobos, o sales de aminas primarias de cadena larga. Los tensioactivos anfóteros adecuados son alquilbetainas e imidazolininas. Los polímeros en bloque adecuados son polímeros en bloque del tipo A-B o A-B-A que comprenden bloques de óxido de polietileno y óxido de polipropileno, o del tipo A-B-C que comprenden alcohol, óxido de polietileno y óxido de polipropileno. Los polielectrolitos adecuados son poliácidos o polibases. Ejemplos de poliácidos son sales alcalinas de ácido poliacrílico o polímeros poliácidos tipo peine. Ejemplos de polibases son polivinilaminas o polietilenaminas.

25 Los adyuvantes adecuados son compuestos, que tienen en sí mismos una actividad pesticida insignificante o incluso nula, y que mejoran el rendimiento biológico del extracto sin células, medio de cultivo o metabolito en el objetivo. Algunos ejemplos son tensioactivos, aceites minerales o vegetales y otros auxiliares. Otros ejemplos son enumerados por Knowles, Adjuvants and Additives, Agrow Reports DS256, T&F Informa UK, 2006, capítulo 5.

30 Los espesantes adecuados son polisacáridos (por ejemplo, goma de xantano, carboximetilcelulosa), arcillas inorgánicas (orgánicamente modificadas o no modificadas), policarboxilatos y silicatos.

35 Los bactericidas adecuados son derivados de bronopol e isotiazolinona tales como alquilisotiazolinonas y bencisotiazolinonas. Agentes anticongelantes adecuados son etilenglicol, propilenglicol, urea y glicerina. Los agentes antiespumantes adecuados son siliconas, alcoholes de cadena larga y sales de ácidos grasos. Los colorantes adecuados (por ejemplo, rojo, azul o verde) son pigmentos de baja solubilidad en agua y tintes solubles en agua. Los ejemplos son colorantes inorgánicos (por ejemplo, óxido de hierro, óxido de titanio, hexacianoferrato de hierro) y colorantes orgánicos (por ejemplo, colorantes de alizarina, azo y ftalocianina). Los agentes adhesivos o aglutinantes adecuados son polivinil pirrolidonas, acetatos de polivinilo, alcoholes de polivinilo, poliacrilatos, ceras biológicas o sintéticas y ésteres de celulosa.

40 Cuando los microorganismos vivos, tales como las cepas de *Paenibacillus* de la invención en forma de células o esporas, forman parte de las composiciones, tales composiciones pueden prepararse como composiciones que comprenden además de los ingredientes activos al menos un auxiliar (ingrediente inerte) por medios habituales (véase por ejemplo, HD Burges: Formulation of Microbial Biopesticides, Springer, 1998). Los tipos habituales adecuados de tales composiciones son suspensiones, polvos, polvillos, pastas, gránulos, prensados, cápsulas y mezclas de los mismos. Ejemplos de tipos de composición son suspensiones (por ejemplo, SC, OD, FS), cápsulas (por ejemplo, CS, ZC), pastas, pastillas, polvos o polvillos humectables (por ejemplo, WP, SP, WS, DP, DS), prensados (por ejemplo, BR, TB), DT), gránulos (por ejemplo, WG, SG, GR, FG, GG, MG), artículos bactericidas (por ejemplo, LN), así como formulaciones en gel para el tratamiento de materiales de propagación de plantas tales como semillas (por ejemplo, GF). En el presente documento, se debe tener en cuenta que cada tipo de formulación o elección del auxiliar no debe influir en la viabilidad del microorganismo durante el almacenamiento de la composición y cuando se aplica finalmente al suelo, planta o material de propagación de la planta. Las formulaciones adecuadas son por ejemplo mencionadas en los documentos WO 2008/002371, US 6.955.912, US 5.422.107.

Los ejemplos de auxiliares adecuados son los mencionados anteriormente en el presente documento, en los que se debe tener cuidado de que la elección y las cantidades de dichos auxiliares no influyan en la viabilidad de los plaguicidas microbianos en la composición. Especialmente para bactericidas y solventes, se debe tener en cuenta la compatibilidad con el microorganismo respectivo del pesticida microbiano respectivo. Además, las composiciones con plaguicidas microbianos pueden contener además estabilizadores o nutrientes y protectores contra los rayos UV. Los estabilizantes o nutrientes adecuados son por ejemplo Alfatocoferol, trehalosa, glutamato, sorbato de potasio, varios azúcares como la glucosa, sacarosa, lactosa y maltodextrina (H.D. Burges: Formulation of Microbial Biopesticides, Springer, 1998). Los protectores UV adecuados son por ejemplo, compuestos inorgánicos como el dióxido de titanio, óxido de zinc y pigmentos de óxido de hierro o compuestos orgánicos como benzofenonas, benzotriazoles y feniltriazinazinas. Las composiciones pueden además de los auxiliares mencionados para las composiciones que comprenden los compuestos I en el presente documento, opcionalmente, comprender 0,1 a 80% de estabilizantes o nutrientes y 0,1-10% de protectores contra la radiación UV.

Las composiciones agroquímicas generalmente comprenden entre 0,01 y 95%, preferiblemente entre 0,1 y 90%, y en particular entre 0,5 y 75%, en peso de sustancia activa. Las sustancias activas se emplean en una pureza de 90% a 100%, preferiblemente de 95% a 100% (de acuerdo con el espectro de RMN).

Los ejemplos de tipos de composición y su preparación son:

i) Concentrados solubles en agua (SL, LS)

Se disuelven 10-60% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención y 5-15% en peso de agente humectante (por ejemplo, alcoxilatos de alcohol) en agua y/o en un disolvente soluble en agua (por ejemplo, alcoholes) al 100% en peso. El principio activo se disuelve tras la dilución con agua.

ii) Concentrados dispersables (DC)

Se disuelven 5-25% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención y 1-10% en peso de dispersante (por ejemplo, polivinilpirrolidona) en disolvente orgánico (por ejemplo, ciclohexanona) hasta 100% en peso. La dilución con agua produce una dispersión.

iii) Concentrados emulsionables (EC)

Se disuelven 15-70% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención y 5-10% en peso de emulsionantes (por ejemplo, dodecilmecanosulfonato de calcio y etoxilato de aceite de ricino) en un disolvente orgánico insoluble en agua (por ejemplo hidrocarburo aromático) hasta 100% en peso. La dilución con agua produce una emulsión.

iv) Emulsiones (EW, EO, ES)

Se disuelven 5-40% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención y 1-10% en peso de emulsionantes (por ejemplo, dodecilmecanosulfonato de calcio y etoxilato de aceite de ricino) en 20-40% en peso de disolvente orgánico insoluble en agua (por ejemplo, hidrocarburo aromático). Esta mezcla se introduce en agua hasta 100% en peso mediante una máquina emulsionadora y se convierte en una emulsión homogénea. La dilución con agua produce una emulsión.

v) Suspensiones (SC, OD, FS)

En un molino de bolas con agitación, se trituran 20-60% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención con la adición de 2-10% en peso de agentes dispersantes y humectantes (por ejemplo, lignosulfonato de sodio y etoxilato de alcohol), 0,1-2% en peso de espesante (por ejemplo, goma de xantano) y agua hasta 100% en peso para producir una suspensión fina de sustancia activa. La dilución con agua produce una suspensión estable de la sustancia activa. Para la composición de tipo FS se agrega hasta 40% en peso de aglutinante (por ejemplo, alcohol polivinílico).

vi) Gránulos dispersables en agua y gránulos solubles en agua (WG, SG)

Se muelen 50-80% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención finamente con la adición de dispersantes y agentes humectantes (por ejemplo, lignosulfonato de sodio y etoxilato de alcohol) hasta 100% en peso y se preparan como gránulos dispersables en agua o solubles en agua por medio de aparatos técnicos (por ejemplo, extrusión, torre de aspersión, lecho fluidizado). La dilución con agua proporciona una dispersión o solución estable de la sustancia activa.

vii) Polvos dispersables en agua y polvos solubles en agua (WP, SP, WS)

Se muelen 50-80% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención en un molino estator de rotor con la adición de 1-5% en peso de dispersantes (por ejemplo, lignosulfonato de sodio), 1-3% en peso de agentes humectantes (por ejemplo, etoxilato de alcohol) y vehículo sólido (por ejemplo,

gel de sílice) hasta 100% en peso. La dilución con agua proporciona una dispersión o solución estable de la sustancia activa.

viii) Gel (GW, GF)

- 5 En un molino de bolas con agitación, se molieron 5-25% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención con la adición de 3-10% en peso de dispersantes (por ejemplo, lignosulfonato de sodio), 1 -5% en peso de espesante (por ejemplo, carboximetilcelulosa) y agua hasta 100% en peso para producir una suspensión fina de la sustancia activa. La dilución con agua produce una suspensión estable de la sustancia activa.

ix) Microemulsión (ME)

- 10 Se añaden 5-20% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención a 5-30% en peso de una mezcla de disolventes orgánicos (por ejemplo, dimetilamida de ácido graso y ciclohexanona), 10-25% en peso de mezcla de tensioactivo (por ejemplo, etoxilato de alcohol y etoxilato de arilfenol), y agua hasta 100%. Esta mezcla se agita durante 1 h para producir espontáneamente una microemulsión termodinámicamente estable.

15 x) Microcápsulas (CS)

- 20 Se dispersan una fase oleosa que comprende 5-50% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención, 0-40% en peso de disolvente orgánico insoluble en agua (por ejemplo, hidrocarburo aromático), 2-15% en peso de monómeros acrílicos (por ejemplo, metacrilato de metilo, ácido metacrílico y un diacrilato o triacrilato) en una solución acuosa de un coloide protector (por ejemplo, alcohol polivinílico). La polimerización por radicales iniciada por un iniciador de radicales da como resultado la formación de microcápsulas de poli(met acrilato).

- 25 Alternativamente, se dispersan una fase oleosa que comprende 5-50% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención, 0-40% en peso de disolvente orgánico insoluble en agua (por ejemplo, hidrocarburo aromático), y el monómero de isocianato (por ejemplo, difenilmetilen-4,4'-diisocianato) en una solución acuosa de un coloide protector (por ejemplo, alcohol polivinílico). La adición de una poliamina (por ejemplo, hexametilendiamina) da como resultado la formación de microcápsulas de poliurea. Los monómeros ascienden a 1-10% en peso. El % en peso se relaciona con la composición total de CS.

xi) Polvos ajustables (DP, DS)

- 30 Se muelen 1-10% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención finamente y se mezclan íntimamente con un portador sólido (por ejemplo, caolín finamente dividido) hasta 100% en peso.

xii) Gránulos (GR, FG)

- 35 Se muelen 0,5-30% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención finamente y se asocian con un vehículo sólido (por ejemplo, silicato) hasta el 100% en peso. La granulación se logra mediante extrusión, secado por aspersion o lecho fluidizado.

xiii) Líquidos de volumen ultrabajo (UL)

Se disuelven 1-50% en peso de un caldo de cultivo completo, extracto sin células, medio de cultivo o metabolito de la invención en un disolvente orgánico (por ejemplo, hidrocarburo aromático) hasta 100% en peso.

- 40 Los tipos de composiciones i) a xiii) pueden comprender opcionalmente auxiliares adicionales, tales como 0,1-1% en peso de bactericidas, 5-15% en peso de agentes anticongelantes, 0,1-1% en peso de agentes antiespumantes, y 0,1-1 % en peso de colorantes.

- 45 Soluciones para el tratamiento de semillas (LS), suspoemulsiones (SE), concentrados fluidos (FS), polvos para el tratamiento en seco (DS), polvos dispersables en agua para el tratamiento de lodos (WS), polvos solubles en agua (SS), emulsiones (ES), concentrados emulsionables (EC) y geles (GF) se emplean generalmente para los fines del tratamiento de materiales de propagación de plantas, particularmente semillas.

Los ejemplos preferidos de tipos de formulación de tratamiento de semillas o aplicación en el suelo para composiciones de premezcla son de tipo WS, LS, ES, FS, WG o CS.

- 50 Típicamente, una formulación de premezcla para la aplicación de tratamiento de semillas comprende 0,5 a 99,9 por ciento, especialmente 1 a 95 por ciento, de los ingredientes deseados, y 99,5 a 0,1 por ciento, especialmente 99 a 5 por ciento, de un adyuvante sólido o líquido (incluyendo, por ejemplo, un disolvente tal como agua), donde los auxiliares pueden ser un tensioactivo en una cantidad de 0 a 50 por ciento, especialmente 0,5 a 40 por ciento, con base en la formulación de premezcla. Mientras que los productos comerciales se formularán preferiblemente como concentrados

(por ejemplo, composición de premezcla (formulación)), el usuario final normalmente empleará formulaciones diluidas (por ejemplo, composición de mezcla de tanque).

5 Los métodos de tratamiento de semillas para aplicar o tratar las cepas, caldos de cultivo completo, extractos sin células, medios de cultivo, compuestos de fórmula I y composiciones de la invención, respectivamente, a material de propagación de plantas, especialmente semillas, son conocidos en la técnica, e incluyen los métodos de aplicación como apósito, recubrimiento, recubrimiento de película, granulado y remojo del material de propagación. Tales métodos también son aplicables a las combinaciones de acuerdo con la invención. En una realización preferida, las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, se aplican o tratan sobre el material de propagación de la planta mediante un método de tal manera que la germinación no se impacte negativamente. Por consiguiente, ejemplos de métodos adecuados para aplicar (o tratar) un material de propagación de plantas, tal como una semilla, es un apósito de semillas, recubrimiento de semillas o granulado de semillas y similares.

Se prefiere que el material de propagación de la planta sea una semilla, una pieza de semilla (es decir, un tallo) o un bulbo de semilla.

15 Aunque se cree que el presente método se puede aplicar a una semilla en cualquier estado fisiológico, se prefiere que la semilla esté en un estado lo suficientemente duradero como para que no sufra daños durante el proceso de tratamiento. Típicamente, la semilla sería una semilla que había sido cosechada del campo; retirada de la planta; y separada de cualquier mazorca, tallo, cáscara exterior y pulpa circundante u otro material vegetal que no sea semilla. Preferiblemente, la semilla también sería biológicamente estable en la medida en que el tratamiento no cause daño biológico a la semilla. Se cree que el tratamiento se puede aplicar a la semilla en cualquier momento entre la cosecha de la semilla y la siembra de la semilla o durante el proceso de siembra (aplicaciones dirigidas a la semilla). La semilla también puede imprimirse antes o después del tratamiento.

25 La distribución uniforme de los ingredientes en las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, y su adherencia a las semillas se desea durante el tratamiento del material de propagación. El tratamiento puede variar desde una película delgada (apósito) de la formulación que contiene la combinación, por ejemplo, una mezcla de ingrediente o ingredientes activos, sobre un material de propagación de plantas, tal como una semilla, donde el tamaño y/o la forma original son reconocibles hasta un estado intermedio (tal como un recubrimiento) y luego hasta una película más gruesa (tal como la granulación con muchas capas de diferentes materiales) (tal como los portadores, por ejemplo, arcillas; diferentes formulaciones, tales como la de otros ingredientes activos; polímeros y colorantes) donde la forma y/o tamaño original de la semilla ya no es reconocible.

30 Un aspecto de la presente invención incluye la aplicación de las cepas, caldos de cultivo completos, extractos sin células, medios de cultivo, compuestos de fórmula I y composiciones de la invención, respectivamente, sobre el material de propagación de plantas de manera específica, incluyendo el posicionamiento de los ingredientes en la combinación sobre todo el material de propagación de la planta o solo en partes de la misma, incluso en un solo lado o una porción de un solo lado. Un experto en la materia entenderá estos métodos de aplicación a partir de la descripción proporcionada en los documentos EP954213B1 y WO06/112700.

35 Las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, también pueden usarse en forma de una "píldora" o "gránulo" o un sustrato adecuado y colocar, o sembrar, la píldora o sustrato tratado, junto a un material de propagación de la planta. Tales técnicas son conocidas en el arte, particularmente en los documentos EP1124414, WO07/67042 y WO 07/67044. La aplicación de las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones, respectivamente, que se describen en este documento sobre el material de propagación de plantas también incluye la protección del material de propagación de plantas tratado con la combinación de la presente invención colocando una o más partículas que contienen plaguicidas junto a una semilla tratada con plaguicidas, en donde la cantidad de plaguicida es tal que la semilla tratada con plaguicidas y las partículas que contienen plaguicidas juntas contienen una dosis efectiva del plaguicida y la dosis de plaguicida contenida en el plaguicida la semilla tratada es menor o igual a la dosis máxima no fitotóxica del plaguicida. Tales técnicas son conocidas en el arte, particularmente en el documento WO2005/120226.

40 La aplicación de las cepas, los caldos de cultivo completos, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, sobre la semilla también incluye recubrimientos de liberación controlada sobre las semillas, en donde los ingredientes de las combinaciones se incorporan en materiales que liberan los ingredientes a lo largo del tiempo. Los ejemplos de tecnologías de tratamiento de semillas de liberación controlada son generalmente conocidos en la técnica e incluyen películas de polímeros, ceras u otros recubrimientos de semillas, en donde los ingredientes pueden incorporarse en el material de liberación controlada o aplicarse entre capas de materiales, o ambos.

55 La semilla se puede tratar aplicando a las mismas las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I y las composiciones de la invención, respectivamente, en cualquier secuencia deseada o simultáneamente.

El tratamiento de la semilla se produce en una semilla no cultivada, y el término "semilla no cultivada" incluye la semilla en cualquier período entre la cosecha de la semilla y la siembra de la semilla en el suelo con el propósito de germinación y crecimiento de la planta.

5 El tratamiento para una semilla no cultivada no pretende incluir aquellas prácticas en las que el ingrediente activo se aplica al suelo, sino que incluiría cualquier práctica de aplicación que se dirija a la semilla durante el proceso de siembra.

10 Preferiblemente, el tratamiento ocurre antes de sembrar la semilla, de manera que la semilla sembrada ha sido pretratada con las cepas, caldos de cultivo completos, extractos sin células, medios de cultivo, compuestos de fórmula I y composiciones de la invención, respectivamente. En particular, se prefieren el revestimiento de semillas o la granulación de semillas. Como resultado del tratamiento, los ingredientes se adhieren a la semilla y, por lo tanto, están disponibles para el control de plagas.

Las semillas tratadas se pueden almacenar, manipular, sembrar y cultivar de la misma manera que cualquier otra semilla tratada con ingrediente activo.

15 En particular, la presente invención se refiere a un método para la protección del material de propagación de plantas contra las plagas y/o la mejora de la salud de las plantas cultivadas a partir de dicho material de propagación de plantas, en donde el suelo, donde se siembra el material de propagación de plantas, se trata con una cantidad efectiva de una cepa, extracto sin células, medio de cultivo, metabolito o composición de la invención, respectivamente.

20 En particular, la presente invención se refiere a un método para la protección del material de propagación de plantas de las plagas, en donde el suelo, en el que se siembra el material de propagación de plantas, se trata con una cantidad efectiva de una cepa, extracto sin células, medio de cultivo, metabolito o composición de la invención, respectivamente.

En particular, la presente invención se refiere a un método para la protección del material de propagación de plantas de hongos dañinos, en donde el suelo, en el que se siembra el material de propagación de plantas, se trata con una cantidad efectiva de una cepa, extracto sin células, medio de cultivo, metabolito o composición de la invención, respectivamente.

25 En particular, la presente invención se refiere a un método para la protección del material de propagación de plantas contra las plagas de animales (insectos, ácaros o nematodos), en donde el suelo, en donde se siembra el material de propagación de plantas, se trata con una cantidad efectiva de una cepa, extracto sin células, medio de cultivo, metabolito o composición de la invención, respectivamente.

30 El usuario aplica las composiciones de la invención normalmente a partir de un dispositivo de predosificación, un aspersor de mochila, un tanque de aspersión, un plano de aspersión o un sistema de irrigación. Normalmente, la composición agroquímica se compone de agua, regulador y/o auxiliares adicionales para la concentración de la aplicación deseada y se obtiene así el licor de aspersión listo para usar o la composición agroquímica de acuerdo con la invención. Por lo general, se aplican de 20 a 2000 litros, preferiblemente de 50 a 400 litros, del licor de aspersión listo para usar por hectárea de área agrícola útil.

35 Cuando se trata del tratamiento del material de propagación de la planta, especialmente de las semillas, las composiciones descritas en este documento proporcionan, después de una dilución de dos a diez veces, concentraciones de componentes activos de 0,01 a 60% en peso, preferiblemente de 0,1 a 40%, en las preparaciones listos para ser usadas. La aplicación se puede realizar antes o durante la siembra. Los métodos para aplicar una cepa, un extracto sin células, un medio de cultivo, un metabolito o una composición de la invención, respectivamente, sobre el material de propagación de plantas, especialmente las semillas, incluyen los métodos de apósito, recubrimiento, granulación, espolvoreo, empapado y aplicación en el interior del material de propagación. Preferiblemente, las cepas, los caldos de cultivo completo, los extractos sin células, los medios de cultivo, los compuestos de fórmula I o las composiciones de la invención, respectivamente, se aplican sobre el material de propagación de la planta por un método tal que no se induce la germinación, por ejemplo, por apósito, granulación, recubrimiento y espolvoreo de las semillas.

45 Cuando las cepas de la invención se emplean en la protección de cultivos, en donde las cepas se aplican como tratamiento foliar o al suelo, las tasas de aplicación generalmente varían de aproximadamente 1×10^6 a 5×10^{15} (o más) CFU/ha, preferiblemente de aproximadamente 1×10^7 a aproximadamente 1×10^{13} CFU/ha, incluso más preferible mente de 1×10^9 a 5×10^{12} CFU/ha.

50 Cuando las cepas de la invención se emplean en el tratamiento de semillas, las tasas de aplicación con respecto al material de propagación de plantas generalmente varían de aproximadamente 1×10^1 a 1×10^{12} (o más) CFU/semilla, preferiblemente de aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{10} CFU/semilla, e incluso más preferiblemente de aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^6 CFU/semilla. Alternativamente, las tasas de aplicación con respecto al material de propagación de plantas varían preferiblemente de aproximadamente 1×10^7 a 1×10^{16} (o más) CFU por 100 kg de semilla, preferiblemente de 1×10^9 a aproximadamente 1×10^{15} CFU por 100 kg de semilla, incluso más preferiblemente de 1×10^{11} a aproximadamente 1×10^{15} CFU por 100 kg de semilla.

5 Cuando se emplean extractos sin células, medios de cultivo y/o compuestos de fórmula I, el material sólido (materia seca) se consideran como componentes activos, por ejemplo, para obtener después del secado o evaporación del medio de extracción o del medio de suspensión en el caso de formulaciones líquidas. Cuando se emplean en la protección de plantas, las cantidades de componentes activos aplicados son, dependiendo del tipo de efecto deseado, de 0,001 a 2 kg por ha, preferiblemente de 0,005 a 2 kg por ha, más preferiblemente de 0,05 a 0,9 kg por ha, y en particular de 0,1 a 0,75 kg por ha. En el tratamiento de materiales de propagación de plantas tales como semillas, por ejemplo mediante espolvoreo, recubrimiento o empapando semillas, cantidades de componentes activos de 0,1 a 1000 g, preferiblemente de 1 a 1000 g, más preferiblemente de 1 a 100 g y lo más preferiblemente de 5 a 100 g, por 100 kilogramos de material de propagación de plantas (preferiblemente semillas) son generalmente requeridos. Cuando se utiliza en la protección de materiales o productos almacenados, la cantidad de componentes activos aplicados depende del tipo de área de aplicación y del efecto deseado. Las cantidades que se aplican habitualmente en la protección de materiales son de 0,001 g a 2 kg, preferiblemente de 0,005 g a 1 kg, de componentes activos por metro cúbico de material tratado.

15 De acuerdo con una realización, los componentes individuales de la composición de la invención, tales como partes de un kit o partes de una mezcla binaria o ternaria, pueden ser mezclados por el propio usuario en un tanque de aspersión o cualquier otro tipo de recipiente utilizado para aplicaciones (por ejemplo, tambores de tratamiento de semillas, maquinaria de granulación de semillas, aspersor de mochila) y otros auxiliares pueden agregarse, si es apropiado.

20 Si los microorganismos vivos, como las cepas de la invención, forman parte de dicho kit, se debe tener cuidado de que la elección y las cantidades de los componentes (por ejemplo, agentes químicos plaguicidas) y de los auxiliares adicionales no deben influir en la viabilidad de los microorganismos en la composición mezclada por el usuario. Especialmente para bactericidas y disolventes, se debe tener en cuenta la compatibilidad con los microorganismos respectivos.

25 Varios tipos de aceites, humectantes, adyuvantes, fertilizantes o micronutrientes, y otros plaguicidas (por ejemplo, herbicidas, insecticidas, fungicidas, reguladores del crecimiento, protectores, bioplaguicidas) se pueden agregar a las cepas, extractos sin células, medios de cultivo, metabolitos, compuestos de fórmula I y composición de la invención, respectivamente como premezcla o, si corresponde, no hasta inmediatamente antes de su uso (mezcla en tanque). Estos agentes pueden mezclarse con las composiciones de acuerdo con la invención en una relación en peso de 1:100 a 100:1, preferiblemente de 1:10 a 10:1. Preferiblemente, una composición de la invención comprende un bioplaguicida adicional. Incluso más preferiblemente, una composición de la invención comprende además de un auxiliar y al menos un compuesto de fórmula I, un plaguicida microbiano.

35 Un plaguicida es generalmente un agente químico o biológico (como un virus, bacteria, antimicrobiano o desinfectante) que a través de su efecto disuade, incapacita, mata o desalienta a las plagas. Las plagas objetivo pueden incluir insectos, patógenos de plantas, malezas, moluscos, aves, mamíferos, peces, nematodos (gusanos redondos) y microbios que destruyen propiedades, causan molestias, propagan enfermedades o son vectores de enfermedades. El término plaguicidas incluye también reguladores del crecimiento de las plantas que alteran el crecimiento, floración o tasa de reproducción esperada de las plantas; los defoliantes que causan que las hojas u otro follaje caigan de una planta, generalmente para facilitar la cosecha; los desecantes que promueven el secado de los tejidos vivos, como las plantas no deseadas; activadores de plantas que activan la fisiología de las plantas para la defensa contra ciertas plagas; protectores que reducen la acción herbicida no deseada de los plaguicidas en las plantas de cultivo; y promotores del crecimiento de las plantas que afectan la fisiología de las plantas para aumentar el crecimiento de las plantas, la biomasa, el rendimiento o cualquier otro parámetro de calidad de los productos cosechables de una planta de cultivo.

Ejemplos

45 La presente invención se describirá con mayor detalle por medio de los siguientes ejemplos. Los siguientes ejemplos tienen fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la invención.

Ejemplo 1: Aislamiento de nuevas cepas bacterianas de la invención.

50 Se recogieron muestras de suelo de una variedad de lugares europeos, incluida Alemania. Al aplicar procedimientos de aislamiento microbiano comúnmente conocidos a estos suelos, los inventores obtuvieron una variedad de bacterias que se sometieron adicionalmente a técnicas de aislamiento convencionales para proporcionar aislados puros como se describe en el presente documento.

Se siguió la técnica estándar de enriquecimiento microbiano (CA Reddy, TJ Beveridge, JA Breznak, GA Marzluf, TM Schmidt y LR Snyder (editores). *Methods for General and Molecular Microbiology*, Am. Soc. Microbiol., Washington, Distrito de Columbia) para aislar cada tipo de bacteria.

55 Las siguientes cepas se han aislado y depositado en virtud del Tratado de Budapest con el Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) el 20 de febrero de 2013:

a) Lu16774 depositada en DSMZ bajo el número de depósito DSM 26969

b) Lu17007 depositada en DSMZ bajo el número de depósito DSM 26970

c) Lu17015 depositada en DSMZ bajo el número de depósito DSM 26971.

Ejemplo 2: Caracterización de nuevas cepas bacterianas.

Ejemplo 2.1: Secuenciación de ADNr 16S

5 Las secuencias del gen ARNr 16S de las cepas de *Paenibacillus* se determinaron mediante secuenciación directa de ADNr 16S amplificado por PCR en el DSMZ, Braunschweig, Alemania.

10 La extracción de ADN genómico se llevó a cabo utilizando el kit de purificación de ADN Gram Positivo MasterPure^{MR} de Epicenter Biotechnologies de acuerdo con las instrucciones del fabricante. La amplificación mediada por PCR del ADNr 16S y la purificación del producto de PCR se llevaron a cabo como se describió anteriormente (Int. J. Syst. Bacteriol. 46, 1088-1092, 1996). Los productos de PCR purificados se secuenciaron utilizando el kit de secuenciación de ciclos Terminator v1.1 BigDye® (Applied Biosystems) como se indica en el protocolo del fabricante. Las reacciones de secuenciación se sometieron a electroforesis utilizando el analizador genético 3500xL de Applied Biosystems. Las ambigüedades de la secuencia pueden deberse a la existencia de varios cistrones que codifican los ARNr 16S con diferentes secuencias dentro de un solo genoma (J. Bacteriol. 178 (19), 5636-5643, 1996).

15 Los datos de secuencia resultantes de las cepas se colocaron en el editor de alineación AE2 (<http://iubio.bio.indiana.edu/soft/molbio/unix/ae2.readme>), alineadas manualmente de acuerdo con la estructura secundaria de la molécula de ARNr resultante y se compararon con las secuencias génicas de ARNr 16S representativas de organismos pertenecientes a los *Firmicutes* (Nucl. Acids Res. 27, 171-173, 1999). Para comparación, se obtuvieron secuencias de ARNr 16S a partir de las bases de datos EMBL y RDP.

20 Las secuencias de ADNr 16S de las cepas de la invención se exponen en el listado de secuencias como se indica en la Tabla 2.

Tabla 2: Referencias del listado de secuencias del ADNr 16S de las cepas de *Paenibacillus*.

Cepa	SEQ ID NO
Lu16774	1
Lu17007	2
Lu17015	3

25 Los valores de identidad del gen de ADNr 16S en % se calcularon mediante la comparación por pares de las secuencias dentro de la alineación de las secuencias comparadas.

30 La comparación realizada de solo dos secuencias basadas en la alineación de secuencias por pares se denota en el presente documento como valores binarios. Los otros valores se basan en una alineación de secuencias múltiples de todas las secuencias dentro de la comparación. Los valores de identidad más altos de comparaciones de secuencias múltiples resultan del problema de que los datos de secuencia de las secuencias comparadas tenían una longitud diferente, lo que resultó en una alineación más corta.

El % de identidad a partir de comparaciones por pares de las secuencias de ADNr completas entre las tres nuevas cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 estaba entre 99,5 y 99,9% (Tabla 3, valores binarios).

Tabla 3: Identidad en % de las secuencias de ARNr 16S completas de las tres nuevas *Paenibacillus* (valores binarios entre paréntesis).

	Identidad de la Secuencia de ARNr 16S completa de las nuevas cepas de <i>Paenibacillus</i> (%)		
Cepas	Lu16774	Lu17015	Lu17007
Lu16774	-		
Lu17015	99,7 (99,5)	-	
Lu17007	99,9 (99,8)	99,8 (99,5)	-

35

La comparación de la secuencia de ARNr 16S completa de las tres cepas nuevas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 con taxones relacionados (véase la Fig. 9) reveló un alto porcentaje de identidad con *Paenibacillus peoriae* (cepa tipo DSM 8320) con 99,8%. Los valores binarios para alineaciones secuencia por d pares de *P. peoriae* con las nuevas cepas fueron las siguientes: Lu16774: 99,5%, Lu17007: 99,5%; y Lu17015: 99,7% de identidad, respectivamente.

- 5 Una evaluación final de las especies a las cuales pertenecen las nuevas cepas Lu16774, Lu17015 y Lu17007 de *Paenibacillus* se basó en los datos de secuencia de ARNr 16S no posibles.

La secuenciación del ADN completo resultó para NRRL BD-62 de *Paenibacillus peoriae* en 100,0% de identidad con *P. peoriae* (cepa tipo DSM 8320) confirmando la designación de la especie *P. peoriae* para esta cepa BD-62 (véase Fig. 9).

- 10 La estrecha relación de las tres nuevas cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 de *Paenibacillus* con *P. peoriae* se confirmó mediante la comparación con la secuencia de ARNr 16S con la cepa BD-62 de *P. peoriae* que resultó en valores de identidad del 99,8% (véase la Fig. 9).

- 15 Para la construcción de las operaciones filogenéticas del dendrograma del paquete ARB (Nucl. Acids Res. 35, 7188-7196, 2007) se utilizaron: con base en los valores de distancia evolutiva, se construyó el árbol filogenético mediante el método de unión de vecinos (Jukes, TH y Cantor CR (1969). Evolution of protein molecules. In Mammalian protein metabolism, páginas 21 a 132. Editado por HN Munro. Nueva York: Academic Press) mediante la corrección de Jukes y Cantor (Mol. Biol. Evol. 4, 406-425, 1987). La raíz del árbol se determinó mediante la inclusión de la secuencia del gen de ARNr 16S de *Cohnella thermotolerans* en el análisis. La barra de escala debajo del dendrograma indica una sustitución de nucleótidos por cada 100 nucleótidos. Los resultados se presentan en la Figura 10.

- 20 El dendrograma filogenético de estas secuencias (Fig. 10) muestra que las tres nuevas cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 están más estrechamente relacionadas entre sí y que su pariente más cercano conocido para cada una de ellas es la cepa NRRL BD-62 de *Paenibacillus peoriae*.

Ejemplo 2.2: Análisis RiboPrint

- 25 La ribotipificación estandarizada y automatizada se realiza utilizando el sistema QualiconRiboPrinter. El sistema RiboPrinter combina etapas de procesamiento molecular para ribotipificación en un instrumento autónomo y automatizado. El procedimiento incluye lisis celular, digestión de ADN cromosómico con la enzima de restricción EcoRI, separación de fragmentos por electroforesis, transferencia de fragmentos de ADN a una membrana de nailon, hibridación con una sonda generada a partir del operón *rrnB* de *E. coli*, detección quimioluminiscente de la sonda con los fragmentos que contienen las secuencias del operón *rrn*, la detección de imágenes y el análisis computarizado de los patrones de RiboPrint (Food Technology 50 (1), 77-81, 1996; Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 5229-5233, 1995; Int. Journ. Syst. Bact. 44 (3), 454-460, 1994).

- 35 La técnica de ribotipificación ha sido realizada por el DSMZ, Alemania, con las nuevas cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 de *Paenibacillus* en comparación con la cepa BD-62 de *P. peoriae* usando la enzima de restricción EcoRI. Los patrones resultantes se han comparado utilizando el software del sistema RiboPrinter, la biblioteca de identificación integrada de DuPont y el software BioNumerics (Applied Maths, Bélgica).

La similitud de las tres nuevas cepas con BD-62 estaba entre 0,24 y 0,5 (Fig. 11). Las tres nuevas cepas se agrupan en dos grupos, comprendiendo la primero Lu17015, mientras que el segundo grupo comprende las cepas Lu16774 y Lu17007. Ninguna de las nuevas cepas tiene una similitud superior a 0,84 con cualquier cepa dentro de la Biblioteca de Identificación de DuPont y, por lo tanto, no se identificó automáticamente.

- 40 La cepa BD-62 se ha identificado como *Paenibacillus peoriae* con base en la entrada DUP-13142 de la biblioteca de identificación DuPont (entrada basada en DSM 8320 de *Paenibacillus peoriae*).

Ejemplo 2.3: Caracterización morfológica y fisiológica.

- 45 Las cepas se caracterizaron en el DSMZ en analogía con los métodos descritos en Gordon, R.E., Haynes, W.C. & Pang. C.H.-N. (1973): The Genus Bacillus, Agriculture Handbook no. 427. Washington DC: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Los resultados se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4: Datos de caracterización de las cepas de *Paenibacillus* de la invención y comparación con la cepa conocida NRRL BD-62 de *Paenibacillus peoriae*.

	Cepas de <i>Paenibacillus</i>			
Identificación	Lu16774	Lu17007	Lu17015	BD-62
Características				

ES 2 732 578 T3

Forma de la célula	forma de varilla	forma de varilla	forma de varilla	forma de varilla
ancho [µm]	0,9-1,0	0,9-1,0	0,9-1,0	0,9-1,0
longitud [µm]	3->5,0	3-5,0	3-5,0	2,5-5,0
Esporas elipsoidales	+	+	+	+
Esporangio hinchado	+	+	+	+
Catalasa	+	+	+	+
Oxidasa	-	-	-	-
Crecimiento anaeróbico	+	+	+	+
Reacción VP	+	+	+	+
pH en el medio VP	5,2	5,7	4,8	5,2
Temperatura máxima				
Crecimiento positivo a °C	40	40	40	40
Crecimiento negativo a °C	50	50	50	50
Crecimiento en:				
Medio pH 5,7	+	+	+	+
NaCl al 2%	+	+	+	+
NaCl al 5%	-	-	-	-
NaCl al 7%	-	-	-	-
Formación de ácido a partir de:				
D-Glucosa	+	+	+	+
L-Arabinosa	+	+	+	+
D-Xilosa	+	+	+	+
D-Manitol	+	+	+	+
D-Fructosa	+	+	+	+
Rafinosa	+	+	+	+
Trehalosa	+	+	+	-
Glicerol	+	+	+	+
Gas a partir de glucosa	+	+	+	+
Hidrolisis de				
almidón	+	+	+	+
gelatina	+	+	+	+
caseína	+	+	+	?
Tween 80	-	-	-	-

esculina	+	+	+	+
citrato	n.g.*	n.g.	n.g.	n.g.
propionato	n.g.	n.g.	n.g.	n.g.
NO ₃ a NO ₂	+	+	+	+
Reacción de indol	-	-	-	-
Lecitinasa	+	+	+	-
Fenilalanina desaminasa	-	-	-	-
Arginina dihidrolasa	-	-	-	-
Lisozima	+	+	+	+
* n.g. = sin crecimiento.				

El análisis de los ácidos grasos celulares realizados en el DSMZ dio como resultado que todas las cepas mostraron un perfil típico para *Paenibacillus* spp.

5 Utilizando los datos genéticos, fisiológicos y bioquímicos disponibles, se muestra que las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 pertenecen al género *Paenibacillus*. Como las cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015, así como la IBD-62 producen gas a partir de glucosa, ninguna de ellas pertenece a *Paenibacillus jamilae*.

10 Una diferenciación fenotípica entre *Paenibacillus peoriae* y *Paenibacillus polymyxa* es posible principalmente utilizando las características de la producción de ácido de ciertos sustratos (Int. J. Syst. Bacteriol. 43 (2), 388-390, 1993; In. J. Syst. Bacteriol. 46 (6), 988-1003, 1996). Ninguna de las nuevas cepas coincidió completamente con estas características descritas en la Tabla 4 completamente con ninguna de estas dos especies, pero en resumen, los datos genéticos, fisiológicos y bioquímicos disponibles probablemente apuntan a la especie *Paenibacillus peoriae* y *P. polymyxa* o, al menos, a otra especie muy relacionada con *Paenibacillus peoriae* y *P. polymyxa*.

15 Debido a la multitud de especies de *Paenibacillus* descritas hasta ahora, es imposible determinar la especie taxonómica correcta de los tres aislamientos analizados en función de los criterios fisiológicos y morfológicos de la Tabla 4 (Rainer Borriss, Humboldt University, Berlín, resultados no publicados).

Sin embargo, no fue posible determinar completamente las especies dentro de este género. Se encontró que la especie y la cepa más estrechamente relacionadas era BD-62 de *Paenibacillus peoriae* con base en el análisis ADNr 16S (véase, por ejemplo, la Fig. 11).

Ejemplo 2.4: Análisis filogenético con base en los genes que codifican para DnaN, GyrB, RecF, RecN y RpoA

20 Las secuencias de nucleótidos de los genes que codifican para DnaN, GyrB, RecF, RecN y RpoA se han extraído de secuencias completas del genoma o de bases de datos públicas (listados de secuencias como se describe en la Tabla 28).

25 Las tablas de identidad (Figs. 12 a 16) se han generado con un enfoque de todos contra todos donde cada secuencia se alinea con cada una de las otras secuencias. La alineación de la secuencia se realizó con un programa Needle (paquete EMBOSS 6.6.0; Trends in Genetics 16 (6), 276-277). Donde fueron usados parámetros estándar (creación de hueco 10,0; extensión de hueco 0,5). Las puntuaciones de identidad se calculan sobre la base de las alineaciones sin tener en cuenta ningún hueco.

30 Para los árboles filogenéticos (Figs. 17 a 21), se han realizado múltiples alineaciones de secuencias que con Clustal Omega (versión 1.2.0; Molecular Systems Biology 7: 539, doi: 10.1038/msb.2011.75). Los árboles filogenéticos se calculan por el método de probabilidad máxima con el software Dnaml (implementado en el paquete Phylip 3.696; Felsenstein 1981, <http://evolution.genetics.washington.edu/phylip.html>). Los dendrogramas se han establecido utilizando un modelo de distancia F84 mientras se aplica una relación de transición a transversión de dos (2). Los árboles se grafican con la herramienta Dendroscope (<http://dendroscope.org/>).

Tabla 28: Referencias del listado de secuencias de las secuencias de ADN de *dnaN*, *gyrB*, *recF*, *recN* y *rpoA* de la cepa de *Paenibacillus*.

Cepa	Gen	SEQ ID NO
Lu16774	<i>dnaN</i>	4
Lu17007	<i>dnaN</i>	5
Lu17015	<i>dnaN</i>	6
Lu16774	<i>gyrB</i>	7
Lu17007	<i>gyrB</i>	8
Lu17015	<i>gyrB</i>	9
Lu16774	<i>recF</i>	10
Lu17007	<i>recF</i>	11
Lu17015	<i>recF</i>	12
Lu16774	<i>recN</i>	13
Lu17007	<i>recN</i>	14
Lu17015	<i>recN</i>	15
Lu16774	<i>rpoA</i>	16
Lu17007	<i>rpoA</i>	17
Lu17015	<i>rpoA</i>	18

Ejemplo 2.5: comparaciones del genoma central y matriz AAI

5 Las comparaciones de genomas se han realizado utilizando el paquete de software EDGAR de la universidad Gießen (BMC Bioinformatics 10, 154, 2009; (<https://edgar.computational.bio.uni-giessen.de/cgi-bin/edgar.cgi>)). La determinación del genoma central, los dendrogramas filogenéticos con base en las secuencias del genoma completo y los valores de la matriz AAI se realizaron utilizando el paquete de software EDGAR. Los resultados se muestran en la Fig. 22.

10 Ejemplo 3: Crecimiento (fermentabilidad) de cepas para ensayos *in vivo*

En los ensayos de invernadero y de campo, las cepas de *Paenibacillus* se cultivaron primero en placas ISP2 (agar listo para usar BD [EE. UU.], Número de catálogo 277010). Posteriormente, se inocularon matraces de agitación encamisados que contenían medio líquido ISP2 con una colonia de la placa de agar y se incubaron durante 5-7 días a 150 rpm y 25 °C. Dependiendo de la prueba, se aplicó a las plantas el caldo de cultivo completo o el sedimento celular centrifugado y lavado con H₂O, o el sobrenadante. Fue posible escalar los fermentadores a 10 litros.

15 Se cultivaron cepas de *Paenibacillus* en medio líquido ISP2 (10 g/L de extracto de malta, 4 g/L de extracto de levadura Bacto, 4 g/L de glucosa monohidrato) durante 6 días a 22 °C a 150 rpm. OD_{600 nm} indicando el crecimiento bacteriano se midió en diferentes puntos de tiempo.

Tabla 5: Crecimiento bacteriano de cepas de *Paenibacillus* en medio líquido ISP2.

Cepa de <i>Paenibacillus</i>	OD a 600 nm		
	0 d	3 d	6 d
Lu17007	0,011	3,110	3,050
BD-62	0,013	0,442	0,446

Ejemplo 4: Ensayo de confrontación *in vitro* para actividad antifúngica

La actividad antagonista de las cepas de *Paenibacillus* contra patógenos de plantas se mostró en el ensayo de confrontación *in vitro*. Los hongos fitopatógenos utilizados son: *Sclerotinia sclerotiorum* (SCLSCL), *Botrytis cinerea* (BOTRCI), *Alternaria* sp. (ALTESP) y *Phytophthora infestans* (PHYTIN).

- 5 Como medio de crecimiento para BOTRCI, ALTESP, SCLSCL, se usa el medio ISP2 que comprende por litro: 10 g de extracto de malta (Sigma Aldrich, 70167); 4 g de extracto de levadura Bacto (Becton Dickinson, 212750); 4 g de glucosa monohidrato (Sigma Aldrich, 16301); 20 g de agar (Becton Dickinson, 214510), pH de aproximadamente 7, agua bidestilada. Como medio de crecimiento para PHYTIN, se usa medio V8 que comprende por litro: 200 mL de jugo vegetal, 3 g de carbonato de calcio (Merck Millipore, 1020660250); 30 g de agar (Becton Dickinson, 214510), pH 6,8, agua bidestilada.

Las cepas de *Paenibacillus* se inocularon puntualmente en un lado de una placa de agar. Se colocó un bloque de agar (aproximadamente 0,3 cm²) que contiene un patógeno de las plantas en crecimiento activo en el centro de la placa. Después de incubar durante 7-14 días a 25 °C, se examinó el crecimiento del patógeno de la planta, especialmente para las zonas de inhibición.

- 15 Posteriormente, las placas de agar se incuban a °C durante aproximadamente 7-14 días antes de la evaluación. La antibiosis se califica mediante la evaluación del diámetro de la zona libre de hongos (zona de inhibición). La competencia se puntúa comparando el diámetro del crecimiento del patógeno fúngico en placas con cepas bacterianas en comparación con las placas de control. El micoparasitismo se puede documentar en caso de que la bacteria supere el crecimiento del patógeno fúngico y también parasite los patógenos. Esto se puede visualizar por microscopía.
- 20 Las nuevas cepas de *Paenibacillus* mostraron actividad antifúngica contra todos los patógenos de plantas probadas.

Tabla 6: Resultados del ensayo de confrontación *in vitro*.

Cepa de <i>Paenibacillus</i>	Diámetro de la zona de inhibición [mm]			
	PHYTIN	BOTRCI	ALTESP	SCLSCL
Lu16774	8	2	2	2
Lu17007	8	8	5	2
Lu17015	8	5	5	2
BD-62	2	5	0	0

Ejemplo 5: Pruebas de invernadero para determinar la actividad contra hongos patógenos de plantas**Ejemplo de uso 5.1: Actividad contra el tizón tardío en el tomate causado por *Phytophthora infestans* con aplicación protectora**

- Se usaron plántulas de tomate jóvenes comercialmente disponibles ("Goldene Königin") para el ensayo de invernadero descrito. Se utilizaron 2 réplicas (macetas con 1 planta cada una) por tratamiento. Las plantas se cultivaron en un sustrato disponible comercialmente (Universal, Floragard) a aproximadamente 22 °C en el invernadero. La humedad se controló utilizando un dispositivo especial (~90% de humedad). Las plantas se asperjaron hasta escorrentía con caldo de cultivo crudo/completo de cultivo de 6 días de antigüedad de la cepa respectiva de *Paenibacillus* (de acuerdo con la configuración) utilizando una cabina de aspersión. Las condiciones de cultivo para las cepas se describen en el Ejemplo 3. Un día después de la aplicación, las plantas tratadas se inocularon con una suspensión de esporangios de *Phytophthora infestans* (PHYTIN). Después de la inoculación, las plantas de prueba se transfirieron inmediatamente a una cámara húmeda. La extensión del ataque de hongos en las hojas se evaluó visualmente 5-7 días después de la inoculación. El ataque fúngico en el control no tratado estuvo entre 80-100% y se estableció en 100% por razones de comparación.

Tabla 7:

Cepa de <i>Paenibacillus</i>	PHYTIN (% de ataque fúngico)
Lu17007	4
Lu16774	20

Cepa de <i>Paenibacillus</i>	PHYTIN (% de ataque fúngico)
BD-62	53

Ejemplo de uso 5.2: Actividad contra el moho gris en la pimienta causada por *Botrytis cinerea* con aplicación protectora

5 Se usaron plántulas de pimiento jóvenes comercialmente disponibles ("Neusiedler Ideal") para el ensayo de invernadero descrito. Se utilizaron 2 réplicas (macetas con 1 planta cada una) por tratamiento. Las plantas se cultivaron en un sustrato disponible comercialmente (Universal, Floragard) a aproximadamente 22 °C en el invernadero. La humedad se controló utilizando un dispositivo especial (~90% de humedad). Las plantas se asperjaron hasta escorrentía con caldo de cultivo crudo de cultivos de 6 días de antigüedad de la cepa de *Paenibacillus* respectiva (dependiendo de la configuración) usando un cabina de aspersión. Las condiciones de cultivo para las cepas se describen en el Ejemplo 3. Un día después de la aplicación, las plantas tratadas se inocularon con una suspensión de esporas de *Botrytis cinerea* (BOTRCI). Después de la inoculación, las plantas de prueba se transfirieron inmediatamente a una cámara húmeda. La extensión del ataque de hongos en las hojas se evaluó visualmente 5-7 días después de la inoculación. El ataque fúngico en el control no tratado estuvo entre 80-100% y se estableció en 100% por razones de comparación.

15

Tabla 8:

Cepa de <i>Paenibacillus</i>	BOTRCI (% de ataque fúngico)
Lu17007	2
Lu16774	16
Lu17015	20
BD-62	97

Ejemplo de uso 5.3: Actividad contra el tizón temprano en el tomate causado por *Alternaria solani* con aplicación protectora

20 Se usaron plántulas de tomate jóvenes comercialmente disponibles ("Goldene Königin") para el ensayo de invernadero descrito. Se utilizaron 2 réplicas (macetas con 1 planta cada una) por tratamiento. Las plantas se cultivaron en un sustrato disponible comercialmente (Universal, Floragard) a aproximadamente 22 °C en el invernadero. La humedad se controló utilizando un dispositivo especial (~90% de humedad). Las plantas se asperjaron hasta escorrentía con caldo de cultivo crudo/completo de cultivo de 6 días de antigüedad de la cepa de *Paenibacillus* respectiva (de acuerdo con la configuración) utilizando un cabina de aspersión. Las condiciones de cultivo para las cepas se describen en el Ejemplo 3. Un día después de la aplicación, las plantas tratadas se inocularon con una suspensión de esporas de *Alternaria solani* (ALTESO). Después de la inoculación, las plantas de prueba se transfirieron inmediatamente a una cámara húmeda. La extensión del ataque de hongos en las hojas se evaluó visualmente 5-7 días después de la inoculación. El ataque fúngico en el control no tratado estuvo entre 80-100% y se estableció en 100% por razones de comparación.

30

Tabla 9:

Cepa de <i>Paenibacillus</i>	ALTESO (% de ataque fúngico)
Lu17007	3
Lu17015	16
BD-62	96

Ejemplo de uso 5.4: Actividad contra la roya de la soja en la soja causada por *Phakopsora pachyrhizi* con aplicación protectora

35 Se usaron plántulas jóvenes de soja comercialmente disponibles ("Mentor") para el ensayo de invernadero descrito. Se utilizaron 2 réplicas (macetas con 1 planta cada una) por tratamiento. Las plantas se cultivaron en un sustrato

disponible comercialmente (Universal, Floragard) a aproximadamente 22 °C en el invernadero. La humedad se controló utilizando un dispositivo especial (~90% de humedad). Las plantas se asperjaron hasta escorrentía con un caldo de cultivo crudo de cultivos de 2 a 6 días de antigüedad de *Paenibacillus* spp. (Dependiendo de la configuración) utilizando un cabina de aspersión. Un día después de la aplicación, las plantas tratadas se inocularon con una suspensión de esporas de *Phakopsora pachyrhizi* (PHAKPA). Después de la inoculación, las plantas de prueba se transfirieron inmediatamente a una cámara húmeda. La extensión del ataque de hongos en las hojas se evaluó visualmente 5-7 días después de la inoculación.

Ejemplo de uso 5.5: Actividad contra Tizón de cabeza *Fusarium* en trigo causado por *Fusarium graminearum* con aplicación protectora

Se usaron plántulas de trigo joven comercialmente disponibles para el ensayo de invernadero descrito. Se utilizaron 2 réplicas (macetas con 1 planta cada una) por tratamiento. Las plantas se cultivaron en un sustrato disponible comercialmente (Universal, Floragard) a aproximadamente 22 °C en el invernadero. La humedad se controló utilizando un dispositivo especial (~90% de humedad). Las plantas se asperjaron hasta escorrentía con un caldo de cultivo crudo de cultivos de 2 a 6 días de antigüedad de cultivos de *Paenibacillus* spp. (dependiendo de la configuración) utilizando un cabina de aspersión. Las condiciones de cultivo se describen en el Ejemplo 3. Un día después de la aplicación, las plantas tratadas se inocularon con una suspensión de esporas de *Fusarium graminearum* (GIBBZE). Después de la inoculación, las plantas de prueba se transfirieron inmediatamente a una cámara húmeda. La extensión del ataque de hongos en las hojas se evaluó visualmente 5-7 días después de la inoculación.

Ejemplo de uso 5.6: Actividad contra el tizón de hoja manchada en trigo causada por *Septoria tritici* con aplicación protectora

Se usaron plántulas de trigo joven comercialmente disponibles para el ensayo de invernadero descrito. Se utilizaron 2 réplicas (macetas con 1 planta cada una) por tratamiento. Las plantas se cultivaron en un sustrato disponible comercialmente (Universal, Floragard) a aproximadamente 22 °C en el invernadero. La humedad se controló utilizando un dispositivo especial (~90% de humedad). Las plantas se asperjaron hasta escorrentía con un caldo de cultivo crudo de cultivos de 2 a 6 días de antigüedad de *Paenibacillus* spp. (dependiendo de la configuración) utilizando un cabina de aspersión. Las condiciones de cultivo se describen en el Ejemplo 3. Un día después de la aplicación, las plantas tratadas se inocularon con una suspensión de esporas de *Septoria tritici* (SEPTTR). Después de la inoculación, las plantas de prueba se transfirieron inmediatamente a una cámara húmeda. La extensión del ataque de hongos en las hojas se evaluó visualmente 21-28 días después de la inoculación.

Ejemplo de uso 5.7: Actividad de las células de *Paenibacillus* y del sobrenadante contra varios patógenos con aplicación protectora

Se obtuvo un caldo de cultivo completo a partir de cultivos de 6 días de antigüedad de cepa Lu17007 de *Paenibacillus* de acuerdo con el Ejemplo de uso 3 y se utilizó como en la configuración experimental del Ejemplo de uso 5.1 a 5.3. Alternativamente, dicho caldo de cultivo completo se filtró a través de un filtro con un tamaño de poro de 0,2 µm para obtener el medio de cultivo y la fracción cruda de células. La fracción cruda de células se podría lavar adicionalmente tres veces con los volúmenes originales de solución salina regulada con fosfato para obtener células lavadas.

Los ensayos de invernadero se realizaron como se describe en los Ejemplos de uso 5.1, 5.2 y 5.3 anteriores para los patógenos respectivos *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria solani*. La magnitud del ataque fúngico en las hojas se evaluó visualmente 5-7 días después de la inoculación. El ataque fúngico en el control no tratado estuvo entre 80-100% y se estableció en 100% por razones de comparación.

Tabla 10:

Componente del cultivo de <i>Paenibacillus</i>	% de ataque fúngico por		
	BOTRCI	ALTESO	PHYTIN
Caldo de cultivo completo	0	2	7
Medio de cultivo	3	40	3
Fracción cruda de células	0	5	4
Células lavadas	1	10	1

Ejemplo 6: Pruebas enzimáticas

Ejemplo de uso 6.1: Quitinasa

Medio sólido de prueba de quitinasa:

2 g/L de NaNO₂, 1 g/L de K₂HPO₄, 0,5 g/L de MgSO₄, 0,5 g/L de KCl, 0,2 g/L de peptona, 15 g/L de agar, 10 g/L de quitina de conchas de cangrejo (Sigma-Aldrich C7170).

5 El medio sólido de prueba se esteriliza en autoclave y se vierte en placas de Petri de 9 cm. Se inoculan cepas de *Paenibacillus* en el centro de las placas y se incuban durante dos días a 27 °C. Posteriormente, las placas se tiñen con solución de Lugol diluida 1:3 (Carl Roth N052.2) durante 5 a 10 min. Se retira la solución de Lugol y las placas se fotografían y evalúan. El crecimiento de las diferentes cepas no fue superior a 5-10 mm. Las zonas no teñidas (correlacionadas con la actividad quitinasa) variaron desde 0 mm (sin actividad; "-" en la Tabla 11) hasta varios cm ("+" en la Tabla 11).

10 **Ejemplo de uso 6.2: Celulasa**

Medio sólido de prueba de celulasa:

2 g/L de NaNO₂, 1 g/L de K₂HPO₄, 0,5 g/L de MgSO₄, 0,5 g/L de KCl, 0,2 g/L de peptona, 15 g/L de agar, carboximetil celulosa, sal sódica (Sigma-Aldrich 419273).

15 El medio se esteriliza en autoclave vertido en placas de Petri de 9 cm. Se inoculan cepas de *Paenibacillus* en el centro de las placas y se incuban durante dos días a 27 °C. Después de la incubación, las placas se tiñen con una solución de Lugol diluida 1:3 (Carl Roth N052.2) durante 5 a 10 min. Se retira la solución de Lugol y se fotografían las placas.

Ejemplo de uso 6.3: Amilasa

Medio sólido de prueba de amilasa:

20 2 g/L de NaNO₂, 1 g/L de K₂HPO₄, 0,5 g/L de MgSO₄, 0,5 g/L de KCl, 0,2 g/L de peptona, 15 g/L de agar, 10 g/L de almidón soluble (Merck 1.01252).

El medio se esteriliza en autoclave vertido en placas de Petri de 9 cm. Se inoculan cepas de *Paenibacillus* en el centro de las placas y se incuban durante dos días a 27 °C. Después de la incubación, las placas se tiñen con una solución de Lugol diluida 1:3 (Carl Roth N052.2) durante 5 a 10 min. Se retira la solución de Lugol y se fotografían las placas.

Tabla 11: Actividades de quitinasa, celulosa y amilasa de cepas de *Paenibacillus*.

Cepa	Quitinasa	Celulasa	Amilasa
Lu16774	+	+	-
Lu17007	++	+	+
Lu17015	+	+	+
BD-62	-	-	-
-, sin actividad; (+), baja actividad; +, actividad regular; ++, actividad alta.			

25

Ejemplo 7: Metabolitos de tipo fusaricidina obtenidos de cepas de *Paenibacillus*

Ejemplo 7.1: cultivo a gran escala de aislados bacterianos y extracción de metabolitos de tipo fusaricidina

a) Cultivo

30 Las cepas de *Paenibacillus* se cultivaron en placas de agar que contenían medio GYM (10 g/L de glucosa, 4 g/L de extracto de levadura, 10 g/L de extracto de malta; pH 5,5, ajustado antes de esterilizar en autoclave) y 20 g/L de agar. El cultivo se realizó durante 10 a 20 días a temperatura ambiente. Para mantenimiento, se utilizó y almaceno el agar inclinado con el mismo medio a 4 °C.

Se inocularon cultivos líquidos a pequeña escala (250 mL de medio GYM en matraces de 500 mL) con 4-5 piezas de un cultivo de agar bien crecido y se cultivaron en un agitador orbital a 120 rpm a temperatura ambiente (20-23 °C).

35 Las fermentaciones a gran escala se realizaron en fermentadores de 20 L con 15 L de medio GYM (no se utilizó la capacidad total de los fermentadores debido a la formación de espuma) inoculados con 250 mL de cultivo líquido bien crecido y la fermentación se llevó a cabo a temperatura ambiente (20-23 °C) con agitación (120 rpm) y aireación (3 L/min) durante 5 a 8 días.

b) Extracción

Se añadió un volumen igual de isopropanol al caldo de cultivo completo (no se realizó la separación de la biomasa del cultivo líquido). Después de la agitación y la incubación durante 2 a 16 horas, se añadió sal de mesa común (cloruro de sodio, 100 a 200 g/L) a la mezcla hasta que fue visible la separación de fases orgánica y acuosa.

- 5 La fase de isopropanol se concentró al vacío. El extracto resultante, que todavía contenía gran cantidad de sal, se disolvió en metanol, se centrifugó para obtener una mejor precipitación de los residuos de sal y la fase orgánica se concentró nuevamente. Esta etapa se repitió hasta que ya no hubo más precipitado de sal.

c) Purificación

i) Cromatografía en gel de sílice

- 10 Se disolvieron 30 gramos de extracto en metanol y se unieron a 50 g de gel de sílice (Merck, K60, 70-230 mallas), se secaron a 40 °C y se colocaron en capas sobre 1 kg de gel de sílice (columna de 10 cm de diámetro, 30 cm de altura aproximadamente).

La elución se llevó a cabo en cuatro etapas de la siguiente manera:

Etapas 1: 4 L de acetato de etilo

- 15 Etapas 2: 4 L de acetato de etilo: metanol (3:1, v/v)

Etapas 3: 7 L acetato de etilo: metanol (1:1, v/v)

Etapas 4: 4 L de metanol

- 20 La tercera fracción (compuesto intermedio 1), que contenía los compuestos activos, se secó al vacío y se disolvió en metanol al 40% (MeOH) en ácido fórmico al 0,1% (FA) (concentración: 100 mg/mL). Las otras fracciones fueron descartadas.

ii) Fraccionamiento de por Chromabond HR-X

- 25 Se cargaron 20 mL del compuesto intermedio 1 en un cartucho de Chromabond HR-X previamente equilibrado (con MeOH al 40% en FA al 0.1%) (Macherey-Nagel, 1000 mg, ref. 730941). El cartucho se lavó con 100 mL de MeOH al 40% en FA al 0,1% y se eluyó con 60 mL de MeOH al 70% en FA al 0,1%. Este intermedio 1-1 se secó entonces a vacío.

iii) HPLC preparativa en una columna Sunfire C18

El compuesto intermedio 1-1 se disolvió en DMSO (concentración: 200 mg/mL) y se cromatografiaron 300 µL del compuesto intermedio 1-1 en una columna Sunfire C18 (19 x 250 mm, 5 µm, Waters) de la siguiente manera:

16 min a 10 mL/min, isocrático 70% FA al 0,2%; 30% de acetonitrilo (ACN),

- 30 1 min a 14 mL/min, gradiente a 65% de FA al 0,2%; 35% de ACN,

5 min a 14 mL/min, isocrático 65% de FA al 0.2%; 35% de ACN.

Se pudieron detectar cinco fracciones. Las cinco fracciones resultantes se secaron al vacío y se disolvieron en DMSO (concentración: 125 mg/mL). Se realizó una purificación adicional utilizando la misma columna y las condiciones isocráticas (flujo: 10,5 mL/min) ajustadas para cada fracción (12,5 mg por proceso):

- 35 Fracción 1: 69% de FA 0,2%; 31% de ACN; Dos picos detectados (1-1 y 1-2)

Fracción 2: 69% de FA 0,2%; 31% de ACN; Dos picos detectados (2-1 y 2-2)

Fracción 3: 69% de FA 0.2%; 31% de ACN; Tres picos detectados (3-1, 3-2 y 3-3)

Fracción 4/5: 67% de FA 0.2%; 33% de ACN; un pico detectado (4/5)

Fracción 6: 65% de FA 0.2%; 35% de ACN; Dos picos detectados (6-1 y 6-2)

- 40 La pureza y la cantidad de las siguientes muestras fue suficiente para el análisis de RMN y la elucidación de la estructura: picos 1-2, 2-1, 3-2, 4/5 y 6-1.

Ejemplo 7.2: Elucidación estructural de los nuevos compuestos 1A y 1B

A partir del pico 2-1 de la fracción 2, se obtuvo una mezcla de compuestos 1A y 1B (relación de aproximadamente 3:7) como un aceite marrón ($[\alpha]_D^{25} = +20,9$ (c = 0,6, DMSO-d₆)).

La fórmula molecular $C_{47}H_{78}N_{10}O_{12}$ del componente principal, compuesto 1B, se dedujo a partir del espectro de HR-ESI-MS que produjo un pico a m/z 975,5863 $[M + H]^+$; ESI-MS: 975,6 (100%, $[M + H]^+$), 488,4 (51%, $[M + 2H]^{2+}$).

Además, la mezcla también contenía como componente menor, el homólogo más ligero 1A, y la diferencia de masa entre ambos compuestos era de 14 amu. Esta observación fue apoyada por un segundo pico observado en el espectro de ESI-MS a m/z 961,6.

Los espectros de RMN (Tabla 12) incluyeron además de las señales de protones intercambiables entre δ 6,83 y 8,58, las resonancias de carbonilo en el intervalo de δ 166,0-174,5 y las señales de metino entre δ 47,8 y δ 60,4 indicativas de un péptido.

El extenso análisis de los datos de RMN 1D y 2D del compuesto 1B reveló la presencia de seis aminoácidos que incluyen tirosina (Tyr), glutamina (Gln), alanina (Ala), dos treoninas (Thr1 y Thr2) e isoleucina (Ile). Su secuencia se encontró utilizando correlaciones de dos o tres enlaces a través de las funciones amida. Por lo tanto, los espectros de COSY, NOESY (Fig. 2) y HMBC (Fig. 3) representaron correlaciones del protón de nitrógeno de Thr2 en δ 8,58 con la señal del protón de metino de Thr2 en δ 3,84 y el carbonilo en δ 166,7 de Tyr mientras se observó la misma relación entre el protón de nitrógeno de Tyr en δ 8,52 y la señal del protón de metileno de Tyr en δ 2,60 y el carbonilo en δ 170,4 de Ile. Además, el hidrógeno metino de Ile en δ 4,16 tenía una fuerte correlación con la señal de carbonilo de Ile en δ 170,4 y un contacto débil con aquella de Thr1 en δ 168,6; la señal del protón de β -metino en δ 5,30 de Thr1 se correlacionó con la señal de carbonilo en δ 170,4 de Ala. Además de las correlaciones mencionadas anteriormente, se mostraron otras del protón de N en δ 7,27 de Ala con el protón de metino en δ 4,20 del mismo aminoácido, mientras que este último protón tuvo la misma interacción con el carbonilo de su amino y el de Gln. Además, se reveló un pico cruzado del protón intercambiable en δ 8,20 de Gln con el hidrógeno de metino en δ 3,87 de Gln y el carbonilo de Thr2 en δ 170,6; estos datos mencionados anteriormente sugerían la estructura ciclodepsipeptídica para el compuesto 1B.

Este ciclodepsipeptido 1B contenía un ácido graso β -hidroxi guanidina terminal unido a Thr1, ya que se observó una correlación clave entre la señal de su protón α -metino en δ 4,39 y la resonancia de un carbonilo en δ 171,9; los contactos de HMBC de ese carbonilo en δ 171,9 con los protones de α -metileno en δ 2,35 y el protón de β -metino en δ 3,77 se observaron además, así como entre los protones de metileno en δ 3,03 y el carbono de guanidina en δ 157,2. Se dedujo que la cadena lateral contenía doce grupos metileno entre el grupo β -hidroxi y guanidina sobre la base del fragmento iónico observado en el espectro de APCI-MS-MS del ion progenitores $[M + H]^+$ a m/z 256,2. Del mismo modo, este espectro proporcionó información (Fig. 4b) que confirmó la secuencia de conexión de los aminoácidos y condujo a dilucidar la estructura del compuesto 1B como se muestra en la Fig. 1.

Las señales de un grupo CH_2 a 2,80, 2,52/36,3 en los espectros 1D y 2D correspondían presumiblemente al grupo β - CH_2 de asparagina (Asn) en el compuesto 1A. Esta conclusión fue apoyada por los datos informados (Heterocycles 53, 1533-1549, 2000) junto con los fragmentos obtenidos de MS/MS del pico principal a m/z 961,6 (Fig. 4a). Del mismo modo, los últimos análisis proporcionaron información (Figs. 4a, 4b) que confirmó la secuencia de conexión de aminoácidos en ambos compuestos y condujo a elucidar la estructura de los compuestos 1A y 1B como se muestra en la Fig. 1.

Ejemplo 7.3: Identificación estructural de los compuestos 2A y 2B como fusaricidinas C y D

A partir del pico 1-2 de la fracción 1, se obtuvo una mezcla de compuestos 2A y 2B (relación de aproximadamente 1:1) como un aceite marrón. La fórmula molecular del componente más pesado, el compuesto 2B, se determinó que era $C_{46}H_{76}N_{10}O_{12}$ con base en la espectrometría de masas de baja resolución. El análisis de los datos de RMN (Tabla 13) permitió identificar el compuesto 2B como fusaricidina D. El componente más ligero de la mezcla, el compuesto 2A, también se identificó como fusaricidina C, en la que el residuo de Gln de la fusaricidina C se reemplaza por Asn.

El patrón de fragmentación espectrométrico de masas de los iones progenitores de m/z 961,6 y 947,6 para los compuestos 2B y 2A, respectivamente, (Figs. 5a, 5b) confirmó que la longitud de la cadena lateral sustituida de ácido graso era idéntica a la del compuesto 1B. Las Fusaricidinas C y D han sido reportadas anteriormente por Kajimura et al. (J. Antibiot. 50, 220-228, 1997).

Ejemplo 7.4: Identificación estructural del compuesto 3 como LI-F08b

A partir del pico 6-1 de la fracción 6, el compuesto 3 se aisló como un aceite marrón y su baja resolución presentó un pico en m/z 925,6 $[M + H]^+$ que, combinado con los datos de RMN (Tabla 14), condujo a la fórmula molecular $C_{44}H_{80}N_{10}O_{11}$. El compuesto 3 mostró características similares en los espectros de RMN como el compuesto 1B y el compuesto 2B (fusaricidina D), excepto por la presencia de señales aromáticas (Tabla 14). Por lo tanto, se observaron resonancias características de un péptido, es decir, diez señales de protones unidos a nitrógeno entre δ 6,89 y 8,49, ocho resonancias de carbonilo oscilaron entre δ 168,1 y 174,3, y seis señales de N-metino comprendidas entre δ 48,0 y 59,5. Un análisis detallado de los espectros de HMQC, COSY y TOCSY reveló la presencia de seis aminoácidos, incluyendo Gln, dos unidades de Thr, dos unidades de Ile y Ala. Además, estos espectros mostraron cambios químicos atribuibles al mismo ácido graso β -hidroxilo con una guanidina terminal como en los compuestos 1A, 1B y las fusaricidinas C (2A) y D (2B). La posición de esta cadena lateral se determinó sobre la base de una correlación de largo alcance encontrada en el espectro de HMBC entre la señal del protón de N-metino en δ 4,44 de Thr1 y la señal

de carbonilo en δ 172,1 del ácido graso. La secuencia de los aminoácidos se dedujo de las interacciones de NOESY y el patrón de fragmentación (Fig. 6).

5 La combinación de los datos de RMN (Tabla 14) y la espectrometría de masas llevó a identificar el compuesto 3 del metabolito como LI-F08b, en el presente documento también llamado fusaricidina LI-F08b, reportada por primera vez por Kuroda et al. (Heterocycles 53, 1533-1549, 2000).

Ejemplo 7.5: Identificación estructural de los compuestos 4A y 4B como LI-F06a y LI-F06b y de los compuestos 5A y 5B como fusaricidina A y B, respectivamente

10 A partir del pico 4/5 de la fracción 4/5, se obtuvo una mezcla de dos metabolitos adicionales, los compuestos 4A y 4B (relación de aproximadamente 1:3), que produjeron dos picos en m/z 897,5 (4A) y 911,6 (4B) en el espectro de ESI-MS, que sugiere dos ciclodepsipéptidos homólogos adicionales. Las resonancias indicativas de péptidos se observaron en sus espectros de RMN (Tabla 15), así como las de un ácido graso β -hidroxilo que termina en un grupo guanidina. Los patrones de fragmentación de ambos iones progenitores encontrados para los compuestos 4A y 4B (Figs. 7a, 7b) permitieron determinar la secuencia de aminoácidos e identificar los constituyentes de la mezcla como LI-F06a (4A) y LI-F06b (4B), respectivamente.

15 Obtenida a partir del pico 3-2 de la fracción 3, la mezcla de los compuestos 5A y 5B (relación de aproximadamente 1:3) se analizó de la misma manera. El espectro de masas ESI de la mezcla mostró dos picos en m/z 883,6 (5A) y 897,5 (5B) y los patrones de fragmentación de estos iones progenitores (Figs. 8a, 8b) junto con los datos de RMN (Tabla 16) permitieron identificar los componentes como la fusaricidina A (5A) y la fusaricidina B (5B). Los datos encontrados para 4A, 4B, 5A y 5B coinciden con los informados anteriormente. (J. Antibiot. 50, 220-228, 1997; Heterocycles 53, 1533-1549, 2000).

20

Tabla 12. Datos de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) y ^{13}C (DMSO- d_6 , 150 MHz) de los compuestos 1A y 1B.

Compuestos 1					
Compuesto 1A			Compuesto 1B		
*Pos.	δ_{H}	δ_{C}	Pos.	δ_{H}	δ_{C}
Thr1			Thr1		
NH	7,79 (br)	-	NH	8,18 (br s)	-
1	-	168,6	1	-	168,6
2	4,46 (br d, 8,5)	56,4	2	4,39 (br d, 8,7)	56,9
3	5,30 (superpuesto)	70,2	3	5,30 (m)	70,2
4	1,13 (superpuesto)	16,6	4	1,13 (d, 6,4)	16,7
Ala			Ala		
NH	7,22 (br)	-	NH	7,27 (br s)	-
1	-	nf*	1	-	170,4
2	4,13 (superpuesto)	47,7	2	4,20 (m)	47,8
3	1,11 (superpuesto)	17,8	3	1,17 (d, 7,1)	17,8
Asn			Gln		
NH	8,33 (superpuesto)	-	NH	8,20 (br s)	-
1	-	169,7	1	-	170,4
2	4,20 (1H, m)	50,6	2	3,87 (m)	53,2
3	2,52 (m), 2,80 (dd, 5,9, 15,1)	36,3	3	1,96 (m), 2,08 (m)	26,2
4	-	172,5	4	2,08 (m), 2,18 (m)	32,0

ES 2 732 578 T3

5	-	-	-	-	174,3
NH ₂	6,99 (br s), 7,42 (br s)	-	NH ₂	6,83 (br s), 7,26 (br s)	-
Thr2			Thr2		
NH	8,50 (superpuesto)	-	NH	8,58 (br s)	-
1	-	170,6	1	-	170,6
2	3,94 (m)	59,9	2	3,84 (m)	60,5
3	3,94 (m)	65,5	3	3,85 (m)	65,8
4	1,05 (br)	20,3	4	1,08 (superpuesto)	20,0
Tyr			Tyr		
NH	8,48 (superpuesto)	-	NH	8,52 (br s)	-
1	-	nf	1	-	166,7
2	4,60 (m)	54,2	2	4,51 (m)	54,5
3	2,60 (superpuesto) 2,88 (superpuesto)	36,8	3	2,60 (m), 2,88 (m)	36,9
4	-	127,7	4	-	127,8
5 y 9	7,07 (d, 8,7)	130,2	5 y 9	7,06 (d, 8,5)	130,2
6 y 8	6,60 (superpuesto)	114,7	6 y 8	6,60 (d, 8,5)	114,7
7	-	155,9	7	-	155,9
Ile			Ile		
NH	7,28 (br s)	-	NH	7,42 (br s)	-
1	-	nf	1	-	170,4
2	4,16 (superpuesto)	56,5	2	4,16 (br d, 8,5)	56,5
3	1,34 (superpuesto)	37,2	3	1,34 (m)	37,2
4	1,34 (superpuesto)	25,4	4	1,22 (m), 1,34 (m)	25,4
5	0,52 (superpuesto)	14,4	5	0,53 (superpuesto)	14,4
6	0,59 (superpuesto)	11,4	6	0,61 (superpuesto)	11,4
*FA			FA		
1	-	171,9	1	-	171,9
2	2,35 (superpuesto)	43,1	2	2,35 (m)	43,3
3	3,77 (superpuesto)	67,5	3	3,77 (m)	67,5
4	1,34 (superpuesto)	36,8	4	1,34 (m)	36,9
5-12	1,19-1,30 (br s)	29,0-29,2	5-12	1,19-1,30 (br s)	29,0-29,2
13	1,25 (br s)	21,2	13	1,25 (br s)	21,2
14	1,43 (superpuesto)	28,7	14	1,43 (m)	28,5

15	3,03 (superpuesto)	40,6	15	3,03 (q, 6,6)	40,6
*Gu			Gu		
NH	nf	-	NH	8,40 (br s)	-
*Gu			Gu		
16	-	157,2	16	-	157,2

* Pos. = posición; FA = ácido graso; Gu = guanidina; nf = no encontrado. La leyenda también aplica para las Tablas 13 a 16,

Tabla 13. Datos de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) y ^{13}C (DMSO- d_6 , 150 MHz) de los compuestos 2A and 2B.

Compuestos 2 = fusaricidinas C y D					
Compuesto 2A = fusaricidina C			Compuesto 2B = fusaricidina D		
Pos.	δ_{H}	δ_{C}	Pos.	δ_{H}	δ_{C}
Thr1			Thr1		
NH	7,66 (d, 7,1)	-	NH	8,17 (br s)	-
1	-	168,5	1	-	168,6
2	4,44 (br d, 8,9)	56,6	2	4,40 (br d, 8,9)	57,0
3	5,31 (m)	70,2	3	5,30 (m)	70,3
4	1,13 (superpuesto)	16,5	4	1,14 (superpuesto)	16,7
Ala			Ala		
NH	7,21 (br)	-	NH	7,60 (br s)	
1	-	nf	1	-	170,6
2	4,12 (m)	47,7	2	4,19 (m)	47,8
3	1,12 (superpuesto)	17,8	3	1,17 (d, 7,2)	17,7
Asn			Gln		
NH	8,26 (br)	-	NH	8,08 (br s)	-
1	-	169,7	1	-	170,4
2	4,21 (m)	50,5	2	3,86 (m)	53,2
3	2,53 (superpuesto), 2,80 (dd, 6,3, 15,0)	36,3	3	1,98 (m), 2,09 (m)	26,1
4	-	172,6	4	2,10 (m), 2,18 (m)	31,9
5	-	-	5	-	174,3
NH ₂	nf	-	NH ₂	6,84 (br s), 7,28 (br s)	-
Thr2			Thr2		
NH	8,52 (superpuesto)	-	NH	8,47 (superpuesto)	-

ES 2 732 578 T3

1	-	170,3	1	-	170,6
2	3,85 (m)	60,5	2	3,94 (m)	59,9
3	3,86 (m)	65,8	3	3,92 (m)	65,7
4	1,09 (d, 5,7)	19,9	4	1,05 (d, 5,8)	20,2
OH-3	4,96 (br d, 4,2)	-	OH-3	5,05 (d, 2,9)	-
Tyr			Tyr		
NH	8,46 (superpuesto)	-	NH	8,52 (superpuesto)	-
1	-	nf	1	-	172,3
2	4,60 (m)	54,2	2	4,52 (m)	54,6
Tyr			Tyr		
3	2,63 (superpuesto) 2,87 (superpuesto)	36,9	3	2,63 (m), 2,87 (m)	36,9
4	-	127,7	4	-	127,7
5 y 9	7,08 (superpuesto)	130,2	5 y 9	7,06 (d, 8,4)	130,2
6 y 8	6,60 (superpuesto)	114,7	6 y 8	6,60 (d, 8,4)	114,7
7	-	155,8	7	-	155,8
OH	nf	-	OH	9,13 (br s)	-
Val			Val		
NH	7,30 (superpuesto)	-	NH	7,42 (br s)	-
1	-	nf	1	-	170,3
2	4,12 (br s)	57,5	2	4,12 (br s)	57,5
3	1,59 (m)	30,9	3	1,59 (m)	31,0
4	0,56 (d, 6,4)	18,2	4	0,57 (d, 6,3)	18,3
5	0,35 (d, 6,5)	18,7	5	0,40 (d, 6,6)	18,7
FA			FA		
1	-	nf	1	-	172,0
2	2,37 (superpuesto)	43,1	2	2,37 (m)	43,3
3	3,79 (superpuesto)	67,5	3	3,79 (m)	67,6
4	1,35 (superpuesto)	36,9	4	1,35 (m)	36,9
5	1,22 (superpuesto)	25,3	5	1,22 (br s)	25,3
6-12	1,20-1,27 (br s)	29,1-29,2	6-12	1,20-1,27 (br s)	29,1-29,2
13	1,26 (br s)	26,1	13	1,26 (br s)	26,1
14	1,44 (superpuesto)	28,5	14	1,44 (m)	28,7

15	3,07 (superpuesto)	40,7	15	3,07 (q, 6,7)	40,7
Gu			Gu		
NH	nf	-	NH	7,60 (br s)	-
16	-	156,8	16	-	156,8

Tabla 14. Datos de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) y ^{13}C (DMSO- d_6 , 150 MHz) del compuesto 3 que es LI-F08b.

Compuesto 3 = LI-F08b		
Pos.	δ_{H}	δ_{C}
Thr1		
NH	7,55 (br s)	-
1	-	168,1
2	4,44 (br d, 8,4)	56,6
3	5,33 (m)	70,2
Pos.	δ_{H}	δ_{C}
Thr1		
4	1,15 (d, 6,5)	16,7
Ala		
NH	7,53 (br s)	-
1	-	170,6
2	4,05 (m)	48,0
3	1,22 (br s)	17,2
Gln		
NH	7,93 (br s)	-
1	-	170,5
2	3,94 (m)	52,7
3	1,98 (m), 2,09 (m)	26,5
4	2,12 (m), 2,20 (m)	31,9
5	-	174,3
NH ₂	6,89 (br s), 7,32 (br s)	-
Thr2		
NH	8,48 (br s)	-
1	-	170,7
2	4,03 (m)	59,5

ES 2 732 578 T3

3	3,98 (m)	65,7
4	1,08 (d, 6,1)	19,8
Ile1		
NH	8,49 (br s)	-
1	-	172,5
2	4,15 (t, 7,6)	57,3
3	1,81 (m)	35,4
4	1,17 (m), 1,41 (m)	24,4
5	0,80 (t, 6,3)	10,6
6	0,81 (d, 7,2)	15,5
Ile2		
NH	7,30 (br s)	-
1	-	171,3
2	4,53 (m)	55,3
3	1,65 (m)	38,2
Ile2		
4	1,01 (m), 1,37 (m)	25,5
5	0,83 (t, 6,4)	11,4
6	0,70 (d, 7,4)	14,2
FA		
1	-	172,1
2	2,37 (d, 5,7)	43,4
3	3,77 (m)	67,6
4	1,37 (m)	36,9
5-12	1,20-1,28 (br s)	29,0-29,2
13	1,25 (br s)	26,2
14	1,43 (m)	28,7
15	3,03 (q, 6,7)	40,6
Gu		
NH	8,37 (br s)	-
16	-	157,2

Tabla 15. Datos de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) y ^{13}C (DMSO- d_6 , 150 MHz) de los compuestos 4A y 4B.

Compuestos 4 = LI-F06a y LI-F06b					
Compuesto 4A = LI-F06a			Compuesto 4B = LI-F06b		
Pos.	δ_{H}	δ_{C}	Pos.	δ_{H}	δ_{C}
Thr1			Thr1		
NH	8,31 (br)	-	NH	7,59 (br s)	-
1	-	168,5	1	-	168,4
2	4,40 (m)	56,9	2	4,44 (m)	56,7
3	5,30 (m)	70,5	3	5,32 (m)	70,3
4	1,14 (m)	16,6	4	1,15 (m)	16,6
Ala			Ala		
NH	nf	-	NH	7,53 (br s)	
1	-	170,6	1	-	170,7
2	3,97 (m)	47,9	2	4,07 (m)	48,0
3	1,15 (superpuesto)	17,3	3	1,21 (d, 7,3)	17,4
Asn			Gln		
NH	8,06 (br)	-	NH	7,96 (br s)	-
1	-	169,8	1	-	170,7
2	4,28 (m)	50,5	2	3,93 (m)	52,9
Asn			Gln		
3	2,55 (m), 2,75 (dd, 6,7, 15,1)	36,9	3	1,97 (m), 2,10 (m)	26,5
4	-	172,6	4	2,12 (m), 2,21 (m)	32,0
5	-	-	5	-	174,4
NH ₂	nf	-	NH ₂	6,88 (br s), 7,33 (br s)	-
Thr2			Thr2		
NH	8,54 (br)		NH	8,48 (br)	-
1	-	170,4	1	-	170,6
2	3,91 (m)	60,5	2	4,02 (m)	59,7
3	3,92 (m)	65,6	3	3,99 (m)	65,7
4	1,09 (d, 6,4)	19,6	4	1,08 (d, 6,4)	19,8
Val			Val		
NH	7,28 (m)	-	NH	7,39 (m)	-
1	-	nf	1	-	171,0

2	4,40 (superpuesto)	57,3	2	4,39 (m)	57,0
3	1,83 (superpuesto)	32,0	3	1,83 (m)	31,6
4	0,75 (d, 6,6)	18,1	4	0,74 (d, 6,6)	18,4
5	0,84 (superpuesto)	19,3	5	0,80 (superpuesto)	19,2
lle			lle		
NH	7,31 (superpuesto)	-	NH	7,23 (superpuesto)	-
1	-	nf	1	-	171,2
2	4,51 (superpuesto)	55,5	2	4,51 (1H, m)	55,6
3	1,65 (superpuesto)	38,1	3	1,65 (m)	38,1
4	1,02 (m), 1,36 (m)	25,4	4	1,02 (m), 1,36 (m)	25,5
5	0,82 (superpuesto)	15,6	5	0,82 (superpuesto)	15,6
6	0,72 (superpuesto)	14,4	6	0,71 (superpuesto)	14,3
FA			FA		
1	-	172,1	1	-	172,2
2	2,44 (dd)	43,1	2	2,37 (m)	43,4
3	3,81 (m)	67,7	3	3,78 (m)	67,7
4	1,37 (superpuesto)	36,9	4	1,37 (m)	36,9
5-12	1,22-1,24 (br s)	29,1-29,2	5	1,22-1,24 (br s)	29,1-29,2
13	1,25 (br s)	26,4	13	1,25 (br s)	26,2
14	1,43 (m)	28,5	14	1,43 (m)	28,5
15	3,03 (q, 6,7)	40,7	15	3,03 (q, 6,7)	40,7
Gu			Gu		
Pos.	δ_H	δ_C	Pos.	δ_H	δ_C
Gu			Gu		
NH	nf	-	NH	8,34 (br s)	-
16	-	157,2	16	-	157,2

Tabla 16. Datos de RMN de ^1H (DMSO- d_6 , 600 MHz) y ^{13}C (DMSO- d_6 , 150 MHz) de los compuestos 5A y 5B.

Compuestos 5 = fusaricidinas A y B, LI-F04a y LI-F04b					
Compuesto 5A = fusaricidina A			Compuesto 5B = fusaricidina B		
Pos.	δ_H	δ_C	Pos.	δ_H	δ_C
Thr1			Thr1		
NH	7,66 (br)	-	NH	8,30 (d, 8,0)	-

ES 2 732 578 T3

1	-	168,5	1	-	168,4
2	4,46 (m)	56,6	2	4,40 (br d, 8,5)	57,0
3	5,32 (m)	70,4	3	5,31 (m)	70,3
4	1,16 (superpuesto)	16,3	4	1,15 (d, 5,7)	16,6
Ala			Ala		
NH	7,26 (br)	-	NH	7,53 (br s)	-
1	-	170,6	1	-	170,6
2	4,00 (m)	47,8	2	4,10 (m)	47,9
3	1,15 (superpuesto)	17,4	3	1,20 (d, 7,2)	17,5
Asn			Gln		
NH	8,10 (br)	-	NH	8,53 (d, 4,3)	-
1	-	169,8	1	-	170,6
2	4,28 (q, 6,6)	50,5	2	3,92 (m)	52,9
3	2,53 (m), 2,76 (dd, 6,6, 15,0)	36,7	3	1,98 (m), 2,09 (m)	26,4
4	-	172,5	4	2,10 (m), 2,20 (m)	31,9
5	-	-	5	-	174,3
NH ₂	nf	-	NH ₂	6,86 (br s), 7,30 (br s)	-
Thr2			Thr2		
NH	8,54 (br s)	-	NH	8,46 (d, 6,9)	-
1	-	nf	1	-	170,5
2	3,91 (m)	60,4	2	4,02 (m)	59,7
3	3,91 (m)	65,6	3	3,99 (m)	65,5
4	1,09 (d, 5,6)	19,6	4	1,07 (d, 6,0)	19,9
Val			Val		
NH	nf	-	NH	7,29 (br s)	-
1	-	nf	1	-	171,2
2	4,40 (m)	57,1	2	4,40 (m)	57,1
3	1,82 (m)	31,4	3	1,82 (m)	31,5
4	nf	nf	4	0,76 (d, 6,6)	18,4
5	0,82 (d, 6,0)	19,1	5	0,81 (d, 6,2)	19,1
Val			Val		
NH	8,41 (br s)	-	NH	8,37 (d, 7,6)	-
1	-	172,1	1	-	173,1

2	4,13 (m)	58,3	2	4,23 (m)	57,8
3	2,02 (m)	29,7	3	1,99 (m)	30,2
4	0,86 (d, 6,7)	18,2	4	0,86 (d, 6,7)	18,2
5	0,84 (7,0)	19,3	5	0,84 (7,0)	19,3
FA			FA		
1	-	172,1	1	-	172,0
2	2,37 (br d, 5,8)	43,4	2	2,34 (dd, 7,0, 13,5), 2,44 (dd, 4,9, 13,5)	43,4
3	3,80 (m)	67,6	3	3,80 (m)	67,6
4	1,37 (m)	36,9	4	1,37 (m)	36,8
5-12	1,22-1,25 (br s)	26,2-29,2	5-12	1,22-1,25 (br s)	26,2-29,2
13	1,25 (br s)	26,2	13	1,25 (br s)	26,2
14	1,43 (m)	28,7	14	1,43 (m)	28,5
15	3,03 (q, 6,7)	40,6	15	3,03 (q, 6,7)	40,6
Gu			Gu		
NH	nf	-	NH	8,47 (br s)	-
16	-	157,2	16	-	157,2

No se llevaron a cabo experimentos de hidrólisis para determinar la configuración de los aminoácidos constitutivos.

Ejemplo 8: Metabolitos producidos por cepas de *Paenibacillus*.

Ejemplo 8.1: Producción de metabolitos por cepas de *Paenibacillus*.

- 5 La presencia de fusaricidinas en general y en particular de las fusaricidinas conocidas A, B, C, D, LI-F06a, LI-F06b y LI-F08b, así como los nuevos compuestos de tipo fusaricidina 1A y 1B, se determinó para las cepas de *Paenibacillus* de acuerdo con las etapas de procedimiento que se describen en el Ejemplo 7.1 anterior.

Tabla 17: Producción de metabolitos de tipo fusaricidina de las cepas de *Paenibacillus*.

Cepas	Compuesto / Fusaricidina								
	1A	1B	2A	2B	3	4A	4B	5A	5B
			C	D	LI-F08b	LI-F06a	LI-F06b	A	B
Lu16774	+	++	++	++	++	-	-	++	++
Lu17007	+	++	++	++	++	+	++	++	++
Lu17015	++	++	++	++	++	++	++	++	++
BD-62	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Leyenda: -, compuesto no detectable; +, compuesto detectable; ++, compuesto detectable en cantidades más altas en comparación con la escala +.

El caldo de cultivo completo de todas las nuevas cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 de *Paenibacillus* contenía al menos uno de los metabolitos de tipo fusaricidina identificados en el Ejemplo 7 (Tabla 17). Ninguno de estos metabolitos tipo fusaricidina se detectó en el caldo de cultivo completo de la cepa BD-62 de *P. peoriae*.

5 El caldo de cultivo completo de las nuevas cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 de *Paenibacillus* contenía todos los nuevos compuestos de tipo fusaricidina 1A y 1B. Además, el caldo de cultivo completo de las nuevas cepas Lu16774, Lu17007 y Lu17015 de *Paenibacillus* contenían todas las fusaricidinas A, B, C y D, así como LI-F08b. Además, el caldo de cultivo de las nuevas cepas Lu17007 y Lu17015 de *Paenibacillus* contenía las fusaricidinas LI-F06a y LI-F06b.

10 Los compuestos 1A y 1B no se detectaron en el caldo de cultivo completo de la cepa BD-62 de *P. peoriae* estrechamente relacionada. Las fusaricidinas A, B, C y D, LI-F06a, LI-F06b y LI-F08b tampoco estaban en el caldo de cultivo completo de la cepa BD-62 de *P. peoriae*.

Ejemplo 9: Actividad de metabolitos por cepas de *Paenibacillus* contra varios patógenos fúngicos

Los compuestos 1A y 1B, fusaricidina A, B y D obtenidos se usaron en los siguientes experimentos.

15 Los ensayos de crecimiento fúngico se realizaron en placas de 96 pozos con suspensión de esporas del patógeno *Botrytis cinerea* (BOTRCI, en YBA [10 g de peptona Bacto (Becton Dickinson 211677), 10 g de extracto de levadura (Becton Dickinson 212750), 20 g de acetato de sodio, con adición de 1000 mL de agua bidestilada] o *Alternaria solani* (ALTESO, en YBG [10 g de peptona Bacto (Becton Dickinson 211677), 10 g de extracto de levadura (Becton Dickinson 212750), 20 g de glicerina al 99%, con adición de 1000 mL agua bidestilada]). Las fusaricidinas y los compuestos 1A y 1B se disolvieron y se diluyeron en DMSO. Se pipetearon diferentes concentraciones que iban desde 60 µM hasta 0,3 µM en la placa de microtitulación. Se añadió una suspensión acuosa de 10⁴ esporas/mL. Las placas se incubaron a aproximadamente 18 °C. El crecimiento de hongos se determinó midiendo la densidad óptica a 600 nm en un lector de microplacas 3 y 7 días después de la inoculación de las esporas y se comparó con el control no tratado (DMSO). Se determinó después de eso la IC₅₀ (concentración [µM] del metabolito respectivo requerido para 50% de inhibición del crecimiento de hongos).

25 Notablemente, los compuestos 1A y 1B mostraron la mayor eficacia antifúngica con valores de IC₅₀ de 0,4-0,6 µM (Tabla 18).

Tabla 18. Inhibición del crecimiento antifúngico de los valores de IC₅₀ de los metabolitos de *Paenibacillus*

Patógeno (día de la evaluación)	Compuesto / Fusaricidina				
	1A	1B	2B	5A	5B
			Fusaricidina D	Fusaricidina A	Fusaricidina B
Inhibición del crecimiento del hongo (IC50 [mM])					
ALTESO (3 d)	0,6	0,6	1,1	1,3	1,1
ALTESO (7 d)	0,5	0,4	0,6	0,7	0,6
BOTRCI (7d)	0,3	0,4	0,5	0,5	0,6
"-." significa que la inhibición del crecimiento en el intervalo de concentración analizado no es suficiente para determinar la IC ₅₀ .					

30 Además, los ensayos de invernadero se realizaron con los Compuestos 1A y 1B como se describe en los Ejemplos de Uso 5.1 a 5.5 anteriores para los patógenos respectivos *Botrytis cinerea* (BOTRCI), *Alternaria solani* (ALTESO), *Phytophthora infestans* (PHYTIN), *Phakopsora pachyrhizi* (PHAKTA)) y *Fusarium graminearum* (GIBBZE). La extensión del ataque de hongos en las hojas se evaluó visualmente 5-7 días después de la inoculación.

35 Notablemente, los compuestos 1A y 1B fueron efectivos en el control de importantes enfermedades fúngicas en plantas de cultivo ya en niveles de dosis tan bajas como 7,2 ppm y mostraron una mayor eficacia antifúngica que la fusaricidina A, B y D (Tablas 19 a 21).

Tabla 19. Eficacia antifúngica de metabolitos determinados *in planta*.

Metabolito analizado	Concentración	% de eficacia (% de ataque fúngico)				
		BOTRCI	ALTESO	PHYTIN	PHAKPA	GIBBZE
Sin tratamiento	-	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)	0 (100)
Compuesto 1A	360 ppm	99		100	95	49
Compuesto 1A	36 ppm	97	74			
Compuesto 1B	360 ppm	100		100	97	
Compuesto 1B	36 ppm	97				

Tabla 20. Eficacia de los metabolitos contra el tizón tardío en tomates causada por la *Phytophthora infestans* con aplicación protectora.

Metabolito analizado	Concentración	% de eficacia (% de ataque fúngico)
Sin tratamiento	-	0 (100)
Fusaricidina A	7,2 ppm	15
Fusaricidina B	7,2 ppm	4
Fusaricidina D	7,2 ppm	0
Compuesto 1B	7,2 ppm	44

5

Tabla 21. Eficacia de los metabolitos contra el tizón de cabeza en el trigo causado por *Fusarium graminearum* con aplicación protectora.

Metabolito analizado	Concentración	% de eficacia (% de ataque fúngico)
Sin tratamiento	-	0 (100)
Fusaricidina A	360 ppm	31
Fusaricidina B	360 ppm	0
Compuesto 1A	360 ppm	49

10

Tabla 22. Eficacia de los metabolitos contra el tizón de cabeza en el trigo causado por *Saptoria tritici* con aplicación protectora.

Metabolito analizado	Concentración	% de eficacia (% de ataque fúngico)
Sin tratamiento	-	0 (100)
Fusaricidina D	360 ppm	50
Compuesto 1B	360 ppm	80

Ejemplo 10: Comparación de la actividad de cepas Lu16674 y Lu17007 de *Paenibacillus polymyxa* nueva ssp. *plantarum* de acuerdo con la invención con M-1 de *Paenibacillus polymyxa* nueva ssp. *plantarum* contra varios patógenos en ensayos de invernadero.

5 De acuerdo con el Ejemplo de uso 3, se obtuvo un caldo de cultivo completo a partir de cultivos de cultivos de 6 días de antigüedad de las cepas Lu17007, Lu16674 y M1 de *Paenibacillus* y se usó como en la configuración experimental del Ejemplo de uso 5.1 a 5.5. Los ensayos de invernadero se realizaron como se describe en los Ejemplos de uso 5.1 a 5.5 anteriores para los patógenos respectivos. La extensión del ataque de hongos en las hojas se evaluó visualmente 5-7 días después de la inoculación.

Notablemente, las cepas Lu16774 y Lu17007 de *Paenibacillus* fueron efectivas para controlar enfermedades fúngicas importantes en plantas de cultivo incluso con factores de dilución altos y mostraron una mayor eficacia antifúngica que la cepa M-1 estrechamente relacionada (Tablas 22 a 27).

Tabla 22.

Cepa de <i>Paenibacillus</i>	Factor de dilución del caldo de cultivo completo	% de eficacia de BOTRCI (% de ataque fúngico)
Sin tratamiento		0 (100)
Lu16674	1:10	95
M-1	1:10	86
Lu16674	1:50	76
Lu17007	1:50	98
M-1	1:50	51

10

Tabla 23.

Cepa de <i>Paenibacillus</i>	Factor de dilución del caldo de cultivo completo	% de eficacia de BOTRCI (% de ataque fúngico)
Sin tratamiento		0 (100)
Lu17007	sin diluir	92
M-1	sin diluir	87
Lu17007	1:10	84
M-1	1:10	53
Lu17007	1:50	63
M-1	1:50	32

Tabla 24

Cepa de <i>Paenibacillus</i>	Factor de dilución del caldo de cultivo completo	% de eficacia de ALTESO (% de ataque fúngico)
Sin tratamiento		0 (100)
Lu16674	1:10	77
M-1	1:10	41

Tabla 25

Cepa de <i>Paenibacillus</i>	Factor de dilución del caldo de cultivo completo	% de eficacia de PHYTIN (% de ataque fúngico)
Sin tratamiento		0 (100)
Lu17007	1:10	83
M-1	1:10	42
Lu 16674	1:50	13
Lu17007	1:50	30
M-1	1:50	0

Tabla 26.

Cepa de <i>Paenibacillus</i>	Factor de dilución del caldo de cultivo completo	% de eficacia de PHAKPA (% de ataque fúngico)
Sin tratamiento		0 (100)
Lu17007	sin diluir	94
M-1	sin diluir	87

5

Tabla 27

Cepa de <i>Paenibacillus</i>	Factor de dilución del caldo de cultivo completo	% de eficacia de GIBBZE (% de ataque fúngico)
Sin tratamiento		0 (100)
Lu17007	sin diluir	70
M-1	sin diluir	31
Lu16674	1:50	52
Lu17007	1:50	33
M-1	1:50	24

Los documentos citados en el presente documento se incorporan por referencia.

Breve descripción de las figuras:

Figura 1. Compuestos 1A, 1B, 2A, 2B, 3, 4A, 4B, 5A y 5B.

10 Figura 2. Correlaciones clave NOESY y COSY del compuesto 1B.

Figura 3. Correlación de HMBC del compuesto 1B.

Figura 4. Patrones de fragmentación a) del compuesto 1A y b) del compuesto 1B.

Figura 5. Patrones de fragmentación a) del compuesto 2A (fusaricidina C) y b) del compuesto 2B (fusaricidina D).

Figura 6. Patrón de fragmentación del compuesto 3 (LI-F08b).

15 Figura 7. Patrones de fragmentación a) del compuesto 4A (LI-F06a) y b) del compuesto 4B (LI-F06b).

Figura 8. Patrones de fragmentación a) del compuesto 5A (fusaricidina A) y b) del compuesto 5B (fusaricidina B).

La Figura 9 muestra el porcentaje de identidad de la secuencia de ADNr 16S completa de las cepas de *Paenibacillus* de la invención con taxones relacionados después de la alineación de múltiples secuencias.

Leyenda: * Números de cepas: 1 = cepa de *Paenibacillus* Lu16774 de *Paenibacillus*; 2 = cepa Lu17015 de *Paenibacillus*; 3 = cepa Lu17007 de *Paenibacillus*; 4 = NRRL BD-62 de *Paenibacillus peoriae*; 5 = MH21 de *Paenibacillus anaericanus*; 6 = PB172 de *Paenibacillus brasiliensis*; 7 = 324 de *Paenibacillus campinasensis*; 8 = JCM 9905 de *Paenibacillus chibensis*; 9 = DSM 5162 de *Paenibacillus glucanolyticus*; 10 = FeL05 de *Paenibacillus hunanensis*; 11 = CECT 5266 de *Paenibacillus jamilae*; 12 = AM49 de *Paenibacillus kribbensis*; 13 = MB 1871 de *Paenibacillus lactis*; 14 = JCM 9073 de *Paenibacillus lautus*; 15 = IAM 12467 de *Paenibacillus macerans*; 16 = 2301065 de *Paenibacillus massiliensis*; 17 = HSCC 492 de *Paenibacillus pabuli*; 18 = DSM 8320 (BD-57) de *Paenibacillus peoriae*; 19 = S22 de *Paenibacillus pini*; 20 = IAM 13419 de *Paenibacillus polymyxa*; 21 = ES_MS17 de *Paenibacillus purispatii*; 22 = GT-H3 de *Paenibacillus sediminis*; 23 = AM141 de *Paenibacillus terrae*; 24 = A35 de *Paenibacillus terrigena*; 25 = 2301032 de *Paenibacillus timonensis*; 26 = MOL722 de *Paenibacillus turicensis*; 27 = N3/975 de *Paenibacillus uliginis*; 28 = CCUG 47242 de *Cohnella thermotolerans*. Las cepas 6 a 28 son cepas tipo para las especies respectivas.

15 Las similitudes de las nuevas cepas con *Paenibacillus peoriae* (NRRL BD-62 y DSM 8320) se han marcado en negrita.

La Figura 10 muestra un dendrograma filogenético calculado a partir del % de identidad de las secuencias de ADNr 16S de las cepas de *Paenibacillus* de la invención con otros taxones (Fig. 9). La raíz del árbol se determinó mediante la inclusión de la secuencia del gen de ARNr 16S de *Cohnella thermotolerans* en el análisis. La barra de escala debajo del dendrograma indica una sustitución de nucleótidos por cada 100 nucleótidos.

20 La Figura 11 muestra el patrón de RiboPrint obtenido a partir de muestras de las cepas de *Paenibacillus* de la invención en comparación con una muestra de la cepa BD-62 de *P. peoriae* estrechamente relacionado que utiliza el sistema de caracterización microbiano RiboPrinter y un dendrograma filogenético resultante del mismo.

La Figura 12 muestra el porcentaje de identidad de la secuencia del gen *dnaN* de las cepas de *Paenibacillus* de la invención con las cepas de *Paenibacillus* relacionadas después de la alineación de secuencias múltiples.

25 Leyenda: * Números de cepa: 1 = cepa Lu16774 de *Paenibacillus*; 2 = cepa Lu17007 de *Paenibacillus*; 3 = cepa Lu17015 de *Paenibacillus*; 4 = DSM 8320^T de *P. peoriae* = KCTC 3763^T (GenBank acceso no. AGFX00000000; J. Bacteriol. 194, 1237-1238, 2012); 5 = 1-43 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. ASRZ01000000; número de depósito GCMCC 4965; CN 102352332 B); 6 = A18 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. JWJJ00000000.1; NCBI Project ID 225496); 7 = ATCC 842^T de *P. polymyxa* = DSM 36^T = KCTC 3858^T (GenBank acceso no. AFOX00000000; J. Bacteriol. 193 (18), 5026-5027, 2011); 8 = CF05 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. CP009909; Genome Announc 3 (2): e00198-15. Doi: 10.1128/genomeA.00198-15); 9 = CICC 10580 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. JNCB00000000; Genome Announc. 2 (4): e00854-14. doi: 10.1128/genomeA.00854-14); 10 = DSM 365 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. JMIQ00000000; J. Biotechnol. 195, 72-73, 2015); 11 = E681 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. CP000154; GenomeNet Ref Seq NC_014483.2; J. Bacteriol. 192 (22), 6103-6104, 2010); 12 = M-1 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. HE577054.1; GenomeNet Ref Seq NC_017542.1); 13 = NRRL B-30509 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. JTHO00000000; Genome Announc. Marzo-abril de 2015; 3 (2): e00372-15); 14 = SC2 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. CP002213; J. Bacteriol. 193 (1), 311-312, 2011); 15 = SQR-21 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. CP006872; GenomeNet Ref Seq NZ_CP006872.1; Genome Announc. Marzo-abril de 2014; 2 (2): e00281-14); 16 = Sb3-1 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. CP010268; Genome Announc. Marzo-abril de 2015; 3 (2): e00052-15); 17 = TD94 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. ASSA00000000); 17 = WLY78 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. ALJV00000000); HPL-003 de *P. terrae* (GenBank acceso no. CP003107; NCBI Ref Seq NC_016641.1); CR1 de *P. polymyxa* (GenBank acceso no. CP006941; Genome Announc. Enero-febrero de 2014; 2 (1): e01218-13).

35 La Figura 13 muestra el porcentaje de identidad de la secuencia de ADN del gen *gyrB* completo de las cepas de *Paenibacillus* de la invención con las cepas de *Paenibacillus* relacionadas después de la alineación de múltiples secuencias. Los números de cepa se describen en leyenda en la Fig. 12.

La Figura 14 muestra el porcentaje de identidad de la secuencia de ADN del gen *recF* completo de las cepas de *Paenibacillus* de la invención con las cepas de *Paenibacillus* relacionadas después de la alineación de múltiples secuencias. Los números de las cepas se describen en leyenda a la Fig. 12.

50 La Figura 15 muestra el porcentaje de identidad de la secuencia de ADN del gen *recN* completo de las cepas de *Paenibacillus* de la invención con las cepas de *Paenibacillus* relacionadas después de la alineación de múltiples secuencias. Los números de las cepas se describen en leyenda a la Fig. 12.

La Figura 16 muestra el porcentaje de identidad de la secuencia de ADN del gen *rpoA* completo de las cepas de *Paenibacillus* de la invención con las cepas de *Paenibacillus* relacionadas después de la alineación de múltiples secuencias. Los números de las cepas se describen en leyenda a la Fig. 12.

La Figura 17 muestra el dendrograma de máxima probabilidad con base en la secuencia del gen *dnaN* completo de las cepas del complejo de *P. polymyxa*. La escala de 0,1 mostrada corresponde a intercambios de 1% de nucleótidos.

La Figura 18 muestra el dendrograma de máxima probabilidad con base en la secuencia del gen *gyrB* completo de las cepas del complejo de *P. polymyxa*. La escala de 0,1 mostrada corresponde a intercambios de 1% de nucleótidos.

La Figura 19 muestra el dendrograma de máxima probabilidad con base en la secuencia del gen *recF* completo de las cepas del complejo de *P. polymyxa*. La escala de 0,1 mostrada corresponde a intercambios de 1% de nucleótidos.

- 5 La Figura 20 muestra el dendrograma de máxima probabilidad con base en la secuencia del gen *recN* completo de las cepas del complejo de *P. polymyxa*. La escala de 0,1 mostrada corresponde a intercambios de 1% de nucleótidos.

La Figura 21 muestra el dendrograma de máxima probabilidad en función de la secuencia del gen *rpoA* completo de las cepas del complejo de *P. polymyxa*. La escala de 0,1 mostrada corresponde a intercambios de 1% de nucleótidos.

- 10 La Figura 22 muestra la matriz del índice de aminoácidos (AAI) de genomas representativos del complejo de *P. polymyxa* realizado de acuerdo con el Ejemplo 2.5. Los números de las cepas se describen en la leyenda a la Fig. 12.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> BASF SE

<120> Cepa de *Paenibacillus*

15

<130> 0000077456

<160> 3

20

<170> BiSSAP 1.2

<210> 1

<211> 1539

<212> ADN

25

<213> *Paenibacillus* sp.

<220>

<221> fuente

<222> 1..1539

30

<223> /organismo="*Paenibacillus polymyxa* spp. *plantarum*" /nota="ADNr 16S de la cepa Lu16774 completa"/tipo de molécula="otro ADN"

<220>

<221> no seguro

<222> 37, 58, 60, 65, 82, 87, 89, 204, 263, 645, 1020, 1264, 1457

35

<400> 1

```

tttgatcctg gctcaggacg aacgctggcg gcgtgcntaa tacatgcaag tcgagcgngn      60
ttatntagaa gcttgcttct anaattnca gggcgggacg ggtgagtaac acgtaggcaa      120
cctgcccaca agacagggat aactaccgga aacggtagct aataccgat acatcctttt      180
cctgcatggg agaaggagga aagncggagc aatctgtcac ttgtggatgg gcctgcgggc      240
cattagctag ttggtggggt aanggcctac caaggcgacg atgcgtagcc gacctgagag      300
ggtgatcggc cacactggga ctgagacacg gccagactc ctacgggagg cagcagtagg      360
gaatcttccg caatgggca aagcctgacg gagcaacgcc gcgtgagtga tgaagtttt      420
cggatcgtaa agctctgttg ccaggaaga acgtcttcta gagtaactgc tacaagagtg      480
acggtacctg agaagaaagc cccggctaac tacgtgccag cagcccggt aatacgtagg      540
gggcaagcgt tgtccggaat tattgggct aaagcgcgcg caggcggctc ttaagtctg      600
gtgtttaatc ccgaggctca acttcgggtc gcactggaaa ctgngagct tgagtgcaga      660
agaggagagt ggaattccac gtgtagcggg gaaatgcgta gagatgtgga ggaacaccag      720
tggcgaaggc gactctctgg gctgtaactg acgctgaggc gcgaaagcgt ggggagcaaa      780
caggattaga taccctggtg gtccacgccg taaacgatga atgctagggtg ttaggggtt      840
cgataccctt ggtgccgaag ttaacacatt aagcattccg cctggggagt acggtcgcaa      900
gactgaaact caaaggaatt gacggggacc cgcacaagca gtggagtatg tggtttaatt      960
cgaagcaacg cgaagaacct taccaggtct tgacatccct ctgaccggtc tagagatagn     1020
cctttccttc gggacagagg agacaggtgg tgcattggtg tcgtcagctc gtgtcgtgag     1080
atgttgggtt aagtcccga acgagcgcaa cccttatgct tagttgccag caggtcaagc     1140
tgggcactct aagcagactg ccggtgacaa accggaggaa ggtggggatg acgtcaaadc     1200
atcatgcccc ttatgacctg ggctacacac gtactacaat ggccgtaca acgggaagcg     1260
aagncgcgag gtggagccaa tcctagaaaa gccggtctca gttcggattg taggctgcaa     1320
ctcgcctaca tgaagtcgga attgctagta atcgcggatc agcatgccgc ggtgaatacg     1380
ttcccgggtc ttgtacacac cggcctcac accacgagag tttacaacac ccgaagtcgg     1440
tgaggtaacg gcaagngcc agcccgcaa ggtgggtag atgattgggg tgaagtcgta     1500
acaaggtagc cgtatcgga ggtgcggctg gatcacctc                               1539

```

- 5 <210> 2
- <211> 1545
- <212> ADN
- <213> *Paenibacillus* sp.

- <220>
- 10 <221> fuente
- <222> 1..1545
- <223> /organismo="*Paenibacillus polymyxa* ssp. *plantarum*" /nota="ADNr 16S de la cepa Lu17007 completa" tipo de molécula="otro ADN"

- <220>
- 15 <221> no seguro
- <222> 58, 60, 65, 82, 87, 645, 1020

- <400> 2

ttgatcctg gctcaggacg aacgctggcg gcgtgcctaa tacatgcaag tcgagcgngn 60
 ttatntagaa gcttgcttct anataancta gcggcgagc ggtgagtaac acgtaggcaa 120
 cctgcccaca agacagggat aactaccgga aacggtagct aataccgat acatcctttt 180
 cctgcatggg agaaggagga aagacggagc aatctgtcac ttgtggatgg gcctgcgggc 240
 cattagctag ttggtggggg aawggcctac caaggcgagc atgcgtagcc gacctgagag 300
 ggtgatcggc cacactggga ctgagacacg gccagactc ctacgggagg cagcagtagg 360
 gaatcttccg caatgggcca aagcctgacg gagcaacgcc gcgtgagtga tgaaggtttt 420
 cggatcgtaa agctctgttg ccagggaga acgtcttgta gagtaactgc tacaagagtg 480
 acggtacctg agaagaaagc cccggctaac tacgtgccag cagccgcggt aatacgtagg 540
 gggcaagcgt tgtccggaat tattgggctg aaagcgcgag caggcggctc tttaagtctg 600
 gtgtttaatc ccgaggctca acttcgggtc gcactggaaa ctgngagct tgagtgcaga 660
 agaggagagt ggaattccac gtgtagcggg gaaatgcgta gagatgtgga ggaacaccag 720
 tggcgaaggc gactctctgg gctgtaactg acgctgaggc gcgaaagcgt ggggagcaaa 780
 caggattaga taccctggta gtccacgccg taaacgatga atgctaggtg ttaggggttt 840
 cgataccctt ggtgccgaag ttaacacatt aagcattccg cctggggagt acggtcgcaa 900
 gactgaaact caaaggaatt gacggggacc cgcacaagca gtggagtatg tggtttaatt 960
 cgaagcaacg cgaagaacct taccaggtct tgacatccct ctgaccggtc tagagatagn 1020
 cctttccttc gggacagagg agacaggtgg tgcattggtg tcgtcagctc gtgtcgtgag 1080
 atgttgggtt aagtcccga acgagcgcaa cccttatgct tagttgccag caggtcaagc 1140
 tgggactct aagcagactg ccggtgacaa accggaggaa ggtggggatg acgtcaaadc 1200
 atcatgcccc ttatgacctg ggctacacac gtactacaat ggccgtaca acgggaagcg 1260
 aagccgcgag gtggagccaa tcctagaaaa gccggtctca gttcggattg taggctgcaa 1320
 ctgcctaca tgaagtggga attgctagta atcgcggatc agcatgccgc ggtgaatacg 1380
 ttcccgggtc ttgtacacac cgcctgtcac accacgagag ttacaacac ccgaagtccg 1440
 tgaghtaacc gcaaggagcc agccgccgaa ggtggggtag atgattgggg tgaagtcgta 1500
 acaagtagc cgtatcggaa ggtgcggtg gatcacctcc tttct 1545

5 <210> 3
 <211> 1547
 <212> ADN
 <213> *Paenibacillus* sp.

10 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..1547
 <223> /organismo="Paenibacillus epiphyticus" /nota="ADNr 16S de la cepa Lu17015 completa" /tipo de molécula="otro ADN"

<220>
 <221> no seguro
 <222> 68, 87, 1024

<400> 3

5

tgagtttgat	cctggctcag	gacgaacgct	ggcggcgtgc	ctaatacatg	caagtcgagc	60
ggggttgntt	agaagcttgc	ttctaancaa	cctagcggcg	gacgggtgag	taacacgtag	120
gcaacctgcc	cacaagacag	ggataactac	cggaaacggt	agctaatacc	cgatacatcc	180
ttttcctgca	tgggagaagg	aggaaagacg	gagcaatctg	tcacttgtgg	atgggcctgc	240
ggcgcattag	ctagttggtg	gggtaaaggc	ctaccaaggc	gacgatgctg	agccgacctg	300
agagggtgat	cggccacact	gggactgaga	cacggcccag	actcctacgg	gaggcagcag	360
tagggaatct	tccgcaatgg	gcgaaagcct	gacggagcaa	cgccgcgtga	gtgatgaagg	420
ttttcggatc	gtaaagctct	gttgccaggg	aagaacgtct	tgtagagtaa	ctgctacaag	480
agtgacggtg	cctgagaaga	aagccccggc	taactacgtg	ccagcagccg	cggtaatagc	540
tagggggcaa	gcgttgtccg	gaattattgg	gcgtaaagcg	cgcgcaggcg	gctctttaag	600
tctggtgttt	aatcccagag	ctcaacttcg	ggtcgcactg	gaaactgggg	agcttgagtg	660
cagaagagga	gagtggaatt	ccacgtgtag	cggtgaaatg	cgtagatatg	tggaggaaca	720
ccagtggcga	aggcgactct	ctgggctgta	actgacgtg	aggcgcgaaa	gcgtggggag	780
caaacaggat	tagataccct	ggtagtccac	gccgtaaacg	atgaatgcta	ggtgtagagg	840
gtttcgatac	ccttggtgcc	gaagttaaca	cattaagcat	tccgcctggg	gagtacggtc	900
gcaagactga	aactcaaagg	aattgacggg	gacccgcaca	agcagtggag	tatgtggttt	960
aattcgaagc	aacgcgaaga	accttaccag	gtcttgacat	ccctctgacc	ggtctagaga	1020
tagncctttc	cttcgggaca	gaggagacag	gtggtgcatg	gttgtcgtca	gctcgtgtcg	1080
tgagatggtg	ggttaagtcc	cgcaacgagc	gcaaccctta	tgcttagttg	ccagcaggtc	1140
aagctgggca	ctctaagcag	actgccggtg	acaaaccgga	ggaaggtggg	gatgacgtca	1200
aatcatcatg	ccccttatga	cctgggctac	acacgtacta	caatggcccg	tacaacggga	1260
agcgaaatcg	cgaggtggag	ccaatcctag	aaaagccggt	ctcagttcgg	attgtaggct	1320
gcaactcgcc	tacatgaagt	cggaattgct	agtaatcgcg	gatcagcatg	ccgcggtgaa	1380
tacgttcccc	ggtcttgtag	acaccgcccg	tcacaccacg	agagtttaca	acaccogaag	1440
tcggtggggg	aaccgcgaag	ggagccagcc	gccgaaggtg	gggtagatga	ttgggggtgaa	1500
gtcgtaaaca	ggtagccgta	tcggaaggtg	cggctggatc	acctcct		1547

10 <210> 4
 <211> 1143
 <212> ADN
 <213> *Paenibacillus* sp.

<220>

<221> fuente

<222> 1..1143

5 <223> /organismo="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /nota="dnaN de la cepa Lu16774" /tipo de molécula="ADN"

<400> 4

```

atgaagatta gcattctgaa aaacgttttg aacgaggcca tacaacatgt atccaaagcg      60
atatccagtc gaacgacaat tccaattttg agtggtatta agctggatgt gaatcaccag      120
ggagtccacac tgaccgccag cgatacagac atctctatctc aatcctttat tccgatggag      180
gatggtgacc aaacggtcgt tcagatcgaa caaccgggca gtgtagtgct acccgctaaa      240
ttctttgtcg aaattatcaa aaagttgccg tctcaggaga tccgtatgga ggtaaaagac      300
caattccaaa cctttatctc atccggtgct actgaaattc agatcgttgg tttggaccct      360
gaagaatttc cggtgcttcc caacattgaa gaaatcaag tgatctctgt gccaggtgat      420
ttgcttaaaa atatgattaa acagacggta ttctccatct ctacccatga aacgacacct      480
atthtgactg gtgtattgtg gaatctggct gagggcgaat tgaaatttgt cgcaacggac      540
cgccaccgcc ttgccaccog cagcgtctcat ttggagacgt ctgaaggctt gcgttttagc      600
aatgttgtca ttgcaggcaa aacgctcaat gagctgagca gaattattcc ggatcaaaat      660
atgcttgtgg atatcgtcgt agcggacaat caggtattat ttaaggtgga tcgcgtgtta      720
ttttactctc gcatcttggg cggcacctat cctgatactt ctagaattat tccgacttcc      780
tacaaaacag aactgattgt ggacacaaaa agtttgagcg agtctattga ccgtgcttat      840
ttgctgtccc gtgaggaaaa aacgaatatt gtaaaaatgc aatcgttggg aaacggtgat      900
ctagagattt cctccagctc atctgaactt ggtaaagtgc gtgaggaagt aaatgatatcc      960
aaatttgagg gagagccact caaaatctcg ttcaactcca aatatatgct cgacgtgctg     1020
aaggtaattg acagcgagca gctgacgatt gcttttaccg gcattatgag cccattatt      1080
ttaaaccggg cagattccag caatgcgctg tatatcatcc tgccatatcg cacaaccaac     1140
tag                                                                                   1143

```

10

<210> 5

<211> 1980

<212> ADN

<213> Paenibacillus sp.

15

<220>

<221> fuente

<222> 1..1980

<223> /organismo="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /nota="gyrB de la cepa Lu16774" /tipo de molécula="ADN"

20

<400> 5

atggtcgaca	aaatcgactt	gtctgcggga	gcttccggta	cacagaacgg	agcttcagaa	60
tatggcgcgg	acgacattca	agtgctcgaa	gggcttgtgg	cagttcgcaa	acggccgggc	120
atgtacatcg	ggagcaccag	ttcttcggga	ctgcatcatt	tggtatggga	aattgtagac	180
aacgcggtgg	atgaacatct	cgccaagttt	tgctctcgca	ttgatatcac	aatgcataag	240
gacggttctg	ttacagtatc	agacaacggg	cgcggtattc	ctacgggaat	gcacaaaatg	300
ggaattccta	cgctcaagt	tgtattcacc	atthttgcacg	ccggaggtaa	gthttggcgg	360
tcgggatata	aaaagtccgg	gggtctgcat	gggtaggtg	cgtctgtaac	gaacgctctt	420
tcggaatggc	ttgaagtgga	aatctaccgg	gacggcaaga	ttcaccgtca	gcggtttgaa	480
tattggcagg	acaagaaggg	cgtggagcat	gtcggtgaac	cgaccacagg	ccttgaagtg	540
ctgggcaata	ctaacaagac	gggctcgaaa	attacattta	aaccggatat	tcgcgttttt	600
cagtcaggaa	ttcattttta	ctacgatacg	ctggctgaac	gccttcagga	gattgctttt	660
ctgaattccg	gccttcgtat	tcagcttaaa	gacgaacgca	gcggaaagtc	agatgaatat	720
ttttatgagg	gtggagcaag	tcagtttgtt	tcttttttga	atgagggtaa	ggatgtactg	780
catgatgta	ttcactttta	tgccgagaaa	gaagacattg	aagtggagat	tgccatccaa	840
tacaatgccg	gctacacaga	gacgattgct	tcgttcgtta	actccattcc	gacacgtggc	900
gggggtacgc	atgaaacagg	cttcaaaacc	gcttacactc	gtatcatgaa	cgactatgca	960
cgaaaacag	cgatgttgaa	ggaaaaggat	aaaaacctgg	aaggtaacga	tctgcgtgag	1020
ggtatgatgg	ctgtaatcag	tgtcaagatg	gccgaggttg	aatttgtcgg	tcagacaaaa	1080
gatcagctgg	gtagtgcttc	ggcgcggagt	acagtggatg	ccatcgtatc	tgaacaaatg	1140
cagcgtttt	tggaggaaaa	tccacagata	gcgcaaacct	tgatcagaaa	ggcagttcaa	1200
gcatccaaag	cgcgtgaagc	tgcacgtaag	gctcgggacg	aatgcgctc	tggcaagaaa	1260
cgcagtgaaa	gttctaattt	gaatggcaaa	ctgtgcctg	cgcagtctaa	ggattttaca	1320
cgtaatgagt	tatttatcgt	ggaaggcgat	tcggctggag	gatcggccaa	acaaggacgg	1380
gattccaaaa	tccaggcaat	tttgccgtta	aagggcaagc	cgatgaatcc	ggaaaaatca	1440
aagttggcgg	atattatgaa	aatgatgag	tatcgtgoga	ttacggcagc	gattggcggc	1500
gggtaggaa	ctgagttcac	gctggaagac	agcaattatt	ccaaaatcat	cattatgacc	1560
gatgcagata	cagatggcgc	gcacattcaa	gtactgttgt	tgacgttctt	ttatcggtac	1620
atgaaagaac	tcattgatgc	aggacgcata	tttattgctc	agccgccatt	gtataaaata	1680
acccgcaagt	cgggtaagct	cgaaacggtt	cgttatgcct	ggactgacga	gcagcttgat	1740
aattacttaa	aagaatttgg	acgaaatttt	gagcttcaac	gttataaagg	actcggggag	1800
atgaaccctg	atcagttatg	ggaaacgaca	atgaaatccc	agtcacgcac	cctggtgcgc	1860
gttcagattg	aggatgctgc	caaagctgaa	cgccgtgtgt	ccacattgat	gggtgataag	1920
gtggatccac	gtaagcgcgt	gatcgtggaa	aacgtggatt	tcacggaata	cgtagagtag	1980

<210> 6
 <211> 1116
 <212> ADN
 <213> *Paenibacillus* sp.

5 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..1116
 <223> /organismo="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /nota="recF de la cepa Lu16774" /tipo de molécula="ADN"

10 <400> 6

```

gtgtttgtga acaacattgt tttgcagcag taccggaact ataaacagct ggagctgaat      60
gaattcgggc ccgttaattt gctgatcgga caaaatgcmc aaggcaaac gaatctggtt      120
gaggcgattt ttgtattagc cttactaaa agtcaccgaa cgtcccgtga caaggaatta      180
atttctttcg gggctacttc cacacatcta gctgctgatg tggataagaa atacgggaaa      240
atcagattgg atctctcggt atccacacaa ggcaaaaaag caaagatcaa cgggctagag      300
cagcгааagc tgagcgattt tatcggttcg ttaaactggt tcatgtttgc gcccgaggat      360
ctggaaattg tcaaaggaac accggggggt cgcgcgggt ttcttgacat ggaaattgga      420
caagttgcmc caggatattt gtatcatttg cagcaatata agaaagtgct gggtcagcgg      480
aataacctgc tcaagcaagc ttgggggaaa gatatggcgt ccgtgcagct gatgctggag      540
gtatggaatg agcaacttgt tgagcatggt gttaaaattg taaaaagcg gaaacaattt      600
ataacaaagc tacaaaagtg ggcccaagcc attcatgaag ggattgcagg tgggacagaa      660
gagttaaaat tagcctatgt tccctctttc ggtgagccag aggaagaaga tgaagctgtc      720
ttattggagc gatttatgat aaagttatcc caaatgaggg aacaggaaat ccgccgtggc      780
atgactttgg cgggacccca tcgtgatgat ttggcctttg cattaacgg cagagaagtg      840
catagctatg gctctcaggg gcagcagcgg acgacggccc tgtctttgaa gctggccgaa      900
atagaattaa ttcattgagga aattggggag tatcctatcc tgctgctgga tgatgtattg      960
tccgagctgg acccctatcg tcagactcag ctgatcgaga ctttccaaag caaggtacag     1020
acctttatca cggcaaccgg gattgagcgg ttgaacgcag aacgacttaa gggtgcccat     1080
atztatcacg tccacgacgg gcatgtggaa cactaa                                  1116
    
```

15 <210> 7
 <211> 1719
 <212> ADN
 <213> *Paenibacillus* sp.

20 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..1719
 <223> /organismo="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /nota="recN de la cepa Lu16774" /tipo de molécula="ADN"

<400> 7

```

atgctggtca ctttgtctat acggaatttg gcagtcgtag aagctgtcga tgttcatttt      60
tataaaggat ttcattgtatt gagcggagaa actggtgctg gtaaaccat tattatcgac      120
gcacttgggc tgattgcggg cggcagggga tctgctgac tagtgcgta cggatgtgat      180
aaagccgaaa tggaaagcctt gtttgaattg ccggtcaaac atcccgtttg gaatacgttg      240
gaggaacaag ggattaaggc taatccagaa gagcatttgc tgattcgtcg agaacttaca      300
gttcagggga aaagctcatc tcgaattaac ggtcagatgg ttaatttaac gatgctgcgt      360
gaggtaggtg agcaactcgt taatatccac gggcagcatg agcatcaaag cttgctgcgt      420
gcggatcgcc atcttgcgct gctggatacg ttcggtgact cggtcattgg tccagtcaaa      480
gcgctttacc gggagcgcta caatgctttt gtcaaagcgg aaaaagaagt aagagaattg      540
caaagctcca gtcaaaaggc ttatcagcta ttggacatgt atcgcttcca attggaagag      600
atcgctgcgg cggagttaaa attgggtgaa gatgaattat tggcagagga acgggtcaag      660
ctatcccata gtgagaaaat gatggatgga gtatcaggag catacgagct gttaagtggc      720
agagtggtc tggatacggc caataacgtg ttgtccagat taaatgatgt tcagagctac      780
gacagtaaaa gccttcagcc cattgcggag cagattcaat ctgctttcta tcagttggag      840
gatgcagcgt ttcaattacg ctcttatcgt gaggatattg aatttaatcc gggcaagctg      900
catgaggtgg agcaacgttt gaatcaaatt accgggttac agcgaataa tggatgatag      960
atagagcaga ttttggaaata ctatagccgt attgagcagg aaaccgatct gttggaaaat     1020
aaagatgagc ggctggagca gctcattgca aagcgggatg agttgctttc gaatttgctg     1080
gagattgctg aagagcttac agaggcacgt gaaatttgtg ctgaagagct tcgagagcaa     1140
gtagagcagg aattaaaga tcttcaaatg gaaagaacgt cactcaaggt gcgtattgat     1200
ccaattgaag atccacgtgg atatgaatat aaaggtctaa aggtacgacc taccaagcaa     1260
gggatagata atgcggaatt tctgatttcg cccaatccag gtgagccact tcgcccactc     1320
ggtaaaatcg cttccggtgg tgagttatca cgtatcatgt tggcagatgaa aagtattttt     1380
gcgcgtcatg atcaaattcc ggtgctcatt tttgacgagg tggataccgg ggtaagtgg      1440
cgtgcagctc agtccatagc cgagaagctt tatcgtttgt cttccgtttg tcaggtgttt     1500
tccattactc atttgccgca ggtggcatgt atggcagatc atcagtacct gattgagaaa     1560
aatgttcatg acggacggac catgactcaa attgagggac taacggagga aggtcgtggt     1620
aaggaattgg cacggatgct ggggtgggta gaaattaccg aaaaacatt gcatacgcga     1680
caggaaatgc tgaatttggc ggaaggaaag aaagcctga      1719

```

5 <210> 8
 <211> 945
 <212> ADN
 <213> *Paenibacillus* sp.

10 <220>
 <221> fuente

<222> 1..945

<223> /organismo="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /nota="rpoA de la cepa Lu16774" /tipo de molécula="ADN"

<400> 8

5

```

gtgatagaaa tcgaaaagcc gaaaattgag acggttgacg tcaatgatga tggcacctat      60
ggaaaattcg tagtagaacc gctggaacgc ggatacggta cgacgcttgg gaactcgctt      120
cgccgtattc tgttatcctc gttaccgggg gcagcagtca catcggttca gatcgatggg      180
gttctgcacg agtttgcaac ggttcccggg gtgaaggaag acgtaacgga gatcattctg      240
aacttgaaag ctttatcgct taaaatccac tcagatgaag agaaagtact tgaaatcgat      300
gcggaaggcg aaggagttgt aacggcaggt gatatccgtg cggatagtga tgtggaaatt      360

cttaatccgg atcttcacat tgcaacgctc ggaccggggt cgagacttca catgcgtatt      420
tttgccaatc gcggtcgcgg ttacgttaag caggatcggg ataaacgtga tgaccagccg      480
atcggcgtca ttcccgtcga ctccatctac actccgattg cacgcgtgaa ctacggcgta      540
gaaaatacgc gtgtcggcca ggttacgaat tatgacaagc tgacacttga ggtttggact      600
gacggaacta ttcgtcctga agaagctgtg agccttggag caaaatttt gaccgagcat      660
gtgatgctat tcgtgggtct cacggatgaa gcaaaagatg cagaaattat ggtcgaaaaa      720
gaagaagaca aaaaagaaaa agttcttgaa atgacgatcg aagagctgga tctctccgtc      780
cgttcctata actgccttaa gcgcgctggt atcaatacgg tacaagaact cacgactaaa      840
tctgaagaag atatgatgaa ggtccgtaac ttgggtcgca aatctttgga agaagtacaa      900
gagaagctcg aggaacttgg tttaggactt cgtacggaag aatag                          945
    
```

<210> 9

10 <211> 1143

<212> ADN

<213> Paenibacillus sp.

<220>

<221> fuente

15 <222> 1..1143

<223> /organismo="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /nota="dnaN de la cepa Lu17007" /tipo de molécula="ADN"

<400> 9

```

atgaagatta gcattctgaa aaacgttttg aacgaggcca tacaacatgt atccaaagcg      60
atatccagtc gaacgacaat tccaattttg agtggtatta agctggatgt gaatcaccag      120
ggagtcacac tgaccgccag cgatacagac atctctattc aatcctttat tccgatggag      180
gatggtgacc aaacggtcgt tcagatcgaa caaccocgga gtgtagtgct acccgctaaa      240
ttctttgtcg aaattatcaa aaagttgccg tctcaggaga tccgatgga ggtaaaagac      300
caattccaaa cctttatctc atccggtgct actgaaatc agatcgttgg tttggaccct      360
gaagaatttc cggcgcttcc caacattgaa gaaaatcaag tgatctctgt gccaggatgat      420
ttgcttaaaa atatgattaa acagacggta ttctccatct ctacccatga aacgacacct      480
atthtgactg gtgtattgtg gaatctggct gagggcgaaat tgaaatttgt cgcaacggac      540
cgccaccgcc ttgccaccocg cagcgctcat ttggagacgt ctgaaggctt gcgthtttagc      600
aatgthgtca ttgcaggcaa aacgctcaat gagctgagca gaattattcc ggatcaaaat      660
atgctthgtg atactgctgt agcggacaat caggtattat ttaaggtgga tcgctgtgta      720
thttactctc gcatcttggg cggcacctat cctgatactt ctagaattat tccgacttcc      780
tacaaaacag aactgattgt ggacacaaaa agthtgagcg agtctattga ccgtgcttat      840
thgctgtccc gtgaggaaaa aacgaatatt gtaaaaatgc aatcgttggg aaacggtgat      900
ctagagattt cctccagctc atctgaactt ggtaaagtgct gtgaggaagt aatgtatcc      960
aaatttgagg gagagccact caaaatctcg thcaactcca aatatactgct cgacgtgctg     1020
aagthaattg acagcgagca gctgacgatt gctthtaccg gcattatgag cccattatt     1080
thaaaaccgg cagattccag caatgcgctg tatatcatcc tgccatctcg cacaccaaac     1140
tag                                                                           1143

```

- 5 <210> 10
 <211> 1980
 <212> ADN
 <213> *Paenibacillus* sp.
- 10 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..1980
 <223> /organismo="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /nota="gyrB de la cepa Lu17007" /tipo de molécula="ADN"
- <400> 10

atggtcgaca	aaatcgactt	gtctgcggga	gcttccggta	cacagaacgg	agcttcagaa	60
tatggcgcg	acgacattca	agtgctcgaa	gggcttgtgg	cagttcgcaa	acggccgggc	120
atgtacatcg	ggagcaccag	ttcttcggga	ctgcatcatt	tggtatggga	aattgtagac	180
aacgcggtgg	atgaacatct	cgccaagttt	tgctctogca	ttgatatcac	aatgcataag	240
gacggttctg	ttacagtatc	agacaacggg	cgcggtattc	ctacgggaat	gcacaaaatg	300
ggaattccta	cgctcaagt	tgtattcacc	atthtgcacg	cgggaggtaa	gtttggcggg	360
tcgggatata	aaaagtccgg	gggtctgcat	gggtaggtg	cgtctgtaac	gaacgctctt	420
tcggaatggc	ttgaagtgga	aatctaccgg	gacggcaaga	ttcaccgtca	gcggtttgaa	480
tattggcagg	acaagaaggg	cgtggagcat	gtcgggtaac	cgaccacagg	ccttgaagtg	540
ctgggcaata	ctaacaagac	gggctcgaaa	attacattta	aaccggatat	tcgctgtttt	600
cagtcaggaa	ttcattttaa	ctacgatacg	ctggctgaac	gccttcagga	gattgctttt	660
ctgaattccg	gccttctgat	tcagcttaaa	gacgaacgca	gcggaaagtc	agatgaatat	720
ttttatgagg	gtggagcaag	tcagtttgtt	tcttttttga	atgagggtaa	ggatgtactg	780
catgatgtta	ttcaacttta	tgccgagaaa	gaagacattg	aagtggagat	tgccatccaa	840
tacaatgccg	gctacacaga	gacgattgct	tcgttctgta	actccattcc	gacacgtggc	900
gggggtacgc	atgaaacagg	cttcaaaacc	gcttacactc	gtatcatgaa	cgactatgca	960
cgcaaaacag	cgatggtgaa	ggaaaaggat	aaaaacctgg	aaggtaacga	tctgcgtgag	1020
ggatgatgg	ctgtaatcag	tgtcaagatg	gccgaggttg	aatttgtcgg	tcagacaaaa	1080
gatcagctgg	gtagtgcttc	ggcgcgaggt	acagtggatg	ccatcgtatc	tgaacaaaatg	1140

cagcgctttt tggaggaaaa tccacagata gcgcaaacct tgatcagaaa ggcagttcaa 1200
 gcatccaaaag cgcggtgaagc tgcacgtaag gctcgggacg aatgcggtc tggcaagaaa 1260
 cgcagtgaaa gttctaattt gaatggcaaa ctgtcgctg cgcagtctaa ggattttaca 1320
 cgtaatgagt tatttatcgt ggaaggcgat tccgctggag gatcggccaa acaaggacgg 1380
 gattccaaaa tccaggcaat tttgccgta aagggcaagc cgatgaatcc ggaaaaatca 1440
 aagttggcgg atattatgaa aatgatgag tatcgtgca ttacggcagc gattggcggc 1500
 ggggtaggaa ctgagttcac gctggaagac agcaattatt ccaaatcat cattatgacc 1560
 gatgcagata cagatggcgc gcacattcaa gtactgtgtg tgacgttctt ttatcggtag 1620
 atgaaagaac tcattgatgc aggacgata tttattgctc agccgccatt gtataaaata 1680
 acccgcaagt cgggtaagct cgaacgggtt cgttatgcct ggactgacga gcagcttgat 1740
 aattacttaa aagaatttgg acgaaatttt gagcttcaac gttataaagg actcggggag 1800
 atgaaccctg atcagttatg ggaaacgaca atgaatcccg agtcacgcac cctgttgccg 1860
 gttcagattg aggatgctgc caaagctgaa cgccgtgtgt ccacattgat gggtgataag 1920
 gtggatccac gtaagcgctg gatcgtggaa aacgtggatt tcacggaata cgtagagtag 1980

<210> 11

<211> 1116

5 <212> ADN

<213> *Paenibacillus* sp.

<220>

<221> fuente

<222> 1..1116

10 <223> /organismo="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /nota="recF de la cepa Lu17007" /tipo de molécula="ADN"

<400> 11

gtgtttgtga acaacattgt tttgcagcag taccggaact ataaacagct ggagctgaat 60
 gaattcgggc ccgtaattt gctgatcggc caaatgcgc aaggcaaac gaatctggtt 120
 gaggcgattt ttgtattagc cttactaaa agtcaccgaa cgtcccgtga caaggaatta 180
 atttctttcg gggctacttc cacacatcta gctgctgatg tggataagaa atacgggaaa 240
 atcagattgg atctctcggt atccacacaa ggcaaaaaag caaagatcaa cgggctagag 300
 cagcgaaagc tgagcgattt tatcggttcg ttaaactggg tcatgtttgc gcccgaggat 360
 ctggaaattg tcaaaggaac accggggggt cgccgccggt ttcttgacat ggaaattgga 420
 caagttgcgc caggatattt gtatcatttg cagcaatata agaaagtgct ggttcagcgg 480
 aataacctgc tcaagcaagc ttgggggaaa gatatggcgt ccgtgcagct gatgctggag 540
 gtatggaatg agcaacttgt tgagcatggt gttaaaattg taaaaagcg gaacaattt 600
 ataacaaagc tacaaaagtg ggcccaagcc attcatgaag ggattgcagg tgggacagaa 660

gagttaaaat tagcctatgt tccctctttc ggtgagccag aggaagaaga tgaagctgtc 720
 ttattggagc gatttatgat aaagttatcc caaatgaggg aacaggaaat cgcctgtggc 780
 atgactttgg cgggacccca tcgtgatgat ttggcctttg ccattaacgg cagagaagtg 840
 catacgtatg gctctcaggg gcagcagcgg acgacggccc tgtctttgaa gctggccgaa 900
 atagaattaa ttcattgagga aattggggag tatcctatcc tgctgctgga tgatgtattg 960
 tccgagctgg acccctatcg tcagactcag ctgatcgaga ctttccaaag caaggtacag 1020
 acctttatca cggcaaccgg gattgagacg ttgaacgcag aacgacttaa ggggtgccat 1080
 atttatcacg tccacgacgg gcatgtggaa cactaa 1116

<210> 12

<211> 1719

<212> ADN

5 <213> *Paenibacillus* sp.

<220>

<221> fuente

<222> 1..1719

10 <223> /organismo="*Paenibacillus polymyxa* spp. *plantarum*" /nota="recN de la cepa Lu17007" /tipo de molécula="ADN"

<400> 12

atgctggtca ctttgtctat acggaatttg gcagtcgtag aagctgtcga tgttcatttt 60
 tataaaggat ttcattgtatt gagcggagaa actggtgctg gtaaattccat tattatcgac 120
 gcacttgggc tgattgcggg cggcagggga tctgctgatc tagtgcgta cggatgtgat 180
 aaagccgaaa tggaagcctt gtttgaattg ccggtcaaac atcccgtttg gaatacgttg 240
 gaggaacaag ggattaaggc taatccagaa gagcatttgc tgattcgtcg agaacttaca 300
 gttcagggga aaagctcatc tcgaattaac ggtcagatgg ttaatttaac gatgctgcgt 360
 gaggtaggtg agcaactcgt taatatccac gggcagcatg agcatcaaag cttgctgcgt 420
 gcggatcgcc atcttgcgct gctggatacg ttcggtgact cggtcattgg tccagtcaaa 480
 gcgctttacc gggagcgcta caatgctttt gtcaaagcgg aaaaagaagt aagagaattg 540
 caaagctcca gtcaaaaggc ttatcagcta ttggacatgt atcgcttcca attggaagag 600
 atcgctgcgg cggagttaaa attgggtgaa gatgaattat tggcagagga acgggtcaag 660
 ctatcccata gtgagaaaat gatggatgga gtatcaggag catacagact gttaagtggc 720
 agaggtggtc tgatcacggt caataacgtg ttgtccagat taaatgatgt tcagagctac 780
 gacagtaaaa gccttcagcc cattgcggag cagattcaat ctgctttcta tcagttggag 840
 gatgcagcgt ttcaattacg ctcttatcgt gaggatattg aatttaatcc gggcaagctg 900
 catgaggtgg agcaacgttt gaatcaaatt accgggttac agcgaataaa tggatgatag 960

atagagcaga ttttgaata ctatagccgt attgagcagg aaaccgatct gttggaaaat 1020
 aaagatgagc ggctggagca gctcattgca aagcgggatg agttgctttc gaatttgctg 1080
 gagattgctg aagagcttac agaggcacgt gaaatttgctg ctgaagagct tgcagagcaa 1140
 gtagagcagg aattaaaaga tcttcaaata gaaagaacgt cactcaaggt gcgtattgat 1200
 ccaattgaag atccacgtgg atatgaatat aaaggcttaa aggtacgacc taccaagcaa 1260
 gggatagata atgcggaatt tctgatttcg cccaatccag gtgagccact tcgccactc 1320
 ggtaaaatcg cttccggtgg tgagttatca cgtatcatgt tggcgatgaa aagtattttt 1380
 gcgcgcatg atcaaattcc ggtgctcatt tttgacgagg tggataccgg ggtaagtgg 1440
 cgtgcagctc agtccatagc cgagaagctt tatcgtttgt cttccgtttg tcaggtgttt 1500
 tccattactc atttgccgca ggtggcatgt atggcagatc atcagtacct gattgagaaa 1560
 aatgttcatg acggacggac catgactcaa attgagggac taacggagga aggtcgtggt 1620
 aaggaattgg cacggatgct ggggtgggta gaaattaccg aaaaaacatt gcatcacgca 1680
 caggaaatgc tgaatttggc ggaaggaaag aaagcctga 1719

<210> 13

<211> 945

<212> ADN

5 <213> *Paenibacillus* sp.

<220>

<221> fuente

<222> 1..945

10 <223> /organismo="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /nota="rpoA de la cepa Lu17007" /tipo de molécula="ADN"

<400> 13

gtgatagaaa tcgaaaagcc gaaaattgag acggttgacg tcaatgatga tggcacctat 60
 ggaaaattcg tagtagaacc gctggaacgc ggatacggta cgacgcttgg gaactogctt 120
 cgccgtattc tgttatcctc gttaccgggg gcagcagtca catcggttca gatcgatggg 180
 gttctgcacg agtttgcaac ggttcccgtg gtgaaggaag acgtaacgga gatcattctg 240
 aacttgaaag ctttatcgct taaaatccac tcagatgaag agaaagtact tgaaatcgat 300
 gcggaaggcg aaggagttgt aacggcaggt gatatccgtg cggatagtga tgtggaaatt 360
 cttaatccgg atcttcacat tgcaacgctc ggaccgggtt cgagacttca catgcgtatt 420
 tttgccaatc gcggtcgcgg ttacgttaag caggatcggga ataaacgtga tgaccagccg 480
 atcggcgtca tcccgtcga ctccatctac actccgattg cacgcgtgaa ctacggcgta 540
 gaaaatacgc gtgtcggcca ggttacgaat tatgacaagc tgacacttga ggtttgact 600
 gacggaacta ttcgtcctga agaagctgtg agccttggag ccaaaatttt gaccgagcat 660
 gtgatgctat tcgtgggtct cacggatgaa gcaaaagatg cagaaattat ggtcgaaaaa 720

gaagaagaca aaaaagaaaa agttcttgaa atgacgatcg aagagctgga tctctccgtc 780
 cgttcctata actgccttaa gcgcgctggt atcaatacgg tacaagaact cagcactaaa 840
 tctgaagaag atatgatgaa ggtccgtaac ttgggtcgca aatctttgga agaagtacaa 900
 gagaagctcg aggaacttgg tttaggactt cgtacggaag aatag 945

<210> 14

<211> 1143

<212> ADN

5 <213> *Paenibacillus* sp.

<220>

<221> fuente

<222> 1..1143

<223> /organismo="Paenibacillus epiphyticus" /nota="dnaN de la cepa Lu17015"/tipo de molécula="ADN"

10 <400> 14

atgaagatca gcattctgaa aaacgttttg aacgaggcta tacaacatgt atccaaagcg 60
 atatcaagtc ggactacgat tccaattctg agtgggatta agctggatgt gaatcaccag 120
 ggagtaacgc tgaccgccag cgatacagac atctccattc aatcctttat tccgatggag 180
 gatggtgacc aaactgttgt tcaggctgaa caaccggca gtggttgct gcctgcaaaa 240
 ttctttgtcg aaattatcaa aaagttgccg tcgcaggaga tccatatgga ggtaaaagac 300
 caatttcaaa cctttatctc gtctggcgca actgaaatc agattggtg cttggaccct 360
 gaagaattcc cgggtgcttc caacattgaa gaaaatcaag tcatctctgt accaggagat 420
 ttacttaaaa atatgattaa acagacggta ttctccatct ccaccacga aacgacaccg 480
 attttaactg gcgtggttg gaactctggct gaggggtaat tgaagtttgt ggcaacggac 540
 cgccaccgcc ttgccaccg tagcgctcat ttggagacgt ctgaaggctt gcgttttagc 600
 aatggtgtca ttgcgggcaa aacgctgaat gagctgagca gaattattcc agatcaaaat 660
 atgcttgtgg ataatcgtagt agcggacaat caggtattat tcaaagtaga tcgggtgcta 720
 ttttattccc gcatcttggc cggcacctat cctgatactt ctagaattat tccgacctcc 780
 taaaaaacag aactgattgt ggatacaaaa agtttaagtg agtcaattga ccgtgcttat 840
 ttgctgtccc gtgaggaaaa aacgaatatt gtaaaaatgc agtcgctgga aaatggcggg 900
 ttggagattt cctctagttc ctctgagctt ggcaaagtgc gtgaggaagt aactgtgtcc 960
 aaatttgagg gagagccgct caaaatttcg ttcaactcta aatacatgct cgacgtgctg 1020
 aaggtgattg acagcgagca gctgacgatt gcttttaccg gcattatgag cccattatt 1080
 ttaaaaccgg ctgattccag caatgcgctg tatatcatcc tgccatatcg cacaaccaac 1140
 tga 1143

<210> 15

<211> 1980

<212> ADN

15 <213> *Paenibacillus* sp.

<220>

<221> fuente

<222> 1..1980

<223> /organismo="Paenibacillus epiphyticus" /nota="gyrB de la cepa Lu17015"/tipo de molécula="ADN"

5 <400> 15

```

atggtcgaca aaatcgactt gtctgcggga gtgtccggca cacaaagcgg agcttcggaa      60
tatggcgcgg acgacattca agtgctcgaa gggcttgtgg cagttcgcaa acggccgggc      120
atgtacatcg ggagcaccag ttcttcgggg ctgcatcatt tggtatggga aattgtagac      180
aacgcggttg atgaacatct cgccaagttt tgctctcgca ttgatattac aatgcataag      240
gacggttccg ttacagtatc agacaacggg cgcggtattc ctacgggaat gcacaaaacg      300
ggaattccta cgcctcaggt tgtattcacc attttgcacg ccggaggtaa gtttggcggc      360
tcgggatata aaaaatccgg gggctcgcac ggtgtaggtg cgtctgtaac gaacgctctt      420
tcggaatggc ttgaagtaga aatttaccgg gacggcaaga ttcaccgtca gcggtttgaa      480
tattggcagg acaagaaggg cgtggagcat gtccgggaac cgaccacagg ccttgaagtg      540
ctgggcaata ctaacaagac gggctcgaaa attacattta aaccgatat tcgtgttttt      600
caggcaggca ttcatthta ctacgatacg ttggctgagc gccttcagga aattgctttt      660
ctaaattcgg gccttcgtat tcaacttaaa gacgaacgca gcggaaagt c agatgagtat      720
ttttatgagg gtggcgcaag tcagtttgtt gcttttctga atgagggcaa ggatgtgctg      780
catgacgtta ttactthta tgccgagaaa gaagacattg aagtagagat tgccatccag      840
tacaatgctg gttatacaga gacgattgct tcgttcgta actccattcc gacacgtgga      900
ggaggtacgc atgaaacggg attcaaaacc gcttacctc gtgtcatgaa cgactatgcc      960
cggaaaacgg tgatgttgaa agaaaaggat aaaaacttgg agggcaacga tctacgtgag     1020
ggcatgatgg ctgtaatcag tgtcaagatg gctgaggttg aatttgtcgg ccagacaaag     1080
gatcagctgg gaagcgcttc ggcacggagt acagtggatg ccatcgtatc tgagcagatg     1140
cagcgthttt tggaagaaa tccgcagata gcacaaactt tgatcaagaa ggcagttcaa     1200
gcatccagag cacgtgaagc tgcacgtaaa gctcgggatg aatgcgctc cggtaaaaag     1260
cgcagtgaaa gttccaattt gaatggtaaa ctatcgctg cgcagtcaa ggattttaca     1320
cgtaatgagt tgthtattgt ggaaggcgat tcggctggag gatcagccaa gcagggacgg     1380
gattcaaaaa ttcaggccat attgccgcta aagggcaagc cgatgaatcc ggaaaaatcc     1440
aaactggcgg atattatgaa gaatgatgag taccgtgcta ttacagcagc tattggtgcg     1500

```

ggagtaggaa cagagttttc gctggaagac agcaattatt ccaaaatcat cattatgacc 1560
 gatgcagata cagatggtgc gcacattcaa gtgctgttgt tgacgttctt ttatcggtag 1620
 atgaaagagc ttattgatgc aggacgcata tttattgctc aaccgccatt gtataaaata 1680
 actcgaaagt cgggtaagct cgaaacggtg cgttatgctt ggactgacga gcagcttgat 1740
 aattatthaa aagaatttgg acgaaattht gagcttcagc gctataaagg acttggggaa 1800
 atgaaccctg atcagttatg ggaaacaacg atgaatcccg attcacgcac cttgctacgc 1860
 gttcagatag aggatgcagc caaggctgaa cgcagggtgt ccactttgat gggtgataag 1920
 gtggatccgc gcaagcgcgtg gatcgtggaa aacgtagatt ttacggaata cgtagagtag 1980

<210> 16

<211> 1116

<212> ADN

5 <213> *Paenibacillus* sp.

<220>

<221> fuente

<222> 1..1116

<223> /organismo="*Paenibacillus* epiphyticus" /nota="*recF* de la cepa Lu17015"/tipo de molécula="ADN"

10 <400> 16

gtgtttgtga acaacattgt tttgcagcag taccggaact atgaacagct ggagctgaat 60
 gaatttgggc ccgtaattt gctgatcgga caaaatgcgc agggcaaac gaatctggta 120
 gaggcaattt ttgtactggc ttaaccaa agtcatcgaa cgtcccgcga caaggagta 180
 atctctttcg gggctacttc cactcaceta gctgcggatg tggataaaaa atacgggaaa 240
 atcagactgg atctcgcggt atccacacia ggcaaaaag caaagatcaa cggactggag 300
 cagcgcgaac tgagcagattt tatcggttcg ttaaagtgg tcatgtttgc acctgaggat 360
 ctggaaattg tgaaaggaac accggggggt cgccgcgggt ttcttgacat ggaaatcgga 420
 caggttgccg caggatatct gtatcattg cagcaatata agaaagtatt ggttcagcga 480
 aacaacctgc tcaagcaagc ttggggtaag gatatggcgt cagtgcagct gatgctggag 540
 gtatggaatg agcaacttgt tgagcatggt gttaaaattg ttaaaaagcg gaaacaattt 600
 ataacaaagc tacaaaagtg ggctcaggcc attcatgaag ggatcgcagg tgggacagaa 660
 gagttaaata taacctatgt tccctccttc agtgagccag aggaagaaga tgaagctgtc 720
 ttattggagc gatttatgat aaagttatcc caaatgaggg aacaggaaat ccgccgtggc 780
 atgactttgg cgggacccca tcgtgacgat ttggcctttg ccattaacgg cagagaagtg 840
 catacgtatg gctctcaggg gcagcagcgg acgacggccc tgtccttgaa gttggccgaa 900
 atagagttaa ttcagtagga aattggtgaa tatcctgtct tgctgctgga tgatgttttg 960
 tccgagctgg acccctatcg tcagaccag ctgatcgaga ctttccaaag caaggtacag 1020
 acctttatca cggcaaccgg ggttgagact ttgaacgcag aacgactcaa ggatgccaat 1080
 atttatcacg tccacgacgg gcatgtggaa cactaa 1116

<210> 17
 <211> 1719
 <212> ADN
 <213> *Paenibacillus* sp.

5 <220>
 <221> fuente
 <222> 1..1719
 <223> /organismo="*Paenibacillus* epiphyticus" /nota="recN de la cepa Lu17015 " /tipo de molécula="ADN"
 <400> 17

10

```

atgctggtca ctttgtctat acggaatttg gcggtcgtag aggccgtcga tgttcatttt      60
tataaagggt ttcatgtctt gagcggggaa acaggtgctg gtaaaccat tattatcgat      120
gcgcttggcc tgattgcagg cggtaggggc tctgctgac tagtgcgta cggtttgat      180
aaagcagaga tggaagcctt gtttgagctg ccggtaaaac atccagtttg gaaaacactt      240
gaggaacaag ggattaaggc caatgcggag gagcatttgc tgattcgtcg cgaacttacg      300
gttcagggga aaagctcttc tcgaattaac ggtcagatgg ttaatttaac gatgctgctg      360
gaggtaggtg agcagctcgt caatatccac gggcaacatg agcatcaaag cctgctacgt      420
gcagatcgcc atctggcgt gctggatacg ttcggtgatt cggatgatcgg tccagtcaaa      480
acgctttacc gtgagcgta caatgctttt gtcaaagcgg aaaaagaagt aagagaactg      540
caaagctcca gtcaaaaggc ttatcagctt ttggatatgt accgatttca attagaagag      600
atcgctgctg cggagttgaa attgggagaa gatgaattat tggcagagga acgggtcaag      660
ctatcccata gtgagaaaat gatggatggg atatcaggag catabgaact gctaagcggc      720
agaggtgggc tggatacgat caataacgta ttgtctagat tgaacgatgt ccaaagctat      780
gacagcaaaa gccttcagcc cattgcggag cagattcagt ctgcttttta ccagttagag      840
gacgcagcat tccaattacg ttcttatcgt gaggatattg aatttaatcc aggcaagctg      900
catgaagtgg agcaacgttt gaatcaaatt accggattac agcgaataa tggatgatag      960
atagagcaga ttttgaata ctatagccgt attgagcagg aaaccgatct gctggaaaat     1020
aaagatgagc ggctggagca gctcattgca aaacgggatg agttgctttc cgatttgctg     1080
gagatttcag aagagcttac agaagcacgt gaaatttgtg ctgaagagct tgcagagcaa     1140
gtggagcagg agttaaaga cctgcagatg gaaagaacgt cactcaaggt ggcattgat      1200
ccaattgaag atccacgctg atatgagtat aaaggtctga aggtaaggcc taccaagcaa     1260
ggaattgata atgcggaatt tcttatttca cccaatccag gtgagcact acgtccactt     1320

```

ggtaagatcg cttcaggcgg tgagctatca cgtatcatgt tggcgatgaa aagtatTTTT 1380
 gcgcgatcatg atcaaattcc agtactcatt tttgacgagg tggataccgg ggtgagtggT 1440
 cgtgcagctc aatccattgc cgagaagcta tatcgTTTT cttccgTTTg tcaggtgTTT 1500
 tccattactc atttgccaca ggtggcatgt atggcagatc atcagtacct tattgagaaa 1560
 aatgttcatg atggacggac catgactcaa attgagggac ttacggagga cgggcgtgTc 1620
 aaggaattgg cacggatgct gggcggcgtg gaaattaccg aaaaaacatt gcatcacgca 1680
 caggaaatgc tgaatttggc ggaaggaaag aaagcctga 1719

<210> 18

<211> 945

<212> ADN

5 <213> *Paenibacillus* sp.

<220>

<221> fuente

<222> 1..945

<223> /organismo="*Paenibacillus* epiphyticus" /nota="*rpoA* de la cepa Lu17015 " /tipo de molécula="ADN"

10 <400> 18

gtgatagaaa tcgaaaagcc gaaaattgag acggttgacg tcaatgatga tggcacctat 60
 ggaaaattcg tagtagaacc gctggaacgc ggatacggta cgacgTTggg aaactcgctt 120
 cgccgtattc tgttatcctc gttaccgggg gcagcagtca catcgTTtca gatcgatggg 180
 gttctgcacg agtttgcaac ggttcccggT gtgaaggaag acgtaacgga gatcattctg 240
 aacttgaaag ctttatcgct taaaatccac tcggatgaag agaaagtact cgaaatcgat 300
 gcggaaggcg aaggagttgt aacggcagga gatatccgtg cggatagtga tgtggaaatt 360
 cttaatccgg atcttcacat tgctacgctc ggaccgggTt cgagacttca catgcgtatt 420
 tttgccaatc gcggtcgggg ttacgttaag caggatcgga acaaacgtga tgaccagccg 480
 atcggcgtca ttcccgtcga ctccatctac actccgattg cacgcgtgaa ctaccggcgt 540
 gaaaatacgc gtgtcggcca ggttacgaat tacgacaagc tgacacttga ggtttggact 600
 gacggaagta ttcgtcccga ggaagcagtg agccttggag ccaaaatTTt gaccgagcat 660
 gtgatgttgt tcgtgggtct cacggacgag gcaaaagatg ctgaaattat ggttgaaaaa 720
 gaagaagaca agaaagaaaa agttcttgaa atgacgatcg aagagctgga tctctccgTc 780
 cgttcctata actgccttaa gcgcgctggt atcaatacgg tacaagaact cacgactaaa 840
 tctgaagaag atatgatgaa ggtccgtaac ttgggtcgca aatctttgga agaagtacaa 900
 gagaagctcg aggaacttgg tttaggactt cgtacggaag aatag 945

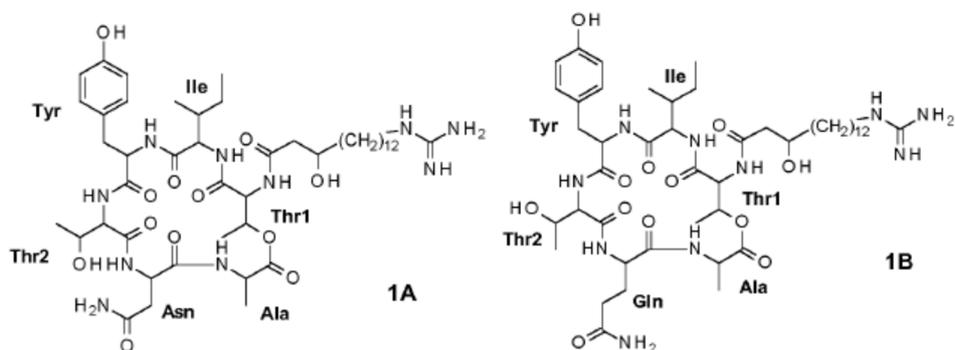
REIVINDICACIONES

1. Una cepa de *Paenibacillus*, que se selecciona del grupo que consiste en:

- cepa Lu16774 depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26969;
- cepa Lu17007 depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26970; y
- cepa Lu17015 depositada en DSMZ bajo el número de acceso DSM 26971.

2. La cepa de *Paenibacillus* de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicha cepa de *Paenibacillus* tiene actividad antifúngica contra al menos dos de los patógenos de la planta seleccionado del grupo que consiste en *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* y *Sclerotinia sclerotiorum*.

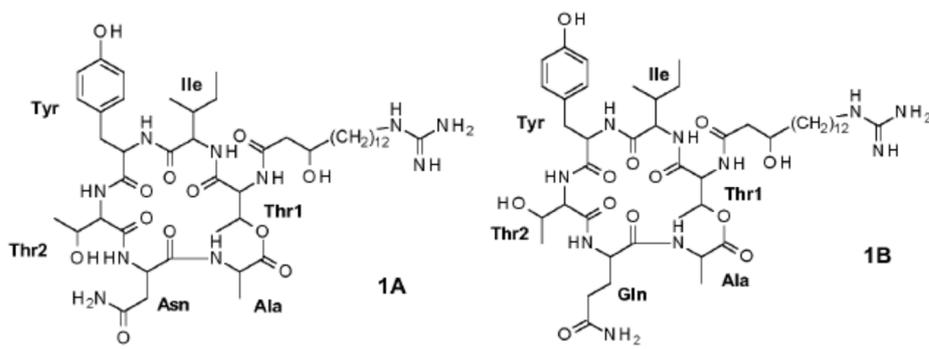
3. La cepa de *Paenibacillus* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde dicha cepa de *Paenibacillus* produce al menos uno de los siguientes compuestos:



en un medio de crecimiento que comprende al menos una fuente de carbono y una fuente de nitrógeno.

4. La cepa de *Paenibacillus* de acuerdo con la reivindicación 3, en donde dicha cepa de *Paenibacillus* es además capaz de producir al menos tres compuestos seleccionados del grupo que consiste en fusaricidina A, fusaricidina B, fusaricidina C, fusaricidina D, LI-F06a, LI-F06b y LI-F08b.

5. La cepa de *Paenibacillus* de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en donde dicha cepa de *Paenibacillus* comprende al menos uno de los siguientes compuestos:

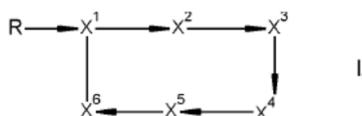


6. La cepa de *Paenibacillus* de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicha cepa de *Paenibacillus* comprende además al menos tres compuestos seleccionados del grupo que consiste en fusaricidina A, fusaricidina B, fusaricidina C, fusaricidina D, LI-F06a, LI-F06b y LI-F08b.

7. Un cultivo sustancialmente purificado de una cepa de *Paenibacillus* como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

8. Un caldo de cultivo completo o un extracto sin células de una cepa de *Paenibacillus* como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende al menos un compuesto de fórmula I o una de sus sales agrícolamente aceptables como se define en las reivindicaciones 9 y 10.

9. Un compuesto de fórmula I



en donde

R se selecciona del ácido 15-guanidino-3-hidroxipentadecanoico y del ácido 12-guanidinododecanoico;

X¹ es treonina;

5 X² es isoleucina;

X³ es tirosina;

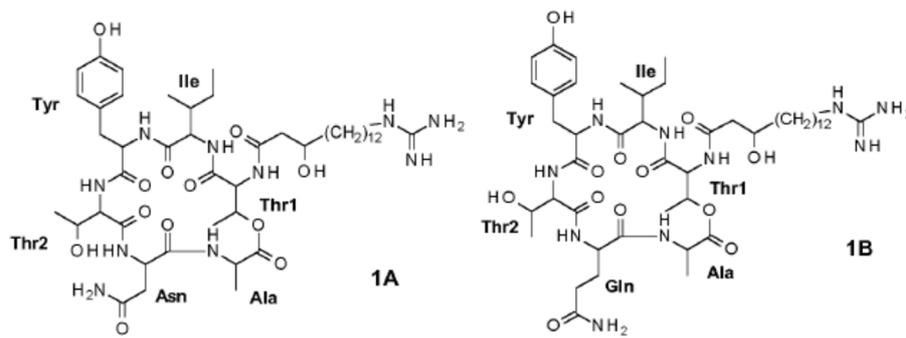
X⁴ es treonina;

X⁵ se selecciona de glutamina y asparagina;

X⁶ es alanina; y

10 en donde una flecha define un enlace sencillo amida entre la fracción carbonilo de R y el grupo amino del aminoácido X¹ o entre el grupo carbonilo de un aminoácido y el grupo amino de un aminoácido vecino, en donde la punta de la flecha indica la unión al grupo amino de dicho aminoácido X¹ o de dicho aminoácido vecino; y en donde la línea sencilla sin una punta de flecha define un enlace sencillo éster entre el grupo carbonilo de X⁶ y el grupo hidroxilo de X¹; o una de sus sales agrícolamente aceptables.

15 10. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 9, seleccionado de los compuestos 1A y 1B:



o una de sus sales agrícolamente aceptables.

11. Un método para preparar un compuesto o sal del mismo como se define en cualquiera de las reivindicaciones 9 a 10, cuyo método comprende cultivar una cepa de *Paenibacillus* como se define en una cualquiera de las
20 reivindicaciones 1 a 6 y recuperar dicho compuesto o sal del mismo del caldo de cultivo completo. .

12. Una composición que comprende

a) una cepa de *Paenibacillus* como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6; o

b) un cultivo sustancialmente purificado como se define en la reivindicación 7; o

c) un caldo de cultivo completo o un extracto sin células como se define en la reivindicación 8; o

25 d) un compuesto de fórmula I o una sal del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 9 a 10; y un auxiliar.

13. La composición de la reivindicación 12, que comprende además un plaguicida.

14. La composición de la reivindicación 13, en donde el plaguicida es un bioplaguicida adicional.

15. Un material de propagación de plantas que tiene un recubrimiento que comprende una composición como se
30 define en cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14.

16. El uso de una composición como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14 para controlar o suprimir patógenos de una planta o prevenir la infección por patógenos de una planta o para proteger materiales contra la infestación y destrucción por microorganismos dañinos.
- 5 17. Un método para controlar, suprimir patógenos de una planta o prevenir la infección por patógenos de una planta, en donde los patógenos de la planta, su hábitat o las plantas a proteger contra el ataque por patógenos de la planta, o el suelo o el material de propagación se tratan con una cantidad efectiva de una composición como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14.
18. El uso de la reivindicación 16 o el método de la reivindicación 17, en donde los patógenos de plantas y/o microorganismos dañinos se seleccionan de hongos dañinos.

Figura 1

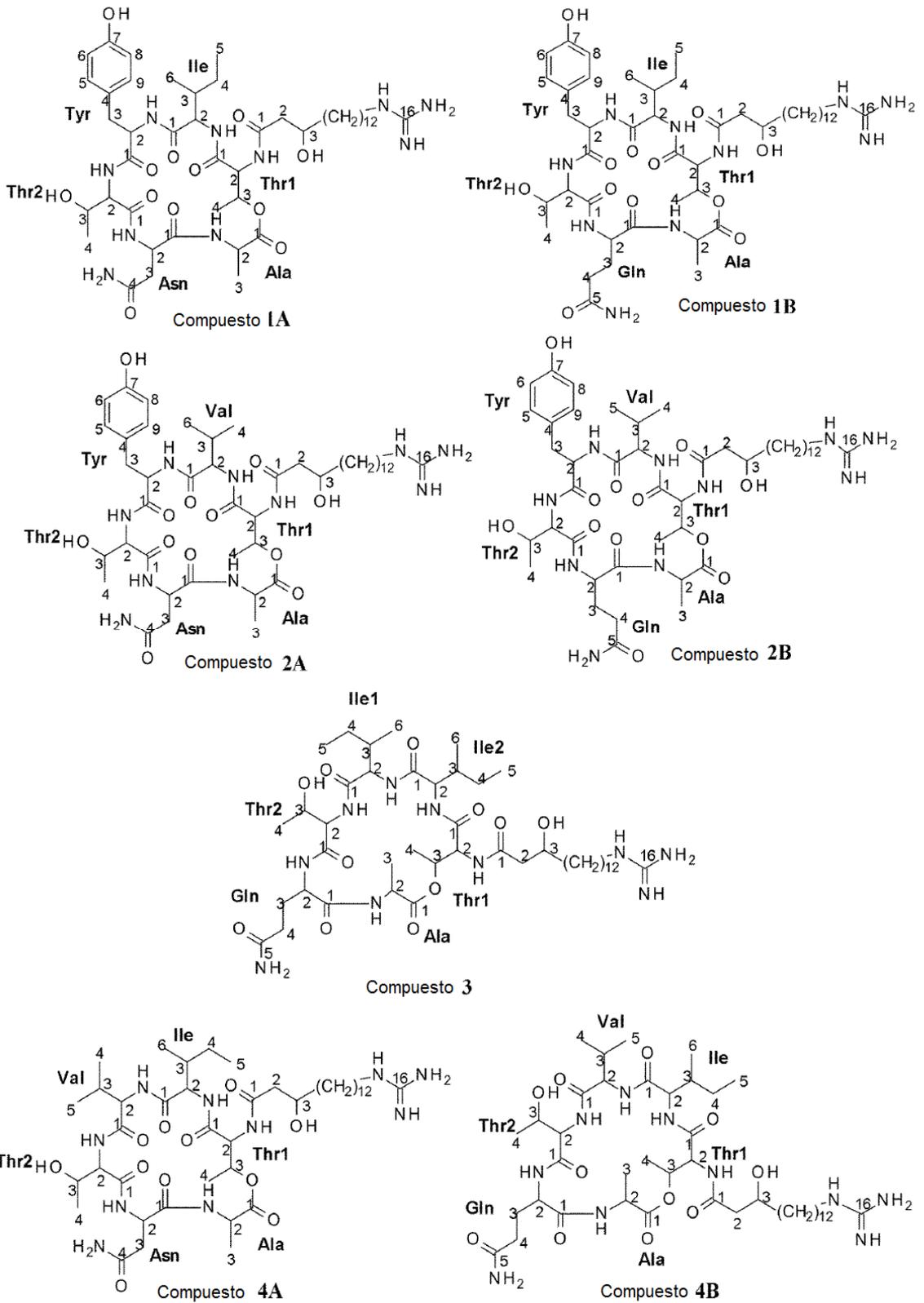


Figura 1 continuación

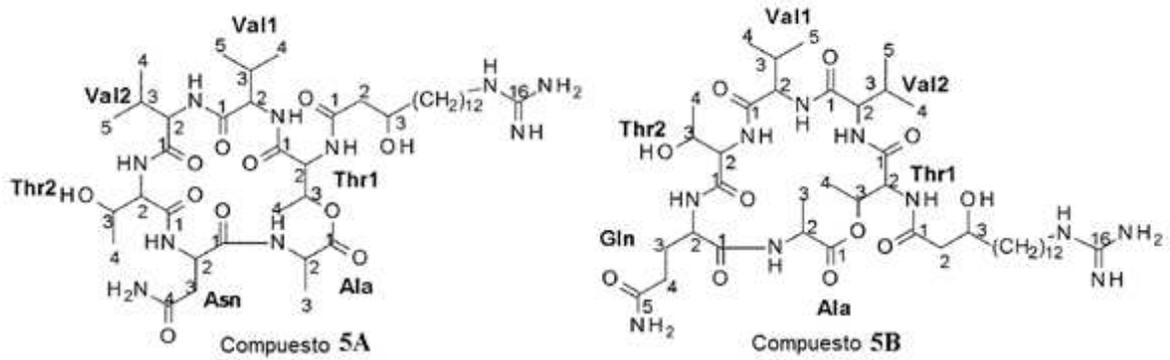


Figura 2

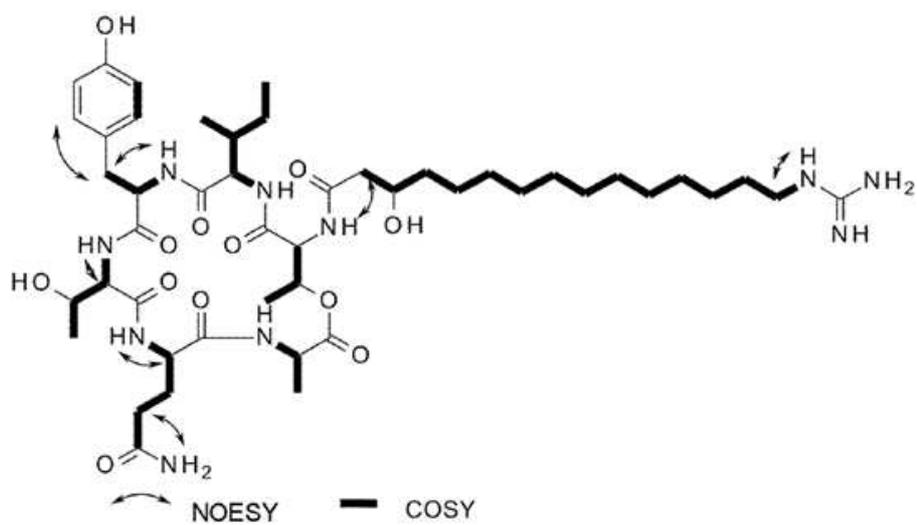


Figura 3

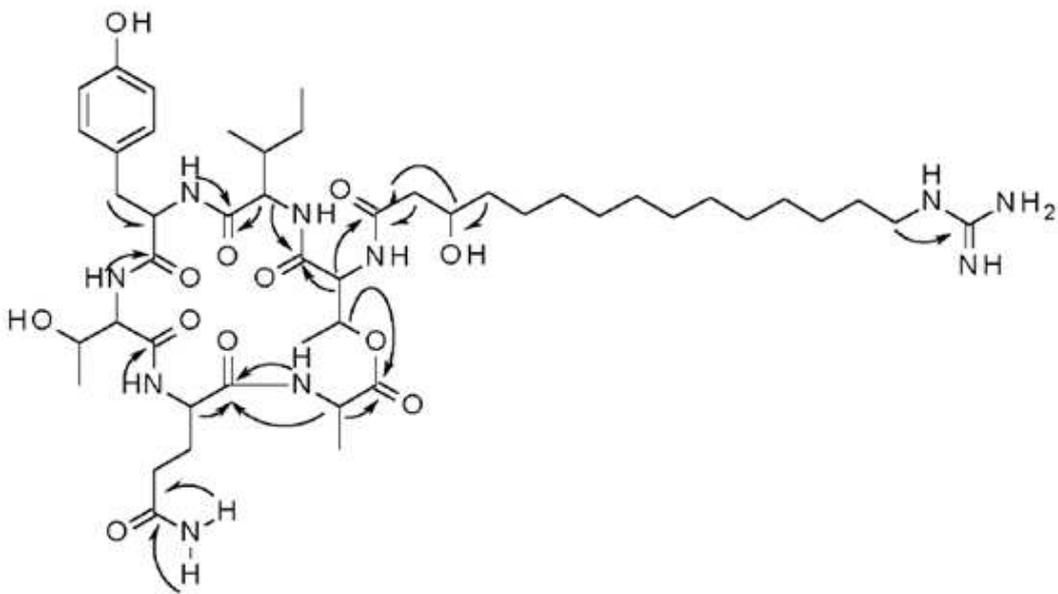
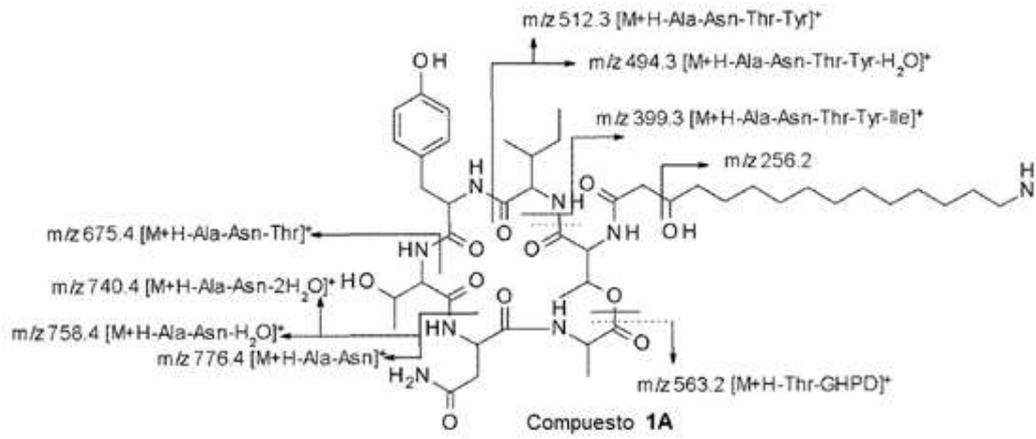


Figura 4

a)



b)

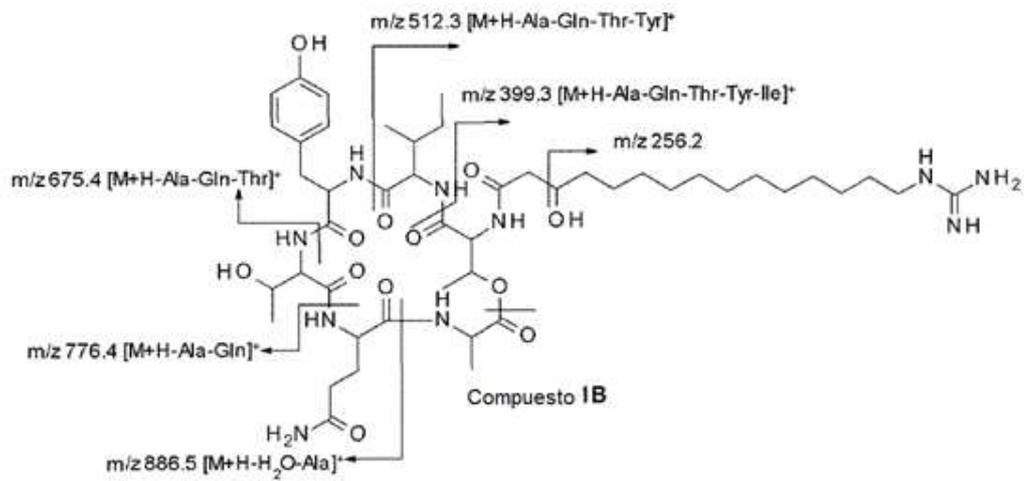
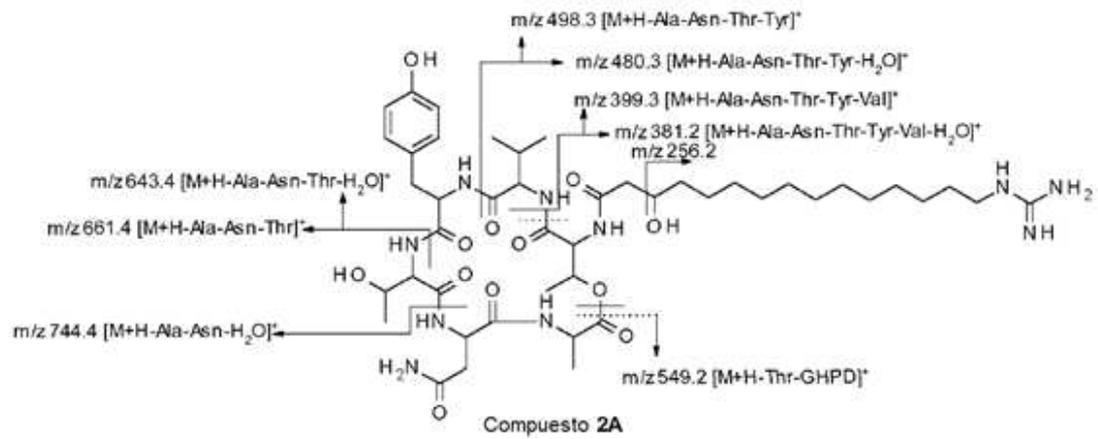


Figura 5

a)



b)

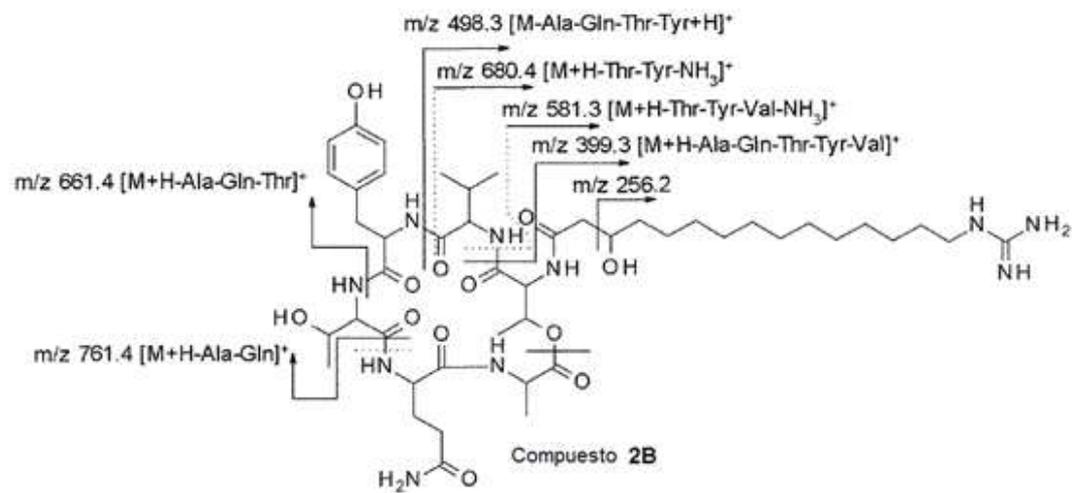


Figura 6

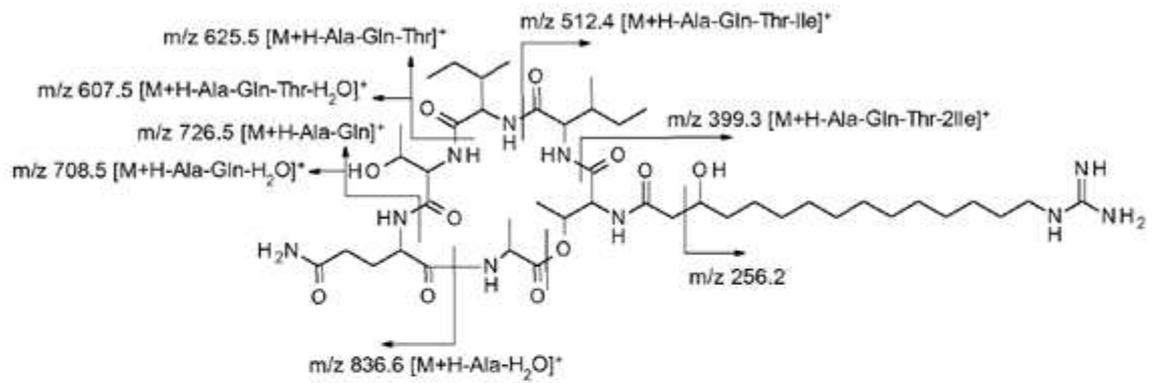
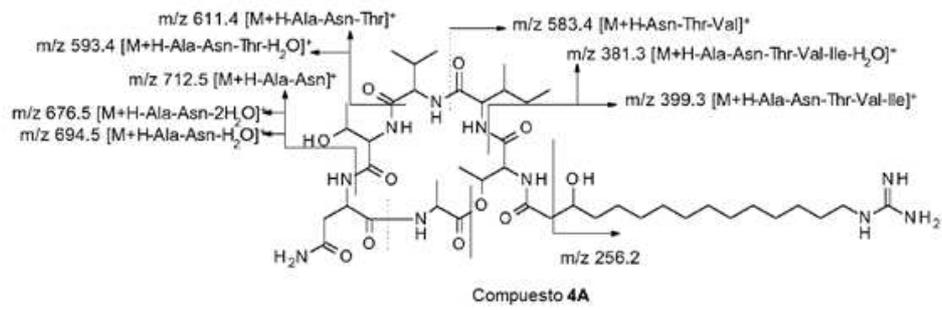


Figura 7

a)



b)

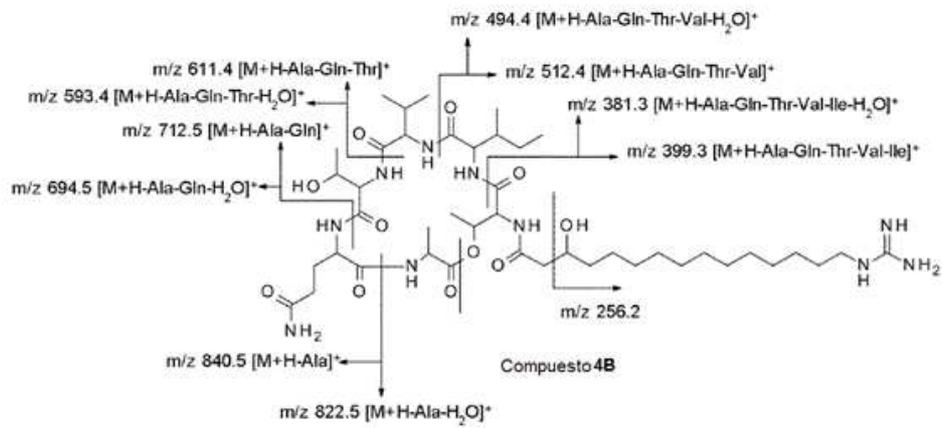
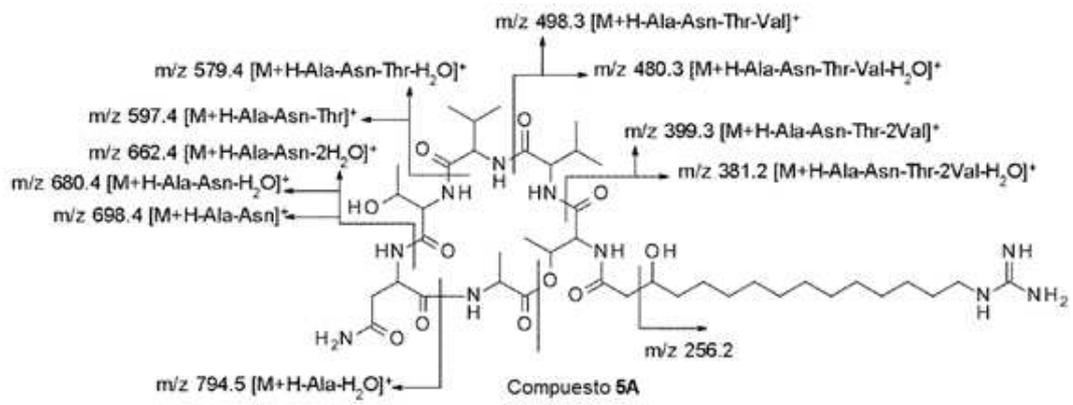


Figura 8

a)



b)

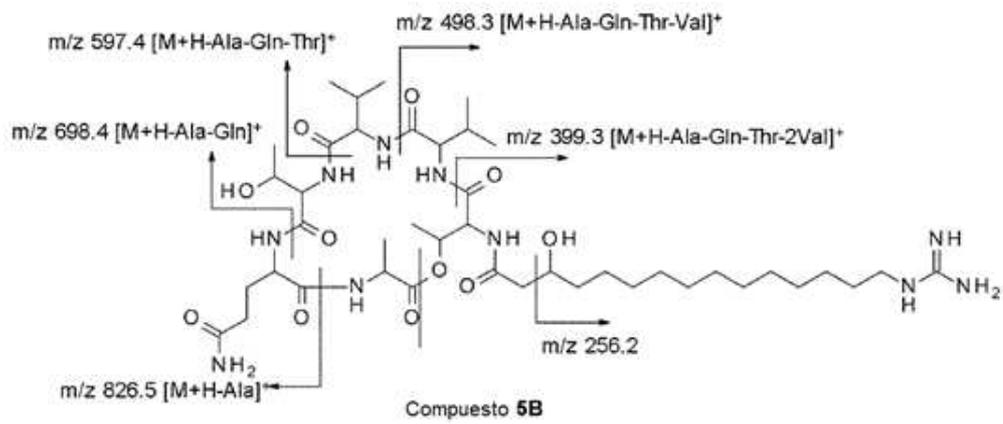


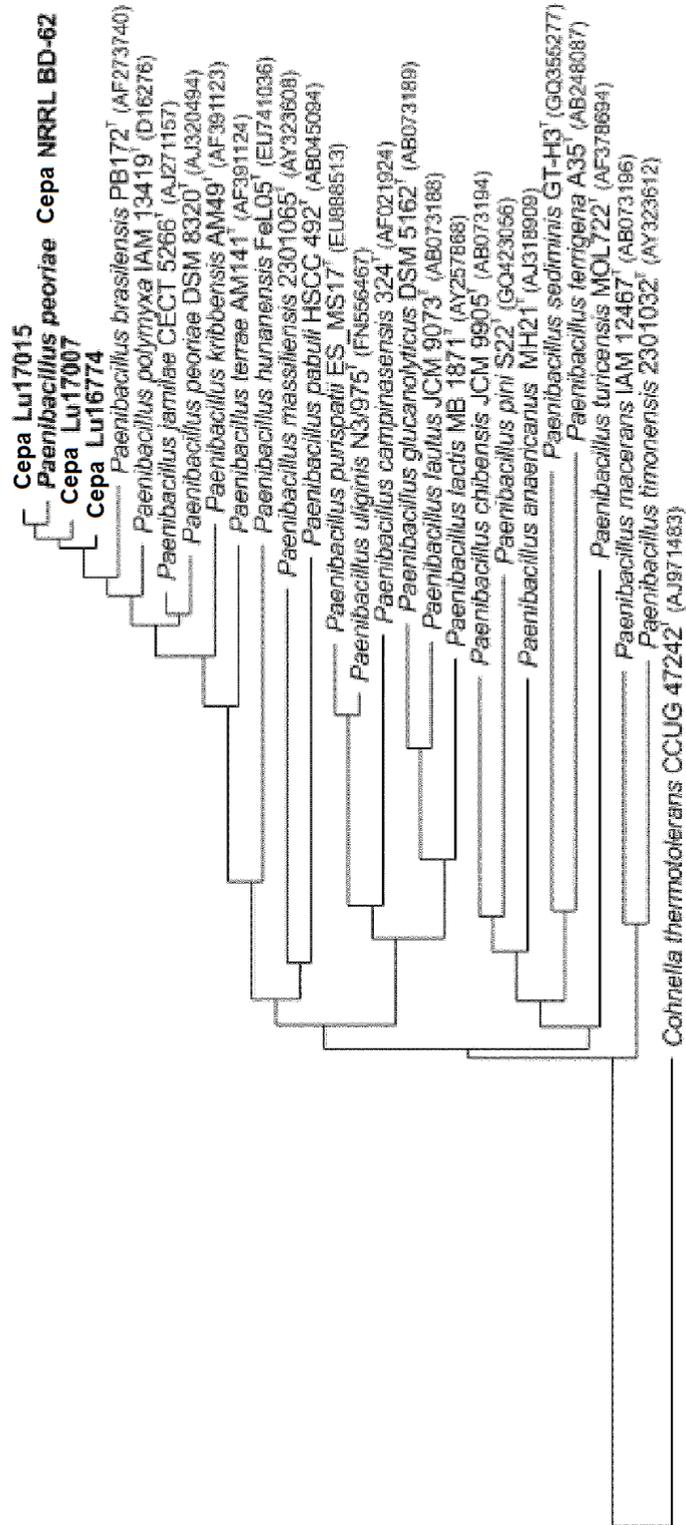
Figura 9

Identidad de la secuencia de ARNr 16S completa de las cepas de <i>Paenibacillus</i> con los taxones relacionados con base en el alineamiento de secuencias múltiples (%)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
		Cepa No.*																										
1	-																											
2	99.9	-																										
3	100.0	99.9	-																									
4	99.8	99.8	99.8	-																								
5	94.7	94.7	94.7	94.7	-																							
6	99.5	99.4	99.5	99.4	94.7	-																						
7	95.9	95.9	95.9	95.8	95.6	95.8	-																					
8	93.8	93.9	93.8	93.8	96.0	93.8	94.7	-																				
9	94.4	94.5	94.4	94.4	95.1	94.4	95.7	95.9	-																			
10	96.3	96.2	96.3	96.1	94.6	96.2	95.0	93.3	93.6	-																		
11	100.0	99.9	100.0	99.8	94.7	99.5	95.9	93.8	94.4	96.3	-																	
12	99.1	99.0	99.1	99.3	94.4	98.7	96.2	93.6	94.1	96.0	99.1	-																
13	95.8	95.9	95.8	95.8	95.8	95.7	96.7	96.0	96.9	94.8	95.8	95.5	-															
14	95.5	95.5	95.5	95.5	95.5	95.3	96.4	96.8	98.5	94.4	95.5	94.9	97.9	-														
15	95.4	95.4	95.5	95.4	95.5	95.5	95.3	94.7	94.6	94.4	95.5	95.0	95.2	95.4	-													

Identidad de la secuencia de ARNr 16S completa de las cepas de <i>Paenibacillus</i> con los taxones relacionados con base en el alineamiento de secuencias múltiples (%)																											
Cepa No.*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
16	94.4	94.2	94.3	94.1	94.6	94.2	94.4	94.0	94.2	95.2	94.3	93.7	94.7	94.7	94.6	-											
17	94.7	94.8	94.7	94.9	94.0	94.7	94.7	94.4	94.3	94.6	94.7	95.5	94.4	94.6	94.4	94.7	-										
18	99.8	99.8	99.8	100.0	94.7	99.4	95.8	93.8	94.4	96.1	99.8	99.3	95.8	95.5	95.4	94.1	94.9	-									
19	93.8	93.9	93.8	93.8	96.8	93.7	93.9	96.1	94.5	93.7	93.8	93.6	94.7	95.1	95.1	94.0	94.4	93.8	-								
20	99.3	99.2	99.3	99.2	94.6	98.8	95.5	93.6	94.2	95.9	99.3	98.5	95.5	95.2	95.0	93.8	94.4	99.2	93.7	-							
21	96.0	96.1	96.0	95.9	96.4	95.9	97.4	95.1	95.4	95.5	96.0	96.3	96.3	96.1	95.7	95.4	95.5	95.9	94.6	95.5	-						
22	93.2	93.1	93.2	93.1	94.8	93.1	93.6	93.9	92.8	93.6	93.2	93.3	93.6	92.9	94.2	93.1	92.4	93.1	94.2	92.9	93.9	-					
23	92.8	92.8	92.8	92.8	94.7	92.7	93.5	93.7	92.7	93.9	92.8	93.2	93.5	93.2	93.6	93.2	93.4	92.8	95.1	92.6	93.9	94.5	-				
24	98.8	98.9	98.8	98.6	94.9	98.8	95.5	93.9	94.3	96.4	98.8	97.9	95.5	95.2	95.3	94.4	94.7	98.6	94.2	98.2	95.9	93.2	92.8	-			
25	96.0	95.9	96.0	95.9	96.2	96.0	95.5	95.4	95.7	94.9	96.0	95.3	95.8	95.6	97.6	95.3	94.7	95.9	95.8	95.5	96.1	94.3	94.4	96.4	-		
26	94.3	94.2	94.3	94.4	95.5	94.3	94.4	94.3	93.8	94.7	94.3	94.0	94.8	94.1	94.6	94.3	93.8	94.4	94.7	94.0	95.3	93.6	94.1	94.5	95.5	-	
27	95.5	95.6	95.5	95.4	96.0	95.5	97.1	95.1	95.5	95.1	95.5	95.8	96.2	96.3	95.5	95.4	95.6	95.4	94.4	95.1	99.3	93.6	93.8	95.2	96.2	94.9	-
28	91.5	91.4	91.5	91.5	91.4	91.3	92.6	91.5	91.6	90.2	91.5	91.9	92.4	92.1	92.1	90.9	91.6	91.5	91.2	91.1	91.6	91.3	90.9	91.0	91.8	91.1	91.6

Figura 9 continuación

Figura 10



1%

Figura 11

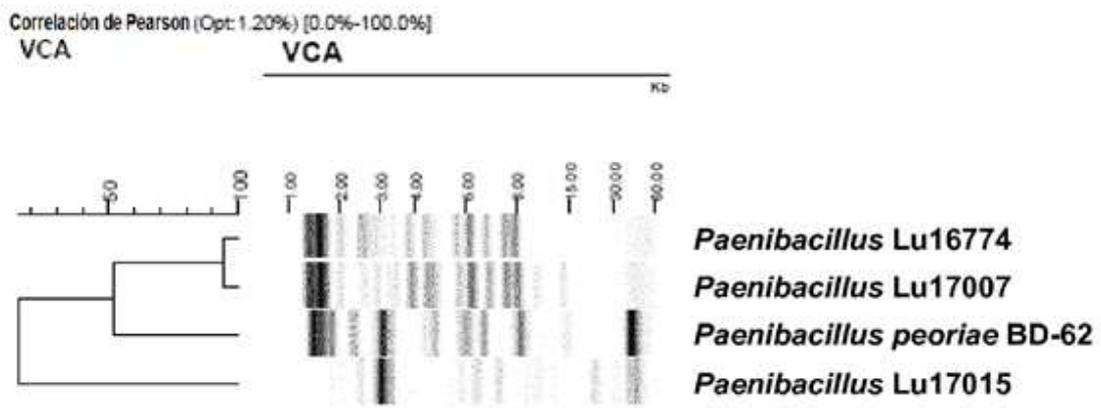


Figura 12

Identidad de la secuencia de ADN de <i>dnaN</i> de diversas cepas de <i>Paenibacillus</i> (%)																			
Cepa No.°	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	100	100	93.3	90.6	99.4	97.3	97.2	97.2	97.3	92.9	93.3	99.3	97.4	99.3	97.2	99.5	93.5	92.5	89.6
2	-	100	93.3	90.6	99.4	97.3	97.2	97.2	97.3	92.9	93.3	99.3	97.4	99.3	97.2	99.5	93.5	92.5	89.6
3	-	-	100	90.5	93.2	93.1	93.0	93.1	92.9	97.6	98.8	93.1	93.2	93.1	93.1	93.3	99.6	97.2	90.7
4	-	-	-	100	90.3	90.4	90.4	90.6	90.5	90.4	90.4	90.3	90.5	90.3	90.6	90.4	90.7	90.0	89.5
5	-	-	-	-	100	97.0	96.9	96.9	97.0	92.6	93.2	99.4	97.1	99.4	96.9	99.7	93.4	92.0	89.3
6	-	-	-	-	-	100	99.6	99.2	99.5	92.7	93.1	96.9	99.9	96.9	99.2	97.1	93.3	92.1	89.7
7	-	-	-	-	-	-	100	99.1	99.6	92.6	93.0	96.9	99.7	96.9	99.1	97.0	93.3	92.0	89.7
8	-	-	-	-	-	-	-	100	99.4	92.7	93.1	96.9	99.3	96.9	100	97.0	93.3	92.1	89.6
9	-	-	-	-	-	-	-	-	100	92.7	92.9	96.9	99.6	96.9	99.4	97.1	93.2	91.9	89.3
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	97.6	92.6	92.8	92.6	92.7	92.7	97.7	98.2	90.9
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	93.1	93.2	93.1	93.1	93.3	96.9	97.0	90.6
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	97.0	100	96.9	99.7	93.3	91.9	89.4
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	97.0	99.3	97.2	93.4	92.2	89.8
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	96.9	99.7	93.3	91.9	89.4
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	97.0	93.3	92.1	89.6
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	93.5	92.1	89.4
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	97.5	91.2
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	90.0
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100

Figura 13

Cepa No.ª	Identidad de la secuencia de ADN de <i>gyrB</i> de diversas cepas de <i>Paenibacillus</i> (%)																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	100	100	93.3	92.0	99.7	98.3	98.3	98.3	99.2	93.2	93.2	99.8	99.0	99.8	98.3	99.5	93.4	93.4	89.8
2	-	100	93.3	92.0	99.7	98.3	98.3	98.3	99.2	93.2	93.2	99.8	99.0	99.8	98.3	99.5	93.4	93.4	89.8
3	-	-	100	91.7	93.2	93.0	93.0	93.0	93.0	98.2	98.1	93.2	93.2	93.2	93.0	93.2	99.0	98.2	90.0
4	-	-	-	100	92.0	91.8	91.8	91.8	92.0	91.7	91.7	92.0	92.0	92.0	91.8	91.9	91.7	91.7	90.0
5	-	-	-	-	100	98.2	98.2	98.3	99.1	93.0	93.1	99.8	99.1	99.8	98.3	99.7	93.2	93.2	89.8
6	-	-	-	-	-	100	99.8	99.7	98.8	92.7	92.9	98.3	99.0	98.3	99.7	98.1	92.9	93.2	89.4
7	-	-	-	-	-	-	100	99.8	98.8	92.7	92.9	98.3	99.0	98.3	99.8	98.1	92.9	93.2	89.6
8	-	-	-	-	-	-	-	100	98.8	92.8	92.9	98.3	99.1	98.3	100	98.2	93.0	93.3	89.6
9	-	-	-	-	-	-	-	-	100	92.8	92.9	99.2	98.7	99.2	98.8	98.9	93.0	93.0	89.6
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	97.8	93.2	93.1	93.2	92.8	93.0	98.1	97.8	89.3
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	93.1	93.2	93.1	92.9	93.1	98.0	98.1	89.3
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	99.1	100	98.3	99.6	93.3	93.3	89.8
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	99.1	99.1	98.9	93.3	93.4	89.7
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	98.3	99.6	93.3	93.3	89.8
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	98.2	93.0	93.3	89.6
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	93.2	93.2	89.7
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	98.0	89.8
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	89.8
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100

Figura 14

Cepa No.ª	Identidad de la secuencia de ADN de <i>recF</i> de diversas cepas de <i>Paenibacillus</i> (%)																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	100	100	94.7	92.2	99.0	98.1	98.2	97.8	98.1	94.0	94.9	99.0	98.1	99.0	97.8	98.8	94.5	93.7	90.2
2	-	100	94.7	92.2	99.0	98.1	98.2	97.8	98.1	94.0	94.9	99.0	98.1	99.0	97.8	98.8	94.5	93.7	90.2
3	-	-	100	93.5	95.3	95.0	95.0	94.7	95.0	98.3	99.6	95.2	94.8	95.2	94.7	95.0	99.5	97.9	92.5
4	-	-	-	100	92.7	92.8	93.0	92.6	92.8	92.6	93.5	92.7	92.8	92.7	92.6	92.5	93.5	92.5	91.8
5	-	-	-	-	100	98.5	98.6	98.2	98.5	94.6	95.5	99.8	98.3	99.8	98.2	99.5	95.2	94.0	90.8
6	-	-	-	-	-	100	99.4	99.7	100	94.3	95.0	98.5	99.6	98.5	99.7	98.3	94.8	94.0	90.8
7	-	-	-	-	-	-	100	99.1	99.4	94.3	95.0	98.6	99.2	98.6	99.1	98.4	94.8	93.8	90.6
8	-	-	-	-	-	-	-	100	99.7	94.0	94.7	98.2	99.4	98.2	100	98.0	94.5	93.9	90.5
9	-	-	-	-	-	-	-	-	100	94.3	95.0	98.5	99.6	98.5	99.7	98.3	94.8	94.0	90.8
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	98.0	94.4	94.1	94.4	94.0	94.3	98.0	97.3	91.6
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	95.3	94.8	95.3	94.7	95.2	99.3	97.8	92.4
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	98.3	100	98.2	99.5	95.0	93.8	90.7
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	98.3	99.4	98.1	94.6	93.8	90.6
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	98.2	99.5	95.0	93.8	90.7
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	98.0	94.5	93.9	90.5
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	94.8	93.6	90.9
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	97.7	92.3
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	91.7
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100

Figura 15

	Identidad de la secuencia de ADN de <i>recN</i> de diversas cepas de <i>Paenibacillus</i> (%)																		
Cepa No.*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	100	100	92.7	88.4	99.7	96.3	96.2	96.5	96.2	92.3	92.7	99.3	96.2	99.3	96.5	99.7	93.1	91.9	87.7
2	-	100	92.7	88.4	99.7	96.3	96.2	96.5	96.2	92.3	92.7	99.3	96.2	99.3	96.5	99.7	93.1	91.9	87.7
3	-	-	100	88.6	92.8	92.0	91.9	91.9	92.1	97.6	98.8	92.4	91.9	92.4	91.9	92.8	99.1	97.0	88.2
4	-	-	-	100	88.4	87.8	87.7	87.4	87.9	88.4	88.3	88.2	87.7	88.2	87.4	88.4	88.9	88.2	86.6
5	-	-	-	-	100	96.4	96.3	96.5	96.4	92.3	92.8	99.1	96.3	99.1	96.5	100	93.1	91.9	87.6
6	-	-	-	-	-	100	99.3	99.5	99.1	91.5	92.0	96.3	99.6	96.3	99.5	96.4	92.2	91.0	88.0
7	-	-	-	-	-	-	100	99.1	99.6	91.4	92.0	96.0	99.5	96.0	99.1	96.3	92.1	90.9	87.8
8	-	-	-	-	-	-	-	100	98.9	91.5	91.9	96.5	99.4	96.5	100	96.5	92.1	91.0	87.6
9	-	-	-	-	-	-	-	-	100	91.5	92.1	96.1	99.3	96.1	98.9	96.4	92.3	90.9	87.8
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	97.7	92.0	91.4	92.0	91.5	92.3	98.1	97.4	88.4
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	92.4	92.0	92.4	91.9	92.8	99.1	97.1	88.0
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	96.2	100	96.5	99.1	92.7	91.6	87.7
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	96.2	99.4	96.3	92.1	90.9	87.8
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	96.5	99.1	92.7	91.6	87.7
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	96.5	92.1	91.0	87.6
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	93.1	91.9	87.6
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	97.4	88.4
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	87.7
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100

Figura 16

	Identidad de la secuencia de ADN de <i>rpoA</i> de diversas cepas de <i>Paenibacillus</i> (%)																		
Cepa No.*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
1	100	100	98.2	97.7	99.9	99.6	99.4	99.5	99.4	98.0	98.1	99.9	99.6	99.9	99.5	99.9	98.0	98.0	96.2
2	-	100	98.2	97.7	99.9	99.6	99.4	99.5	99.4	98.0	98.1	99.9	99.6	99.9	99.5	99.9	98.0	98.0	96.2
3	-	-	100	98.2	98.3	98.1	97.9	98.0	97.9	99.5	99.8	98.3	98.1	98.3	98.0	98.3	99.7	99.5	96.9
4	-	-	-	100	97.8	97.9	97.9	98.0	97.9	98.1	98.4	97.8	97.9	97.8	98.0	97.8	98.3	98.1	97.5
5	-	-	-	-	100	99.7	99.5	99.6	99.5	98.1	98.2	100	99.7	100	99.6	100	98.1	98.1	96.3
6	-	-	-	-	-	100	99.8	99.9	99.8	98.0	98.3	99.7	100	99.7	99.9	99.7	98.2	98.0	96.4
7	-	-	-	-	-	-	100	99.9	99.8	97.8	98.1	99.5	99.8	99.5	99.9	99.5	98.0	97.8	96.2
8	-	-	-	-	-	-	-	100	99.9	97.9	98.2	99.6	99.9	99.6	100	99.6	98.1	97.9	96.3
9	-	-	-	-	-	-	-	-	100	97.8	98.1	99.5	99.8	99.5	99.9	99.5	98.0	97.8	96.4
10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	99.7	98.1	98.0	98.1	97.9	98.1	99.6	100	96.8
11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	98.2	98.3	98.2	98.2	98.2	99.9	99.7	97.1
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	99.7	100	99.6	100	98.1	98.1	96.3
13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	99.7	99.9	99.7	98.2	98.0	96.4
14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	99.6	100	98.1	98.1	96.3
15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	99.6	98.1	97.9	96.3
16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	98.1	98.1	96.3
17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	99.6	97.0
18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	96.8
19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100

Figura 17

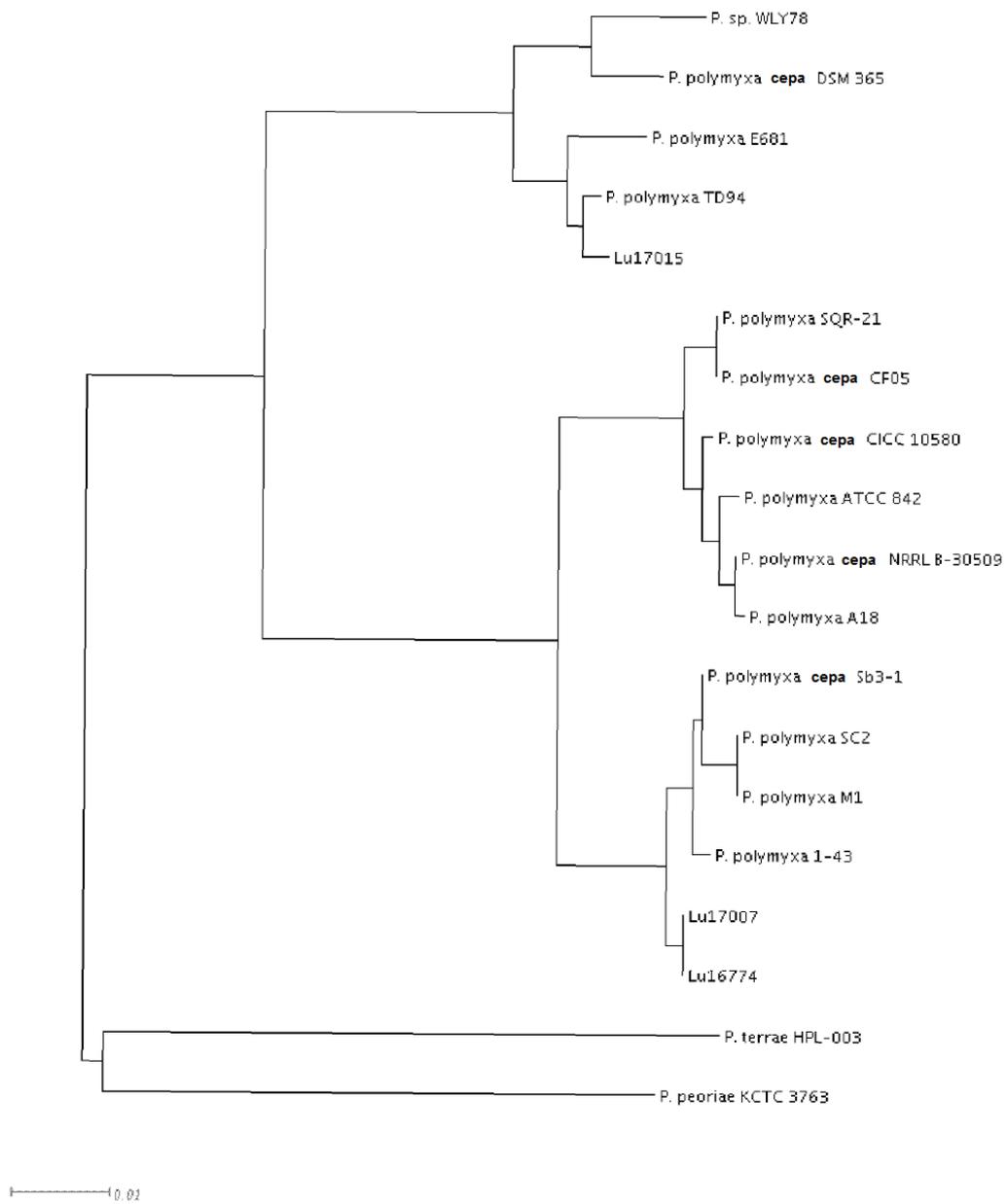


Figura 18

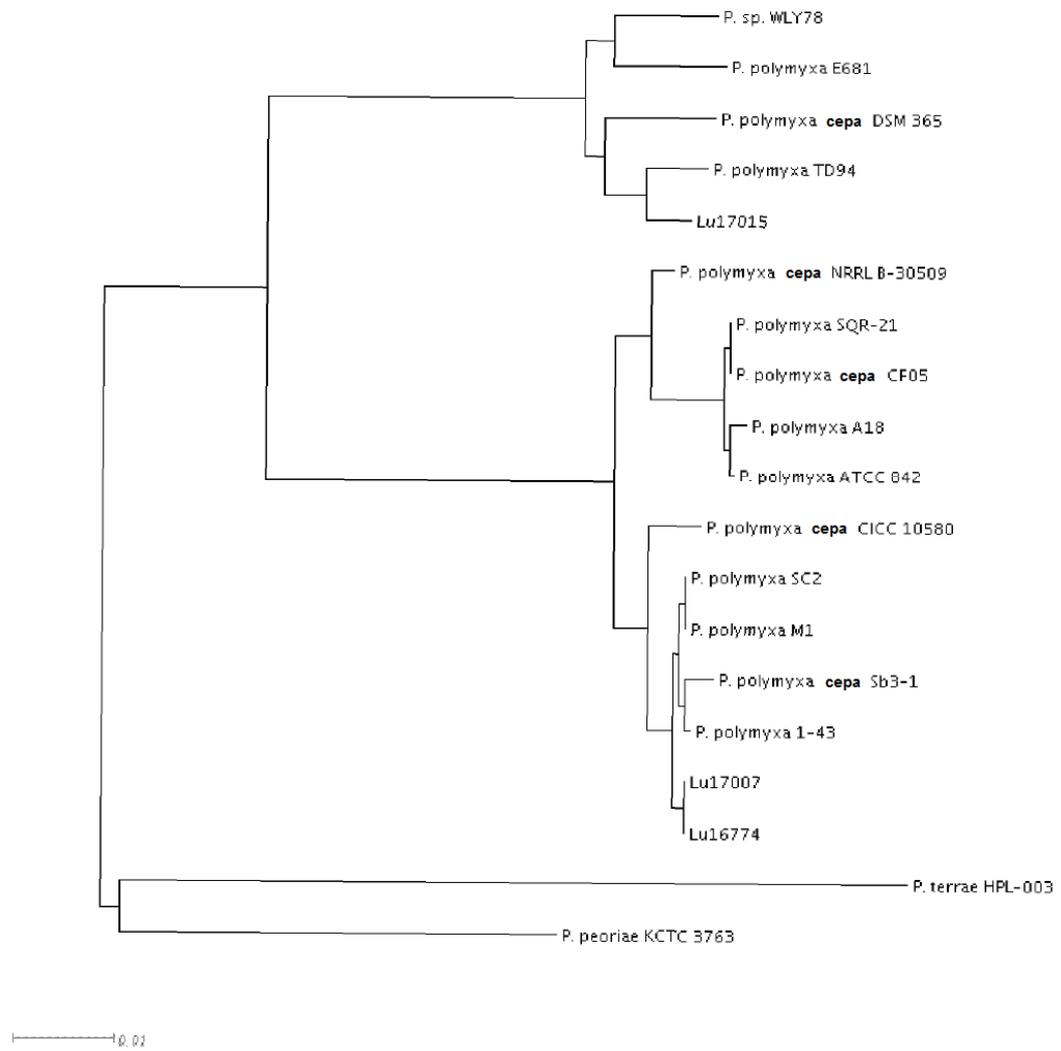


Figura 19

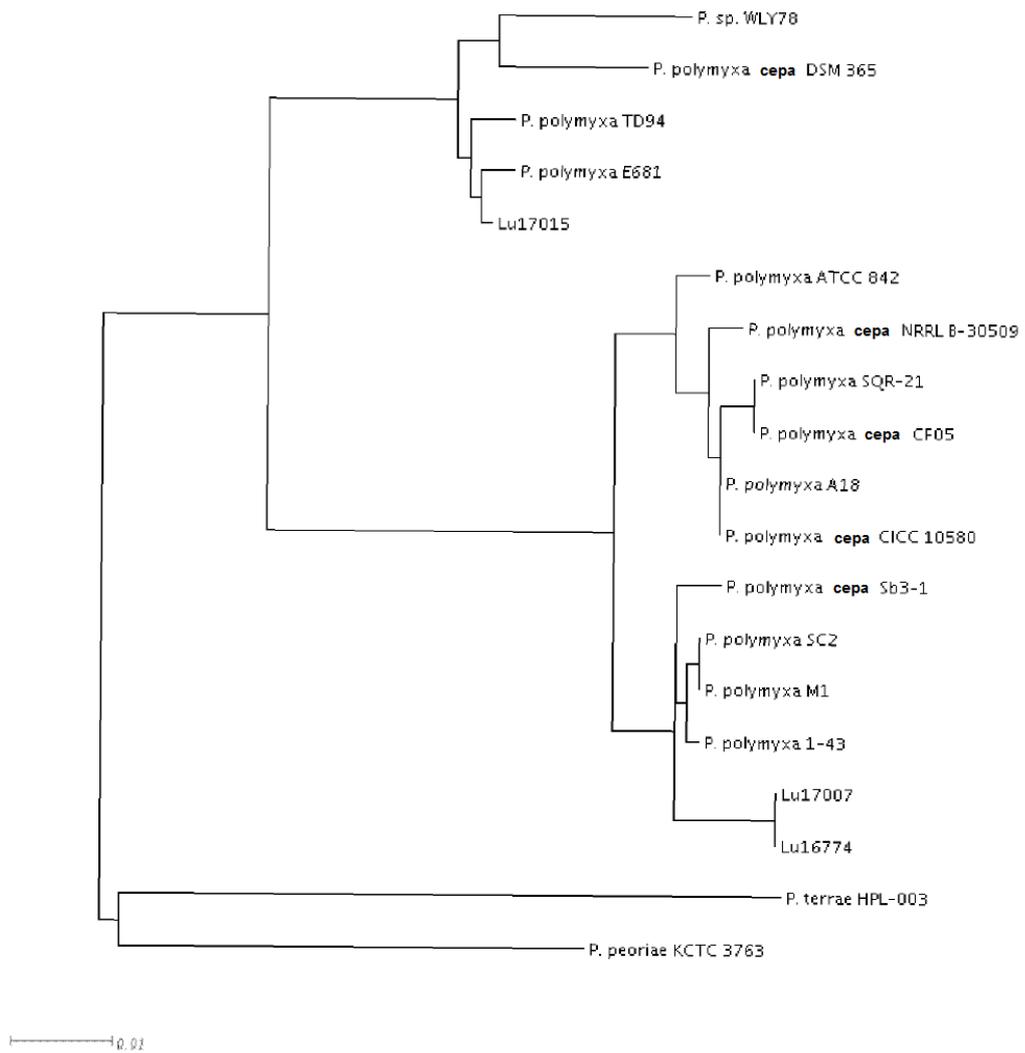


Figura 20

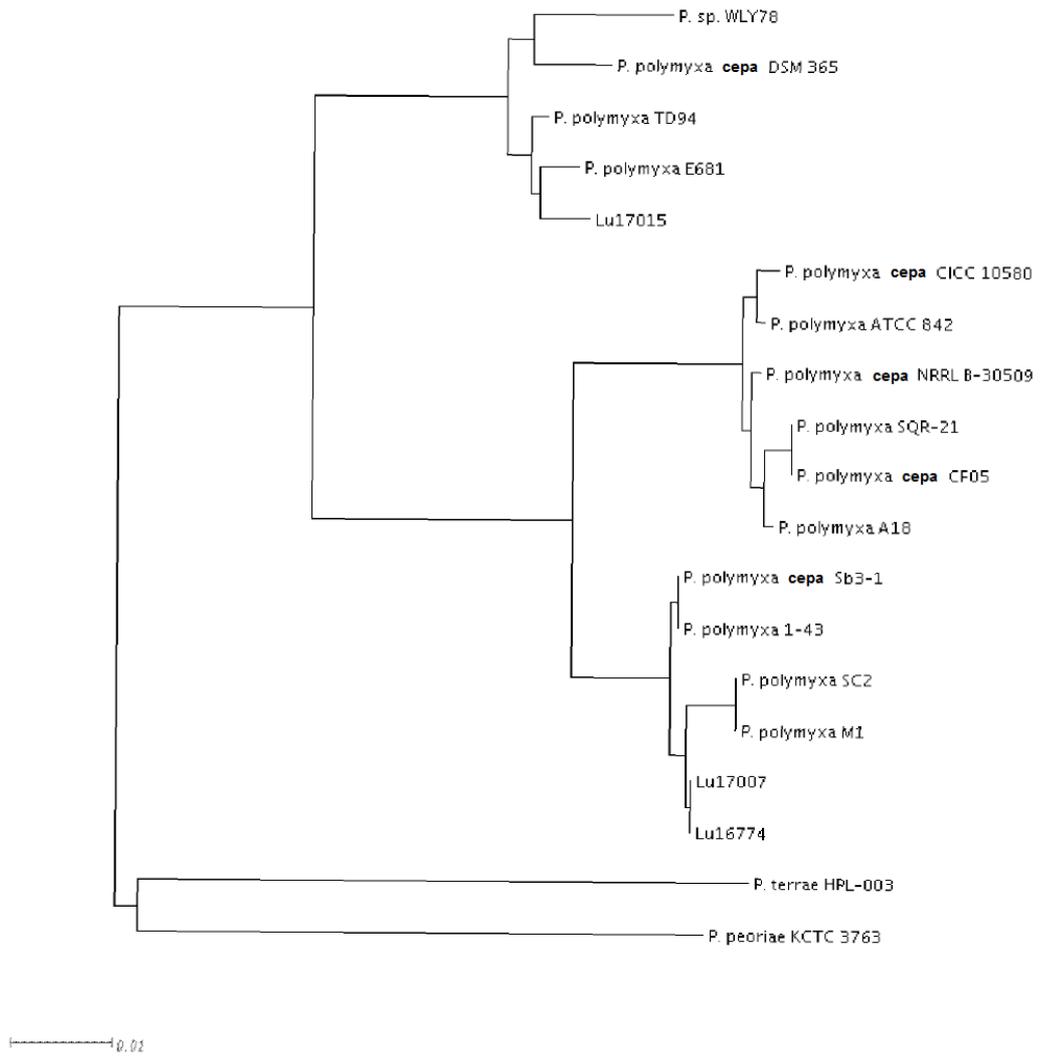


Figura 21

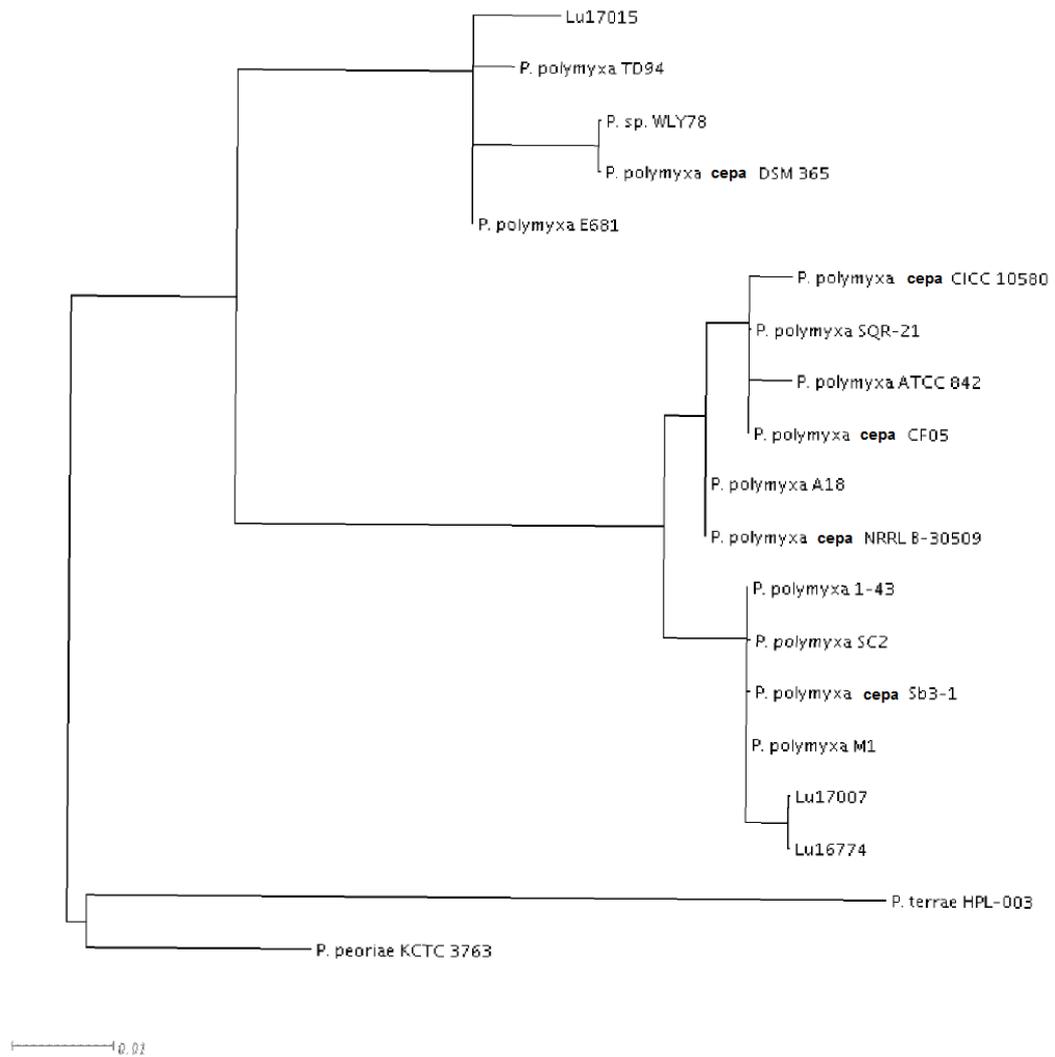


Figura 22

Cepa (No.)	(1)	(2)	(12)	(14)	(7)	(15)	(3)	(11)	(20)	(4)	(19)
Lu16774 (1)	100	99.99	99.2	99.3	97.50	97.6	94.82	94.59	94.8	91.78	91.73
Lu 17007 (2)	99.99	100	99.2	99.3	97.51	97.61	94.83	94.60	94.8	91.79	91.74
M-1 (12)	99.22	99.23	100	99.9	97.45	97.52	94.81	94.60	94.8	91.79	91.67
SC2 (14)	99.26	99.27	99.9	100	97.45	97.54	94.84	94.63	94.8	91.81	91.72
ATCC 842 = DSM 36 (7)	97.50	97.51	97.4	97.4	100	99.12	94.90	94.64	94.8	91.79	91.72
SQR-21 (15)	97.60	97.61	97.5	97.5	99.12	100	94.88	94.60	94.8	91.74	91.69
Lu17015 (3)	94.82	94.83	94.8	94.8	94.90	94.89	100	98.18	99.5	92.53	92.67
E681 (11)	94.63	94.64	94.6	94.6	94.68	94.65	98.18	100	98.1	92.34	92.51
CR2 (20)	94.79	94.80	94.8	94.8	94.88	94.84	99.52	98.14	100	92.52	92.71
<i>P. peoriae</i> DSM 8320 (4)	91.78	91.79	91.8	91.8	91.82	91.77	92.53	92.28	92.5	100	91.89
<i>P. terrae</i> HPL- 003 (19)	91.73	91.74	91.7	91.7	91.74	91.72	92.67	92.48	92.7	91.88	100