

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO _____ CEPAS CRYPTOCOCCUS FLAVESCENS TOLERANTES AL PROTIOCONAZOL
PARA EL CONTROL BIOLOGICO DE LA FUSARIOSIS DE LA ESPIGA

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE _____ UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE

DOMICILIO _____ WASHINGTON, OHIO, ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
C.C. 35.456.344 de Usaquén

74. APODERADO _____

22. BOGOTÁ, D. C., _____



PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-032489- -00000-0000

Fecha: 2012-02-24 11:03:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 55

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

SOLICITUD DE:

1

☒ Patente de Invención.

☐ Patente de Modelo de Utilidad.

☒ Capítulo I.

☐ Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: UNITED STATES OF AMERICA,
AS REPRESENTED BY THE SECRETARY
OF AGRICULTURE y THE OHIO STATE
UNIVERSITY RESEARCH FOUNDATION

Sociedades constituidas y existentes bajo
las leyes de los Estados Unidos de
América.

Dirección: 1400 Independence Ave., SW,
Washington, DC 20250-0302,
Estados Unidos de América

y

1960 Kenny Road,
Columbus,
Ohio 43210-1063,
Estados Unidos de América

Respectivamente

Domicilio: Washington, DC,
Estados Unidos de América

y

Columbus,
Ohio 43210-1063,
Estados Unidos de América

Respectivamente

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☐

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 211 86 50
E-mail: clientes@cavelier.com
Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACIÓN

C.C.

☒

NIT

☐

C.E.

☐

Otro

☐

Cual

Número 35.456.344

T.P 23.555

4

INVENTOR (ES)
(72)

1. David A.SCHISLER
215 E. Tyler Street,
Morton,
Illinois 61550,
Estados Unidos de América

2. Michael J. BOEHM
357 Pinney Drive,
Worthington,
Ohio 43085,
Estados Unidos de América

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2010/040040

Publicación Internacional No. WO 2011/016921 A3

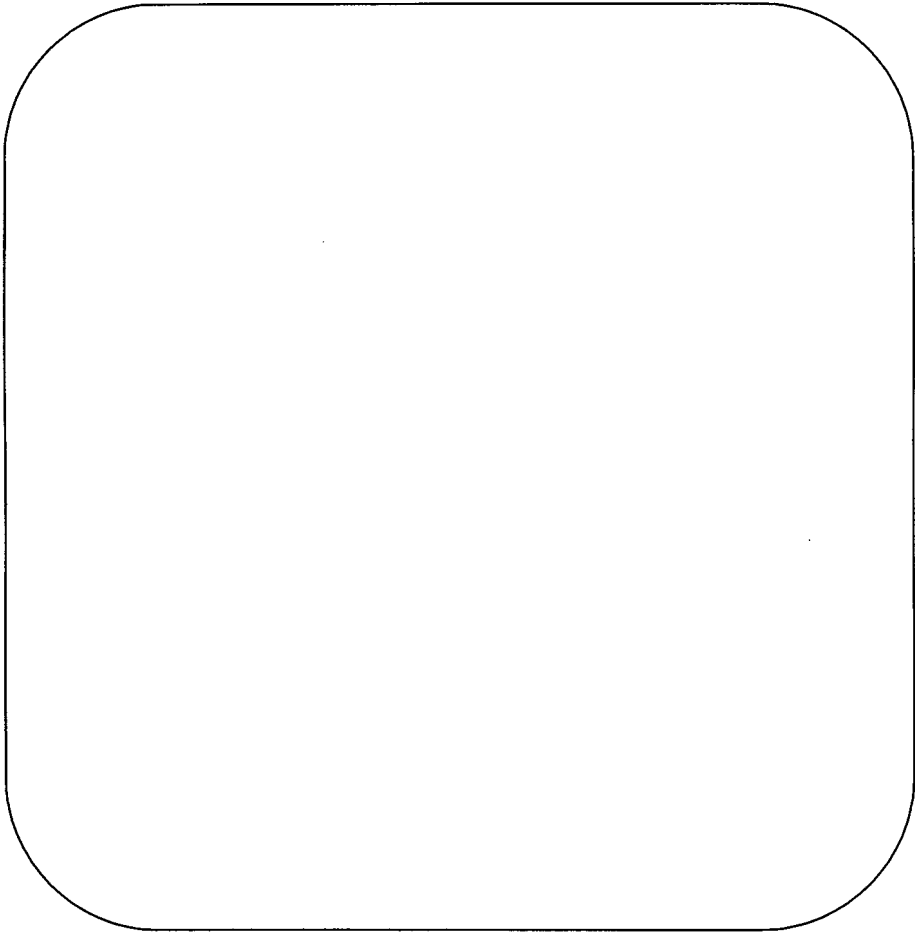
Fecha: 25 de junio de 2010

Fecha: 10 de febrero de 2011

6	Título (54) CEPAS CRYPTOCOCCUS FLAVESCENS TOLERANTES AL PROTIOCONAZOL PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA FUSARIOSIS DE LA ESPIGA		
7	Clasificación Internacional (51) <u>C12N 001/020</u>		
8	Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen <u>US</u>	(32) Fecha <u>29 de julio de 2009</u>
			(31) Número de Solicitud <u>12/511,275</u>
9	Comprobante de pago No.: <u>12-0015904</u> Fecha: <u>16 de febrero de 2012</u> Comprobante de pago No.: <u>12-0013838</u> Fecha: <u>13 de febrero de 2012</u> Comprobante de pago No.: <u>12-0013839</u> Fecha: <u>13 de febrero de 2012</u> Comprobante de pago No.: <u>12-0011450</u> Fecha: <u>03 de febrero de 2012</u> Comprobante de pago No.: <u>12-0011451</u> Fecha: <u>03de febrero de 2012</u>		
10	Anexos: ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 590.000.oo. ☒ Comprobante de pago por 7 reivindicaciones adicionales después de la décima reivindicación por \$210.000.oo. ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica. ☒ Poder de UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY OF AGRICULTURE ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. ☐ Declaraciones. ☐ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☒ Copia de la carátula de la Publicación Internacional WO 2011/016921 A3. ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☐ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso. ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas. ☒ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico. ☐ Arte final 12x12 ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud. ☒ Otros: VER HOJA DE DOCUMENTOS ANEXOS		

11

FIGURA CARACTERÍSTICA



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

FIRMA : Luz Clemencia Gómez

C.C. 35.456.344 de Usaquén T.P. 23.555

SCT

DOCUMENTOS ANEXOS

1. ☒ Publicación Internacional WO 2011/016921 A3

Descripción:

Páginas 22 en español

Reivindicaciones: Número (s) 17

Figuras: Número (s)

2. ☒ Forma PCT/ISA/210. Informe de Búsqueda Internacional.

3. ☒ Extracto de publicación.

**NO SE REALIZARON MODIFICACIONES EN LA FASE
INTERNACIONAL**



CONSULADO DE COLOMBIA
WASHINGTON, D.C.

No. 2026

EL CONSULADO DE COLOMBIA

CERTIFICA:

Que es auténtica la firma de Fernanda J. Watson
quien el día 24 de julio de 1998
desempeñaba las funciones de ofic. aut. Dpto. Estadística
la cual aparece al pie de los documentos anexos relacionados con certificado
notarial, representación y poder.



Dado en Washington, D.C. a los Veinticuatro (24) días del mes
julio mil novecientos noventa y ocho (1998).

Pagado Impuesto de Timbre 6=
Pagado Derecho Consular 15=
Total 21=

(El Consulado no asume ninguna
responsabilidad por el contenido de los
documentos anexos)

Sandra G.
SANDRA L. GALVIS PINZÓN
Vicecónsul



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

98 AUG 12 AM 12:02

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

[Signature]
171734

CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

Bernarda R. de Martinez
Traductora e Interprete Oficial
Resolución 683 Minjusticia 1998

NOTARIA SEXTA DEL CIRCULO DE
BOGOTA D.C. HAGO CONSTAR QUE LA
COPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
QUE HE TENIDO A LA VISTA
06 FEB 2012
AMPARO QUINTERO ARIURO
NOTARIA



No. 9817219-4
United States of America



DEPARTMENT OF STATE

To all to whom these presents shall come, Greetings:

I Certify That the document hereunto annexed is under the Seal of the Secretary of State of the State of Maryland, and that such Seal is entitled to full faith and credit.*



In testimony whereof, I, Madeleine K. Albright, Secretary of State, have hereunto caused the seal of the Department of State to be affixed and my name subscribed by the Authentication Officer of the said Department, at the city of Washington, in the District of Columbia, this twenty-fourth day of July, 1998.

Madeleine K. Albright

Secretary of State

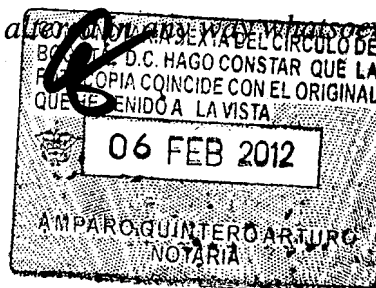
By *Jamesia J. Walker*

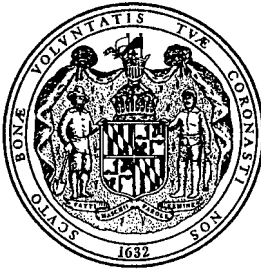
Assistant Authentication Officer,
Department of State

Issued pursuant to CHXIV, State of
Sept. 15, 1789, 1 Stat. 68-69; 22
USC 2657; 22 USC 2651a; 5 USC
301; 28 USE 1733 et. seq.; 8 USC
1443(f); RULE 44 Federal Rules of
Civil Procedure.

* FOR THE CONTENTS OF THE ANNEXED
DOCUMENT, THE DEPARTMENT ASSUMES NO
RESPONSIBILITY

This certificate is not valid if it is removed or altered in any way whatsoever





The State of Maryland

Office of the Secretary of State

I, **John T. Willis, Secretary of State of the State of Maryland**, under and by virtue of the authority vested in me by Section 7-106 of the State Government Article of the Annotated Code of Maryland, Do Hereby Certify that

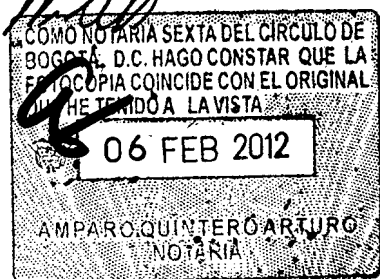
Vivian Jenkins

who has made and signed the attached certificate, was on the date thereof, the **duly elected** and qualified **Clerk of the Circuit Court for Prince George's County** whose official acts as such should be given full faith and credit in all Courts of Justice and elsewhere.



In Testimony Whereof, I have hereunto set my hand and have caused to be affixed the official seal of the Secretary of State, at Annapolis, this 17th day of July, in the year of our Lord 1998.

John T. Willis
Secretary of State



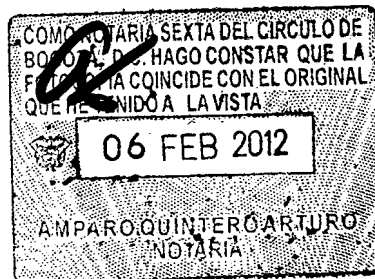
COLOMBIA



1864

y of July, A. D., 19 98.
Vivian Jenkins
 Clerk of the Circuit Court for Prince George's County.

By Deputy



For patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, slogans.



Para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, lemas comerciales.

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND
POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned /Yo (nosotros), abajo firmado (s)
United States of America, As Represented by
the Secretary of Agriculture
of/domiciliado (s) en
Washington, D. C. 20250-1400, United States of America

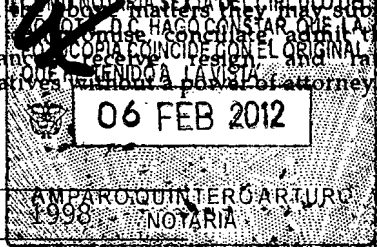
por el presente nombramos a GERMAN CAVELIER, tpa. 832; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; EMILIO FERRERO, tpa. 31929; y LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555; domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1º del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplentes, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

in due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint GERMAN CAVELIER, tpa. 832; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; EMILIO FERRERO, tpa. 31929; and LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555; domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, specially those administrative, administrative contentious and judicial, as well as before Arbitration Court, in all matters concerning the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial design; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, vegetal varieties and denominations of origin; its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative or Court cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, and do so, and make constant and faithful the facts of the case, desist, cancel, conciliate, receive, renounce and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Given and signed this/Dado y firmado hoy
7th day of July
in/en Beltsville, MD
United States of America, as Represented by the Secretary
of Agriculture
Signature [Signature] Firma
Title: Deputy Assistant Administrator



COLOMBIA

CERTIFICADO NOTARIAL (INDIVIDUO)

Los ____ días del mes de ____ de 19 ____

ante mí, Notario Público de ____

compareció(eron) personalmente ____

a quien(es) doy fe de conocer y me consta que es(son) la(s) persona(s) firmante(s) del documento que precede, y quien(es) tiene(n) capacidad legal para otorgarlo.

Notario Público — Notary Public

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Hoy, 7 de Julio de 1998

compareció(eron) ante mí

Michael D. Ruff

a quien(es) conozco personalmente y que firma(n) este documento en representación de la Sociedad/compañía

denominada Los Estados Unidos de America

Representado por el Secretario de Agricultura

Certifico:

1. Que he visto los siguientes documentos:*

1. 7 CFR 2.106 (a) (58)

2. Delegación de autoridad de Administrador a Administrador Asistente a gerente de programa de Patentes

22-02-98
3. Delegación de autoridad de Administrador Asistente a Administrador Asistente Suplente para otorgar patentes

2. Que dichos documentos prueban lo siguiente:

2.1. Que Los Estados Unidos de America

entidad gubernamental

es una Sociedad/Compañía legalmente constituida y existente

de acuerdo con las leyes de Los Estados Unidos

de America

2.2. Que el domicilio de dicha Sociedad/Compañía es

Washington D.C.

2.3. Que el objeto u objeto para los cuales se otorga el presente poder están comprendidos dentro del objeto social de la mencionada Sociedad/Compañía entidad gubernamental

2.4. Que el(los) Señor(es) Michael D. Ruff

está(n) autorizado(s) para otorgar el presente Poder.

Ciudad

Bethesda

Estado

Md.

Hoy

7 Julio de 19 98

Notario Público — Notary Public

* Los documentos deben identificarse con fecha y origen.

NOTARIAL CERTIFICATE (INDIVIDUAL)

On this ____ day of ____ 19 ____

before me, a Notary Public of ____

personally appeared ____

to me known, and known to me to be the person(s) who executed that foregoing document, and who has(have) legal capacity to execute it.

COUNTY OF PRINCE GEORGES

STATE OF MARYLAND

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

On this 7th day of July 19 98

appeared before me

Michael D. Ruff

who(m) I know personally and who(m) signed this document as representative(s) of the Corporation/Company

named the United States of America

is represented by the Secretary of Agriculture

I Certify:

1. That I have seen the following documents:*

1. 7 CFR 2.106 (a) (58)

2. Delegation of Authority from Administrator to Asst. Administrator to manage Patent Program

22-02-98
3. Delegation of Authority from Asst. Administrator to Deputy Asst. Administrator to grant

2. That the above documents duly prove the following: Power of Attorney

2.1. That the United States of America

Government Entity

is a Corporation/Company legally constituted and in existence

in accordance with the laws of the United States

of America

2.2. That the domicile of said Corporation/Company is

Washington, DC

2.3. That the purpose of purposes for which the present Power of Attorney is granted are comprised within the corporation purposes set forth in the charter of the mentioned Corporation/Company. Government Entity

2.4. That Mr. (Messrs.) Michael D. Ruff

is(are) authorized to grant the present Power of Attorney.

City Bethesda

State md

This 7th day of July 19 98

Michael D. Ruff

EXP-3-11-01

* Documents must be identified with date and origin.

10

TRADUCCION OFICIAL No.09.213.98 de un documento escrito en inglés el cual para su identificación se sella con el sello del Traductor al mismo tiempo que la presente. Esta traducción ha sido preparada por Bernarda R. de Martínez, Traductora Oficial debidamente reconocida por el Ministerio de Relaciones Exteriores y aprobada por el Ministerio de Justicia de Colombia mediante Resolución No. 683 de 1991.

1760-201 Colombia (Se traducen sellos y legalizaciones que aparecen a continuación de un documento escrito en inglés y español por medio del cual UNITED STATES OF AMERICA, As represented by the Secretary of Agriculture otorga poder a favor de GERMAN CAVELIER, GONZALO PERDOMO, EMILIO FERRERO y LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ.

Dado y firmado hoy 7 de julio de 1998, en Beltsville, MD, Estados Unidos de América, por (ilegible), Administrador Asistente Adjunto.



CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD) escrito en inglés y español referente a la constitución y existencia legal de UNITED STATES OF AMERICA, As Represented by the Secretary of Agriculture expedido en Beltsville, MD, EE.UU., el 7 de julio de 1998.

(Firmado), Deborah L. Penot, Notario Público

Expira el 3-11-01

(Sello notarial seco), DEBORAH L. PENOT NOTARIO PUBLICO *

CONDADO DE PRINCE GEORGE'S *

(Sello parcial en tinta del Consulado de Colombia en Washington, D.C.)

ESTADO DE MARYLAND, CONDADO DE PRINCE GEORGE'S, SCT.

Yo, VIVIAN JENKINS, Escribano de la Corte de Circuito del Condado de Prince George's, por el presente certifico que DEBORAH L. PENOT, quien tomó el reconocimiento y declaración juramentada adjuntos, y quien suscribió su nombre en los mismos, era en el momento de hacerlo NOTARIO PUBLICO del Estado de Maryland, en y para el Condado Prince George's, debidamente comisionado, juramentado y autorizado por las ley para administrar juramentos y tomar reconocimientos y pruebas de escrituras que se deban registrar en el mismo. Además certifico que estoy familiarizado con la caligrafía de dicho notario y verdaderamente creo que la firma que aparece en el documento es su firma auténtica.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, firmo y estampo el sello de la Corte de Circuito del Condado de Prince George's la cual es una Corte de Registro, hoy 14 de julio de 1998 A.D.

(Firmado),

Vivian Jenkins

Escribano de la Corte de Circuito del
Condado de Prince George's

(Firmado),

(Ilegible),

Por el Suplente



(Adherido se encuentra sello de oblea dorado con texto en relieve), CORTE DEL CONDADO DE PRINCE GEORGE'S * MARYLAND *
(Sello parcial en tinta del Consulado de Colombia en Washington, D.C.)

ESTADO DE MARYLAND

OFICINA DEL SECRETARIO DE ESTADO

Yo, JOHN T. WILLIS, Secretario de Estado del Estado de Maryland, de acuerdo con y en virtud de la autoridad que me confiere la Sección 7-106 del Artículo del Gobierno Estatal del Mencionado Código de Maryland, **POR EL PRESENTE CERTIFICO QUE**

VIVIAN JENKINS

quien preparó y firmó el certificado adjunto, era en la fecha del mismo, el **Escribano de la Corte de Circuito del Condado de Prince George's**, debidamente elegido y calificado a cuyos actos oficiales se les debe dar completa fe y fuera de las Cortes de Justicia.

EN TESTIMONIO DE LO CUAL, he firmado y he hecho adherir el sello oficial del Secretario de Estado, en de julio del año de nuestro Señor de 1998.

(En manuscrito), COLOMBIA

(Adherido se encuentra sello de oblea dorado con texto en relieve), SELLO DE LA OFICINA DEL SECRETARIO DE ESTADO *
MARYLAND *



(Sello parcial en tinta del Consulado de Colombia en Washington, D.C.)

No. 9817219-4

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

DEPARTAMENTO DE ESTADO

A TODOS A QUIENES LOS PRESENTES LLEGAREN, SALUD:

Certifico que el documento adjunto al presente se encuentra bajo el Sello del Secretario de Estado del Estado de Maryland, y que ha dicho Sello se le debe dar completa fe y crédito.*

En testimonio de lo cual, yo, Madeleine K. Albright, Secretario de Estado, he hecho estampar el Sello del Departamento de Estado y suscribir mi nombre por el Funcionario de Autenticaciones de dicho Departamento, en la Ciudad de Washington, en el Distrito de Columbia, hoy 24 de julio de 1998.

(Firmado), Madeleine K. Albright

Secretario de Estado

(Firmado), Por, Fernesia T. Watson

Funcionario Auxiliar de Autenticaciones

Departamento de Estado

*El Departamento no asume ninguna responsabilidad por el contenido del documento anexo.



ESTE CERTIFICADO NO ES VALIDO SI SE LE REMUEVE O ALTERA EN CUALQUIER FORMA.

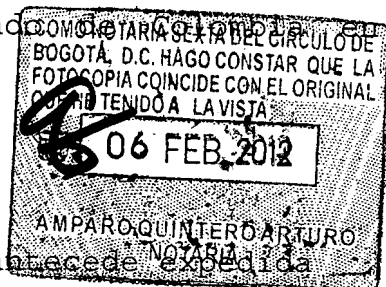
(Sello en relieve del Departamento de Estado de los Estados Unidos de América)

(El formulario detalla las disposiciones legales bajo las cuales fue emitido e impreso.)

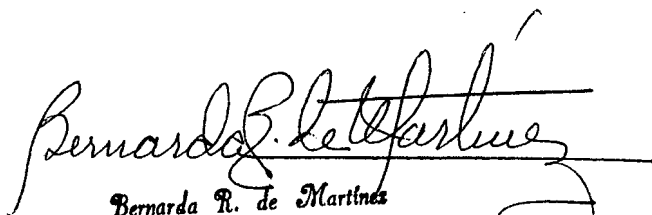
(Sellos parciales en tinta del Consulado de Colombia en Washington, D.C.)

(En español), Certificación de la firma y cargo de FERNESIA T. WATSON expedida por el CONSULADO DE COLOMBIA EN WASHINGTON, D.C., bajo el No. 2026, de fecha 24 de julio de 1998 y firmada por Sandra L. Gálvis Pinzón, Vicecónsul. Pagados Impuesto de Timbre y derechos Consulares por valor de veintiún dólares.

(Sellos parciales en tinta del Consulado de Colombia en Washington, D.C.)



(Al dorso), Legalización de la firma que antecede expedida por el MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES bajo el No. 171734, de fecha 12 de agosto de 1998 y firmada por el Jefe de Legalizaciones.


Bernarda R. de Martínez
Traductora e Interprete Oficial
Resolución 683 Minjusticia 1994

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

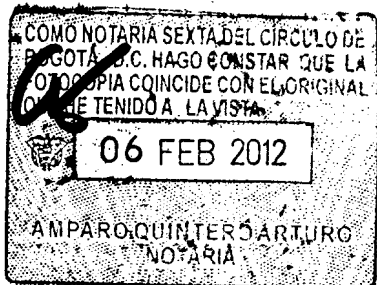
NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

271509
Bernarda de Martínez

COPIA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPENA
FOLIOS INDICADOS

98 SEP -9 AM 12:13

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFÉ DE BOGOTÁ D.C.



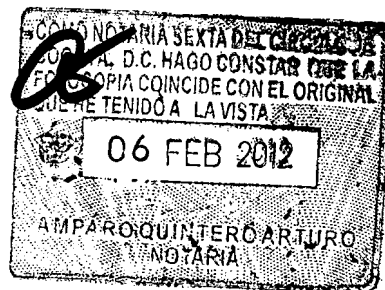
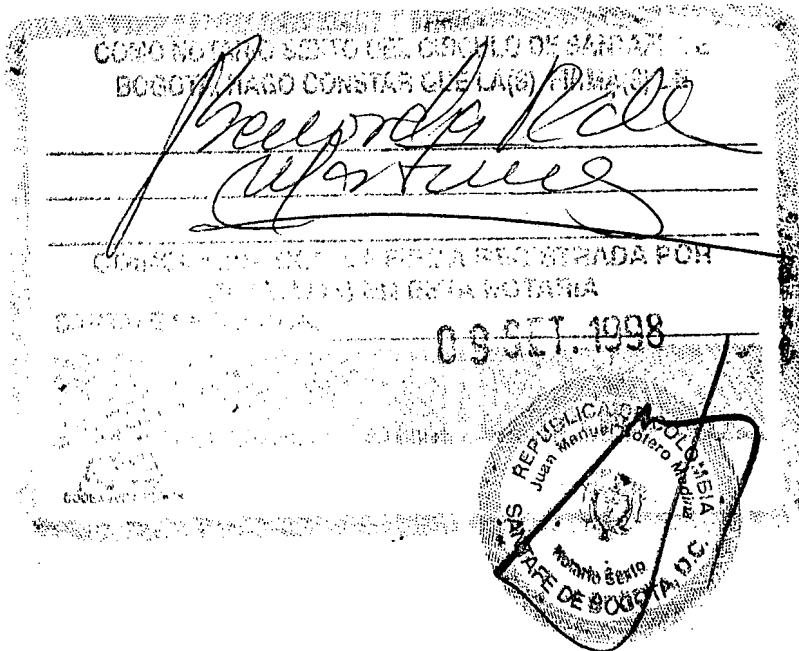
Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en los
archivos de esta oficina para su confrontación y a la cual me
remito.

Bogotá, 9 de septiembre de 1998

COLO 0695-801-001-6

BRM.3

Bernarda R. de Martínez
Bernarda R. de Martínez
Traductora e Interprete Oficial
Resolución 683 Minjusticia 1994



16

CAVELIER

ABOGADOS

WEB SITE: www.cavelier.com
E-MAIL: cavelier@cavelier.com

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTA 8, COLOMBIA

TELEFONO: (57) (1) 347-3611
TELEFAX: (57) (1) 217-9211 (57) (1) 310-4995

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

E. S. D.

Poderdante : UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE
SECRETARY OF AGRICULTURE

Poder conferido el : 07/07/1998

Yo, EMILIO FERRERO, obrando como apoderado principal del poderdante arriba mencionado, mediante el presente escrito sustituyo el poder a mi otorgado a la doctora LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, identificada con cédula de ciudadanía No. 35.456.344 y Tarjeta Profesional N°23.555, con todas las facultades que me fueron conferidas.

Hago la anterior sustitución conforme al artículo 66 del Código de Procedimiento Civil.

Señora Jefe,



EMILIO FERRERO

T.P.A. N° 31.929

C.C. N° 438.019 de Usaquén

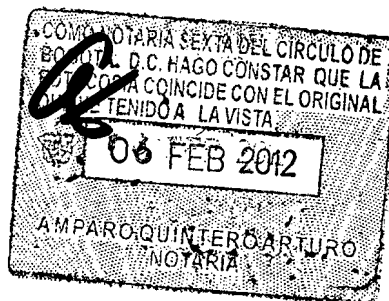
Acepto:



LUZ CLEMENCIA DE PAEZ

T.P.A. N° 23.555

C.C. No. 35.456.344 de Usaquén



NOTARIA SEXTA DE BOGOTÁ
RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL
Bogotá, D.C.
Ante mí AMPARO QUINTERO ARTURO,
NOTARIA SEXTA DEL CÍRCULO DE
BOGOTÁ, D.C.
Compareció(aron) *Emilio Fajero*
Williams - Lucía Clemente
Suárez de Pérez
Quien(es) exhibió(eron) la(s) C.C.
438019 TP 31929
85456344 TP 23555
Y declaró(aron) que la(s) firma(s) que aparece(n)
en el presente documento es(son) la(s) suya(s) y
que el contenido del mismo es cierto.
En constancia se firma esta diligencia.

COMO NOTARIA SEXTA DEL CÍRCULO DE
BOGOTÁ, D.C. HAGO CONSTAR QUE LA
FOTOCOPIA COINCIDE CON EL ORIGINAL
QUE HE TENIDO A LA VISTA
06 FEB 2012
AMPARO QUINTERO ARTURO
NOTARIA

Emilio Fajero
Lucía Clemente Suárez de Pérez



(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau(43) International Publication Date
10 February 2011 (10.02.2011)(10) International Publication Number
WO 2011/016921 A3(51) International Patent Classification:
C12N 1/20 (2006.01) A01N 63/02 (2006.01)(21) International Application Number:
PCT/US2010/040040(22) International Filing Date:
25 June 2010 (25.06.2010)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
12/511,275 29 July 2009 (29.07.2009) US

(71) Applicants (for all designated States except US): THE UNITED STATES OF AMERICA, as represented by THE SECRETARY OF AGRICULTURE [US/US]; 1400 Independence Ave. SW, Washington, DC 20250-0302 (US). THE OHIO STATE UNIVERSITY RESEARCH FOUNDATION [US/US]; 1960 Kenny Road, Columbus, OH 43210-1063 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): SCHISLER, David, A. [US/US]; 215 E. Tyler Street, Morton, IL 61550 (US). BOEHM, Michael, J. [US/US]; 357 Pinney Drive, Worthington, OH 43085 (US).

(74) Agent: SMITH, Sarah, E.; AKERMAN SENTERFITT, P.O. Box 3188, West Palm Beach, FL 33402-3188 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,

CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments (Rule 48.2(h))
- with (an) indication(s) in relation to deposited biological material furnished under Rule 13bis separately from the description (Rules 13bis.4(d)(i) and 48.2(a)(viii))

(88) Date of publication of the international search report:
19 May 2011(54) Title: PROTHIOCONAZOLE TOLERANT *CRYPTOCOCCUS FLAVESCENS* STRAINS FOR BIOLOGICAL CONTROL OF FUSARIUM HEAD BLIGHT(57) Abstract: Strains of *Cryptococcus flavescens* which are superior antagonists of *F. graminearum* for suppression and control of FHB in cereals, particularly in wheat and barley, are described. The strains are prothioconazole tolerant variants of previously described *C. flavescens* OH 182.9 (NRRL Y-30216). Moreover, these prothioconazole tolerant variants exhibit significantly increased efficacy against *F. graminearum* in comparison to the parent strain OH 182.9.

WO 2011/016921 A3

18

CEPAS DE *CRYPTOCOCCUS FLAVESCENS* TOLERANTES AL PROTIOCONAZOL
PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA FUSARIOSIS DE LA ESPIGA

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 CAMPO DE LA INVENCION

La invención está dirigida a nuevos agentes de control biológico para el control de la fusariosis de la espiga.

DESCRIPCION DEL ESTADO DE LA TECNICA

10 La fusariosis de la espiga (FHB) es una enfermedad devastadora del trigo y la cebada en todas las regiones del mundo húmedas y semi-húmedas productoras de cereal (McMullen y otros, 1997, Scab of wheat and barley: a re emerging disease of devastating impact. Plant Disease, 81, 1340-1348; Muthomi y otros, 2002, Susceptibility
15 of Kenyan wheat varieties to head blight, fungal invasion and deoxynivalenol accumulation inoculated with Fusarium graminearum, Journal of Phytopathology, 150, 30-36; Yu. Gagkaeva y Yli-Mattila, 2004, Genetic diversity of Fusarium graminearum in Europe and Asia, European Journal of Plant Pathology, 110, 551-562). La FHB es
20 causada principalmente por el Fusarium graminearum Schwabe grupo 2 (Aoki y O'Donnell, 1999, Morphological and molecular characterization of Fusarium pseudograminearum sp. nov., anteriormente reconocida como la población del grupo 1 de F. graminearum, Mycologia, 91, 597-609) [estado perfecto = Gibberella
25 zae (Schwein.) Petch]. Además de causar pérdidas en el rendimiento del grano, el G. zae puede producir micotoxinas tales como la toxina estrogénica zearalenona (F-2) (Hesseltine y otros, 1978, Fungi, especially Gibberella zae, and zearalenone occurrence in wheat. Mycologia, 70, 14-18) y tricoteceno deoxinivalenol (DON, vomitoxina)
30 (Snijders, 1990, Fusarium head blight and mycotoxin

contamination of wheat, a review. Netherlands Journal of Plant Pathology, 96, 187-198) que pueden tener un efecto perjudicial en la calidad del grano [Cardwell y otros, 2001, Mycotoxins: the cost of achieving food security and food quality, APS Net: Feature story agosto, 2001] y la salud animal [Marasas, 1991, Toxigenic Fusaria, en: Mycotoxins and Animal Foods, J.E. Smith y R.S. Henderson, eds., CRC Press, Inc., Boca Raton, FL; Beardall y Miller, 1994, Diseases in humans with mycotoxins as possible causes, in Mycotoxins in Grain: Compounds Other than Aflatoxin (MILLER, J.D. & TRENHOLM, H.L., Eds.). Eagan Press, St. Paul, MN, pp. 387-39; Pestka y Bondy, 1994, Immunotoxic effects of mycotoxins, en Mycotoxins in Grain: Compounds Other than Aflatoxin (MILLER, J.D. & TRENHOLM, H.L., Eds.) Eagan Press, St. Paul, MN, pp. 339-358].

Reducir el impacto de la FHB en la producción y la calidad de los granos sigue siendo un problema insoluble. Algunas veces, los fungicidas tienen FHB reducida [Wilcoxson, 1996, Fungicides for control of Fusarium head blight, Int. J. Tropical Plant Disease, 14, 27-50; Sutý y Mauler-Machnik, 1997, Fusarium ear blight on wheat-epidemiology and control of Gibberella zeae, the teleomorph of Fusarium graminearum with Follicur, en Diagnosis and Identification of Plant Pathogens, Actas del 4to Simposio Internacional de la Fundación Europea de Patología de las Plantas (DEHNE, H.W., ADAM, G., DIEKMANN, M., FRAHM, J., MAULER-MACHNIK & VAN HALTEREN, P., Eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht., pp. 243-246; Jones, 1999, Seedling blight development and control in spring wheat damaged by Fusarium graminearum Group 2. Plant Disease, 83, 1013-1018], pero los residuos, los reportes de la resistencia fungicida y los ejemplos del aumento del contenido de DON en el grano pueden relacionarse con su uso [Mauler-Machnik y Zahn, 1994, Ear fusarioses in wheat-new findings on their

epidemiology and control with Folicur (tebuconazol). Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer, 47, 129-155; Ramirez y otros, 2004, Impact of environmental factors and fungicides on growth and deoxynivalenol production by *Fusarium graminearum* isolates from
 5 Argentinian wheat. Crop Protection, 23, 117-125; Chen y otros, 2000, Recent advances in wheat head scab research in China, en Proc. Int. Symp. Wheat Improvement for Scab Resistance (RAUPP, W. J., MA, Z., CHEN, P. & LIU, D., Eds.). Nanjing Agricultural University, Jiangsu, China, pp. 258-273; Gale y otros, 2002,
 10 Population analysis of *Fusarium graminearum* from wheat fields in eastern China, Phytopathology, 92, 1315-1322]. Aunque el desarrollo de cultivares resistentes o variedades anatómicamente alteradas (Legzdina y Buerstmayr, 2004, Comparison of infection with *Fusarium* head blight and accumulation of mycotoxins in grain of hulless and
 15 covered barley, Journal of Cereal Science, 40, 61-67), de cereales de grano pequeño es una promesa en la reducción de la FHB, no se han desarrollado cultivares altamente resistentes con características agronómicas ideales (Johnston, 1994; Bushnell y
 20 otros, 1998, Genetic engineering of disease resistance in cereals, Canadian Journal of Plant Pathology, 20, 137-149; Bai y otros, 2000, Inheritance of resistance to *Fusarium graminearum* in wheat, Theoretical and Applied Genetics, 100, 1-8). La diversidad genética de *G. zeae* [O'Donnell y otros, 2004, Genealogical concordance
 between the mating type locus and seven other nuclear genes
 25 supports formal recognition of nine phylogenetically distinct species within the *Fusarium graminearum* clade, Fungal Genetics and Biology, 41, 600-623; McCallum y otros, 2004, Barrage zone formation between vegetatively incompatible *Fusarium graminearum* (*Gibberella zeae*) isolates. Phytopathology, 94, 432-437; Walker y
 30 otros, 2001, Variation among isolates of *Fusarium graminearum*

associated with Fusarium head blight in North Carolina, Plant Disease, 85, 404-410; Cumagun y otros, 2004, Genetic mapping of pathogenicity and aggressiveness of Gibberella zeae (Fusarium graminearum) toward wheat, Phytopathology, 94, 520-526] suscita preocupaciones con respecto a cuán duradera será la eficacia de los fungicidas y cultivares resistentes. La labranza convencional de campos es parcialmente eficaz en la reducción de la producción del inóculo del patógeno y, concomitantemente, la FHB (Miller y otros, 1998, Effect of tillage practice on Fusarium head blight of wheat, Canadian Journal of Plant Pathology, 20, 95-103; Dill-Macky y Jones, 2000, The effect of previous crop residues and tillage on Fusarium head blight of wheat, Plant Disease, 84, 71-76; Pereyra y otros, 2004, Survival and inoculum production of Gibberella zeae in wheat residue, Plant Disease, 88, 724-730), pero la labranza mínima es la práctica agrícola preferida para la conservación del suelo. Si se tiene en cuenta el potencial de dispersión a larga distancia del inóculo y los diversos cultivos que pueden actuar como hospederos alternativos del patógeno (Chongo y otros, 2001, Reaction of seedling roots of 14 crop species to Fusarium graminearum from wheat head, Canadian Journal of Plant Pathology, 23, 132-137), la rotación de los cultivos es una solución insostenible.

El control biológico de la FHB suscitó un gran interés desde mediados de la década de 1990, y se lograron avances significativos [Perondi y otros, 1996, Controle microbiologico da giberela do trigo, Fitopatologia Brasileira, 21, 243-249; Bujold y otros, 2001, Effect of Microsphaeropsis sp. on the production of perithecia and ascospores of Gibberella zeae, Plant Disease, 85, 977-984; Schisler y otros, 2002, Biological control of Fusarium head blight of wheat and deoxynivalenol levels in grain via use of antagonista

microbianos, in *Mycotoxins and Food Safety* (Devries, J.W., Trucksess, M.W. & Jackson, L.S., Eds.). Kluwer Academic/Plenum Publishers, Nueva York, pág. 53-69; da Luz y otros, 2003, Biological control of *Fusarium graminearum*, in *Fusarium head blight of wheat and cebada* (Leonard, K.J. & Bushnell, W.R., Eds.) APS Press, St. Paul, MN, 381-394; Gilbert & Fernando. 2004, Epidemiology and biological control of *Gibberella zeae* (anamorph *Fusarium graminearum*). *Canadian Journal of Plant Pathology*, 26, 1-9]. La aceptación del público, la compatibilidad con otras medidas de control de enfermedades, y la durabilidad son factores favorables para apoyar el desarrollo de estrategias para el control biológico de la FHB.

Schisler y otros (patente de Estados Unidos núm. 6,562,337) describen el aislamiento de cuatro levaduras y una bacteria que fueron antagonistas superiores capaces de suprimir la FHB. Estos microorganismos, se obtuvieron a partir de anteras de trigo, incluyendo la levadura *Cryptococcus flavescens* OH 182.9 (que se clasificó originalmente como *C. nodaensis*), la cual se depositó en la Colección de Cultivos de Servicio a la Investigación Agrícola (NRRL) bajo el núm. de acceso al depósito NRRL Y-30216. Recientemente, Schisler y otros (Selection and evaluation of the potential of choline-metabolizing microbial strains to reduce *Fusarium head blight*, *Biological Control*, 39, 497-506) describieron la selección de cepas de microorganismos que usan la colina, como agentes de control biológico contra la FHB.

A pesar de los esfuerzos para el desarrollo de agentes de control biológico de la FHB eficaces, el desarrollo y uso de fungicidas químicos se mantiene como una valiosa herramienta en el arsenal de agentes para la reducción de la FHB en los cereales. Más recientemente, el fungicida químico prothioconazol recibió un

estatus de excepción para su uso en trigo durante la floración para la reducción de la FHB.

Sin embargo, a pesar de estos y otros avances, persiste la necesidad de mejorar los microorganismos para su uso en el control biológico de la FHB.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Nosotros descubrimos ahora nuevas cepas de *Cryptococcus flavescens* que son antagonistas superiores de *F. graminearum*. Estos microorganismos son eficaces para la supresión y el control de la FHB en los cereales, particularmente en el trigo y la cebada. Las cepas de la invención son variantes de la *C. flavescens* OH 182.9 (NRRL Y-30216) tolerantes al protioconazol descritas previamente. Además, estas variantes tolerantes al protioconazol exhiben sorprendentemente una eficacia significativamente mayor contra *F. graminearum* en comparación con la cepa OH 182.9.

De acuerdo con este descubrimiento, es un objeto de esta invención proporcionar nuevas cepas microbianas que suprimen la profusión de *F. graminearum* en las espigas de trigo y cebada.

Otro objeto de esta invención es proporcionar nuevas cepas microbianas que son eficaces para la supresión de *F. graminearum* en las espigas de trigo y cebada, y que también son tolerantes al fungicida protioconazol.

Un objeto adicional de esta invención es proporcionar nuevas cepas microbianas que son eficaces para el control de *F. graminearum* en las espigas de trigo y cebada las cuales se pueden aplicar en combinación con el fungicida protioconazol y sus derivados.

Este y otros objetos de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción.

Depósito de material biológico

Dos cepas de *Cryptococcus flavescens*, OH 182.9 variante 3C y OH 182.9 variante 4C tolerantes al protioconazol, se depositaron el 5 21 de mayo de 2010, conforme a las disposiciones del Tratado de Budapest en la Colección de Cultivos de Servicio a la Investigación Agrícola (NRRL), 1815 N. University St., Peoria, IL, 61604, Estados Unidos, y se les asignaron los núms. de acceso. NRRL Y-50378 y NRRL Y-50379, respectivamente. Las cepas son levaduras que presentan 10 propiedades morfológicas y de cultivo características de *Cryptococcus flavescens*, y sus identidades se confirmaron por análisis de secuencia de los dominios D1/D2 del gen 26S ARNr y las regiones ITS 1+2 del gen ARNr mediante métodos estándar (Okoli y otros, 2006, *Cryptotrichosporon anacardii* gen. nov., sp. nov., a 15 new trichosporonoid capsulate basidiomycetous yeast from Nigeria that is able to form melanin on niger seed agar. FEMS Yeast Res, 7:339-350). El árbol filogenético se construyó mediante el uso de uniones vecinas con el modelo de sustitución no corregida ('p'), las diferencias de alineación se trataron como caracteres 20 desaparecidos, y todos los caracteres eran desordenados y de igual peso. Los valores de arranque se basan en 100 réplicas.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

A los fines de esta invención, se entiende que el uso del 25 término *Fusarium* se pretende que incluya tanto la etapa sexual (teleomórfica) de este organismo y también la etapa asexual (anamórfica), también se conoce como la etapa de hongos perfectos e imperfectos, respectivamente. Por ejemplo, la etapa anamórfica de *Gibberella zeae* se conoce como *Fusarium graminearum*, agente causal 30 de la FHB. Esta enfermedad resulta cuando la flor o la espiga (que

también se conoce como espiga de semilla) se inoculan con conidios producidos por la forma imperfecta o ascosporas producidas por la forma perfecta de este hongo, con la infección de la espiga inoculada resultante después del evento de inoculación.

5 La expresión "antagonista superior" usada en la presente descripción con referencia a un microorganismo, significa que la cepa objeto exhibe un grado de inhibición de la plaga de la espiga inducida por *Fusarium* superior a un nivel estadísticamente significativo, que la de un control sin tratar.

10 El término cereal como se usa en la presente descripción, se refiere a cualquiera de las especies de cereales que normalmente son susceptibles a la FHB. Los cereales que se reportaron como susceptibles son el trigo, la cebada, la avena y el triticale, aunque el trigo y la cebada son los dos cultivos en los que esta
15 enfermedad representa un problema económico importante. Cualquiera de estos cereales puede ser el blanco para el control de la FHB.

 La *F. graminearum* afecta principalmente a las espigas (espigas de flores, espigas de semillas, o puntas) de las plantas de cereales desde la época de la floración hasta la etapa de masa
20 blanda de desarrollo de la espiga. Los conidios o ascosporas de *F. graminearum* germinados penetran a través de las anteras y tejidos asociados para iniciar la infección del hospedero y el desarrollo de síntomas de la FHB.

 Los antagonistas de *F. graminearum* de esta invención son cepas
25 variantes derivadas de *Cryptococcus flavescens* OH 182.9 (NRRL Y-30216, anteriormente identificada como *C. nodaensis*), la cual se describió anteriormente en la patente de Estados Unidos núm. 6,562,337, cuyo contenido se incorpora en la presente descripción como referencia. Aunque *C. flavescens* OH 182.9 es eficaz en la
30 reducción de la FHB en los cereales, desafortunadamente, es

sensible incluso a bajas concentraciones del fungicida protioconazol. Esta sensibilidad limita la aplicación de *C. flavescentes* contra la FHB en los campos que se tratan o se tratarán con protioconazol. Ahora se descubrió que se pueden producir
5 variantes o mutantes de *C. flavescentes* OH 182.9, que presentan una tolerancia al protioconazol significativamente mayor (capaz de crecer en presencia de protioconazol) que el parental OH 182.9. Además, se descubrió sorprendentemente, que al menos algunas de las cepas tolerantes al protioconazol son antagonistas superiores de *F. graminearum*, y presentan una eficacia significativamente mayor en
10 contra la FHB que el parental *C. flavescentes* OH 182.9.

Las cepas tolerantes al protioconazol de la invención se producen mediante el uso de una larga serie de eventos de cultivo donde la levadura se expone a concentraciones crecientes de
15 protioconazol. Como se describe en mayor detalle en el Ejemplo, el *C. flavescentes* OH 182.9 parental se cultiva en un medio nutritivo que contiene al menos una concentración de trazas de hasta aproximadamente 4 ppm de protioconazol, preferentemente
20 aproximadamente 1 ppm de protioconazol, y las cepas que presentan un crecimiento se seleccionan para cultivarlas en concentraciones más altas de protioconazol. El proceso se repite con las cepas seleccionadas que se cultivan en concentraciones del fungicida que aumentan en forma gradual para finalmente seleccionar las cepas
25 capaces de crecer en medios de nutrientes que contengan entre al menos aproximadamente 2 ppm hasta aproximadamente 10 ppm de protioconazol, preferentemente aproximadamente 5 ppm de protioconazol.

Las cepas de *C. flavescentes* tolerantes al protioconazol que se recuperan se examinan posteriormente para la eficacia en la
30 reducción de la severidad de la FHB en una planta de cereales que

se desee, preferentemente trigo. En resumen, las variantes tolerantes al protioconazol se pasan a través de un bioensayo de planta en el que las células de levaduras se introducen a una espiga de semilla de la planta de cereal inoculada con conidios de *F. graminearum*. En una modalidad preferida, el *F. graminearum* se producirá en un medio de cultivo solidificado y el nivel de inóculo cosechado debe ser del orden de aproximadamente 10^4 - 10^6 conidios/ml, preferentemente aproximadamente 10^5 conidios/ml de suspensión acuosa. Las células levadura antagonista tolerante al protioconazol en medio o en un tampón adecuado se introducen en un nivel de aproximadamente 10^7 - 10^8 ufc/ml. En una modalidad de la invención, los conidios de *F. graminearum* y las células de la cepa de prueba se combinan en un tampón fosfato débil y aproximadamente 10:1 de la suspensión se usan para inocular la espiga de semilla de la planta. Las plantas se cultivan después en condiciones cercanas a 100% de humedad relativa lo que conduce a la infección por hongo durante un período de aproximadamente 3 días. Después de un período de tiempo suficiente para el desarrollo notable de la enfermedad (por lo general al menos aproximadamente dos semanas después de la inoculación), las variantes de levadura que se usan para el tratamiento de las espigas de semilla y que reducen los síntomas visibles de la FHB se seleccionan para su posterior evaluación.

Las variantes de levaduras tolerantes al protioconazol que se seleccionan en el bioensayo de planta que se describió anteriormente, se someten, opcionalmente, a un segundo bioensayo de plantas de espiga de semilla más altamente replicadas, similar al primero. Las levaduras se cultivan de nuevo en un medio adecuado hasta que se expanden suficientemente para su uso en el bioensayo. Sin embargo, en este segundo bioensayo de planta, es preferible cultivar las cepas en cultivo líquido ya que esta práctica se usa

ampliamente en la industria y, los antagonistas deben demostrar eficacia biológica cuando se cultivan bajo condiciones de cultivo líquido. El caldo colonizado que contiene células de cepas individuales y una suspensión de conidios de *F. graminearum* se usan para 5 inocular las espigas de semillas como se describió anteriormente. Las células y la suspensión de conidios se pueden combinar antes de la inoculación. Al igual que en el bioensayo de la primera planta, las variantes de levadura que se usan para el tratamiento de las espigas de semilla y que reducen los síntomas 10 visibles de la FHB se seleccionan como antagonistas candidatos.

La confirmación de la eficacia antagonista en el control de *F. graminearum* puede realizarse en estudios en invernadero a mayor escala o en estudios de campo en el que las plantas con flores se 15 tratan con células de las cepas de prueba, antes, durante o después de la inoculación con conidios de *F. graminearum*. El tratamiento de la planta se puede realizar en la misma forma que una aplicación de campo *fidedigna*.

Se determina que las variantes de OH 182.9 tolerantes al protioconazol son superiores a la cepa parental OH 182.9 de tipo 20 salvaje si, cuando las líneas celulares parental y variante se producen mediante el uso de técnicas de crecimiento de cultivo líquido similares, las variantes tolerantes al protioconazol reducen los síntomas de severidad de la enfermedad en al menos 50% o al menos 25% más que la cepa parental en ensayos en trigo 25 repetidos, en invernadero o en pruebas de campo, respectivamente. La severidad de la enfermedad se determina mediante el cálculo del porcentaje promedio de la superficie de las espigas de trigo individuales que presenten síntomas de infección por *F. graminearum*.

Mediante el uso del método anterior se aislaron dos nuevas cepas tolerantes al protioconazol de los antagonistas superiores de la FHB: *Cryptococcus flavescens*, OH 182.9 variante 3C y OH 182.9 variante 4C. Se prevé que el método se puede repetir para aislar
5 variantes de *C. flavescens* OH 182.9 tolerantes al protioconazol adicionales, que presentan una eficacia significativamente mayor en la reducción de la FHB en plantas de cereal.

Las variantes *C. flavescens* OH 182.9 tolerantes al protioconazol normalmente se cultivarán en cultivos líquidos
10 aeróbicos en medio que contenga fuentes de carbono, nitrógeno y sales inorgánicas asimilables por los microorganismos y de apoyo eficiente al crecimiento celular. Las fuentes preferidas de carbono son las hexosas tales como glucosa, pero otras fuentes asimilables, tales como aminoácidos, se pueden sustituir. Muchos de los
15 materiales inorgánicos y proteicos se pueden usar como fuente de nitrógeno en el proceso de crecimiento. Las fuentes de nitrógeno preferidas son aminoácidos y urea, pero otros incluyen amoniaco gaseoso, sales inorgánicas de nitrato y amonio, vitaminas, purinas, pirimidinas, extracto de levadura, extracto de carne, proteosa
20 peptona, harina de soja, hidrolizados de caseína, solubles de destilería, y similares. Entre los minerales inorgánicos que se pueden incorporar en el medio nutritivo están las sales habituales capaces de producir calcio, zinc, hierro, manganeso, magnesio, cobre, cobalto, potasio, sodio, molibdato, fosfato, sulfato,
25 cloruro, borato, e iones similares.

El crecimiento de la levadura de la invención se puede lograr a temperaturas entre 1 y 36 °C, con una temperatura preferida en el intervalo de 15-30 °C. El pH del medio nutritivo puede variar entre 4 y 9, pero el intervalo de operación preferido es pH 6-8. Por lo

general, el máximo rendimiento de células se obtiene a las 20-72 horas después de la inoculación.

Como se describe con mayor detalle a continuación, el control de la FHB puede efectuarse mediante la aplicación a la espiga (que también se conoce como espiga de semilla) de una planta de cereales, de una o más de las variantes de *C. flavescentis* OH 182.9 tolerantes al protioconazol. Como se usa en la presente, la "espiga" o "espiga de semilla" se refiere a la punta que contiene semillas o los progenitores de semillas. Los antagonistas se aplican en una cantidad eficaz para reducir el nivel de la FHB respecto al de un control sin tratar.

Aunque las variantes tolerantes al protioconazol que se mencionaron anteriormente son eficaces cuando se usan solas, en una modalidad opcional pero preferida, éstas se aplican en combinación con otros agentes biológicos o químicos de control de la FHB conocidos. Como se señaló anteriormente, debido a su tolerancia al protioconazol, las variantes se pueden aplicar en combinación con protioconazol o sus derivados. Por otra parte, las variantes se pueden aplicar a las plantas de cereales que se trataron o se tratarán por separado con protioconazol o sus derivados. Una variedad de otros agentes de control biológico son adecuados para usar en la presente descripción e incluyen, pero sin limitarse a, los descritos por Perondi y otros, 1996, *ibíd.*; Bujold y otros, 2001, *ibíd.*; Schisler y otros, 2002, *ibíd.*; da Luz y otros, 2003, *ibíd.*; Gilbert & Fernando, 2004, *ibíd.*; y Schisler y otros, patentes de Estados Unidos núms. 6,562,337 y 6,312,940, y solicitud de Estados Unidos con núm. de serie 11/640,091, presentada el 15 de diciembre de 2006; el contenido de todas éstas se incorpora como referencia en la presente descripción. Se prefiere el uso en combinación con los antagonistas microbianos descritos en las

patentes de Estados Unidos y la solicitud pendiente de Schisler, específicamente *Bacillus* sp. (NRRL B-30210), *Bacillus* sp. (NRRL B-30211), *Torula aurea* (recientemente renombrado *Cryptococcus aureus*) (NRRL Y-30213), una levadura no identificada (NRRL Y-30214),
5 *Bacillus* sp. (NRRL B-30212), y *Torula* sp. (recientemente renombrada *Cryptococcus aureus*) (NRRL Y-30215). Estos antagonistas adicionales se pueden aplicar con los antagonistas de la invención, tal como en una mezcla, o se pueden aplicar por separado o en diferentes momentos.

10 Las variantes tolerantes al protioconazol de la invención se pueden aplicar por cualquier método convencional a las superficies de las espigas de los cereales. Por ejemplo, se pueden aplicar como una aspersión acuosa, como un polvo humectable, o en forma de polvo. Las formulaciones diseñadas para estas modalidades de
15 aplicación por lo general incluyen un portador líquido o sólido adecuado, junto con otros adyuvantes, tales como agentes humectantes, agentes de adherencia y similares. A menudo se usan almidón, polisacáridos, alginato de sodio, celulosa, etc. en tales formulaciones como agentes adherentes y portadores.

20 Las expresiones "una cantidad eficaz" y "una cantidad de supresión" se usan en la presente descripción con referencia a la cantidad de tratamiento con antagonistas necesario para obtener una reducción en el nivel de la enfermedad en relación con la que se produce en un control sin tratar en condiciones adecuadas de
25 tratamiento como se describe en la presente. La tasa real de aplicación de una formulación líquida por lo general variará de un mínimo de aproximadamente 1×10^3 a aproximadamente 1×10^{10} células viables/ml, y preferentemente de aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente 5×10^9 células viables/ml. En la mayoría de las
30 condiciones, las cepas de la invención descritas en el ejemplo más

abajo, serán óptimamente eficaces a tasas de aplicación en el intervalo de aproximadamente 1×10^6 a 1×10^9 células viables/ml, asumiendo un modo de aplicación que lograría alcanzar el contacto sustancialmente uniforme con al menos aproximadamente 50% de la espiga de trigo. Si los antagonistas se aplican como una formulación sólida, la tasa de aplicación debe controlarse para dar lugar a un número comparable de células viables por unidad de área de superficie de la espiga del cereal como se obtiene por las tasas de tratamiento líquido mencionadas.

Se prevé que las temperaturas en las que los antagonistas son efectivos podrían estar en el intervalo de aproximadamente 5°C a aproximadamente 35°C . El intervalo de temperatura preferido es de $15-30^{\circ}\text{C}$, y el intervalo óptimo se considera $18-28^{\circ}\text{C}$.

Teóricamente, los antagonistas se pueden aplicar a la espiga de semilla en cualquier momento después de la etapa de arranque y antes de la etapa de masa dura del desarrollo de los cereales. La espiga de cereales es sólo susceptible a la infección por *F. graminearum* desde el inicio de la floración (antesis) a la etapa de masa blanda de desarrollo del núcleo. Por lo tanto, el mejor momento para aplicar los agentes de control biológico sería desde el momento inmediatamente anterior a la floración hasta a más tardar la etapa de masa blanda del desarrollo del núcleo. La aplicación de los antagonistas a las espigas antes de la floración permitiría a los antagonistas colonizar partes de la espiga de trigo antes de que la espiga de trigo sea susceptible a la infección. Además, los antagonistas estarán bien posicionados para colonizar y proteger a las anteras a medida que surgen de las flores. Sin embargo, se espera que los antagonistas sean aún efectivos si se aplican después que la floración comience, pero antes de la etapa de desarrollo de la masa dura. Sin embargo, se

prevé que las largas demoras pueden disminuir la eficacia del tratamiento en función de los métodos de formulación y aplicación de células.

El siguiente ejemplo es solamente para ilustrar la invención y no pretende limitar el alcance de la invención que se define en las reivindicaciones.

EJEMPLO 1

Con el fin de producir variantes de *Cryptococcus flavescens* OH 182.9 (NRRL Y-30216) antagonistas de la fusariosis de la espiga tolerantes al protioconazol, los cultivos puros de la cepa se iniciaron en caldo de agar de soja tríptico (TSBA) 1/5 fortaleza a partir de un patrón de la cepa en glicerol al 10% almacenado a -80 °C. Después de 24 horas de crecimiento a 25 °C, las células se transfirieron a 10 ml de caldo de soja tríptico (TSB) 1/5 fortaleza, que contenía 1 ppm del fungicida protioconazol (PTC) en frascos Erlenmeyer de 50 ml para obtener una densidad óptica inicial (A620) de aproximadamente 0.100. Los frascos se agitaron a 250 rpm y se sembraron después de 5 días de incubación a 25 °C en 1/5 TSBA + 1 ppm PTC. Después de la incubación a 25 °C durante varios días, las placas contenían varias colonias que obtuvieron un tamaño más grande que la mayoría de las colonias que se produjeron en el medio 1/5 TSBA + 1 ppm PTC. Cuatro de estas colonias se seleccionaron y rayaron para la pureza en 1/5 TSBA + 1 ppm PTC. El proceso de crecimiento del cultivo líquido de estas cuatro supuestas variantes tolerantes a PTC se repitió 4-5 veces a la concentración de PTC en el medio líquido y sólido que se incrementó gradualmente hasta una concentración final de 5 ppm y la colonia más grande que se produjo por cada una de las 4 líneas de la variante por separado se eligió para iniciar el próximo ciclo de

crecimiento en cultivo líquido que contenía una concentración ligeramente mayor de PTC.

Cada una de las cuatro líneas de la variante se evaluó para la equivalencia con la cepa parental de tipo salvaje de OH 182.9 en base a la eficacia en la reducción de la fusariosis de la espiga de trigo en pruebas de invernadero de la siguiente manera. El trigo duro rojo de primavera (variedad Norma) se cultivó en cámaras de crecimiento vegetal antes de la realización de los bioensayos de plantas en los bancos de invernadero. La biomasa de la cepa progenitora OH 182.9 y las variantes PTCT 1C, 3C, 4C y 5C se produjeron sin deflectores, en frascos Erlenmeyer de 125 ml que contenían 25 ml del medio líquido (SDCL, Slininger y otros, 2003. Postharvest biological control of potato sprouting by *Fusarium dry rot* suppressive bacteria. Biocontrol Science and Technology. 13:477-494) que se incubaron a 250 rpm, 2.5 cm de órbita y 25 °C durante 72 horas y se diluyó a ¼ fortaleza con dH₂O antes de su uso. El inóculo de conidios de *Gibberella zeae* cepa Z-3639 patógeno de la FHB se produjo en jugo V8 agar claro, bajo luz fluorescente 12 h/día durante 7 días a 24 °C. En la antesis del trigo, aproximadamente 14 espigas de trigo por tratamiento se vaporizaron con células de OH 182.9 seguido inmediatamente por una aplicación vaporizada de una suspensión de conidios (3×10^4 conidios/ml). Las espigas que se trataron con agua seguido de la suspensión de conidios sirvieron como controles de "patógeno solamente". Las plantas se colocaron en tiendas de humedad durante 3 días, se clasificaron por la severidad de la enfermedad y la velocidad de crecimiento log en 1/5 TBS que no contenía PTC, después de 16 días. La severidad de la enfermedad se determinó mediante el cálculo del porcentaje promedio del del área de superficie de las espigas de trigo individuales que presentaron síntomas de infección por *F.*

graminearum. Las líneas de variantes también se compararon para las unidades formadoras de colonias totales por ml (ufc/ml) que se lograron cuando se cultivaron en medio 1/5 TBS + 5 ppm PTC. La cepa progenitora OH 182.9 no creció en este medio, mientras que todas las variantes de OH 182.9 tolerantes a PTC produjeron un exceso de 5×10^7 ufc/ml.

Las variantes de *C. flavesceus* OH 182.9 3C y 4C tolerantes al protioconazol mostraron una eficacia significativamente mayor que el OH 182.9 parental y se retuvieron. Los resultados se muestran en las Tablas 1-3.

Se entiende que la descripción detallada anterior se ofrece únicamente a modo de ilustración y que se pueden hacer modificaciones y variaciones sin apartarse del espíritu y el alcance de la invención.

Tabla 1. Influencia del antagonista de la levadura OH 182.9, variante 4C tolerante al protioconazol de OH 182.9, protioconazol y combinaciones de los mismos en fusariosis de la espiga en ensayos de invernadero^{a, b}

5

Tratamiento ^c	Cultivar de trigo					
	Norma					
	DS (%)	Cambio vs Control (%)	DI (%)	Cambio vs Control (%)	100 Kwt (g)	Cambio vs Control %
Control no tratado	42 ^A	0	54 ^A	0	3.0 ^B	0
OH 182.9 Tipo salvaje	27 ^{AB}	-36	38 ^{AB}	-30	3.6 ^A	20
OH 182.9 Variante 4C	7 ^{CD}	-83	16 ^{BC}	-70	4.1 ^A	37
OH 182.9 WT + Prolina	1 ^D	-98	8 ^C	-85	4.3 ^A	37
OH 182.9 4C + Prolina	0 ^D	-100	0 ^C	-100	4.1 ^A	37
Prolina solamente	0 ^D	-100	0 ^C	-100	4.0 ^A	33
Valor P	0.001		0.001		0.001	

^aDentro de una columna, los medios no seguidos por la misma letra son significativamente diferentes (P•0.05, separación media de Bonferoni)

^bDS= severidad de la enfermedad, DI= incidencia de la enfermedad, 100 Kwt= peso del grano por cien

^cProlina= formulación comercial de protioconazol aplicada a una velocidad equivalente a 5 oz/acre, OH 182.9 WT= cepa de tipo salvaje de OH 182.9

10

15

20

5 Tabla 2. Resultados de la prueba de campo 2008 en Peoria, IL: Influencia del protioconazol, antagonista de la levadura OH 182.9, variantes 3C y 4C tolerantes al protioconazol de OH 182.9, y combinaciones de los mismos en los parámetros de la enfermedad FHB en cultivares de trigo de invierno Pioneer Brand 2545^{a, b}

Cultivar de trigo				
Pioneer Brand 2545				
Tratamiento ^c	DS (%)	DI (%)	100 KWT (g)	DON (ppm)
Control no tratado	8.0 ^A	41.3 ^A	3.07 ^{DE}	11.8 ^A
Prolina (5oz/acre)	1.5 ^{DEF}	8.0 ^F	3.57 ^{AB}	3.9 ^{BC}
OH 182.9 WT	7.6 ^{AB}	31.2 ^{ABC}	2.99 ^E	13.6 ^A
OH 182.9 variante 3C	5.3 ^{ABC}	29.6 ^{BCD}	3.26 ^{BCDE}	10.4 ^{AB}
OH 182.9 variante 4C	4.6 ^{BCD}	24.5 ^{CD}	3.13 ^{CDE}	7.0 ^{ABC}
OH 182.9 3C + Prolina	1.4 ^{DEF}	8.8 ^F	3.49 ^{ABC}	2.3 ^C
OH 182.9 4C + Prolina	1.6 ^{DEF}	10.7 ^{EF}	3.47 ^{ABC}	2.4 ^C
Prolina + WT (24h retraso)	2.3 ^{CDEF}	10.9 ^{EF}	3.64 ^A	2.6 ^C
Prolina + 3C (24h retraso)	0.6 ^F	4.5 ^F	3.43 ^{ABCD}	1.1 ^C
Valor P	0.001	0.001	0.001	0.001

10 ^aDentro de una columna, los medios seguidos no seguidos por la misma letra son significativamente diferentes (P<0.05 separación media de Bonferroni)

^bDS= severidad de la enfermedad, DI=incidencia de la enfermedad, 100 KWT= peso del grano por cien, DON=Deoxinivalenol

15 ^cProlina= formulación comercial de protioconazol aplicada a una velocidad equivalente a 5 oz/acre, OH 182.9 WT= cepa de tipo salvaje de OH 182.9

Tabla 3. Resultados de la prueba de campo 2008 en Wooster, Ohio: Influencia del protioconazol, antagonista de la levadura OH 182.9, variantes 3C y 4C tolerantes al protioconazol de OH 182.9, y combinaciones de los mismos en los parámetros de la enfermedad FHB en cultivares de trigo de invierno Pioneer Brand 2545^{a,b}

Tratamiento ^c	Cultivar de trigo					
	Pioneer Brand					
	2545					
	DS (%)	DI (%)	FDK (%)	Rendimiento bu/A	TWT lb/bu	DON (ppm)
Control no tratado	11.9 ^A	32.4 ^A	42.5 ^A	47.4 ^C	47.3 ^D	8.1 ^A
Prolina (5oz/acre)	3.5 ^{BC}	11.3 ^{BC}	12.8 ^{ABC}	57.8 ^{AB}	51.4 ^{A-D}	4.0 ^{AB}
OH 182.9 WT	12.6 ^A	28.0 ^A	29.5 ^{ABC}	49.4 ^{BC}	49.0 ^{A-D}	6.8 ^{AB}
OH 182.9 variante 3C	9.4 ^A	24.3 ^{AB}	25.5 ^{ABC}	49.8 ^{ABC}	47.7 ^{CD}	6.7 ^{AB}
OH 182.9 variante 4C	9.0 ^{AB}	22.9 ^{AB}	17.4 ^{ABC}	50.4 ^{ABC}	48.2 ^{BCD}	6.6 ^{AB}
OH 182.9 3C + Prolina	2.5 ^C	8.2 ^{BC}	6.3 ^{BC}	55.3 ^{ABC}	52.4 ^{AB}	4.2 ^{AB}
OH 182.9 4C + Prolina	2.8 ^C	8.2 ^{BC}	12.5 ^{BC}	58.5 ^A	52.6 ^A	3.5 ^B
Prolina + WT (24h retraso)	2.6 ^C	8.2 ^{BC}	15.7 ^{ABC}	55.6 ^{ABC}	52.6 ^A	3.9 ^{AB}
Prolina + 3C (24h retraso)	2.3 ^C	8.4 ^{BC}	2.5 ^C	57.1 ^{AB}	52.2 ^{AB}	3.5 ^B
Valor P	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001

^aDentro de una columna, los medios seguidos no seguidos por la misma letra son significativamente diferentes (P<0.05 separación media de Bonferroni)

^bDS= severidad de la enfermedad, DI=incidencia de la enfermedad, FDK=granos dañados por Fusarium, Rendimiento= Expresado en bushels por acre, TWT=peso de prueba expresado en libras por bushel, DON=Deoxinivalenol

^cProlina= formulación comercial de protioconazol aplicada a una velocidad equivalente a 5 oz/acre, OH 182.9 WT= cepa de tipo salvaje de OH 182.9

INDICACIONES RELATIVAS AL MICROORGANISMO DEPOSITADO U OTRO MATERIAL BIOLÓGICO

Fecha de Depósito: 21 de mayo de 2010

5 **Número de Acceso:** NRRL Y-50378
NRRL Y-50379

Nombre y dirección de la institución depositaria:

10 Colección de Cultivos de Servicio a la Investigación Agrícola
(NRRL)
1815 N. University Street
Peoria, IL 61604
Estados Unidos de América

15 **Fecha de depósito:** 7 de septiembre de 1999

Número de acceso: NRRL B-30210
NRRL B-30211
NRRL B-30212
NRRL B-30213
20 NRRL B-30214
NRRL B-30215
NRRL B-30216

Nombre y dirección de la institución depositaria:

25 Colección de Cultivos de Servicio a la Investigación Agrícola
(NRRL)
1815 N. University Street
Peoria, IL 61604
Estados Unidos de América

30

REIVINDICACIONES

1. Un microorganismo que comprende una cepa de *Cryptococcus flavescens* tolerante al protioconazol seleccionado del grupo que consiste de *Cryptococcus flavescens* 3C (NRRL Y-50378), y *Cryptococcus flavescens* 4C (NRRL Y-50379).

2. El microorganismo de la reivindicación 1 el cual es prácticamente biológicamente puro.

10

3. El microorganismo de la reivindicación 1 en donde dicha cepa es dicho *Cryptococcus flavescens* 3C (NRRL Y-50378).

4. El microorganismo de la reivindicación 1 en donde dicha cepa es dicho *Cryptococcus flavescens* 4C (NRRL Y-50379).

15

5. Un método para suprimir la fusariosis de la espiga en una planta de cereal que comprende aplicar a una espiga de dicha planta al menos un antagonista microbiano seleccionado del grupo que consiste de *Cryptococcus flavescens* cepa 3C (NRRL Y-50378), y *Cryptococcus flavescens* cepa 4C (NRRL Y-50379), y combinaciones de los mismos, dicho antagonista microbiano se aplica en una cantidad eficaz para reducir el nivel de fusariosis de la espiga en relación con el control no tratado.

20

25

6. El método de la reivindicación 5 en donde dicho antagonista microbiano es prácticamente biológicamente puro.

7. El método de la reivindicación 5 en donde dicho antagonista microbiano es dicho *Cryptococcus flavescens* 3C (NRRL Y-50378).

5 8. El método de la reivindicación 5 en donde dicho antagonista microbiano es dicho *Cryptococcus flavescens* 4C (NRRL Y-50379).

10 9. El método de la reivindicación 5 en donde dicho antagonista microbiano se aplica a la espiga antes de etapa de masa dura del desarrollo.

15 10. El método de la reivindicación 5 en donde dicho antagonista microbiano se aplica a la espiga durante la floración.

11. El método de la reivindicación 5 en donde dicho antagonista microbiano se aplica a la espiga antes de la floración.

20 12. El método de la reivindicación 5 en donde dicho cereal es trigo o cebada.

25 13. El método de la reivindicación 9 en donde dicho cereal es trigo.

14. Una composición para suprimir la fusariosis de la espiga en una planta de cereal que comprende un antagonista microbiano seleccionado del grupo que consiste de *Cryptococcus flavescens* cepa 3C (NRRL Y-50378), y *Cryptococcus flavescens* cepa

4C (NRRL Y-50379), y combinaciones de los mismos, en un portador agronómicamente aceptable.

15. La composición de la reivindicación 14 la cual es
5 prácticamente biológicamente pura.

16. La composición de la reivindicación 14 en donde dicho antagonista microbiano es dicho *Cryptococcus flavescens* 3C (NRRL Y-50378).

10

17. La composición de la reivindicación 14 en donde dicho antagonista microbiano es dicho *Cryptococcus flavescens* 4C (NRRL Y-50379).

RESUMEN DE LA INVENCION

Se describen cepas de *Cryptococcus flavescens* que son antagonistas superiores de *F. graminearum* para suprimir y controlar la FHB en cereales, particularmente en trigo y cebada. Las cepas son variantes de *C. flavescens* OH 182.9 (NRRL Y-30216) tolerantes al protioconazol descritas previamente. Además, estas variantes tolerantes al protioconazol exhiben una eficacia significativamente mayor contra *F. graminearum* en comparación con la cepa parental OH 182.9.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2010/040040**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER***C12N 1/20(2006.01)i, A01N 63/02(2006.01)i*

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12N 1/20; A01N 63/00; A01N 25/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Korean utility models and applications for utility models

Japanese utility models and applications for utility models

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: *Cryptococcus flavescens*, fungicide-tolerant, prothioconazole-tolerant, *Fusarium* head blight, microbial antagonist, cereal plant, wheat**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2001-0041176 A1 (DAVID A. SCHISLER et al.) 15 Nov 2001	5-17
A	See abstract, table 1, page 3, claims 1-12.	1-4
A	GARY Y. YUEN et al. Strategies for managing <i>Fusarium</i> head blight and deoxynivalenol accumulation in wheat. International Journal of Food Microbiology. 2007, Vol. 119, Nos. 1-2, pp. 126-130 See the whole document.	1-17
A	SHOUAN ZHANG et al. Utilization of chemical inducers of resistance and <i>Cryptococcus flavescens</i> OH 182.9 to reduce <i>Fusarium</i> head blight under greenhouse conditions. Biological Control. 2007, Vol. 42, No. 3, pp. 308-315 See the whole document.	1-17
A	N. I. KHAN et al. Selection and Evaluation of Microorganisms for Biocontrol of <i>Fusarium</i> Head Blight of Wheat Incited by <i>Gibberella zeae</i> . Plant Disease. 2001, Vol. 85, No. 12, pp. 1253-1258 See the whole document.	1-17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 MARCH 2011 (30.03.2011)

Date of mailing of the international search report

31 MARCH 2011 (31.03.2011)

Name and mailing address of the ISA/KR

Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Cheongsu-ro,
Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea

Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Kam, Yoo Lim

Telephone No. 82-42-481-8741



INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2010/040040

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2001-0041176 A1	15.11.2001	CA 2323019 A1	07.04.2001
		US 2003-0165470 A1	04.09.2003
		US 6562337 B2	13.05.2003
		US 7001755 B2	21.02.2006

Applicant's or agent's file reference 800-346WO	International application No.
--	-------------------------------

INDICATIONS RELATING TO DEPOSITED MICROORGANISM
OR OTHER BIOLOGICAL MATERIAL

(PCT Rule 13bis)

A. The indications made below relate to the deposited microorganism or other biological material referred to in the description on page 6, line 6-8	
B. IDENTIFICATION OF DEPOSIT Further deposits are identified on an additional sheet ☒	
Name of depositary institution Agricultural Research Service Culture Collection (NRRL)	
Address of depositary institution (including postal code and country) 1815 N. University Street Peoria, IL 61604 United States of America	
Date of deposit 07 September 1999	Accession Number NRRL Y-30216
C. ADDITIONAL INDICATIONS (leave blank if not applicable) This information is continued on an additional sheet ☐	
D. DESIGNATED STATES FOR WHICH INDICATIONS ARE MADE (if the indications are not for all designated States)	
E. SEPARATE FURNISHING OF INDICATIONS (leave blank if not applicable)	
The indications listed below will be submitted to the International Bureau later (specify the general nature of the indications e.g., "Accession Number of Deposit")	
For receiving Office use only	For International Bureau use only
☐ This sheet was received with the international application	☐ This sheet was received by the International Bureau on:
Authorized officer	Authorized officer

Applicant's or agent's file reference 800-346WO	International application No.
--	-------------------------------

**INDICATIONS RELATING TO DEPOSITED MICROORGANISM
OR OTHER BIOLOGICAL MATERIAL**

(PCT Rule 13bis)

A. The indications made below relate to the deposited microorganism or other biological material referred to in the description on page 5, line 3-6	
B. IDENTIFICATION OF DEPOSIT Further deposits are identified on an additional sheet ☒	
Name of depositary institution Agricultural Research Service Culture Collection (NRRL)	
Address of depositary institution (including postal code and country) 1815 N. University Street Peoria, IL 61604 United States of America	
Date of deposit 21 May 2010	Accession Number NRRL Y-50378
C. ADDITIONAL INDICATIONS (leave blank if not applicable) This information is continued on an additional sheet ☐	
D. DESIGNATED STATES FOR WHICH INDICATIONS ARE MADE (if the indications are not for all designated States)	
E. SEPARATE FURNISHING OF INDICATIONS (leave blank if not applicable)	
The indications listed below will be submitted to the International Bureau later (specify the general nature of the indications e.g., "Accession Number of Deposit")	
For receiving Office use only	For International Bureau use only
☐ This sheet was received with the international application	☐ This sheet was received by the International Bureau on:
Authorized officer	Authorized officer

Applicant's or agent's file reference 800-346WO	International application No.
--	-------------------------------

**INDICATIONS RELATING TO DEPOSITED MICROORGANISM
OR OTHER BIOLOGICAL MATERIAL**

(PCT Rule 13bis)

A. The indications made below relate to the deposited microorganism or other biological material referred to in the description on page 5, line 3-6	
B. IDENTIFICATION OF DEPOSIT Further deposits are identified on an additional sheet ☒	
Name of depositary institution Agricultural Research Service Culture Collection (NRRL)	
Address of depositary institution (including postal code and country) 1815 N. University Street Peoria, IL 61604 United States of America	
Date of deposit 21 May 2010	Accession Number NRRL Y-50379
C. ADDITIONAL INDICATIONS (leave blank if not applicable) This information is continued on an additional sheet ☐	
D. DESIGNATED STATES FOR WHICH INDICATIONS ARE MADE (if the indications are not for all designated States)	
E. SEPARATE FURNISHING OF INDICATIONS (leave blank if not applicable)	
The indications listed below will be submitted to the International Bureau later (specify the general nature of the indications e.g., "Accession Number of Deposit")	
For receiving Office use only	For International Bureau use only
☐ This sheet was received with the international application	☐ This sheet was received by the International Bureau on:
Authorized officer	Authorized officer

Applicant's or agent's file reference: 800-346WO	International application No.
---	-------------------------------

INDICATIONS RELATING TO DEPOSITED MICROORGANISM
OR OTHER BIOLOGICAL MATERIAL

(PCT Rule 13bis)

A. The indications made below relate to the deposited microorganism or other biological material referred to in the description on page 9, line 7-10	
B. IDENTIFICATION OF DEPOSIT Further deposits are identified on an additional sheet ☐	
Name of depositary institution Agricultural Research Service Culture Collection (NRRL)	
Address of depositary institution (including postal code and country) 1815 N. University Street Peoria, IL 61604 United States of America	
Date of deposit 07 September 1999	Accession Number NRRL B-30210
C. ADDITIONAL INDICATIONS (leave blank if not applicable) This information is continued on an additional sheet ☐	
NRRL B-30211 NRRL B-30212 NRRL Y-30213 NRRL Y-30214 NRRL Y-30215	
D. DESIGNATED STATES FOR WHICH INDICATIONS ARE MADE (if the indications are not for all designated States)	
E. SEPARATE FURNISHING OF INDICATIONS (leave blank if not applicable)	
The indications listed below will be submitted to the International Bureau later (specify the general nature of the indications e.g., "Accession Number of Deposit")	
For receiving Office use only	For International Bureau use only
☐ This sheet was received with the international application	☐ This sheet was received by the International Bureau on:
Authorized officer	Authorized officer

Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud: 22) Fecha de solicitud: (30) Prioridad (31) Prioridad (32) Fecha (33) País 12/511,275 29/07/2009 US		(51) Int Cl: C12N 001/020 (71) Solicitante(s) UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY OF AGRICULTURE y THE OHIO STATE UNIVERSITY RESEARCH FOUNDATION (72) Inventor(es) DAVID A.SCHISLER MICHAEL J. BOEHM (74) Apoderado: LUZ CLEMENCIA DE PAEZ	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 29/02/2012 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 25/06/2010 No. de solicitud PCT/US2010/040040		(87) Publicación internacional Fecha: 10/02/2011 N° publicación: WO 2011/016921 A3	
(54) Titulo: CEPAS CRYPTOCOCCUS FLAVESCENS TOLERANTES AL PROTIOCONAZOL PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE LA FUSARIOSIS DE LA ESIPIGA			

Resumen:

Se describen cepas de *Cryptococcus flavescens* que son antagonistas superiores de *F. graminearum* para suprimir y controlar la FHB en cereales, particularmente en trigo y cebada. Las cepas son variantes de *C. Flavescens* OH 182.9 (NRRL Y-30216) tolerantes al protioconazol descritas previamente. Además, estas variantes tolerantes al protioconazol exhiben una eficacia significativamente mayor contra *F. graminearum* en comparación con la cepa parental OH 182.9.

51

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 12 - 0015904
		Bogotá D.C., Febrero 16 de 2012 - 12:25:39

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS NI 860.041.367

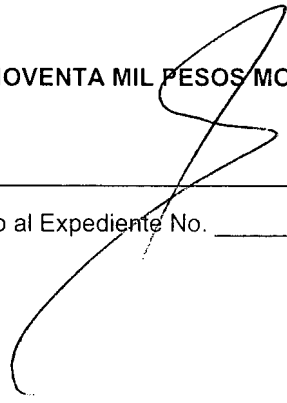
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	157716543	16/02/2012	11.390.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE INVENCIÓN	590.000.00 590.000.00 ✓
			\$590.000.00
=====			

SON: **QUINIENTOS NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 12-032489- -00000-0000
Fecha: 2012-02-24 11:03:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 55

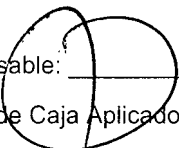
Colo: 19146-841-001-1

52

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 - / -					
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 12 - 0013838	
				Bogotá D.C., Febrero 13 de 2012 - 07:43:05	
RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS				NI 860.041.367	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	157716532	10/02/2012	38.590.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO	
1	50005-01-08	PRORROGA DE TERMINOS	1609 S.DISTINTIVOS PRORROGA DE TERMINOS O PLAZO ADICIONAL	100.000.00	100.000.00 ✓
					\$100.000.00
=====					
SON: **CIEN MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**					
Responsable: _____					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 12-032489- -00000-0000 Fecha: 2012-02-24 11:03:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 55					
Colo: 19146-841-001-1					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia					
Web: www.sic.gov.co e-mai: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240					
Febrero 13 de 2012 - 07:43:13					

Febrero 13 de 2012 - 07:43:13

Q10: 19146-841-001-1

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO NIT : 800.176.089-2 - / -					
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA			No. 12 - 0011450	
				Bogotá D.C., Febrero 03 de 2012 - 17:08:17	
RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS				NI 860.041.367	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	157716996	03/02/2012	40.200.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO	
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVCIOS ADMINISTRATIVOS	5.000.00	5.000.00 ✓	
				\$5.000.00	
=====					
SON: **CINCO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***					
Responsable: 					
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____					
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO  No. 12-032489- -00000-0000 Fecha: 2012-02-24 11:03:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI Act. 411 PRESENTACION Folios: 55					
Colo: 19146 - 841 - 001 - 1					
Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia Web: www.sic.gov.co e-ma: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240 Febrero 3 de 2012 - 17:08:26					

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 12 - 0011451

Bogotá D.C., Febrero 03 de 2012 - 17:08:17

RECIBIDO DE : CAVELIER ABOGADOS

NI 860.041.367

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	157716996	03/02/2012	40.200.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr.CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	5.000.00	5.000.00
				\$5.000.00

SON: **CINCO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-032489- -00000-0000

Fecha: 2012-02-24 11:03:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 55

C/b: 19146-841-001-1

Sede Centro: Carrera 13 No. 27 - 00 Pisos 3,4,5 y 10 Bogotá, D.C.- Colombia

Web: www.sic.gov.co e-mail: info@sic.gov.co Conmutador: (571) 5870000 Fax: (571) 5870284 Línea: 018000-910165 Call Center: (571) 6513240

Febrero 3 de 2012 - 17:08:26



No. 12-032489- -00000-0000

PATENTE DE INVENCION

☐

MODEL

Fecha: 2012-02-24 11:03:07 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 55

0

☐

Indicación que se solicita una patente.

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Descripción de la invención

☐

Dibujos de ser estos pertinentes

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)

Completa

☐

Incompleta

☐

PATENTE DE INVENCION PCT

☐

MODELO DE UTILIDAD PCT

☐

Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☐

Indicación que se solicita una PCT

☐

Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)

☐

Dibujos de ser estos pertinentes

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)

Completa

☐

Incompleta

☐

DISEÑO INDUSTRIAL

☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita Diseño industrial

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa

☐

Incompleta

☐

ESQUEMA DE TRAZADO

☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐

Indicación que se solicita un esquema de trazado

☐

Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud

☐

Representación gráfica de un esquema de trazado

☐

Comprobante de pago de las tasas establecidas

Completa

☐

Incompleta

☐