

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-133431-00005-0000

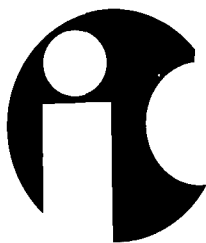
Fecha: 2014-10-08 11:24:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 5

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO3



No. 14-222958-00000-0000

Fecha: 2014-10-08 11:24:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5



T = F = 4

Industria y Comercio

S U P E R I N T E N D E N C I A

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

División de Nuevas Creaciones

**SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION**

21. EXPEDIENTE No. _____

54. TÍTULO MÉTODOS PARA LA RECUPERACIÓN MEJORADA DE PETRÓLEO MEDIANTE ARCOBACTER DE CLADO 1.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL _____

71. SOLICITANTE E.I. DU PONT DE NEMOURS

DOMICILIO WILMINGTON, ESTADOS UNIDOS.

74. APODERADO ALVARO CORREA.

22. BOGOTÁ, D.C., 8 DE OCTUBRE DE 2014.



No. 13-133431- -00005-0000

Fecha: 2014-10-08 11:24:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 5



No. 14-222958- -00000-0000

Fecha: 2014-10-08 11:24:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES
CONVERSIÓN, DIVISIÓN Y FUSIÓN DE SOLICITUDES

1. Identificación del Trámite

☐

Conversión

☒

División

☐

Fusión

☒

Patente de Invención

☐

Patente de Modelo de Utilidad

☐

Registro de Diseño Industrial

☐

Esquema de Trazado de Circuitos Integrados

2. Datos del solicitante

Persona Natural

☐

Persona Jurídica

☒

E.I. DU PONT DE NEMOURS AND COMPANY

Nombre o denominación / Nombre o razón social

Nombre del representante legal

Tipo de empresa

Micro

☐

Pequeña

☐

Mediana

☐

Otra

☒

Documento de identificación:

☐

C.C.

☐

C.E.

☐

NIT

☐

Otro

☐

Número

Nacionalidad/País de constitución	Dirección del titular		Ciudad
Estados Unidos de América	1007 Market Street Wilmington, Delaware 19898		Wilmington
Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico	
alvaro.correa@bakermckenzie.com	3762211	6341500	

☐

Autorizo expresamente a la Superintendencia de Industria y Comercio para que todas las comunicaciones sean enviadas a través de la dirección de correo electrónico

3. Datos del apoderado:

Correa Ordoñez, Alvaro

Apellidos y Nombre

79.143.366

Documento de identificación

20.281

Tarjeta profesional

Dirección y domicilio		Ciudad
AV. 82 No. 10 62 Piso 6		Bogotá
Dirección electrónica	No. Fax	Número telefónico
alvaro.correa@bakermckenzie.com	3762211	6341500

En caso de haber presentado poder general para asuntos que se adelanten ante la Delegatura de Propiedad Industrial, sírvase indicar el número de su radicación o protocolo de poder general

4. Datos del trámite

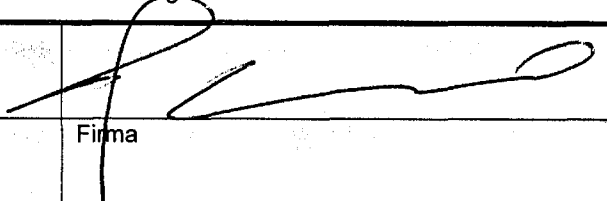
CONVERSION	DIVISIÓN	FUSION
Expediente _____ _____ _____ De: _____ A: _____	Expediente <u>13.133.431</u> De: _____ A: _____	Expediente _____ _____ _____ De: _____ A: _____

5. Comprobante de Pago No. 14-0084514 Fecha 05/08/2014

6. Anexos

- ☒ Comprobante de pago de la tasa para la presentación de la corrección y/o modificación
- ☒ Poder, si fuere el caso con el que se acredita la representación
- ☐ Número de documento que ordena la comisión o fusión o división
- ☒ Documento que contiene la conversión, división o fusión de la solicitud
- ☒ Copia de la solicitud y sus anexos en formato magnético

7. Firma

Alvaro Correa Ordoñez Nombre y apellidos	 Firma
C.C. 79.143.366	Tarjeta Profesional 20.281

2014/0513

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800.176.089-2

-/-

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

RECIBO DE CAJA

No. 14 - 0084514

Bogotá D.C., Agosto 05 de 2014 - 17:21:36

RECIBIDO DE : BAKER

NI 900.532.339

*** Soporte del Pago ***

TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
RECIBO DE CA	999999999	84496	05/08/2014		33.825.000.00

*** Conceptos Pagados ***

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO	Vr. CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1603 INVOCAR LA NOTORIEDAD DENTRO DE UN TRAMITE DE OPOSICION	464.000.00	464.000.00
				\$464.000.00

SON: **CUATROCIENTOS SESENTA Y CUATRO MIL PESOS MONEDA CORRIENTE***

Responsable: _____

Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 14-222958- -00000-0000

Fecha: 2014-10-08 11:24:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 13-133431- -00005-0000

Fecha: 2014-10-08 11:24:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 5

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

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

Agosto 5 de 2014 - 17:22:01

4

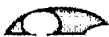
 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS		
Dependencia: 2020	Fecha: 14 / 10 / 8 AAAA MM DD	Recorrido: 2	
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐			
Radicador:			Planilla:

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	13-133431	05	
2	14-222958	0	
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
7	CD ☒
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones: El cd contiene: 11 archivos en formato pdf, procesados y subidos al sistema 1 archivo en bloc de notas no procesado
--

UUV


SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 13-133431- -00005-0000
Fecha: 2014-10-08 11:24:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 851 DIVISIONAL Folios: 5

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO3

No. 14-222958- -00000-0000
Fecha: 2014-10-08 11:24:19 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR ;
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 5

O DE UTILIDAD ☐

Art 33 Decisión 486/00

☐
☐
☐
☐
☐

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 ☐

10 CAMPO DE LA INVENCIÓN

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

20 Durante la recuperación de petróleo de depósitos de
petróleo, típicamente, solo una porción menor del petróleo
original en el estrato que contiene petróleo se recupera
mediante métodos de recuperación primaria que usan solamente
las fuerzas naturales presentes en un depósito de petróleo.
25 Para mejorar la recuperación de petróleo, se han usado una

variedad de técnicas de recuperación suplementaria tales como inundación de agua, que involucra la inyección de agua, a través de orificios de pozo, en el depósito de petróleo. A medida que el agua se desplaza hacia el depósito desde un pozo de inyección y se desplaza a través del estrato del depósito, esta desplaza el petróleo a uno o más pozos de producción, en donde se recupera el petróleo. Uno de los problemas que se presenta, comúnmente, con las operaciones de inundación con agua es la poca eficiencia de barrido del agua de inyección.

La poca eficiencia de barrido ocurre cuando el agua se canaliza, preferentemente, a través de zonas altamente permeables del depósito de petróleo a medida que se desplaza desde el(los) pozo(s) de inyección hacia el(los) pozo(s) de producción, sin entrar en contacto, así, con estratos que contienen petróleo y que son menos permeables. Así, el petróleo en las zonas menos permeables no se recupera. La poca eficiencia de barrido puede deberse, además, a diferencias en la movilidad del agua en comparación con la del petróleo.

Se han usado microorganismos para mejorar la recuperación de petróleo de formaciones subterráneas mediante el uso de varios procesos que pueden mejorar la eficiencia de barrido y/o la liberación de petróleo. Por ejemplo, se pueden inyectar microorganismos viables en un depósito de petróleo, en donde estos pueden crecer y adherirse a las superficies de poros y canales en las matrices de roca o arena en las zonas permeables

para reducir la canalización del agua y, así, dirigir el flujo del agua de inyección hacia estratos menos permeables que contengan petróleo. Los procesos para fomentar el crecimiento de microbios autóctonos mediante la inyección de soluciones
5 nutrientes en formaciones subterráneas se describen en la patente de los Estados Unidos núm. 4.558.739 y en la patente de los Estados Unidos núm. 5.083.611. La inyección de microorganismos aislados de sitios de recuperación de petróleo hacia formaciones subterráneas, conjuntamente con soluciones
10 nutrientes, ha sido descrita, incluida la inyección de *Pseudomonas putida* y *Klebsiella pneumoniae* (patente de los Estados Unidos núm. 4.800.959), de una cepa de *Bacillus* o cepa de *Pseudomonas* I-2 (ATCC 30304) aislada de agua de grifo (patente de los Estados Unidos núm. 4.558.739), y de
15 *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium lepus*, *Mycobacterium rhodochrous*, y *Mycobacterium vaccae* (patente de los Estados Unidos núm. 5.163.510). La inyección de microorganismos aislados y un surfactante se describe en la patente de los Estados Unidos núm. 5.174.378.

20 Se necesitan métodos y cepas de microbios adicionales útiles para mejorar la recuperación de petróleo y mejorar aún más la recuperación de petróleo de depósitos de petróleo.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La invención se relaciona con métodos para mejorar la recuperación de petróleo de un depósito de petróleo, así como para aislar microorganismos y composiciones que se puedan usar para mejorar la recuperación de petróleo.

En consecuencia, la invención proporciona un método para mejorar la recuperación de petróleo de un depósito de petróleo; el método comprende:

- a) proporcionar una composición que comprende:
 - i) por lo menos una cepa de *Arcobacter* que pertenece a *Arcobacter* de clado 1; y
 - ii) un medio de crecimiento mínimo que comprende por lo menos un aceptor de electrones;
 - b) proporcionar un depósito de petróleo;
 - c) inocular el depósito de petróleo con la composición de (a) de forma que el *Arcobacter* que contiene la composición habite y crezca en el depósito de petróleo; y
 - d) recuperar petróleo del depósito de petróleo;
- en donde el crecimiento del *Arcobacter* en el depósito de petróleo mejora la recuperación de petróleo.

En una modalidad, la cepa de *Arcobacter* que pertenece a *Arcobacter* de clado 1 comprende la secuencia consenso redundante ADNr 16S de la sec. con núm. de ident.: 40.

En otra modalidad, la cepa de *Arcobacter* que pertenece a *Arcobacter* de clado 1 comprende una secuencia ADNr 16S que tiene por lo menos aproximadamente 97 % de identidad de secuencia de una secuencia seleccionada del grupo que consiste en la sec. con núms. de ident.:1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 39.

En otra modalidad adicional, la invención proporciona un microorganismo aislado de una cepa seleccionada del grupo que consiste en 97AE3-3 (ATCC núm. PTA-11410) y 97AE3-12 (ATCC núm. PTA- 11409).

En otra modalidad adicional, la invención proporciona una composición que mejora la recuperación de petróleo; la composición comprende:

- a) por lo menos una cepa aislada de *Arcobacter* que comprende una secuencia parcial ADNr 16S seleccionada del grupo que consiste en la sec. con núms. de ident.;1, 33, 34, 35, 36, 37 y 38;
- b) uno o más aceptores de electrones; y
- c) por lo menos una fuente de carbono.

BREVE DESCRIPCIÓN DE FIGURAS Y SECUENCIAS

La presente invención se comprenderá con mayor facilidad a partir de la siguiente descripción detallada, las figuras y descripciones de secuencias acompañantes, las cuales forman parte de esta solicitud.

La Figura 1 muestra un árbol filogenético molecular de la especie *Arcobacter* y bacterias relacionadas en base a secuencias de gen ADNr 16S (ADNr), que separan el *Arcobacter* spp. descrito en por lo menos tres clados filogenéticos.

5 La Figura 2 muestra un árbol filogenético molecular de la especie *Arcobacter* recién aislada, y bacterias de referencia en base a secuencias del gen ADNr 16S (ADNr).

La Figura 3A-D muestra una alineación de secuencias ADNr 16S para el consenso dominante de *Arcobacter* de clado
10 1, consenso redundante de *Arcobacter* de clado 1, cepa 97AE3-12, consenso redundante de *Arcobacter* de clado 2 y consenso redundante de *Arcobacter* de clado 3.

La Figura 4 muestra un análisis Riboprinter® de varias cepas de *Arcobacter* sp.

15 La Figura 5 muestra secuencias distintivas dominantes y redundantes para la especie *Shewanella* en regiones variables de ADNr 2 (A), 5 (B) y 8 (C). Las posiciones variables están subrayadas. En la leyenda se suministran nucleótidos alternativos para cada designación de posición variable.

20 La Figura 6 muestra un diagrama esquemático del ajuste experimental de tubo delgado que se usa para medir la obturación de paquetes de arena permeable

La Figura 7 muestra un gráfico de la disminución de presión a lo largo de un tubo delgado no inoculado.

La Figura 8 muestra un gráfico de la disminución de presión a lo largo de un tubo delgado que se inoculó con *Arcobacter sp* 97AE3-12 (ATCC núm.: PTA-11409) y luego se alimentó en lote periódicamente.

5 La Figura 9 muestra un gráfico de la disminución de presión a lo largo de un tubo delgado que se inoculó con *Arcobacter sp* 97AE3-12 (ATCC núm. PTA-11409) y luego se alimentó de forma continua.

Las siguientes secuencias cumplen con el Título 37 del
10 §§ C.F.R., 1.821-1.825 (“Requisitos para solicitudes de patentes que contienen descripciones de secuencias de nucleótidos y/o secuencias de aminoácidos - Reglas de las secuencias”) según la norma ST.25 (2009) de la Organización Mundial de Propiedad Intelectual (WIPO, por sus siglas en
15 inglés) y los requisitos para listados de secuencias de la EPO y el PCT (Reglas 5.2 y 49.5(a-bis), y Sección 208 y Anexo C de las Instrucciones administrativas. Los símbolos y el formato que se usan para los datos de las secuencias nucleótidas y de aminoácidos cumplen con las reglas que se
20 exponen en el Título 37 del C.F.R., §1.822.

Tabla 1. Secuencias ADNr 16S de cepas de *Arcobacter*, que incluyen las coordenadas 8 a 1511 en la secuencia ADNr del *E. coli*.

	<u>Especie</u>	<u>Cepa</u>	<u>Identificación</u>	<u>Sec. con núm.</u> <u>de ident.</u>
	<i>Arcobacter sp</i>	Cepa 97AE3-12	Aislado [#]	1
5	<i>Arcobacter sp.</i>	Aislado de Solar Lake	Aislado	2
	<i>Arcobacter sp.</i>	Clon YJQ-18	Clon*	3
	<i>Arcobacter marinus</i>	CL-S1, JCM 15502;	Tipo de cepa	4
10	<i>Arcobacter sp.</i>	Clon EB27.1	Clon	5
	<i>Arcobacter halophilus</i>	LA31BT	Tipo de cepa	6
	<i>Arcobacter molluscorum</i>	F98-3 T	Tipo de cepa	7
15	<i>Arcobacter mytili</i>	F2075T,	Tipo de cepa	8
	<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	CCUC 15893	Tipo de cepa	9
	<i>Arcobacter defluvii</i>	SW28-11T	Tipo de cepa	10
20	<i>Arcobacter sp.</i>	R-28314 1	Aislado	11
	<i>Arcobacter sp</i>	KT0913	Aislado	12
	<i>Arcobacter sp</i>	BSs20195	Aislado	13
	<i>Arcobacter sp</i>	Clon A3b2	Clon	14

5	<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	DSM 7299T	Tipo de cepa	15
	<i>Arcobacter nitrofigilis</i>	F2176	Aislado	16
	<i>Arcobacter cryaerophilus</i>	CCUG 17082T	Tipo de cepa	17
	<i>Arcobacter cibarius</i>	LMG 21996T	Tipo de cepa	18
10	<i>Arcobacter thereius</i>	6695-3	Tipo de cepa	19
	<i>Arcobacter skirrowi</i>	CCUG 10374T	Tipo de cepa	20
	<i>Arcobacter butzlerii</i>	CCUG 10373T	Tipo de cepa	21
15	<i>Arcobacter butzlerii</i>	RM4018	Aislado	22
	<i>Arcobacter sp</i>	R-28214	Aislado	23
	<i>Arcobacter sp.</i>	Clon PL-7C7	Clon	24
20	<i>Arcobacter sp.</i>	Clon PL-8B1	Clon	25
	<i>Arcobacter sulfidicus</i>	162154	Aislado	26
	Bacteria sin cultivar	Clon BP-B88	Clon	27

5	Bacteria de campo petrolero	FWKO B	Aislado	28
	<i>Sulfurospirillum multivorans</i>	Cepa K, DSM 12446T	Tipo de cepa	29
	Bacteria sin cultivar	Clon AS077_B63	Clon	30
	<i>Thiomicrospira sp</i>	Cepa CVO	Aislado	31

10

Un aislado es una colonia aislada a partir de una muestra

* Un clon contiene un fragmento amplificado de PCR generado a partir de ADN bacteriano aislado de una muestra, el cual es secuenciado para determinar la composición de una población

15 La sec. con núm. de ident.:32 es una secuencia parcial de ADNr 16S de *E. coli* que se usa en alineaciones de secuencias de ADNr 16S de *Arcobacter*.

La sec. con núm. de ident.:33 es una secuencia parcial de ADNr 16S de *Arcobacter sp.* 97AE3-1.

20 La sec. con núm. de ident.:34 es una secuencia parcial de ADNr 16S de *Arcobacter sp.* 97AE3-3.

La sec. con núm. de ident.:35 es una secuencia parcial de ADNr 16S de *Arcobacter sp.* 97AE3-7.

La sec. con núm. de ident.:36 es una secuencia parcial de ADNr 16S de *Arcobacter sp.* 97AE4-1.

La sec. con núm. de ident.:37 es una secuencia parcial de ADNr 16S de *Arcobacter sp.* 97AE4-5.

La sec. con núm. de ident.:38 es una secuencia parcial de ADNr 16S de *Arcobacter sp.* 97AE4-6.

5 La sec. con núm. de ident.:39 es una secuencia consenso dominante de ADNr 16S de *Arcobacter sp.* de clado 1.

La sec. con núm. de ident.:40 es una secuencia consenso redundante de ADNr 16S de *Arcobacter sp.* de clado 1.

10 La sec. con núm. de ident.:41 es una secuencia consenso dominante de ADNr 16S de *Arcobacter sp.* de clado 2.

La sec. con núm. de ident.:42 es una secuencia consenso dominante de ADNr 16S de *Arcobacter sp.* de clado 3.

Las sec. con núms. de ident.:43-46 son iniciadores 1492R, 8F, M13 inverso y M13 directo, respectivamente.

15 La sec. con núm. de ident.:47 es la secuencia distintiva dominante de *Shewanella* para la región variable 2 de ADNr 16S.

La sec. con núm. de ident.:48 es la secuencia distintiva redundante *Shewanella* para la región variable 2 de ADNr 16S.

20 La sec. con núm. de ident.:49 es la secuencia distintiva dominante de *Shewanella* para la región variable 5 de ADNr 16S.

La sec. con núm. de ident.:50 es la secuencia distintiva redundante de *Shewanella* para la región variable 5 de ADNr 16S.

La sec. con núm. de ident.:51 es la secuencia distintiva dominante de *Shewanella* para la región variable 8 de ADNr 16S.

La sec. con núm. de ident.:52 es la secuencia distintiva redundante de *Shewanella* para la región variable 8 de ADNr 16S.

Los solicitantes hicieron los siguientes depósitos biológicos conforme a los términos del Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos para Propósitos de Procedimientos de Patentes:

Tabla 2. Información de cepas depositadas

10	Identificación del depositante Referencia	Designación de depósito internacional	Fecha de depósito
	<i>Arcobacter sp</i> 97AE3-3	ATCC núm. PTA-11410	10-14-10
15	<i>Arcobacter sp</i> 97AE3- 12	ATCC núm. PTA-11409	10-14-10

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Los solicitantes incorporan específicamente todo el contenido de todas las referencias citadas en esta descripción. A menos que se establezca de cualquier otra forma, todos los porcentajes, partes, relaciones, etc., se expresan en peso. Las marcas registradas se muestran en mayúsculas. Adicionalmente, cuando una cantidad, concentración, u otro valor o parámetro se da ya sea como un intervalo, el intervalo preferido o una lista de valores preferibles superiores y valores preferibles inferiores, esto se entenderá específicamente para describir todos los intervalos formados de cualquier par de cualquier límite de intervalo superior o valor preferido y cualquier límite de intervalo inferior o valor preferido, sin considerar si los intervalos se describen separadamente. En los casos en que en la presente descripción se menciona un intervalo de valores numéricos, a menos que se establezca de cualquier otra forma, el intervalo pretende incluir los límites de este y todos los números enteros y fracciones comprendidos dentro del intervalo. No está previsto que el alcance de la invención esté limitado a los valores específicos mencionados al definir un intervalo.

La invención se relaciona con métodos para mejorar la recuperación de petróleo de un depósito de petróleo mediante la inoculación de en un depósito de petróleo de una cepa de

Arcobacter: que según análisis filogenético molecular de la secuencia de ADNr 16S pertenece a *Arcobacter* de clado 1 (definido en la presente descripción), y un medio de crecimiento mínimo que fomenta el crecimiento de dicho *Arcobacter* bajo condiciones desnitrificantes en la ubicación subterránea. El crecimiento de dicho *Arcobacter* en el depósito de petróleo puede formar biopelículas que obturan las zonas más permeables en las capas de arena o arenisca para reenrutar así el agua hacia áreas menos permeables y más ricas en petróleo. Se mejora así, la eficiencia de barrido, lo que conlleva a un aumento en la recuperación de petróleo.

Además, la invención se relaciona con microorganismos anteriormente desconocidos aislados de muestras de agua obtenidas de un depósito de petróleo y composiciones que contienen cualesquiera de estos microorganismos, u otro *Arcobacter* de clado 1, que son útiles en métodos de recuperación de petróleo. Mejorar la recuperación de petróleo mediante el uso de los métodos y microorganismos descritos aumentaría la producción de pozos de petróleo activos.

Las siguientes definiciones se suministran para las abreviaturas y términos especiales que se usan en esta solicitud:

El término “PCR” se refiere a reacción en cadena de la polimerasa.

El término “dNTP” se refiere a trifosfatos de deoxirribonucleótido.

El término “ASTM” se refiere a la Sociedad Estadounidense de Pruebas y Materiales (American Society for
5 Testing and Materials).

La abreviatura “NCBI” se refiere al Centro Nacional de Información de Biotecnología.

La abreviatura “BSL” se refiere a nivel de bioseguridad.

La abreviatura “RNA” se refiere a ácido ribonucleico.

10 La abreviatura “DNA” se refiere a ácido desoxirribonucleico.

La abreviatura “ATCC” se refiere a la Depositaria Internacional Estadounidense de Colección de Cultivos de Tipos (American Type Culture Collection International Depository),
15 Manassas, VA, Estados Unidos de América. “ATCC núm.” se refiere al número de orden de los cultivos depositados en la ATCC.

La abreviatura “CCUG” se refiere a la Colección de Cultivos de la Universidad de Göteborg, Suecia, que es una colección de microorganismos.

20 La abreviatura “DSM” o “DSMZ” se refiere a “Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH”, que es una colección alemana de microorganismos y cultivos celulares (Braunschweig, Alemania).

Los términos “pozo de petróleo”, “depósito de petróleo”, y “estrato que contiene petróleo” se pueden usar en la presente indistintamente, y se refieren a una formación subterránea o ubicada debajo del lecho marino de la cual se puede recuperar petróleo. La formación es, generalmente, un cuerpo de rocas y suelo que tiene suficiente porosidad y permeabilidad para almacenar y transmitir petróleo.

El término “orificio de pozo” se refiere a un canal que va desde la superficie hasta un estrato que contiene petróleo con tamaño suficiente para permitir el bombeo de fluidos bien sea desde la superficie hasta el estrato que contiene petróleo (pozo de inyección) o desde el estrato que contiene petróleo hasta la superficie (pozo de producción).

Los términos “desnitrificante” y “desnitrificación” significan reducir el nitrato para ser usado en la generación de energía respiratoria.

El término “eficiencia de barrido” se refiere a la fracción de un estrato que contiene petróleo a través de la cual ha pasado fluido o agua para desplazar petróleo hacia pozos de producción. Un problema que puede surgir con operaciones de inundación con agua es la eficiencia de barrido relativamente pobre del agua, es decir, el agua puede canalizarse a través de ciertas porciones de un depósito a medida que se desplaza desde el pozo o pozos de inyección

hacia el pozo o pozos de producción y, por lo tanto, pasa por alto otras porciones del depósito. La eficiencia pobre del barrido puede deberse, por ejemplo, a diferencias en la movilidad del agua en comparación con la movilidad del petróleo, así como a las variaciones de permeabilidad dentro del depósito que promueven el flujo a través de ciertas porciones del depósito y no a través de otras.

El término “cultivo puro” significa un cultivo derivado de un solo aislado celular de una especie microbiana. Los cultivos puros específicamente mencionados en la presente incluyen aquellos que están disponibles públicamente en una depositaria y aquellos identificados en la presente descripción.

El término “biopelícula” significa una película o “capa de biomasa” de microorganismos. Las biopelículas a menudo están incrustadas en polímeros extracelulares, los cuales se adhieren a superficies sumergidas en, o sometidas a, ambientes acuáticos. Las biopelículas consisten en una matriz de una masa compacta de microorganismos con heterogeneidad estructural, que pueden tener diversidad genética, interacciones complejas de comunidad y una matriz extracelular de sustancias poliméricas.

El término “biopelícula obturadora” significa una biopelícula que es capaz de alterar la permeabilidad de un material poroso, y así retardar el movimiento de un fluido a

través de un material poroso que está relacionado con la biopelícula.

El término “nitratos simples” y “nitritos simples” se refiere a nitrato (NO_3^-) y nitrito (NO_2^-), respectivamente, tal y como ocurren en sales iónicas como nitrato de potasio, nitrato de sodio y nitrito de sodio.

El término “agua de inyección” se refiere a fluido inyectado en depósitos de petróleo para recuperación secundaria de petróleo. El agua de inyección puede ser suministrada por cualquier fuente apropiada y puede incluir, por ejemplo, agua de mar, saladar, agua de producción, agua recuperada de un acuífero subterráneo, incluyendo aquellos acuíferos que están en contacto con el petróleo, o agua de superficie proveniente de una corriente, río, laguna o lago. Como se conoce en la materia, es posible que sea necesario retirar del agua materia particulada, incluido polvo, pedazos de roca o arena y productos de la corrosión tales como herrumbre, antes de la inyección en uno o más orificios de pozo. Los métodos para retirar dicha materia particulada incluyen filtración, sedimentación y centrifugación.

El término “agua de producción” significa agua recuperada de fluidos de producción extraídos de un depósito de petróleo. Los fluidos de producción contienen tanto agua

usada en recuperación secundaria de petróleo como petróleo crudo producido del depósito de petróleo.

El término “inocular un pozo de petróleo” significa inyectar uno o más microorganismos o poblaciones de
5 microbios o un consorcio en un pozo de petróleo o depósito de petróleo de forma que los microorganismos sean proporcionados al pozo o depósito sin pérdida de viabilidad.

Los términos “tipificación filogenética”, “esquema filogenético”, o “clasificación filogenética” pueden ser
10 usados indistintamente en la presente descripción y se refieren a una forma de clasificación en la cual los microorganismos son agrupados de acuerdo con su linaje genético evolutivo. La tipificación filogenética en la presente invención es de cepas de microorganismos aislados
15 de muestras ambientales y se basa en secuencias de gen codificador (ADNr) de ARN ribosomal 16S (ARNr).

El término “regiones hipervariables”, como se usa en la presente descripción, se refiere a regiones de secuencia en el gen ADNr 16S, en donde la secuencia de nucleótido es
20 altamente variable. En la mayoría de los microbios, la secuencia de ADNr 16S consiste en nueve regiones hipervariables que demuestran una considerable diversidad de secuencia entre diferentes géneros y especies de bacterias y se pueden usar para la identificación de géneros y especies

El término “secuencias distintivas”, como se usa en la presente descripción, se refiere a nucleótidos específicos en posiciones específicas (posiciones distintivas) de gen codificador de ARNr 16S (ADNr), que usualmente ocurren dentro de las regiones hipervariables, que son distintivos para microorganismos en diferentes niveles. En las posiciones distintivas, los nucleótidos que distinguen entre especies pueden ser una o más sustituciones, inserciones o eliminaciones específicas de base. Cuando se toman juntas, las secuencias distintivas del ADNr 16S son útiles para describir microbios a nivel de especie, cepa o aislado, y se pueden usar en la identificación de un microbio.

El término “redundancia o posición base redundante” se refiere al caso en donde más de un nucleótido (A, G, C o T(U)) es posible en una posición particular en una secuencia de ADN o ARN. Una posición es un sitio “que redundando dos veces” si solo dos de cuatro posibles nucleótidos pueden estar en esa posición. Una posición es un sitio “que redundando tres veces” si tres de cuatro posibles nucleótidos pueden estar en esa posición. Una posición es un sitio “que redundando cuatro veces” si todos los cuatro nucleótidos pueden estar en esa posición.

El término “secuencia distintiva redundante” se refiere a una secuencia distintiva que puede tener una o más posibles posiciones de base redundante en la secuencia distintiva.

El término “filogenética” se refiere al campo de la biología que trata con la identificación y comprensión de las relaciones evolutivas entre organismos, y particularmente, la filogenética molecular usa homologías de secuencia de ADN en este análisis. Particularmente, las similitudes o diferencias en las secuencias de ADNr 16S, incluidas las secuencias distintivas, identificadas mediante el uso de algoritmos de similitud, sirven para definir las relaciones filogenéticas.

El término “árbol filogenético” se refiere a un diagrama ramificado que describe las relaciones evolutivas entre organismos. El árbol filogenético en la presente invención se basa en homologías de secuencia de ADN de varios ADNr 16S, incluidos de secuencias distintivas en el ADNr 16S, y muestra relaciones de las cepas actuales con cepas y especies relacionadas.

El término “clado filogenético” o “clado” se refiere a una rama en un árbol filogenético. Un clado incluye todos los organismos relacionados ubicados en la rama, en base al punto de la rama que se haya escogido.

El término “genomovar” se usa para describir una clasificación de sub-especie que se usa cuando un grupo de cepas de una especie es diferenciable mediante una secuencia de ADN, pero el fenotipo no se puede distinguir. Los genomovares se definen e identifican mediante hibridización ADN-ADN y/o

mediante secuencias distintivas de ADNr 16S. Esta terminología ha sido usada para describir *Pseudomonas stutzeri* por Bennasar et al. (1996) Int. J. of Syst. Bacteriol.46:200-205).

El término “ribotipificación” significa el registro
5 detallado de fragmentos de restricción de ADN genómicos que contienen la totalidad o una parte de los genes que codifican los ARN ribosomales 16S y 23S. La ribotipificación se realiza mediante el uso del sistema RiboPrinter® de DuPont.

El término “RiboPrint™” se refiere al registro genómico
10 único de una cepa o aislado microbiano específico, generado mediante el uso del sistema DuPont RiboPrinter®.

El término “cepa tipo” se refiere a la cepa de referencia para una especie particular cuya descripción se usa para definir y caracterizar a una especie particular.

15 El término “software para el análisis de secuencia” se refiere a cualquier programa de software o algoritmo computacional que resulta útil para el análisis de secuencias de nucleótidos o aminoácidos. El “software para el análisis de secuencia” puede estar disponible comercialmente o puede
20 ser desarrollado de manera independiente. El software típico para el análisis de secuencia incluye, pero no se limita a: El conjunto de programas GCG (Wisconsin Package Version 9.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, WI), BLASTP, BLASTN, BLASTX (Altschul et al., *J. Mol. Biol.* 215, 403-410, 1990),

DNASTAR (DNASTAR, Inc., Madison, WI), y el programa FASTA que incorpora el algoritmo Smith-Waterman (Pearson, W. R., *Comput. Methods Genome Res.*, Proc. Int. Symp, Meeting Date 1992, 111-120, Eds: Suhai, Sandor, Plenum Publishing, New York, NY, 1994). Dentro del contexto de esta solicitud, se entenderá que, cuando el software para el análisis de secuencia se usa para análisis, los resultados del análisis estarán basados en los “valores predeterminados” del programa de la referencia, a menos que se especifique de cualquier otra forma. Como se usa en la presente descripción, “valores predeterminados” significará cualquier conjunto de valores o parámetros que se cargan originalmente con el software la primera vez que se inicia.

El término “aceptor de electrones” se refiere a un compuesto que recibe o acepta a un electrón durante la respiración celular. Los microorganismos obtienen energía para crecer al transferir electrones desde un “donante de electrón” a un aceptor de electrones. Durante este proceso, el aceptor de electrones es reducido y el donante de electrón es oxidado. Algunos ejemplos de aceptores de electrones incluyen oxígeno, nitrato, fumarato, hierro (III), manganeso (IV), sulfato y dióxido de carbono. Azúcares, ácidos orgánicos de bajo peso molecular, carbohidratos, ácidos grasos, hidrógeno y petróleo crudo, o sus componentes tales como hidrocarburos de petróleo

o hidrocarburos aromáticos policíclicos, son ejemplos de compuestos que pueden actuar como donantes de electrones.

“Darcy” es una unidad de permeabilidad. Un medio con una permeabilidad de 1 darcy permite un flujo de $1 \text{ cm}^3/\text{s}$ de un fluido con viscosidad de 1 cP ($1 \text{ mPa}\cdot\text{s}$) bajo un gradiente de presión de $101,3 \text{ kPa/cm}$ (1 atm/cm) para actuar en un área de 1 cm^2 . Un milidarcy (mD) es igual a 0,001 darcy.

Microorganismos aislados

Microorganismos capaces de crecer bajo condiciones anaeróbicas en presencia de nitrato, fumarato o el ión férrico (Fe (III)) como aceptor de electrones y lactato como fuente de carbono se aislaron de las aguas de producción e inyección del Pozo núm. 2 que está ubicado en el campo Wainwright en la provincia de Alberta, Canadá. El Pozo núm. 2 tiene una salinidad de aproximadamente 65 partes por mil (ppt) tanto en las aguas de producción como en las aguas de inyección, lo cual es aproximadamente dos veces la salinidad del agua de mar.

Los microorganismos aislados se caracterizaron mediante análisis de sus secuencias de ADN ribosomal 16S (ADNr) y mediante el registro detallado de sus fragmentos de restricción de ADN genómico que contienen la totalidad o una parte de los genes que codifican los ARN ribosomales 16S y 23S (ARNrs; ribotipificación). Las cepas aisladas 97AE3-12, 97AE 3-3, 97AE3-1, 97AE 4-6, 97AE 4-5, 97AE 3-7, y 97AE 4-1 se identificaron como nuevas cepas pertenecientes al género

Arcobacter. Los patrones RiboPrint™ para estas cepas eran distintos a los de la estrechamente relacionada cepa *Arcobacter halophilus* (ATCC BAA-1022), la cual tiene más de 96 % de identidad de secuencia de la cepa 97AE3-12 en el ADNr 16S (sec. con núms. de ident.: 6 y 1, respectivamente). Los patrones RiboPrint™ (Figura 4) indican que las cepas recién aisladas forman 3 grupos: 1) 97AE3-12, 97AE4-1 y 97AE4-5; 2) 97AE3-3 y 97AE4-6; y 3) 97AE3-7 y 97AE3-1. Las cepas 97AE3-12 y 97AE 3-3 se depositaron con la presente, conforme al Tratado de Budapest, como ATCC núm. PTA-11409 y ATCC núm. PTA-11410, respectivamente.

Además, las cepas se caracterizaron como pertenecientes a *Arcobacter* de clado 1 según se determinó mediante análisis filogenético molecular de las secuencias de ADNr 16S descritas en el Ejemplo 2 en la presente descripción. El árbol filogenético producido por el análisis se muestra en la Figura 1, con las cepas recién aisladas representadas la cepa 97AE3-12. El árbol filogenético muestra que tres clados, o grupos, se forman a partir de especies conocidas de *Arcobacter*, las cuales se clasifican en la figura. El clado 3 incluye cepas patogénicas tales como *Arcobacter butzleri* y *Arcobacter cryaerophilus*, las cuales están clasificadas como BSL2. El clado 2 incluye el *Arcobacter nitrofigilis*. El clado 1 incluye las especies conocidas *Arcobacter marinus*, *Arcobacter halophilus*, *Arcobacter molluscorum* y *Arcobacter mytili*. En el

presente método se puede usar cualquier cepa de *Arcobacter* que pertenezca al clado 1. El clado 1 incluye las cepas listadas anteriormente, así como cualquier cepa que pertenezcan al mismo clado al que pertenecen estas cepas cuando se analizan
5 mediante filogenética molecular por medio del uso de las secuencias de ADNr 16S descritas en la presente descripción.

Las cepas de clado 1 de *Arcobacter*, que son cepas del presente método, se pueden definir adicionalmente como cepas con secuencias de ADNr que tienen por lo menos aproximadamente
10 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia de las secuencias de ADNr 16S de cualquiera de esas cepas que se muestran en el clado 1 en la Figura 1: Solar Lake *Arcobacter sp* (sec. con núm. de ident.:2), *Arcobacter sp* YJQ-18 (clon no cultivado; sec. con núm. de ident.:3), *Arcobacter marinus* (sec. con núm. de
15 ident.:4), clon de depósito de petróleo de alta temperatura EB27 (sec. con núm. de ident.:5), *Arcobacter halophilus* (sec. con núm. de ident.:6), y *Arcobacter mytili* (sec. con núm. de ident.:8). Además, las cepas del presente método incluyen aquellas con secuencias de ADNr que tienen por lo menos
20 aproximadamente 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia de la secuencia de ADNr 16S del *Arcobacter molluscorum* F98-3T (sec. con núm. de ident.:7), la cual también pertenece al clado 1. Las secuencias de ADNr 16S de cepas de diferentes clados en la Figura 1 tienen identidades de secuencia de menos de 96 %.

Un árbol filogenético molecular preparado en la presente muestra la relación de las cepas recién aisladas de 97AE3-12, 97AE 3-1, 97AE3-3, 97AE 3-7, 97AE 4-1, 97AE 4-5 y 97AE 4-6 entre sí y con otras cepas del clado 1, así como con una cepa de los clados 2 y 3, en la Figura 2. Las cepas están estrechamente relacionadas entre sí en una rama del clado 1. Estas cepas están caracterizadas por sus secuencias de ADNr: sec. con núms. de ident.:1, 33, 34, 35, 36, 37 y 38, respectivamente. Así, las cepas con las secuencias parciales de ADNr de estos nuevos aislados (sec. con núms. de ident.:1, 33, 34, 35, 36, 37 y 38) son cepas de *Arcobacter* de clado 1 del presente método.

Las secuencias de ADNr 16S de cepas en cada uno de los clados 1, 2 y 3 se analizaron como grupos para identificar las secuencias distintivas en las posiciones especificadas que se pueden usar para distinguir los tres clados. Tal como se describe en el Ejemplo 2 en la presente descripción, las posiciones específicas en la secuencia de ADNr 16S tienen nucleótidos que son característicos para cada clado de *Arcobacter*, los cuales pueden ser fijos o pueden tener alguna redundancia, según se lista en la Tabla 6. Adicionalmente, puede haber una inserción o delección en algunas posiciones. El conjunto (todas las posiciones juntas) de secuencias distintivas para cada clado de *Arcobacter* listado en la Tabla 6 difiere de cada uno de los conjuntos de secuencias distintivas

de los otros clados de *Arcobacter*. La secuencia consenso dominante (más prevalente) de ADNr 16S de *Arcobacter* de clado 1 (que no puede ser la longitud total) que contiene las secuencias distintivas se proporciona como sec. con núm. de
5 ident.:39. Las cepas microbianas conocidas o recién aisladas se pueden identificar como pertenecientes al *Arcobacter* de clado 1 y, por lo tanto, son cepas del presente método, al tener un ADNr 16S con por lo menos aproximadamente 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia de la sec. con núm. de ident.:39.

10 Las secuencias distintivas redundantes (incluidas las posiciones de inserción/delección) están presentes en la secuencia consenso redundante de ADNr 16S para el clado 1 (sec. con núm. de ident.:40), la secuencia consenso redundante de ADNr 16S para el clado 2 (sec. con núm. de
15 ident.:41), y la secuencia consenso redundante de ADNr 16S para el clado 3 (sec. con núm. de ident.:42). Las cepas microbianas conocidas o recién aisladas se pueden identificar como pertenecientes al *Arcobacter* de clado 1 y, por lo tanto, son cepas del presente método, al tener un
20 ADNr 16S que es el de la sec. con núm. de ident.:40. Además, las cepas microbianas conocidas o recién aisladas se pueden identificar como pertenecientes al *Arcobacter* de clado 1 y, por lo tanto son cepas del presente método, al tener un ADNr 16S que incluye las secuencias distintivas redundantes del
25 clado 1 listadas para posiciones específicas en la Tabla 6.

Se determinó que las cepas de *Arcobacter* sp 97AE3-12, 97AE 3-3, 97AE3-1, 97AE 4-6, 97AE 4-5, 97AE 3-7 y 97AE 4-1, según se muestra en ejemplos en la presente descripción, tienen propiedades que indican su capacidad para mejorar la
5 recuperación de petróleo al crecer para formar biopelículas obturadoras. Las cepas fueron capaces de formar biopelículas obturadoras en condiciones de salinidad alta (75 ppt). La cepa 97AE3-12 creció en presencia de aceite de petróleo, en condiciones desnitrificantes tanto de baja (15 ppt) como de
10 alta (64 ppt) salinidad. Las biopelículas obturadoras se produjeron en medios de baja (15 ppt) y alta (35 ppt y 68 ppt) salinidad. Las biopelículas obturadoras se formaron con alimentación de nutrientes continua o por lotes. Adicionalmente, la conglomeración de partículas de sílice se
15 demostró en medios de alta (64 ppt) salinidad.

Estas propiedades de las cepas aisladas de *Arcobacter* de clado 1 demuestran su uso para formar biopelículas para obturar zonas altamente permeables en arena o roca permeable de depósitos de petróleo. La obturación de zonas hiperpermeables
20 puede re-dirigir el agua hacia áreas menos permeables y más ricas en petróleo, para mejorar, así, la eficiencia de barrido, lo que conlleva a un aumento en la recuperación de petróleo.

Composiciones para mejorar la recuperación de petróleo

Las cepas recién aisladas de *Arcobacter* 97AE3-12 (ATCC
25 núm. PTA-11409), 97AE 3-3 (ATCC núm. PTA-11410), 97AE 4-6, 97AE

4-5, 97AE 3-7 y 97AE 4-1 descritas anteriormente se pueden incluir como componentes en composiciones para mejorar la recuperación de petróleo que son una modalidad de la presente invención. Así, las presentes composiciones incluyen por lo
5 menos una cepa de *Arcobacter* que tiene una secuencia parcial de ADNr de la sec. con núm. de ident.:1, 33, 34, 35, 36, 37 o 38, que son las secuencias de ADNr de estas nuevas cepas. Cada una de las cepas puede estar en composiciones para mejorar la recuperación de petróleo separadas, o cualquier combinación de
10 más de una de las cepas puede estar en la misma composición.

Además de una o más de estas nuevas cepas de *Arcobacter* de clado 1, la presente composición para mejorar la recuperación de petróleo incluye uno o más aceptores de electrones y por lo menos una fuente de carbono. En una
15 modalidad, el aceptor de electrones es nitrato. El nitrato se reduce a nitrito y/o nitrógeno durante el crecimiento de las cepas de *Arcobacter* descritas. El nitrito también puede servir como un aceptor de electrones en la composición. En varias modalidades, el aceptor de electrones es una o más sales
20 iónicas de nitrato, una o más sales iónicas de nitrito, o cualquier combinación de sales iónicas de nitrato y nitrito.

La fuente de carbono puede ser un compuesto simple o complejo que contenga carbono. La fuente de carbono puede ser materia orgánica compleja tal como peptona, licor de maíz
25 macerado o extracto de levadura. En otra modalidad, la fuente

de carbono es un compuesto simple tal como citrato, fumarato, maleato, piruvato, succinato, acetato, formato o lactato.

Las composiciones para mejorar la recuperación de petróleo pueden incluir componentes adicionales que
5 promueven el crecimiento y/o la formación de biopelícula por las cepas microbianas de la composición. Estos componentes pueden incluir, por ejemplo, vitaminas, metales traza, sales, nitrógeno, fósforo, magnesio, químicos reguladores y/o extracto de levadura.

10 En una modalidad, las composiciones para mejorar la recuperación de petróleo incluyen uno o más microorganismos adicionales que crecen en presencia del petróleo. Los microorganismos pueden usar un componente del petróleo como fuente de carbono, o cuando usan una fuente de carbono
15 alternativa su crecimiento no es inhibido por la presencia de petróleo. Particularmente útiles son otros microorganismos que tienen propiedades que mejoran la recuperación de petróleo, tales como microorganismos que forman biopelículas o que liberan petróleo de superficies. En una modalidad, un
20 microorganismo adicional en la presente composición es un microorganismo de una especie *Shewanella*. La *Shewanella* es un género de bacterias que ha sido establecido, en parte, a través de clasificación filogenética mediante ADNr y está totalmente descrito en la literatura (ver por ejemplo
25 Fredrickson et al., Towards Environmental Systems Biology of

Shewanella, Nature Reviews Microbiology (2008), 6(8), 592-603; Hau et al., Ecology And Biotechnology Of The Genus Shewanella, Annual Review of Microbiology (2007), 61, 237-258).

Hay por lo menos aproximadamente 89 % de identidad de
5 secuencia de secuencias de ADNr 16S entre las especies
Shewanella. Las especies *Shewanella* tienen un ADNr 16S que
tiene las secuencias distintivas de las regiones
hipervariables 2 (sec. con núms. de ident.:47 y 48 son
secuencias dominantes y redundantes, respectivamente), 5 (sec.
10 con núms. de ident.:49 y 50 son secuencias dominantes y
redundantes, respectivamente) y 8 (sec. con núms. de ident.:
51 y 52 son secuencias dominantes y redundantes,
respectivamente) como se muestra en la Figura 5. La
combinación de las secuencias distintivas redundantes para
15 cada región define la especie *Shewanella*, incluidas algunas
variaciones de posiciones como se muestra en la Figura 5. Así,
la *Shewanella* sp. útil en la presente invención es aquella que
comprende dentro del ADNr 16S las secuencias distintivas
redundantes según lo establecido en las sec. con núms. de
20 ident.:48, 50 y 52. En una modalidad, la *Shewanella* sp. útil
en la presente invención es aquella que comprende dentro del
ADNr 16S las secuencias distintivas dominantes según lo
establecido en las sec. con núms. de ident.:47, 49 y 51.

Las secuencias distintivas dominantes en la Figura 5 son
25 aquellas con las posiciones variables designadas como los

nucleótidos hallados con la máxima frecuencia en las especies *Shewanella*. Las *Shewanella* son gamma-proteobacterias gram negativas, que tienen la capacidad de reducir metales y, además, pueden reducir un amplio rango de aceptores terminales de electrones. Estos microorganismos obtienen energía para soportar el crecimiento anaeróbico mediante el acoplamiento de la oxidación de H₂ o materia orgánica con la reducción de una variedad de metales multivalentes, lo cual conlleva a la precipitación, transformación o disolución de minerales.

La capacidad de las especies *Shewanella* de alterar la humectabilidad de una superficie cubierta de hidrocarburo lleva a una mejora en la recuperación de petróleo se describe en la Publicación núm. 2011/0030956 de solicitud de patente de los Estados Unidos, copendiente, de propiedad mancomunada, la cual se incorpora en la presente descripción como referencia. En una modalidad, un microorganismo adicional es el *Shewanella putrefaciens*, *Shewanella sp* LH4:18 (ATCC núm. PTA-8822; descrito en la patente de los Estados Unidos núm. 7.776.795 de propiedad mancomunada), o el *Shewanella sp* L3:3 (ATCC núm. PTA-10980; descrito en la publicación de solicitud de patente de los Estados Unidos núm. 2011/0030956, copendiente, de propiedad mancomunada).

En una modalidad, el *Thauera sp.* AL9:8 (ATCC núm. PTA-9497) está incluido en la presente composición. El *Thauera sp.* AL9:8 se aisló de muestras de suelo subterráneo y se

demonstró que es capaz de crecer bajo condiciones desnitrificantes mediante el uso de petróleo o componentes de petróleo como única fuente de carbono. Este microorganismo tiene, además, actividad liberadora de
5 petróleo (patente de los Estados Unidos núm. 7.708.065).

Métodos para mejorar la recuperación de petróleo

Las presentes composiciones para mejorar la recuperación de petróleo se pueden usar para inocular un depósito de petróleo, para generar una mejora en la
10 recuperación de petróleo. Adicionalmente, las composiciones que incluyen por lo menos una cepa perteneciente a *Arcobacter* de clado 1, según lo descrito arriba, y un medio de crecimiento mínimo que incluye por lo menos un aceptor de electrones, se pueden usar para inocular un depósito de
15 petróleo a fin de mejorar la recuperación de petróleo. Típicamente se usan una o más sales iónicas de nitrato y/o nitrito como aceptor de electrones. Los microorganismos del *Arcobacter* de clado 1 en la composición incluyen células viables que habitan y crecen en el depósito de petróleo.

20 Un medio de crecimiento mínimo incluye por lo menos una fuente de carbono, y puede incluir otros componentes tales como vitaminas, metales traza, sales, nitrógeno, fósforo, magnesio, calcio y químicos reguladores. La fuente de carbono puede ser un compuesto simple o complejo que
25 contiene carbono, por ejemplo, 1) petróleo o un componente

de petróleo, 2) materia orgánica compleja tal como peptona, licor de maíz macerado o extracto de levadura; o 3) compuestos simples tales como citrato, fumarato, maleato, piruvato, succinato, acetato, formato o lactato.

5 Se puede usar cualquier cepa perteneciente a *Arcobacter* de clado 1, según lo descrito anteriormente, que forme biopelículas obturadoras bajo condiciones desnitrificantes anaeróbicas en presencia del aceite de petróleo. Las cepas de microorganismos pertenecientes a *Arcobacter* de clado 1, según
10 lo descrito anteriormente, que se pueden usar en los presentes métodos se pueden identificar mediante sus secuencias de ADN_r 16S, que tienen las secuencias distintivas descritas arriba y listadas en la Tabla 6. Además, las cepas pertenecientes al *Arcobacter*, de clado 1, según lo descrito anteriormente, que
15 son útiles en los presentes métodos, pueden ser identificadas por un experto en la materia mediante el uso de ensayos de formación de biopelícula, conglomeración de sílice y/o reducción de permeabilidad tales como los descritos en los ejemplos en la presente descripción. Como ejemplos de cepas
20 pertenecientes a *Arcobacter* de clado 1, según lo descrito anteriormente, que son capaces de formar biopelículas obturadoras, estas propiedades de las cepas 97AE3-12 (ATCC núm. PTA-11409), 97AE 3-3 (ATCC núm. PTA-11410), 97AE3-1, 97AE 4-6, 97AE 4-5, 97AE 3-7 y 97AE 4-1 se demuestran en la

presente descripción. En una modalidad, cualquiera de estas cepas se usa en los métodos presentes.

En otra modalidad, uno o más microorganismos, además de cepas pertenecientes a *Arcobacter* de clado 1, según lo
5 descrito anteriormente, que crecen en presencia de petróleo bajo condiciones desnitrificantes, se incluyen en una composición usada en el presente método. Los microorganismos de la especie *Shewanella*, que se describen arriba, son particularmente útiles.

10 En ciertos depósitos de petróleo que tienen propiedades específicas, las cepas específicas pertenecientes a *Arcobacter* de clado 1, según lo descrito anteriormente, se pueden adaptar mejor para su uso en los presentes métodos. Por ejemplo, en los depósitos de petróleo, en donde por lo menos un fluido tal
15 como agua de inyección y/o agua de producción tiene una alta concentración de sal, las cepas pertenecientes a *Arcobacter* de clado 1, según lo descrito anteriormente, que crecen y forman biopelículas obturadoras en medios con elevado nivel de sal, son particularmente adecuadas. Específicamente, las cepas de
20 *Arcobacter* de clado 1 97AE3-12 (ATCC núm. PTA-11409), 97AE 3-3 (ATCC núm. PTA-11410), 97AE3-1, 97AE 4-6, 97AE 4-5, 97AE 3-7 y 97AE 4-1 son particularmente adaptadas a depósitos de petróleo con al menos un fluido que tiene nivel elevado de sal, particularmente, sal de aproximadamente 30 ppt o mayor. La
25 concentración de sal puede ser por lo menos aproximadamente

30 ppt, 35 ppt, 40 ppt, 45 ppt, 50 ppt, 55 ppt, 60 ppt, 65 ppt, 70 ppt o 75 ppt, o más.

Los depósitos de petróleo pueden ser inoculados con composiciones que incluyen una o más cepas pertenecientes a *Arcobacter* de clado 1, según lo descrito anteriormente, y un medio de crecimiento mínimo mediante el uso de cualquier método de introducción conocido por un experto en la materia. Típicamente, la inoculación se lleva a cabo mediante la inyección de una composición en un depósito de petróleo. Los métodos de inyección son comunes y conocidos en la técnica, y se puede usar cualquier método apropiado (ver, por ejemplo, Nontechnical guide to petroleum geology, exploration, drilling, and production, 2.º edición. N. J. Hyne, PennWell Corp. Tulsa, OK, USA, Freethey, G.W., Naftz, D.L., Rowland, R.C., & Davis, J.A. (2002); Deep aquifer remediation tools: Theory, design, and performance modeling, In: D.L. Naftz, S.J. Morrison, J.A. Davis, & C.C. Fuller (Eds.); y Handbook of groundwater remediation using permeable reactive barriers (págs. 133-161), Amsterdam: Academic Press). La inyección típicamente se lleva a cabo a través de uno o más pozos de inyección, que están en comunicación subterránea con uno o más pozos de producción de los cuales se recupera petróleo. Recuperación mejorada de petróleo de un depósito de petróleo

La recuperación mejorada de petróleo en este contexto puede incluir recuperación secundaria o terciaria de

petróleo de hidrocarburos de formaciones subterráneas. Específicamente, los hidrocarburos que se recuperan son aquellos que no se recuperan fácilmente de un pozo de producción mediante inundación con agua u otras técnicas
5 tradicionales secundarias de recuperación de petróleo.

Los métodos de recuperación primaria de petróleo, que usan solamente las fuerzas naturales presentes en un depósito de petróleo obtienen, típicamente, solo una porción menor del petróleo original en el estrato que contiene petróleo de un
10 depósito de petróleo. Los métodos de recuperación secundaria de petróleo, tales como inundación con agua, se pueden mejorar mediante el uso de métodos de la presente invención, que proporcionan microorganismos y medios de cultivo para la formación de biopelículas obturadoras en áreas de formaciones
15 subterráneas en donde hay una alta variación de la permeabilidad. La obturación con biopelículas de las regiones altamente permeables de un depósito redirigen el agua usada en inundaciones con agua hacia áreas menos permeables y más ricas en petróleo. Así, la recuperación mejorada de petróleo
20 se obtiene particularmente de depósitos de petróleo, en donde la eficiencia de barrido es baja debido a, por ejemplo, interspersión en el estrato que contiene petróleo de capas de roca que tienen una permeabilidad sustancialmente mayor en comparación con el resto de las capas de roca. Las capas con
25 mayor permeabilidad canalizarán el agua e impedirán la

penetración de agua en las otras partes del estrato que contiene petróleo. La formación de biopelículas obturadoras por microorganismos reducirá esta canalización.

5 **EJEMPLOS**

La presente invención se define más detalladamente a través de los siguientes ejemplos. Debe entenderse que si bien estos ejemplos indican modalidades preferidas de la invención, estos se proporcionan con fines ilustrativos únicamente. A partir de la descripción anterior y de estos ejemplos, una persona con experiencia en la técnica podrá determinar las características esenciales de esta invención y, sin apartarse del espíritu ni del alcance de ella, podrá introducir varios cambios y modificaciones en la invención para adaptarla a los diversos usos y condiciones.

Métodos Generales

El significado de las abreviaturas se usa en esta solicitud de la siguiente forma: “h” significa hora(s), “min” significa minuto(s), “día” significa día(s), “mL” o “ml” significa mililitros, “mg/ml” significa miligramo por mililitro, “l” significa litros, “μl” significa microlitros, “mM” significa milimolar, “μM” significa micromolar, “nM” significa nanomolar, “μg/l” significa microgramo por litro, “pmol” significa picomol(s), “°C” significa grados centígrados,

“°F” significa grados Fahrenheit, “bp” significa par base, “bps” significa pares base, “mm” significa milímetro, “ppm” significa parte por millón, “g/l” significa gramo por litro, “ml/min” significa mililitro por minuto, “ml/h” significa mililitro por hora, “cfu/ml” significa unidades que forman colonias por mililitro, “g” significa gramo, “mg/l” significa miligramo por litro, “Kev” significa kilo o miles de voltios de electrón, “psi” significa libras (de fuerza) por pulgada cuadrada, “LB” significa caldo de cultivo Luria, “rpm” significa revolución por minuto, “NIC” significa control no inoculado.

Crecimiento de microorganismos

Las técnicas para cultivo y mantenimiento de cultivos anaeróbicos se describen en “Isolation of Biotechnological Organisms from Nature”, (Labeda, D. P. ed. 117-140, McGraw-Hill Publishers, 1990). El nitrato, el hierro férrico y el fumarato se usan individualmente como aceptor primario de electrones bajo las condiciones de cultivo usadas en la presente descripción. Bajo desnitrificación, el cultivo anaeróbico se mide por reducción de nitrato del medio de cultivo en el tiempo. La reducción de nitrato a nitrógeno se ha descrito previamente (Moreno-Vivian, C., et al., J. Bacteriol., 181, 6573 - 6584, 1999). En algunos casos, los procesos de reducción de nitrato conllevan a acumulación de nitrito, el cual se reduce, posteriormente, adicionalmente, a nitrógeno. De allí,

la acumulación y algunas veces la disipación de nitrito por lo tanto también son consideradas evidencia de crecimiento activo y metabolismo por parte de microorganismos.

5 Determinación de título de célula viable (número más probable)

A fin de determinar el título de célula viable, se diluyeron muestras de cultivos o tubos delgados con una dilución serial 1:10 en 8 filas por muestra de una placa de 96 pocillos mediante el uso de caldo de cultivo Luria estándar de Miller o caldo de cultivo Luria con 3,5 % de NaCl agregado. La titulación se realizó por medio del uso de un pipetador robótico automático Biomek200. El crecimiento se determinó por la turbidez visual y se registró para cada una de las 8 filas. El algoritmo de Cochran del número más probable (Biometrics (1950) páginas 105-116) se usó para 15 determinar las células viables/ml y los límites de 95 % de seguridad para este número en la muestra original.

La colocación en placas del método de dilución serial se usa para determinar el título bacteriano de dichos 20 cultivos. Una serie de diluciones 1:10 de dichas muestras se coloca en placas y las colonias resultantes se cuentan. El número de colonias en una placa es entonces multiplicado por el factor de dilución (el número de veces que se realizó la dilución 1:10) para esa placa a fin de obtener el conteo de 25 bacterias en la muestra original.

Cromatografía de iones

Para cuantificar los iones de nitrato y nitrito en medios acuosos, los solicitantes usaron una unidad de cromatografía ICS2000 (Dionex, Banockburn, IL). El
5 intercambio de iones se realizó en una columna de intercambio de aniones AS15 mediante el uso de un gradiente de 2 a 50 mM de hidróxido potásico. Se generaron curvas estándar mediante el uso de cantidades conocidas de soluciones de nitrito
10 sódico o nitrato sódico y estas se usaron para calibrar las concentraciones de nitrato y nitrito.

Medición de total de sales disueltas por refractómetro

El total de sal disuelta se midió mediante el uso de un refractómetro manual (Modelo RHS 10ATC, Huake Instrument Co., Ltd).

15 Muestras de aguas de inyección y aguas de producción de depósito de petróleo

Para este estudio se tomaron muestras de un sistema de pozo de petróleo que se denomina Pozo núm. 2 en el campo Wainwright en la provincia de Alberta, Canadá. Este pozo
20 tiene una salinidad de aproximadamente dos veces el agua de mar, la cual está en el rango de 65 ppt. Se obtuvieron muestras de agua de cabezales de pozos de inyección y de producción como líquidos mezclados de petróleo/agua en
25 botellas de vidrio marrón de 1,0 l, llenadas hasta el tope, tapadas y selladas con cinta para impedir la fuga de gas. El

gas de los procesos anaeróbicos inherentes fue suficiente para mantener las condiciones anaeróbicas durante el envío. Las botellas se enviaron en grandes enfriadores plásticos con bloques de hielo a las instalaciones de las pruebas en un lapso de 48 horas después de la toma de muestras.

Preparación de ADN para análisis de secuencia

El ADN genómico de colonias bacterianas se aisló mediante la dilución de colonias bacterianas en 50 µl de agua o amortiguador Tris-HCL con pH 7-8. Los ADN de colonias diluidas se amplificaron con polimerasa de ADN Phi 29 antes de la secuenciación (Kit de amplificación GenomiPHI de GE Life Sciences, New Brunswick, NJ). Una alícuota (1,0 µl) de una colonia diluida se agregó a 9,0 µl del reactivo de lisis (del kit de amplificación GenomiPHI) y se calentó a 95 °C durante 3 minutos seguido de enfriamiento inmediato a 4 °C. 9,0 µl de amortiguador de enzimas y 1,0 µl de enzima Phi 29 se agregaron a cada muestra sometida a lisis seguido de incubación a 30 °C durante 18 horas. La polimerasa se desactivó mediante calentamiento a 65 °C durante 10 minutos seguido de enfriamiento a 4 °C.

Análisis de secuencia de ADN

Las reacciones de secuenciación de ADN se establecieron de la siguiente forma: 8,0 µl de muestra amplificada de GenomiPHI se agregaron a 8,0 µl de reactivo de secuenciación BigDye v3.1 (Applied Biosystems, Foster City, CA) seguido de

3,0 μ l de 10 μ M de iniciadores sec. con núms. de ident.:43,
44, 45 o 46 (preparados por Sigma Genosys, Woodlands, TX),
4,0 μ l de amortiguador de dilución 5X BigDye (Applied
Biosystems) y 17 μ l de agua de grado de biología molecular
5 (Mediatech, Inc., Herndon, VA).

Las reacciones de secuenciación se calentaron durante 3,0
minutos a 96 °C seguido de 200 termociclos de (95 °C durante
30 segundos; 55 °C durante 20 segundos; 60 °C durante 2
minutos) y se almacenaron a 4 °C. Los dNTP no incorporados se
10 retiraron mediante el uso de placas de limpieza de Edge
Biosystems (Gaithersburg, MD). Las reacciones amplificadas se
colocaron con pipeta en un pocillo de una placa de limpieza
precentrifugada de 96 pocillos. La placa se centrifugó durante
5,0 minutos a 5,000x g en un Sorvall RT-7 (Sorvall, Newtown,
15 CT) a 25 °C. Las reacciones limpias se colocaron directamente
sobre un secuenciador de ADN Applied Biosystems 3730 y se
secuenciaron con llamada automática de bases.

Cada una de las secuencias de ADNr recopiladas se comparó
con la base de datos de ADNr del NCBI (aproximadamente 260,000
20 secuencias de ADNr) mediante el uso del algoritmo BLAST
(Altschul et al., Journal of Molecular Biology, 1990). El
acierto de identidad de secuencia con la puntuación más alta
se usó como identificador de la especie conocida más
estrechamente relacionada para la identificación de cepas.

Alternativamente, para generar fragmentos amplificados de ADNr de cepas individuales, escogimos conjuntos de iniciadores de Grabowski et al. (FEMS Microbiology Ecology, 54:427-443 (2005)). La combinación de iniciador sec. con núm. de ident.:43 e iniciador sec. con núm. de ident.:44 se escogió específicamente para amplificar secuencias de ADNr bacteriano.

La mezcla de amplificación de PCR incluyó: 1,0X de amortiguador PCR GoTaq (Promega), 0,25 mM de dNTPs, 25 pmol de cada iniciador, en un volumen de reacción de 50 µl. Se agregaron 0,5 µl de polimerasa GoTaq (Promega) y 1,0 µl (20 ng) de ADN muestra. El protocolo de termociclo de reacción PCR fue 5,0 minutos a 95 °C seguido de 30 ciclos de: 1,5 minutos a 95 °C, 1,5 minutos a 53 °C, 2,5 minutos a 72 °C y extensión final durante 8 minutos a 72 °C en un termociclador Perkin Elmer 9600 (Waltham, MA). Los productos de amplificación de par base 1400 se visualizaron en geles de agarosa de 1,0 %. La mezcla de reacción PCR se usó directamente para clonar en un vector pCR -TOP04 mediante el uso del sistema de clonación TOPO TA (Invitrogen) según lo recomendado por el fabricante. El ADN se transformó en células TOP10 químicamente competentes que seleccionan resistencia a la ampicilina. Colonias individuales se seleccionaron y cultivaron en placas de microtítulo para análisis de secuencia. La secuenciación de los fragmentos

amplificados y la identificación de cepas fue según lo descrito anteriormente.

Ribotipificación automatizada

La ribotipificación automatizada se usó para la
5 identificación concluyente de las cepas seleccionadas con características filogenéticas similares de la secuencia de ARNr 16S (Webster, John A (1988) patente de los Estados Unidos núm. 4.717.653; Bruce, J. L. (1996) Food Techno. 50: 77-81; y Sethi, M. R. (1997) Am. Lab. 5: 31-35). La ribotipificación se realizó
10 según lo recomendado por el fabricante (DuPont Qualicon Inc., Wilmington, DE). Para estos análisis, se seleccionó una colonia fresca, se suspendió de nuevo en el amortiguador muestra y se agregó al módulo de procesamiento para el paso de tratamiento con calor a 80 °C durante 10 minutos para inhibir enzimas
15 endógenas que degradan el ADN. Después, la temperatura se redujo y se agregaron dos enzimas líticas (lisostafina y N-acetilmuramidasa; proporcionadas por el fabricante) a la muestra. El portador de muestras se colocó, después, en el sistema Riboprinter™ con los otros reactivos comerciales. La
20 digestión de enzimas de restricción del ADN cromosómico de muestra mediante el uso de la enzima *EcoRI*, la electroforesis con gel y los pasos de transferencia (a una membrana de filtro) fueron completamente automatizados. Brevemente, el ADN bacteriano genómico fue digerido con la enzima de restricción
25 *EcoRI* y se colocó en un gel de agarosa. Los fragmentos de

restricción se separaron mediante electroforesis y se transfirieron, simultáneamente, a una membrana de nailon. Después de un paso de desnaturalización, los ácidos nucleicos se hibridizaron con una sonda de ADN sulfonada que contenía el
5 operón de ARNr del *E. coli*, el cual incluye genes para las subunidades pequeñas y grandes de ARNr, el gen de ARNr 5S y los espaciadores internos transcritos. La sonda hibridizada se detectó mediante la captura de emisión de luz de un sustrato quimoluminiscente con una cámara de dispositivo de acoplamiento
10 de carga. El resultado consistió en una exploración de huella densitométrica que muestra la distribución de los fragmentos genómicos de restricción de *EcoRI* que contienen secuencias del operón(es) ribosómico(s) en el genoma, que son separados mediante electroforesis según sus pesos moleculares.

15 Investigación de cepas para determinar su capacidad de formar biopelículas en filtros de vidrio fritado

Se desarrolló un ensayo para investigar cepas que podrían formar biopelículas en superficies de sílice e impedir el flujo de agua a través de espacios de poros de
20 aproximadamente 10 micrones (obturación), mediante el uso de filtros de vidrio fritado. Se pegaron filtros de vidrio fritado de 25 mm y aspereza media (mercancía núm. 15254, Adams and Chittenden Scientific Glass, Berkeley CA) en la base de sujetadores plásticos diseñados para filtración de
25 membrana. Después del curado, las estructuras del filtro se

esterilizaron mediante el uso del autoclave. Los filtros individuales en sujetadores se colocaron en placas de Petri estériles y en la parte superior de los filtros de vidrio se agregaron medios que contenían inóculo de cultivos de una
5 noche de varias cepas. El medio de cultivo para este ensayo de formación/obtención de biopelícula fue según lo indicado en los ejemplos. Las placas se cubrieron e incubaron a temperatura ambiente bajo condiciones anaeróbicas durante una a dos semanas. Los filtros se retiraron del medio de
10 cultivo y la pieza de la parte superior se colocó en su sitio. Una jeringa de 1 ml colocada en el puerto de entrada del sujetador de filtro se llenó con 1,0 ml de agua y el tiempo para drenar el agua en el tubo se midió en segundos.

Los filtros de vidrio fritado se investigaron previamente
15 para determinar la velocidad de flujo antes de la incubación con cultivo y el cambio porcentual en la velocidad de flujo postincubación se determinó al final del experimento.

Investigación de cepas para determinar la conglomeración
de sílice

20 Cepas de *Arcobacter* sp. se sometieron a prueba para determinar su capacidad de conglomerar granos de sílice cristalino. El sílice cristalino representa un sustituto de los granos de arena comunes en muchas formaciones geológicas subterráneas. Una alícuota de 100 µl de sílice cristalino de
25 220 g/l, (tamaño de grano en un rango de aproximadamente 2-

20 micrones; Sil-co-Sil 125 producido por U.S. Silica, Berkeley Springs, WV) se agregó a cada tubo muestra. Adicionalmente, se agregó 8 ml de medio y se taparon los tubos para restringir la entrada de oxígeno al medio.

5 Los tratamientos de prueba vivos (inoculados) duplicados recibieron 200 μ l de reserva congelada de varias cepas como inóculo. Además, se montaron tubos control no inoculados que contenían todos los componentes, excepto el inóculo microbiano. Los tubos se incubaron estáticamente a 30 °C. Los
10 tubos de tratamiento se mezclaron vigorosamente durante 10 segundos mediante el uso de vórtex. La turbidez incrementó dramáticamente debido a la resuspensión del sílice cristalino, que se había asentado en los fondos de los tubos durante la incubación. La disminución de la turbidez debido
15 al asentamiento del sílice cristalino se monitoreó en el tiempo después de mezclar al medir el OD600. El comportamiento asentamiento de las partículas de sílice mostró que algunas cepas podrían formar una fuerte interacción adhesiva con partículas de sílice cristalino
20 adyacentes, para hacer que estas se asienten más rápidamente. En el campo petrolero, hacer que los granos de arena se adhieran entre sí aumenta la resistencia al flujo de líquido a través de la arena. Esto permite tener control sobre la conformación del flujo, lo cual conlleva a una recuperación
25 de petróleo más eficiente mediante inundación con agua.

Aparato de tubo delgado para ensayo de reducción de permeabilidad

Se diseñó un aparato para medir la biotobturación de bultos de arena permeable mediante el uso de tubos delgados.

5 El procedimiento general para operar el tubo delgado fue:

- Llenar dos tubos delgados idénticos con una mezcla de arena producida en un pozo petrolero más Sil-co-Sil 125 según se describe más abajo.
- Inundar cada tubo delgado, bajo presión.
- 10 • Determinar la permeabilidad base de los tubos delgados llenos mediante la inundación de saladar (Saladar núm. 1) en los tubos.

La bioobturbación exitosa de estos aparatos de tubo delgado mediante el uso de un inóculo de *Arcobacter* sugiere su utilidad para modificar la permeabilidad de la roca porosa de un depósito de petróleo. Por lo tanto, la aplicación de esta cepa a depósitos de petróleo podría mejorar la recuperación de petróleo al alterar la conformación del flujo de depósitos bajo inundación de agua.

20 En la Figura 6 se muestra un diagrama esquemático del ajuste experimental del tubo delgado. Todos los números que aparecen en negritas abajo se refieren a la Figura 6.

Una muestra de arena producida de la formación Schrader Bluff en Milne Point Unit de la Vertiente Norte de Alaska se
25 limpió por medio de lavarla con un solvente compuesto de una

mezcla 50/50 (volumen/volumen) de metanol y tolueno. Después, el solvente fue drenado y evaporado de la arena para producir arena limpia, seca e inundable. Esta arena se tamizó para retirar partículas de tamaño inferior a un micrómetro. Esta
5 arena se combinó con Sil-co-Sil 125 lavado (U.S. Silica, Berkeley Springs, WV) en una proporción 4:1, y la mezcla se introdujo firmemente en tubos delgados flexibles separados de cuatro pies (121,92 cm) de longitud, de aproximadamente 1 cm de diámetro interno (**9a, 9b**) y se compactó mediante vibración
10 por medio del uso de un grabador de laboratorio.

Ambos extremos de cada tubo delgado se taparon con accesorios comunes tipo compresión para mantener la mezcla de arena en él. En los accesorios se colocaron tubos flexibles de 0,32 cm (1/8 de pulgada) capaces de soportar las presiones
15 usadas en la prueba. Los tubos delgados se montaron en un vaso de presión, (**10**) de forma que el tubo pasara a través de los extremos del vaso de presión (**11 y 12**) por medio del uso de una compuerta de unión con accesorios de presión comúnmente disponibles (0,32 cm (1/8 de pulgada) (**18a, 18b** y
20 **21a, 21b**). Se usaron accesorios y tubos adicionales para conectar la entrada de cada tubo delgado a una bomba de presión (**13a, 13b**) y reservorio de alimentación (**14a, 14b**). Otros accesorios de compresión comunes, que incluyen juntas de codo y "T"s y tubos, conectaban la entrada de cada tubo
25 delgado a un transductor que medía la presión por encima de

la presión atmosférica (calibrador de presión absoluta) (**20a, 20b**). La entrada del tubo delgado se conectó, además, mediante el uso de los mismos tipos de tubos y accesorios, al lado de alta presión de un transductor de presión diferencial disponible comercialmente (**19a, 19b**). Los accesorios y tubos conectaban la salida de cada tubo delgado al lado de baja presión del transductor de presión diferencial (**19a, 19b**) y a un regulador de presión posterior (**16a, 16b**). Las señales de los transductores de presión diferencial y de presión absoluta se transmitieron, a través de puerto, a una computadora y estas lecturas de presión se monitorearon y se registraron periódicamente. El vaso de presión (**10**) alrededor de los tubos delgados se llenó con agua, que actuó como fluido hidráulico, a través de un puerto de agua (**15**). Esta agua se presurizó lentamente con aire a través del puerto **17** a una presión de aproximadamente 0,74 mega Pascales (107 libras por pulgada cuadrada (psi)) mientras que el Saladar núm. 1 (más abajo) de los reservorios de alimentación (**14a, 14b**) fluía a través de los tubos delgados y salía a través del regulador de presión posterior (**16a, 16b**). Esta operación se realizó de forma que la presión en cada tubo delgado fuese siempre 0,034 - 0,137 mega Pascales (5 a 20 psi) por debajo de la presión en el vaso de presión (**10**).

Soluciones para experimentos en tubos delgados:

Saladar núm. 1. Agua de inyección usada en un sitio de pozo en Alberta, Canadá. El contenido total de sal disuelta fue aproximadamente 70 ppt. El pH de esta solución se ajustó a aproximadamente 6,2 a 6,4 mediante el uso de HCl o NaOH. Este saladar se aplicó a los tubos delgados con y sin esterilización de filtro durante el curso de los experimentos en tubos delgados, como se describe en los ejemplos.

10 Saladar núm. 2: (alimentación de nutriente por lotes)

Receta 200 ml

	NaNO ₃	14,2 g
	Lactato de Na	7,2 g
	NH ₄ Cl	720 mg
15	KH ₂ PO ₄	144 mg
	Extracto de	
	levadura	3,6 g
	pH=6,5	

20 Diluido 1 parte en 36 de Saladar núm. 1

Saladar núm. 3: (alimentación de nutriente continua)

Receta 200 ml

25	NaNO ₃	14,2 g
----	-------------------	--------

Lactato de Na 7,2 g
 NH₄Cl 720 mg
 KH₂PO₄ 144 mg
 5 Extracto de
 levadura 3,6 g
 pH=6,5

Diluido 1 parte en 327 de Saladar núm. 1.

Saladar núm. 5:

10 En agua de grifo,
 66 ppt NaCl,
 1000 ppm Citrato de Na,
 3725 ppm Fumarato de Na₂,
 100 mg/l NH₄Cl,
 15 50 mg/l KH₂PO₄,
 500 mg/l de extracto de levadura
 1900 ppm Ca (5260 ppm CaCl₂)
 Ajustar el pH a ~6,2 a 6,4 con HCl.

Medición de disminución de presión

20 La disminución de presión en los tubos delgados se
 midió mediante el uso del transductor de presión diferencial
 descrito más arriba. La disminución de presión se midió a lo
 largo de cada tubo delgado con varias velocidades de flujo.
 Esta disminución de presión fue aproximadamente proporcional
 25 a la velocidad de flujo. La permeabilidad base del bulto de

arena se calculó para cada disminución de presión medida con cada velocidad de flujo.

La disminución de presión por sí sola se puede comparar y usar como una medida del cambio en la permeabilidad entre
 5 los tubos delgados puesto que todos los tubos tenían dimensiones similares y recibieron las mismas velocidades de flujo de saladar durante las pruebas.

El volumen vacío en los tubos delgados, llamado el volumen de poro, fue 40-50 ml. Este volumen de poro se
 10 calculó en base al producto del volumen total del tubo delgado y un cálculo de la porosidad (aproximadamente 40 %).

Cálculo de la permeabilidad base

La permeabilidad base de cada tubo se midió mediante el uso de Saladar núm. 1 que fluía a presión total:
 15 aproximadamente 0,665 megapascuales (95 psi) en el tubo delgado (controlado en el extremo de salida con el regulador de presión posterior) y aproximadamente 0,758 megapascuales (110 psi) en el vaso de presión (fuera del tubo delgado). La permeabilidad base se calculó mediante el uso de la Ecuación Darcy:

20

$$k = \frac{4.08 * Q * \mu * L}{A_x * \Delta P}$$

ΔP = La disminución de presión en una roca o bulto
 25 poroso, [=]psi

Q = Velocidad de flujo volumétrico en el bulto, [=] cc/h

μ = Viscosidad del fluido (una fase) en el bulto [=] centipoise

L = Longitud del bulto (paralela al flujo), [=] cm

5 A_x = Área representativa (normal a flujo) [=] cm²

k = Permeabilidad [=] miliDarcy

4,08 = una constante de conversión para hacer que las unidades sean compatibles [=] mD-hr-psi/cp/cc²

10 La permeabilidad base, junto con otras propiedades de cada tubo delgado lleno, se proporcionan en la Tabla 3.

Tabla 3. Propiedades de tubos delgados llenos de arena

Tubo núm.	Número de ejemplo	Diámetro interno del tubo, cm	Longitud, L, cm	Masa de arena, g	Permeabilidad, Darcy
9a	8, 9	0,978	121,9	166,4	0,7
9b	10	0,978	121,9	175,6	1,2

20 Ejemplo 1

Enriquecimiento anaeróbico para microbios autóctonos de muestras de depósito de petróleo

Para enriquecer especies que podrían reducir el nitrato, fumarato o el ión férrico (Fe (III)) de cualquiera de los
25 aceptores de electrones, inoculamos 1 ml de agua de inyección

o agua de producción del Pozo núm. 2, descrito en los Métodos generales, en 9 ml de medio de sales mínimas (Tabla 4) en viales de suero anaeróbico de 20 ml, suplementado con lactato (2000 ppm) como fuente de carbono, cloruro de sodio a 4300 ppm y como aceptor de electrones, bien sea 1,6 g/l de nitrato sódico, o 3,5 g/l de fumarato sódico, o 13,000 ppm NaEDTAFe(III). Un cuarto enriquecimiento con un medio rico, caldo de cultivo marino (Difco™ B. D. Diagnostics Sparks MD), que se suplementó con cloruro sódico a 3900 ppm y lactato a 2000 ppt, se usó para enriquecer microbios que requieren más que un medio mínimo para el crecimiento. El aceptor de electrones en la muestra de caldo de cultivo marino se rescató de entre el Fe (III), sulfato, nitrato y moléculas orgánicas en la formulación que podían ser usados como aceptores de electrones. Cada muestra de medio se desoxigenó al rociar los viales llenos con una mezcla de nitrógeno y dióxido de carbono seguido de sometimiento a autoclave. Todas las manipulaciones de bacterias se realizaron en una cámara anaeróbica (Coy Laboratories Products, Inc., Grass Lake, MI), y los cultivos se incubaron a temperatura ambiente.

Tabla 4. Medio de sales mínimas

g/l	Sustancia química
1,0	NH ₄ Cl

5	0,5	KH ₂ PO ₄
	0,4	MgCl ₂ .6H ₂ O
	0,2	CaCl ₂ .2H ₂ O
	10	NaCl
	0,69	NaH ₂ PO ₄
	2,5	NaHCO ₃
	0,073	KSO ₄
	1000X g/l	Elementos traza
10	1,5	FeCl ₂ .4H ₂ O
	0,002	CuCl ₂ .2H ₂ O
	0,1	MnCl ₂ .4H ₂ O
	0,19	CoCl ₂ .6H ₂ O
	0,07	ZnCl ₂
15	0,006	H ₃ BO ₃
	0,036	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O
	0,024	NiCl ₂ .6H ₂ O
	0,277	HCl
20	1000X g/l	Selenio/ tungstato
	0,006	Na ₂ SeO ₃ .5H ₂ O
	0,008	Na ₂ WO ₄ .2H ₂ O
	0,5	NaOH
25	1000X mg/l	Mezcla de vitaminas
	100	Vitamina B12

5	80	Ácido p-aminobenzoico
	20	D(+)-biotina
	200	Ácido nicotínico
	100	Pantotenato cálcico
	300	Hidrocloreuro de piridoxina
	200	Tiamina-HCL.2H ₂ O
	50	Ácido alfa-lipoico

El pH del medio se ajustó a 7,3.

10 Los enriquecimientos que contenían nitrato se monitorearon y se tomaron muestras de ellos de forma regular para la reducción de nitrato y la acumulación de nitrito, o en algunos casos, la reducción de nitrito. Cuando el nitrato se redujo en la muestra (usualmente antes de 14 días), se agregó

15 lactato y nitrato a las concentraciones finales originales. El lactato y el aceptor de electrones en cada uno de los otros enriquecimientos se agregaron, además, a las concentraciones finales originales. En la muestra marina de enriquecimiento de caldo de cultivo, se agregó lactato para mayor incubación.

20 Todos los viales se incubaron para adición de 14 a 20 días a temperatura ambiente. En las muestras de viales se observaron cambios que indicaban crecimiento en el lactato y la combinación de aceptor de electrones de cada enriquecimiento. Los cambios incluyeron turbidez visible en el

25 medio y la presencia de biopelículas en los viales de vidrio o

en la interfase gas-acuosa, así como una reducción de nitrato y nitrito en viales que contenían nitrato como aceptor de electrones. La turbidez fue similar en cada vial, lo que indica que hubo una población diversa de microorganismos tanto en el agua de inyección como en el agua de producción.

Después de una segunda incubación de 14-20 días a temperatura ambiente, una muestra de 100 µl de cada enriquecimiento se colocó sobre placas de agar de caldo de cultivo marino (hechas según receta, Difco 2216, Becton-
10 Dickenson, Sparks, MD) y se incubó a temperatura ambiente durante dos días. Se aislaron colonias representativas con morfologías únicas, se colocaron nuevamente sobre placas de agar de caldo de cultivo marino y se cultivaron para purificar aislados. Se analizaron muestras de colonias aisladas para
15 realizar la identificación mediante amplificación de PCR por medio del uso de el análisis directo de ADNr de colonia descrito en los Métodos generales, mediante el uso tanto del iniciador PCR inverso 1492R (sec. con núm. de ident.:43) como del iniciador PCR directo 8F(sec. con núm. de ident.:44). La
20 secuenciación y el análisis de ADN descritos en los Métodos generales se usaron para obtener la secuencia de ADNr 16S para identificación microbiana. Los aislados identificados como pertenecientes al *Arcobacter* se obtuvieron primordialmente de los enriquecimientos de caldo de cultivo marino y de fumarato

del agua de producción. Siete aislados se denominaron 97AE 3-12, 97AE3-1, 97AE 3-3, 97AE 3-7, 97AE 4-6, 97AE 4-5 y 97AE4-1.

Ejemplo 2

5 Caracterización de cepas aisladas con respecto al *Arcobacter* *sp.*

Para determinar la secuencia de ADNr 16S de los siete aislados denominados 97AE 3-12, 97AE3-1, 97AE 3-3, 97AE 3-7, 97AE 4-6, 97AE 4-5 y 97AE4-1 (Ejemplo 1), cada uno de los siete
10 aislados se seleccionó como una sola colonia pura, el ADN se aisló y el gen ADNr 16S se amplificó por PCR mediante el uso de los procedimientos que aparecen en los Métodos generales. Las secuencias amplificadas se clonaron en el vector PCR -TOP04 mediante el uso del sistema de clonación TOPO TA (Invitrogen),
15 según lo recomendado por el fabricante y, después, se secuenciaron múltiples veces mediante el uso de los iniciadores 1492R, 8F, M13 inverso y M13 directo de las sec. con núms. de ident.:43-46, respectivamente, para obtener la secuencia casi completa. Cada secuencia de ADNr 16S de cepa (97AE 3-12: sec.
20 con núm. de ident.:1, 97AE3-1: sec. con núm. de ident.:33, 97AE 3-3: sec. con núm. de ident.:34, 97AE 3-7: sec. con núm. de ident.:35, 97AE 4-6: sec. con núm. de ident.:38, 97AE 4-5: sec. con núm. de ident.:37 y 97AE4-1: sec. con núm. de ident.:36) se investigó en la base de datos del NCBI (National Center for
25 Biotechnology Information - Centro Nacional para Información de

Biotecnología) mediante el uso del programa de algoritmo BLAST (Basic Local Alignment Search Tool - Herramienta de Búsqueda de Alineación Local Básica) proporcionado por el NCBI (Altschul, et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410) para identificar las

5 secuencias de nucleótidos más similares. Esto se ejecutó al comparar la secuencia de búsqueda con secuencias similares de ADNr 16S en la base de datos y determinar una puntuación de identidad porcentual relativa. Todas las secuencias de búsqueda, una para cada una de 97AE 3-12, 97AE3-1, 97AE 3-3,

10 97AE 3-7, 97AE 4-6, 97AE 4-5 y 97AE4-1, produjeron aciertos de primer lugar como *Arcobacter marinus* CL-S1 (sec. con núm. de ident.:4), *Arcobacter* sp. Solar Lake (sec. con núm. de ident.:2), o *Arcobacter* sp. YJQ-18 (sec. con núm. de ident.:3) con una identidad igual o mayor que 99 %.

15 En base a la identidad inicial del *Arcobacter*, se seleccionaron 24 secuencias de referencia de ADNr 16S en la base de datos del NCBI del género *Arcobacter* y 5 secuencias relacionadas. Estas secuencias se listan en la Tabla 1 con las sec. con núms. de ident.: 2-6, 8, 9 y 11-31. Las secuencias de

20 referencia incluían 10 de cepas de *Arcobacter* (sec. con núms. de ident.:4, 6, 8, 9, 15, 17-21) que representan 12 especies diferentes de *Arcobacter* (cepas tipo) reconocidas por el Comité Internacional de Sistemáticos de Procariotas (Lista de nombres procarióticos con Posición en Nomenclatura). Además,

25 las secuencias de referencia incluían 6 cepas de depósitos de

petróleo (sec. con núms. de ident.:3, 5, 24, 25, 28 y 31). Otros aislados y cepas de *Arcobacter* se incluyeron como secuencias de referencia porque habían sido mencionadas en revistas revisadas por colegas como *Arcobacter* sp. pero aún no

5 habían sido tipificadas y descritas como especies desde un punto de vista crítico (sec. con núms. de ident.:2, 11-14, 16, 22, 23, 26, 27 y 30). Adicionalmente, la secuencia B de ADNr 16S K12 del *E. coli* (posiciones 8-1511; sec. con núm. de ident.:32) se usó para servir como supercóntigo para la

10 alineación de secuencias y para proporcionar el sistema coordinado base, que está reconocido como el estándar base de posiciones (Brosius, J., et al. (1981) *J. of Molecular Biology*, 148(2):107-127; Woese, (1987) *Bacterial Evolution*. *Microbial Rev.* 51: 221-271). La secuencia de prueba para la

15 alineación fue de la cepa 97AE3-12 (sec. con núm. de ident.:1). Esta secuencia era representativa de las otras seis cepas en base a tramos de secuencia (500 -700 bp) que mostraron alta identidad de secuencia entre todas las seis cepas y el *Arcobacter marinus* CL-S1 (GenBank núm. EU512920).

20 Se creó una alineación global mediante el uso de secuencias de ADNr 16S de longitud casi completa de la sec. con núms. de ident.:1-6, 8, 9 y 11-32 con el algoritmo de alineación Clustal W (Chenna, R. H., et al, 2005 y Lark, M. A. et al, 2007). Todas las 24 secuencias de *Arcobacter* se

25 alinearon y mostraron una distancia significativa en identidad

al ADNr 16S K12 del *E. coli* con identidad de secuencia de 76 a 78 %. Todas las secuencias demostraron una delección de 25 bp al ser comparadas con la secuencia K12 del *E. coli* en la región variable 3 en las posiciones de coordenadas base 452 a 476. Además, hubo una inserción (WGCT) de 4 bp en la región variable 6 en la posición de coordenadas base 1028 y una delección de 6 bp en la región variable 9 en las coordenadas base 1451 a 1456. Estos distintivos estructurales son consistentes con el distintivo para la siguiente clasificación filogenética: *Bacterias/ Epsilonproteobacteria/ Campylobacterales/ Campylobacteraceae/ Arcobacter*.

La alineación produjo las identidades de secuencia más cercanas para la cepa 97AE3-12 de las secuencias del *Arcobacter sp.* que se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. 97AE3-12 y secuencias conocidas de ADNr 16S que tienen las identidades de secuencia más cercanas

Descripción de la secuencia que concuerda	*Repetición de elementos	Identidad
Clon YJQ-18 de <i>Arcobacter sp.</i> sin cultivar, gen ADNr 16S, secuencia parcial. GenBank núm. AY569293.1	1471/ 1473	99,9 %

	Solar Lake <i>Arcobacter</i> sp., Península de Sinaí, gen ADNr 16S, secuencia parcial (GenBank núm. L42994.1)	1431/ 1437	99,7 %
5	<i>Arcobacter marinus</i> CL-S1 (JCM 15502 ^T), gen ADNr 16S, secuencia parcial (GenBank núm. EU512920.2)	1419/ 1426	99,5 %
10	Clon EB27.1 de cultivo de enriquecimiento de bacteria, gen ADNr 16S, secuencia parcial. GenBank núm. EU573100	1432/ 1474	97,1 %
	<i>Arcobacter halophilus</i> LA31B (ATCC BAA-1022T), gen ADNr 16S, secuencia parcial, GenBank núm. AF513455.1	1352/ 1402	96,4 %
15	Cepa <i>Arcobacter mytili</i> F2075 (LMG 24559 ^T), gen ADNr 16S, secuencia parcial, GenBank núm. EU669904.1	1334/ 1401	94,5 %
	<i>Arcobacter nitrofigilis</i> (DSM 7299), genoma completo, GenBank núm. CP001999.1	1337/ 1477	94,6 %
20	<i>Arcobacter butzleri</i> RM4018, genoma completo. GenBank núm. AY570593	1375/ 1479	93,0 %

	Clon PL-8B1 de cultivo de enriquecimiento de bacteria, gen ADNr 16S, secuencia parcial. Depósito de petróleo de baja temperatura GenBank	1366/ 1477	92,5 %
5	<i>Thiomicrospira</i> sp. CVO, gen ADNr 16S, secuencia parcial, GenBank núm. U46506.2	1088/ 1277	85,2 %

10 * Repetición de elementos significa la longitud de la secuencia que se repite que se usó para determinar la identidad de porcentaje (incluye discordancias, eliminaciones e inserciones entre extremos fijos). Esto varía debido a la variabilidad de longitud de secuencia disponible para diferentes secuencias de ADNr 16S.

Se creó un árbol filogenético mediante una alineación realizada con el programa Clustal W con las mismas secuencias de ADNr (sec. con núms. de ident.:1-6, 8, 9, 11-15 32), por medio del uso del árbol filogenético y funciones de inicio del programa MegAlign™ en el paquete DNASTar LaserGene (LaserGene™, DNASTAR, Inc Madison, WI). El árbol filogenético que se muestra en la Figura 1 detalla todas las cepas de referencia de *Arcobacter* con la cepa 97AE3-12. Las 20 diez cepas de referencia reconocidas de *Arcobacter* forman tres clados (1, 2 y 3) en el análisis filogenético molecular. El *A. marinus* y el *A. halophilus* están en el clado 1, el *A. nitrofigilllis* está en el clado 2, y todos los patógenos conocidos representados por el *A. butzlerii* están 25 en el clado 3. Como se muestra en la Figura 1, la cepa

97AE3-12 cae dentro del *Arcobacter* de clado 1 que incluye al *Arcobacter marinus* CL-S1 (JCM 15502^T) (Kim, H.M. et al Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 60:53 (2010) que es la cepa tipo de referencia con la mayor identidad de secuencia en 99,5 %.

5 Otras cepas aisladas y descritas en el clado 1 incluyen el *Arcobacter* sp Solar Lake, el *Arcobacter halophilus* LA31B (ATCC BAA-1022^T) (Teske et al. (1996) Appl. Environ. Microbiol. 62:4210; Donachie et al (2005) Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 55:1271). Aunque el *A. mytili* F2075 y el

10 *A. nitrofigilllis* DSM7299 tienen prácticamente el mismo porcentaje de identidad de secuencia de ADNr 16S que la cepa 97AE3-12, las secuencias distintivas del ADNr 16S de estas dos cepas las colocan en los clados 1 y 2, respectivamente.

El clado 3 filogenético está sujeto por el *Arcobacter*

15 *butzleri* (la especie de *Arcobacter* más descrita y aislada). Este clado contiene, además, *Arcobacter skirrowi*, *Arcobacter thereius*, *Arcobacter cibarius* y *Arcobacter cryaerophilus*. Todas estas cepas son organismos BSL2.

De la misma forma, se generó un árbol filogenético

20 molecular para mostrar la relación entre las cepas recién aisladas 97AE 3-12, 97AE3-1, 97AE 3-3, 97AE 3-7, 97AE 4-6, 97AE 4-5 y 97AE4-1, y también su relación con un subconjunto de las cepas de referencia usadas arriba. Este árbol que se muestra en la Figura 2 indica la estrecha relación entre las

25 cepas recién aisladas y las cepas conocidas de *Arcobacter*

sp. Solar Lake y *Arcobacter* sp. YJQ-18 que en la Figura 1 se muestran como pertenecientes a *Arcobacter* de clado 1.

Con el uso de la misma alineación global de secuencias múltiples descrita anteriormente, se identificaron las
 5 posiciones distintivas en las secuencias de ADNr 16S que se pueden usar para distinguir la especie *Arcobacter* en el clado 1 de la especie *Arcobacter* en los clados 2 y 3 por las secuencias distintivas en estas posiciones. Estas posiciones
 10 distintivas se listan en la Tabla 6, con coordenadas de posición de la secuencia de ADNr 16S del *E. coli*. Se lista la secuencia consenso para el *Arcobacter* sp. de clado 1 en cada una de las posiciones distintivas. En algunas posiciones ocurre un solo nucleótido, mientras en otras posiciones hay redundancia cuando R puede ser A o G, Y puede ser C o T, M
 15 puede ser A o C, K puede ser G o T, S puede ser C o G, W puede ser A o T, B puede ser C, G o T, D puede ser A, G o T, H puede ser A, C o T, V puede ser A, C o G y N es A, C, G o T.

En la Tabla 6 los nucleótidos consenso del *Arcobacter* sp. de clado 1 en cada posición distintiva se comparan con
 20 los nucleótidos consenso de cada posición distintiva del *Arcobacter* sp. de clado 2 y clado 3. Además de los nucleótidos consenso de clado 1, los nucleótidos presentes en cada posición distintiva en las cepas del clado 1 97AE3-12, *Arcobacter marinus* CL-S1 y *Arcobacter halophilus* LA31B
 25 se muestran en la Tabla 6. Los nucleótidos de todas las

posiciones distintivas juntas, para cada una de estas cepas, identifican a estas cepas como *Arcobacter* sp. de clado 1, si bien hay diferencias con los nucleótidos consenso del *Arcobacter* sp. de clado 1 entre las posiciones distintivas para las especies de *Arcobacter* sp de clado 2 y clado 3.

La mayoría de las posiciones distintivas identificadas estaban ubicadas en las regiones hipervariables del ADNr 16S, con posiciones designadas por nucleótidos de la secuencia de ADNr 16S del *E. coli*:

- 10 región hipervariable 1 entre las posiciones 44 y 110
- región hipervariable 2 entre las posiciones 120 y 300
- región hipervariable 3 entre las posiciones 365 y 500
- región hipervariable 4 entre las posiciones 574 y 750
- región hipervariable 5 entre las posiciones 820 y 880
- 15 región hipervariable 6 entre las posiciones 990 y 1050
- región hipervariable 7 entre las posiciones 1115 y 1175
- región hipervariable 8 entre las posiciones 1240 y 1370
- región hipervariable 9 entre las posiciones 1415 y 1465

Las secuencias distintivas identificadas en la secuencia de ADNr 16S se pueden usar para identificar cepas de microorganismos que pertenecen al *Arcobacter* de clado 1 a diferencia del *Arcobacter* sp. de clado 2 o 3. Una secuencia compuesta redundante de ADNr 16S para el *Arcobacter* sp. de clado 1 que contiene todas las secuencias distintivas redundantes en la Tabla 6 es la sec. con núm. de ident.:40.

Esta secuencia redundante incluye posiciones de inserción/delección en la Tabla 6. Las cepas microbianas conocidas o recién aisladas se pueden identificar como pertenecientes al *Arcobacter sp.* de clado 1 al tener un ADNr 16S que sea de la sec. con núm. de ident.:40. La secuencia de ADNr 16S más frecuente o consenso dominante para el *Arcobacter sp.* clado 1 ADNr 16S es la sec. con núm. de ident.:39. Las secuencias de ADNr 16S que contienen todas las secuencias distintivas en la Tabla 6 para el *Arcobacter* de clados 2 y 3 son las sec. con núms. de ident.:41 y 42, respectivamente. En la Figura 3 se muestra una alineación de las secuencias de ADNr 16S para el consenso dominante de *Arcobacter* de clado 1, consenso redundante de *Arcobacter* de clado 1, cepa 97AE3-12, consenso redundante *Arcobacter* de clado 2 y consenso redundante *Arcobacter* de clado 3. Las diferencias entre las secuencias distintivas de ADNr 16S para los clados 1, 2 y 3 están en negritas y subrayadas.

Explicaciones para las notaciones en la Figura 3A-D:

Ningún paréntesis alrededor de “N” o “-” (inserción o delección, respectivamente) significa que es la secuencia dominante y única (puede ser redundante según lo indique la letra usada).

[N] significa que el nucleótido existe en más de una secuencia de referencia; es prevaleciente pero también un “-” existe en nuestros aislados y vecinos más cercanos.

(N) significa que el nucleótido solo existe en una
5 secuencia de referencia y es dominado por un “-” en esa posición.

Tabla 6. Secuencias distintivas de ADNr 16S para distinguir *Arcobacter* de clado 1 de *Arcobacter* de clados 2 y 3, incluidos nucleótidos para secuencias distintivas consenso redundantes y dominantes de *Arcobacter* de clado 1 y para cepas 97AE3-12, *Arcobacter marinus*, y *Arcobacter halophilus* en las posiciones distintivas mediante el uso de coordenadas de ADNr 16S de *E. coli*

10					BSL1 de		BSL2 de	
					<i>Arcobacter</i>	<i>Arcobacter</i>	<i>Arcobacter</i>	<i>Arcobacter</i>
	E. coli K12				de clado 1	de clado 1	de clado 2	de clado 3
	W3110 rraB				Distintivo	Distintivo	Distintivo	Distintivo
	Coordenada		<i>Arcobacter</i>	<i>Arcobacter</i>	consenso	consenso	consenso	consenso
	núm.	97AE3-12	<i>marinus</i>	<i>halophilus</i>	dominante	dominante	redundante	dominante
15	44-48	GTGCT	GTGCT	GTGCT	GTGCT	GTGCT	GTGCT	GTGCT
	69-70	AG	AG	AG	AG	AG	AG	AG
		1 n.t.*	1 n.t.			1 n.t.		
	79	delección	delección	A	A	delección o A	A	A
						CGGRWT [A] TAG		
	73-83	CGGGAT--TAGC	CGGGAT--TAGC	CGGATT A TAGC	CGGGATATAGC	C	CGGRTT A WAGC	CGGATT A TAGC

5

10

15

		AATGCGAAAAGTA	AATACAAAAGTA	AATACGAAAAGTA	AATACGAAAAGTA	AATRCDAAGTA	AAKACHYAWGTY	YYAWCHWAAGWT
	189-204	TGCA	TGAA	TGCA	TGCA	TGMA	TGCA	RRWA
5						1 n.t.		
						inserción C		
				1 n.t.		o no		
	211			inserción C		inserción		
		GGGAAATATTTA	GGGAAATATTTA	GGGAAACGCTTT	GGGAAATATTTA	GGGAAA(C) KYT	GGGAAACATTTA	GGGAAAGATTTA
10	206-219	TA	TA	AGT	TA	TWAKW	TG	TT
	221-226-	CTTGAA	CTTGAA	CTTAGA	CTTGAA	CTTRRR	CTCTAG	GTAAGA
	230-233	CGGC	CGGC	CGGC	CGGC	YGGC	KGGY	TAGC
	235-242	TGTACAGT	TGTACAGT	TGTACAGT	TGTACAGT	TGTAYWGT	TGTAYRGT	TGTATTGT
	245	C	C	C	C	C	C	C
15	248-250	ATA	ATA	CTA	ATA	MTA	MTM	TTA
	253	T	T	T	T	T	T	T
	257-59	GAG	GAG	GAG	GAG	GRG	GAG	GGG
	264-265	TA	TA	TA	TA	KA	TG	TG
	267-269	CTC	CTC	CTC	CTC	CYY	CTC	CCT
	273	A	A	A	A	A	A	A
	276-280	TCAAT	TCAAT	GCAAT	TCAAT	DCAAT	RCAAT	ACDAT
	283-288	CGCTTAA	CGCTTAA	CGCTTAA	CGCTTAA	CGCWTA	CRCYTAA	CGCATAA

5	295	T	T	T	T	T	T	T
	307	T	T	T	T	T	T	T
	311	T	T	T	T	T	T	T
	378-385	GGGAAACC	GGGAAACC	GGGAAACC	GGGAAACC	GGGRAACC	ACGAAAGT	ACGAAAGT
	396-398	AAC	AAC	AAC	AAC	AAC	AAC	AAC
		GAGGATGACACA	GAGGATGACACA	GAGGATGACACA	GAGGATGACACA	GAGGATGACACA	GAGGATGACACA	GAGGATGACACA
	407-419	T	T	T	T	T	T	T
	425-427	TGC	TGC	TGC	TGC	TGC	TGC	TGC
	433-435	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC	CTC
	440-449	TATATAAGAA	TATATAAGAA	TATATAGGAA	TATATAAGAA	TATATARGAA	TATATAGGAA	TATATAAGAA
10		25 n.t.	25 n.t.	25 n.t.	25 n.t.	25 n.t.	25 n.t.	25 n.t.
	452-476	delección --	delección --	delección ---	delección --	delección --	delección --	delección --
	477-479	TAA	TAA	AAA	TAA	WAA	TAA	TAA
15		GGTATTATATGA	GGTATTATATGA	GGTACTATATGA	GGTATTATATGA	GGTAYTATATGA	GGTACYATATGA	GGTATTATATGA
	484-497	AT	AT	AT	AT	AT	AT	AT
	502	A	A	G	A	R	A	A
	539	A	A	A	A	A	A	R
	543	T	T	C	T	Y	T	T
	554	C	C	C	C	C	C	C
	562	C	C	C	C	C	Y	C

5	576-582	AGCGTGT	AGCGTGT	AGCGTGT	AGCGTGT	AGCGTGT	AGCRTGT	AGCRTGT
	589-593	ATAGA	ATAGA	ATAGA	ATAGA	ATMRA	GTAWW	ATTRA
	599-603	CAGAA	CAGAA	TAGGA	CAGAA	YAGRA	YDGAA	TTGAA
	613-620	AATAGCTT	AATAGCTT	TATGGCTC	AATAGCTT	WATRGCTY	WATRGCTY	TATAGCTT
	624-627	TATT	TATT	CATA	TATT	YATW	YATW	TATA
10	635-641	TTTTGAA	TTTTGAA	TTCTAAA	TTTTGAA	TTYTRAA	TTCCAAA	TTTGAAA
		TCTATCTAGAGT	TCTATCTAGAGT	TCTATCTAGAGT	TCTATCTAGAGT	TYWATCTAGAGT	KTAACCTAGAAT	TTAACCTAGAAT
	646-658	A	A	A	A	A	R	G
	705	G	G	G	G	G	K	G
	734-738	ATCTA	ATCTA	ATCTA	ATCTA	ATCTA	ATCTA	ATCTA
	744-751	ACATAACT	ACATAACT	ACATAACT	ACATAACT	ACATAACT	ACAYWATT	ACAHTATT
	758-764	GAGACGC	GAGACGC	GAGACGC	GAGACGC	GAGACGC	GAGAYGC	GAGAYGC
	822-824	TAC	TAC	TAC	TAC	TAC	YAC	TAC
	835-840	GCTATG	GCTATG	GCCATG	GCTATG	GCYATR	GTGAGG	GTGAGR
	842-848	CGACATA	CGACATA	CGACATG	CGACATA	CGACATD	AGACCTT	YGAYCTT
15	878	A	A	A	A	A	R	A
	903	A	A	A	A	R	A	A
	948	C	C	C	C	Y	C	C
	971	G	G	G	G	G	R	A
	989	T	T	T	T	T	W	A

	998-1002	AGTAA	AGTAA	AGTAA	AGTAA	AGWAA	AGWAA	AGTAA
	1006-1011	CCATTT	CCATTT	CCATTT	CCATTT	YHMTYY	CNTWHY	YKWTYW
	1027-1028	TC	TC	TC	TC	YY	YY	TC
		4 n.t.	4 n.t.	4 n.t.	4 n.t.	4 n.t.	4 n.t.	4 n.t.
		inserción	inserción	inserción	inserción	inserción	inserción	inserción
5	1028>	TGCT	TGCT	TGCT	TGCT	WGCT	WGCT	TGCT
	1030-1034	GCAGA	GCAGA	GCAGA	GCAGA	GCWRR	GCWRR	GCAGA
	1036	A	A	G	A	R	R	A
	1038-1043	TTATAT	TTATAT	TTATAT	TTATAT	TTWYAT	TWWYAT	TTRYAT
	1116-1117	CG	CG	CG	CG	CG	CG	CG
	1119-1123	CATTA	CATTA	CGTTA	CATTA	CRTTA	SDTTA	CBTTA
10	1133-1134	AC	AC	AG	AC	AS	AG	AG
	1136	T	T	A	T	W	T	T
	1140	G	G	C	G	S	C	C
	1152-1154	ATG	ATG	ACG	ATG	AYG	AHS	ARS
	1164-1165	AC	AC	GG	AC	Rs	Rs	Rs
		1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.
15	1167	delección	delección	delección	delección	delección	delección	delección
	1168	C	C	C	C	C	Y	C
	1171-1172	GT	GT	CC	GT	SY	SY	GT

5	1189	C	C	C	C	C	C	Y
	1216	A	A	A	A	A	W	T
	1244	G	G	G	G	G	G	R
	1251-1252	AA	AA	AA	AA	AA	AA	RW
	1257	A	A	A	A	A	A	N
10	1260	G	G	A	G	R	R	R
	1263	ACAGT	ACAGT	ACAGT	ACAGT	ACRGY	ACRGT	ACGGT
	1270	TG	TG	TG	TG	YG	YG	CG
	1278	A	A	A	A	R	R	A
	1284-1286	AA--	AA--	AA--	AA--	HA--	YA--	YA[--] o (T)
15		1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.
		delección	delección	delección	delección	delección	delección	delección o sustitución
	1286	delección	delección	delección	delección	delección	delección	T
	1290-1293	ATAC	ATAC	ATAC	ATAC	ATRY	ATRY	ATRY
	1297	C	C	C	C	Y	C	C
15	1308	T	T	A	T	W	W	T
	1310	T	T	T	T	T	W	T
	1327-1329	ACA	ACA	ACT	ACA	ACR	RCY	ACA

		(algunas veces) 1 n.t.					
		Cromatografía de gases (GC)	Cromatografía de gases (GC)	Cromatografía de gases (GC)	Cromatografía de gases (GC)	inserción	Cromatografía de gases (GC)
	1343-1344	de gases (GC)	de gases (GC)	de gases (GC)	de gases (GC)	G>(G)< C	de gases (GC)
	1355-1356	AG	AG	AG	AG	AG	AG
5		1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.	1 n.t.
		inserción	inserción	inserción	inserción	inserción	inserción
	1361	>C<	>C<	>C<	>C<	>C<	>C<
	1362	A	A	A	A	W	T
	1364	T	T	T	T	Y	T
	1367	T	T	T	T	T	T
10							1 n.t.
							inserción
	1370						(A)
	1396	T	T	T	T	W	T
	1419	G	G	G	G	G	G
	1421-1426	TGATTT	TGATTT	TGATTT	TGATTT	TGAWTT	TGAAYT
15	1428-1332	ACTCG	ACTCG	ACTCG	ACTCG	ACYCG	ATTCTG
	1436-1440	CGGGG	CGGGG	CGGGG	CGGGG	CRGGG	CGGGG
	1444	C	C	C	C	Y	C

5

1448-1449	GA	GA	GA	GA	RR	AR	AR
	6 n.t.	6 n.t.	6 n.t.	6 n.t.	6 n.t.	6 n.t.	6 n.t.
1451-1456	delección --	delección --	delección --	delección --	delección --	delección --	delección --
1458	G	G	G	G	R	G	G
1464	C	C	C	C	Y	Y	T
1468	A	A	A	A	H	A	A
1475	A	A	A	A	W	W	T
1477	T	T	T	T	Y	Y	Y
1503	A	A	A	A	R	R	A
R= A/G; K=G/T; S=C/G; Y=C/T; M=A/C; W=A/T; D =A/G/T/ no C; H=A/C/T/ no G; B=C/G/T no A; V = A/C/G no T							
* n.t. es nucleótido							

10

Ejemplo 3

Realizar procedimiento Riboprinter para determinar las diferencias de las cepas

Las cepas de *Arcobacter sp.* aisladas en el Ejemplo 1:
5 97AE3-12, 97AE3-1, 97AE 3-3, 97AE 3-7, 97AE 4-6, 97AE 4-5 y
97AE4-1 fueron sometidas a un análisis automatizado
Riboprinter®, según lo descrito en los Métodos generales, para
determinar si dichas cepas aisladas eran únicas con respecto a
las demás. En el análisis se incluyó, como cepa de referencia,
10 el *Arcobacter halophilus* (ATCC cepa BAA-1022), que tiene un
ADNr 16S con 96,4 % de identidad de secuencia de la cepa
97AE3-12. Si bien todas estas cepas tienen una significativa
identidad de secuencia entre sí en el ADNr 16S, se obtuvieron
varios patrones únicos RiboPrint™ de ADNr. Como se muestra en
15 la Figura 4, los patrones de fragmentos de restricción *EcoRI*
que hibridizaron a sondas de ADNr 16S y 23S fueron diferentes
para las cepas representativas de *Arcobacter sp.* 97AE3-12
(ATCC núm. PTA-11409), 97AE3-3 (ATCC núm. PTA-11410) y 97AE3-
1. Este análisis demostró que las secuencias genómicas
20 alrededor de los genes de ARNr 16S y 23 en estas cepas son
diferentes entre sí y también son diferentes de la cepa
comparativa sometida a prueba *Arcobacter halophilus*.

Ejemplo 4

Investigación de aislado bacteriano 97AE3-12 para determinar crecimiento en presencia de petróleo bajo condiciones de sal bajas y altas

Cultivos de la cepa 97AE3-12 se hicieron crecer
5 anaeróbicamente en presencia de petróleo mediante el uso de un medio de sales mínimas de sal baja y una formulación de saladar sintético de sal alta. El saladar sintético de sal alta usado tenía una salinidad de 64 ppt, lo cual es aproximadamente dos veces la salinidad del agua de mar: El
10 saladar sintético de sal alta estaba compuesto de lo siguiente: NaCl, 55,0 g/l, NH₄Cl, 0,1 g/l, KH₂PO₄, 0,05 g/l, Na₂SO₄, 0,1 g/l, solución de selenita-tungstato [NaOH, 0,5 g/l, Na₂SeO₃.5H₂O, 6,0 mg/l, Na₂WO₄.2H₂O, 8,0 mg/l], 1 ml/l, NaHCO₃, 0,2 g/l, solución de vitamina [vitamina B12, 100 mg/l,
15 ácido p-aminobenzóico, 80 mg/l, D(+)-biotina, 20 mg/l, ácido nicotínico, 200 mg/l, pantotenato cálcico, 100 mg/l, hidrocloreuro de piridoxina, 300 mg/l, tiamina-HCl.2 H₂O, 200 mg/l, ácido alfa-lipóico, 50 mg/l], 1 ml/l, solución de metales traza SL-10[25 % HCl, 10 ml/l, FeCl₂.4 H₂O, 1,50 g/l,
20 ZnCl₂, 70 mg/l, MnCl₂.4 H₂O, 100 mg/l, H₃BO₃, 6 mg/l, CoCl₂.6 H₂O, 190 mg/l, CuCl₂.2 H₂O, 2 mg/l, NiCl₂.6 H₂O, 24 mg/l, Na₂MoO₄.2 H₂O, 36 mg/l], 1 ml/l, CaCl₂.2 H₂O, 8.8 g/l, NaNO₃, 2,0 g/l, KCl, 0,86 g/l, MgCl₂.6 H₂O, 6,4 g/l, y suplementado con NaNO₃, 2,0 g/l, pH 6,7 y 64 ppt de salinidad.

El medio de sal baja estaba compuesto de NaCl, 10 g/l, NH₄Cl, 1,0 g/l, KH₂PO₄, 0,5 g/l, KSO₄, 0,1 g/l, solución de selenita-tungstaton [NaOH, 0,5 g/l, Na₂SeO₃.5 H₂O, 6,0 mg/l, Na₂WO₄.2H₂O, 8,0 mg/l], 1 ml/l, NaHCO₃, 2,5 g/l, solución de
 5 vitamina [vitamina B12, 100 mg/l, ácido p-aminobenzóico, 80 mg/l, D(+)-biotina, 20 mg/l, ácido nicotínico, 200 mg/l, pantotenato cálcico, 100 mg/l, hidrocloreuro de piridoxina, 300 mg/l, tiamina-HCl.2 H₂O, 200 mg/l, ácido alfa-lipóico, 50 mg/l], 1 ml/l, solución de metales traza SL-10 [25 % HCl,
 10 10 ml/l, FeCl₂.4 H₂O, 1,50 g/l, ZnCl₂, 70 mg/l, MnCl₂.4 H₂O, 100 mg/l, H₃BO₃, 6 mg/l, CoCl₂.6 H₂O, 190 mg/l, CuCl₂.2 H₂O, 2 mg/l, NiCl₂.6 H₂O, 24 mg/l, Na₂MoO₄.2 H₂O, 36 mg/l], 1 ml/l, CaCl₂.2 H₂O, 0,1 g/l, MgCl₂.6 H₂O, 0,2 g/l, extracto de levadura, 0,5 g/l, y NaNO₃, 2,0 g/l, pH 6,9 y 15 ppt de
 15 salinidad.

Ambos medios de baja y sal alta se sometieron a pruebas para determinar su capacidad de soportar el crecimiento de *Arcobacter* sp. La cepa 97AE3-12 con y sin lactato sódico se agregó como fuente de carbono a aproximadamente 1 g/l (jarabe
 20 60 % de lactato sódico, 1,3 ml/l). Se agregó 2 g/l de nitrato sódico en medios como aceptor de electrones para todas las muestras de prueba. Los medios se desgasificaron y se agregaron 12 ml a viales de suero de 20 ml. A cada vial se agregó 6,0 ml de aceite de petróleo desgasificado y sometido a autoclave del
 25 Pozo núm. 2 en el campo Wainwright en la provincia de Alberta,

Canadá. Este petróleo era la única fuente de carbono en las muestras que no tenían lactato. 0,45 ml de 97AE3-12 cultivada en un medio indefinido (Sales de mar (Sigma S9883), 60,0 g/l, peptona 5,0 g/l, extracto de levadura 5,0 g/l casaminoácidos 5,0 g/l, NaFeEDTA 133 mg/l, con pH ajustado entre 6,4-6,6 y esterilizados con filtro) se agregaron como inóculo a los cultivos de prueba anaeróbica en aproximadamente 5×10^7 células de inóculo por ml de medio. Los cultivos de prueba que contenían el inóculo 97AE3-12 se prepararon en duplicado. Un solo control no inoculado (NIC) por medio de prueba se preparó como control abiótico. La reducción de nitrato se analizó como medición del crecimiento celular en cada medio mediante IC según lo descrito en los Métodos generales. La cepa 97AE3-12 redujo 100 % del nitrato proporcionado a nitrito en un lapso de 6 días de incubación a 25 °C en medio de sal baja suplementado con lactato, y redujo 50-77 % del nitrato a nitrógeno en el medio de sal alta suplementado con lactato. Los resultados de la Tabla 7 muestran que la cepa 97AE3-12 de *Arcobacter sp.* fue capaz de crecer por medio del uso del lactato como fuente de carbono en presencia de petróleo del Pozo Wainwright, en medios tanto de sal baja como de sal alta.

Tabla 7. Reducción de nitrato en cultivos de 97AE3-12 en presencia de petróleo, en medios de sal baja o sal alta

	Día:	% de reducción de nitrato				
		1	2	6	17	29
5	Prueba 1: sal baja más lactato	32,7 %	75,0 %	100,0 %	100,0 %	98,1 %
	NIC sal baja - más lactato	23,6 %	-4,2 %	-3,9 %	0,0 %	-1,6 %
10	Prueba 2: sal baja sin lactato	12,1 %	6,3 %	11,5 %	0,0 %	22,9 %
	NIC-sal baja sin lactato	14,0 %	-2,2 %	-1,4 %	0,0 %	9,6 %
15	Prueba 3: sal alta más lactato	11,2 %	32,4 %	77,0 %	50,3 %	62,2 %
	NIC-sal alta más lactato	11,6 %	-1,7 %	-0,8 %	0,0 %	13,9 %
	Prueba 4: sal alta sin lactato	11,7 %	6,1 %	-15,6 %	0,0 %	27,8 %
	NIC-sal alta sin lactato	16,4 %	10,8 %	-21,8 %	0,0 %	30,9 %

20

Ejemplo 5

Investigación de aislados bacterianos para determinar su capacidad de formar biopelículas y obturar el flujo

25 Las cepas 97AE 3-12, 97AE3-1, 97AE 3-3, 97AE 4-6, 97AE 4-5, 97AE 3-7 y 97AE4-1 de *Arcobacter*, que se aislaron de un

depósito de petróleo canadiense según lo descrito en el Ejemplo 1, se sometieron a pruebas para determinar su capacidad de formar biopelículas para inhibir el flujo en filtros de vidrio fritado de porosidad media (diámetro medio del poro = 10 micrones) según se describe en los Métodos generales. El medio de sal alta usado para las pruebas tenía la siguiente composición: NaCl, 54 g/l, NH₄Cl, 0,1 g/l, KH₂PO₄, 0,05 g/l, Na₂SO₄, 0,1 g/l, solución de selenita-tungstato [NaOH, 0,5 g/l, Na₂SeO₃.5 H₂O, 6,0 mg/l, Na₂WO₄.2 H₂O, 8,0 mg/l], 1 ml/l, NaHCO₃, 0,2 g/l, solución de vitamina [vitamina B12, 100 mg/l, ácido p-aminobenzoico, 80 mg/l, D(+)-biotina, 20 mg/l, ácido nicotínico, 200 mg/l, pantotenato cálcico, 100 mg/l, hidrocloreuro de piridoxina, 300 mg/l, tiamina-HCl.2 H₂O, 200 mg/l, ácido alfa-lipóico, 50 mg/l], 1 ml/l, solución de metales traza SL-10 [25 % HCl, 10 ml/l, FeCl₂.4 H₂O, 1,50 g/l, ZnCl₂, 70 mg/l, MnCl₂.4 H₂O, 100 mg/l, H₃BO₃, 6 mg/l, CoCl₂.6 H₂O, 190 mg/l, CuCl₂.2 H₂O, 2 mg/l, NiCl₂.6 H₂O, 24 mg/l, Na₂MoO₄.2 H₂O, 36 mg/l], 1 ml/l, CaCl₂.2 H₂O, 8,8 g/l, KCl, 0,86 g/l, MgCl₂.6 H₂O, 6,4 g/l, fumarato disódico, 3275 g/l, lactato sódico, 1 g/l. Este medio tiene una salinidad de 75 ppt.

Cada cepa de *Arcobacter* se inoculó en medio de la composición antes indicada y se incubó aeróbicamente durante 48 h. Para iniciar la ejecución de la prueba, se agregó 1 ml de un cultivo de 48 h a 25 ml del mismo medio en triplicado.

Las estructuras de filtro en triplicado que contenían los medios inoculados se sellaron individualmente en vasos de incubación de 125 ml bajo condiciones anaeróbicas y se colocaron en una incubadora/agitadora a 28 °C a 100 rpm por 5 2 semanas. Adicionalmente, se ejecutaron controles no inoculados en triplicado con la misma formulación de medio, pero sin el inóculo de cepa en paralelo con las muestras de prueba inoculadas.

Después de dos semanas, las velocidades de flujo se 10 verificaron al pasar 1 ml de agua desionizada, impulsada por gravedad, a través de los filtros. El tiempo para el paso del agua se midió tres veces sucesivamente para cada uno de los filtros control y de prueba. Las velocidades de flujo se calcularon y los valores posincubación se compararon con los 15 valores pre-incubación para cada filtro. Los resultados en la Tabla 8 muestran que todas las cepas sometidas a pruebas causaron una disminución significativa en la velocidad de flujo en comparación con los controles, que tenían un promedio de 27 % de aumento en la velocidad de flujo. El 20 aumento de la velocidad de flujo fue resultado de una mejor saturación de agua de los poros de fritas después de dos semanas de incubación en sumersión. Estos resultados demuestran la capacidad de las cepas aisladas de *Arcobacter* para formar biopelículas y obturar poros en la arena.

Tabla 8. Cambios en la velocidad de flujo a través de filtros de vidrio de porosidad media después de dos semanas de incubación con aislados de *Arcobacter*

		Flujo, ml/sec						
5		Preincubación	Postincubación			Media	% cambio en la	Cambio medio % en
		Valor	Valores*				velocidad de	velocidad de flujo
							flujo ¹	
		Tratamiento	núm. 1	núm. 2	núm. 3			
10	Control 1	0,077	0,091	0,100	0,100	0,097	+26	+27
	Control 2	0,083	0,100	0,100	0,100	0,100	+21	
	Control 3	0,083	0,111	0,111	0,111	0,111	+34	
	97AE 3-12	0,067	0,029	0,029	0,031	0,029	-57	-56
	Duplicado	0,063	0,026	0,029	0,029	0,028	-56	
15	Duplicado	0,063	0,028	0,029	0,031	0,029	-54	
	97AE 3-3	0,111	0,083	0,083	0,083	0,083	-25	-48
	Duplicado	0,111	0,040	0,043	0,045	0,043	-61	
	Duplicado	0,143	0,056	0,059	0,059	0,058	-59	
	97AE 4-6	0,143	0,071	0,077	0,071	0,073	-49	-52

5	Duplicado	0,071	0,031	0,033	0,036	0,033	-54	
	Duplicado	0,053	0,024	0,026	0,027	0,025	-53	
	97AE 4-5	0,100	0,037	0,042	0,042	0,040	-60	-61
	Duplicado	0,125	0,042	0,045	0,048	0,045	-64	
	Duplicado	0,063	0,025	0,027	0,026	0,026	-59	
10	97AE 3-7	0,067	0,027	0,029	0,031	0,029	-57	-57
	Duplicado	0,091	0,033	0,038	0,038	0,037	-59	
	Duplicado	0,050	0,022	0,022	0,023	0,022	-56	
	97AE 4-1	0,091	0,059	0,059	0,067	0,061	-33	-50
	Duplicado	0,111	0,037	0,038	0,040	0,038	-66	
	Duplicado							

* 3 mediciones/réplicas sucesivas.

¹ Calculado como $((\text{medio posincubación, ml/s/preincubación, ml/s}) - 1) \times 100$

Ejemplo 6Ensayo de biopelícula de cepa 97AE3-12 de arcobacter en medio con baja y elevada sal con lactato como fuente de carbono

La cepa 97AE3-12 se sometió a ensayo para determinar la
 5 capacidad de formar biopelículas sobre filtros de vidrio
 fritado según se describe en los Métodos generales mediante el
 uso de tres medios diferentes con salinidad que varía entre
 15 ppt y 68 ppt. La salinidad de cada medio se midió con
 refractómetro. La cepa 97AE3-12 se hizo crecer anaeróbicamente
 10 en medio de crecimiento de las siguientes composiciones:

Medio 1: medio de sales mínimas; NaCl, 10 g/l, NH₄Cl,
 1,0 g/l, KH₂PO₄, 0,5 g/l, KSO₄, 0,1 g/l, solución de
 selenita-tungstato [NaOH, 0,5 g/l, Na₂SeO₃.5 H₂O, 6,0 mg/l,
 Na₂WO₄.2H₂O, 8,0 mg/l], 1 ml/l, NaHCO₃, 2,5 g/l, solución de
 15 vitamina [vitamina B12, 100 mg/l, ácido p-aminobenzóico,
 80 mg/l, D(+)-biotina, 20 mg/l, ácido nicotínico, 200 mg/l,
 pantotenato cálcico, 100 mg/l, hidrocloreuro de piridoxina,
 300 mg/l, tiamina-HCl.2 H₂O, 200 mg/l, ácido alfa-lipóico,
 50 mg/l], 1 ml/l, solución de metales traza SL-10 [25 % HCl,
 20 10 ml/l, FeCl₂.4 H₂O, 1,50 g/l, ZnCl₂, 70 mg/l, MnCl₂.4 H₂O,
 100 mg/l, H₃BO₃, 6 mg/l, CoCl₂.6 H₂O, 190 mg/l, CuCl₂.2 H₂O,
 2 mg/l, NiCl₂.6 H₂O, 24 mg/l, Na₂MoO₄.2 H₂O, 36 mg/l], 1 ml/l,
 CaCl₂.2H₂O, 0,1 g/l, MgCl₂.6H₂O, 0,2 g/l, extracto de
 levadura, 0,025 g/l, NaNO₃, 2,0 g/l, jarabe 60 % lactato

sódico, 1,3 ml/l, solución de azul de bromotimol 0,4 %, 3 ml. La salinidad de este medio es 15 ppt.

El Medio 2 es igual al Medio 1 en composición pero con NaCl incrementado a 30 g/l. La salinidad de este medio es 5 35 ppt.

El Medio 3 es un medio de sales altas que incluye mayores niveles de NaCl y los cationes Ca^{++} y Mg^{++} : NaCl, 51,5 g/l, NH_4Cl , 0,1 g/l, KH_2PO_4 , 0,05 g/l, Na_2SO_4 , 0,1 g/l, solución de selenita-tungstato [NaOH , 0,5 g/l, $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, 6,0 mg/l, 10 $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 8,0 mg/l], 1 ml/l, NaHCO_3 , 0,2 g/l, solución de vitamina [vitamina B12, 100 mg/l, ácido p-aminobenzóico, 80 mg/l, D(+)-biotina, 20 mg/l, ácido nicotínico, 200 mg/l, Pantotenato cálcico, 100 mg/l, hidrocloreuro de piridoxina, 300 mg/l, tiamina- $\text{HCl} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 200 mg/l, ácido alfa-lipóico, 15 50 mg/l], 1 ml/l, solución de metales traza SL-10 [25 % HCl , 10 ml/l, $\text{FeCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, 1,50 g/l, ZnCl_2 , 70 mg/l, $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, 100 mg/l, H_3BO_3 , 6 mg/l, $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 190 mg/l, $\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 2 mg/l, $\text{NiCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 24 mg/l, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 36 mg/l], 1 ml/l, $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, 8,8 g/l, extracto de levadura, 0,025 g/l, NaNO_3 , 20 2,0 g/l, jarabe 60 % lactato sódico, 1,3 ml/l, KCl , 0,86 g/l, $\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, 6,4 g/l, solución de azul de bromotimol, 0,4 %, 1 ml. La salinidad de este medio es 68 ppt.

El experimento y las pruebas de velocidad de flujo después de 2 semanas de incubación se realizaron según se describe en 25 los Métodos generales. Medio inoculado con *Arcobacter* sp. La

cepa 97AE3-12 se preparó en triplicado; los controles no inoculados se prepararon en duplicado. Mientras la velocidad de flujo aumentó en los controles como en el Ejemplo 5, la cepa 97AE3-12 causó una significativa disminución en la velocidad de flujo (Tabla 9). Las velocidades de flujo en los tratamientos control aumentó en un promedio de 54, 35 y 46 % para los Medios 1, 2 y 3, respectivamente. Los tratamientos de prueba que contienen el inóculo 97AE3-12 mostraron una disminución media de 80, 80 y 46 % en la velocidad de flujo para los medios 1, 2 y 3, respectivamente, que tenían salinidades de 15, 35 y 68 ppt, respectivamente.

Tabla 9. Cambios en la velocidad de flujo a través de filtros de vidrio de porosidad media después de dos semanas de incubación.

		Preincubación	Postincubación				
		Velocidad media de flujo, ml/s	velocidad de flujo, ml/s	velocidad de flujo, ml/s	Velocidad media de flujo, ml/s	% cambio en la velocidad de flujo ¹	% cambio en la velocidad media de flujo
			1	2	3		
5	Prueba 1						
	15 ppt	0,111	0,017	0,018	0,017	0,017	-84
10	Prueba 2						
	15 ppt	0,100	0,020	0,020	0,020	0,020	-80
15	Prueba 3						
	15 ppt	0,091	0,022	0,022	0,022	0,022	-76
	Control 1	0,143	0,200	0,200	0,167	0,189	32
	15 ppt						54

5	Control 2 15 ppt	0,143	0,250	0,250	0,250	0,250	75	
	Prueba 1 35 ppt	0,143	0,030	0,031	0,031	0,031	-78	-80
	Prueba 2 35 ppt	0,143	0,027	0,024	0,024	0,025	-82	
	Prueba 3 35 ppt	0,125	0,026	0,027	0,028	0,027	-78	
10	Control 1 35 ppt	0,100	0,125	0,111	0,125	0,120	20	35
	Control 2 35 ppt	0,111	0,167	0,167	0,167	0,167	50	
15	Prueba 1 68 ppt	0,091	0,067	0,071	0,077	0,072	-21	-46

5

Prueba 1							
68 ppt	0,125	0,056	0,056	0,059	0,057	-55	
Prueba 1							
68 ppt	0,111	0,043	0,043	0,038	0,042	-62	
Control 1	0,111	0,200	0,200	0,200	0,200	80	46
68 ppt							
Control 2	0,111	0,125	0,125	0,125	0,125	13	
68 ppt							

* 3 mediciones sucesivas

10 1 Calculado como $((\text{media posincubación, ml/s} / \text{preincubación, ml/s}) - 1) \times 100$

Ejemplo 7Conglomeración de partículas de sílice

La cepa 97AE3-12 de *Arcobacter* se sometió a pruebas para determinar su capacidad de agregar granos de sílice cristalino según lo descrito en los Métodos generales. El medio usado para las pruebas tenía la siguiente composición: NaCl, 54 g/l, NH₄Cl, 0,1 g/l, KH₂PO₄, 0,05 g/l, Na₂SO₄, 0,1 g/l, solución de selenita-tungstato [NaOH, 0,5 g/l, Na₂SeO₃.5 H₂O, 6,0 mg/l, Na₂WO₄.2 H₂O, 8,0 mg/l], 0,5 ml/l, NaHCO₃, 0,1 g/l, solución de vitaminas [vitamina B12, 100 mg/l, ácido p-aminobenzóico, 80 mg/l, D(+)-biotina, 20,00 mg/l, ácido nicotínico, 200 mg/l, pantotenato cálcico, 100 mg/l, hidrocloreuro de piridoxina, 300 mg/l, tiamina-HCl.2 H₂O, 200 mg/l, ácido alfa-lipóico, 50 mg/l], 1,0 ml/l, solución de metales traza SL-10 [25 % HCl, 10 ml/l, FeCl₂.4 H₂O, 1,50 g/l, ZnCl₂, 70 mg/l, MnCl₂.4 H₂O, 100 mg/l, H₃BO₃, 6 mg/l, CoCl₂.6 H₂O, 190 mg/l, CuCl₂.2 H₂O, 2 mg/l, NiCl₂.6 H₂O, 24 mg/l, Na₂MoO₄.2 H₂O, 36 mg/l], 1,0 ml/l, CaCl₂.2H₂O, 4,4 g/l, 0,25 g extracto de levadura, 0,5 g peptona de caseína, KCl, 0,86 g/l, MgCl₂.6 H₂O, 6,4 g/l y citrato de sodio, 1 g/l. El medio separado tenía como aceptor de electrones NaNO₃, 2 g/l o Fumarato de Na 3,7 g/ml. La salinidad es 64 ppt.

Muestras duplicadas de cada medio se inocularon con 200 µl de un cultivo aeróbico de la cepa 97AE3-12. Los tubos control duplicados no se inocularon. Los tubos se incubaron

de forma estática durante 7 días a 30 °C. Después de siete días, el medio OD600 de los tubos duplicados e inoculados, y de los tubos control duplicados no inoculados, fue aproximadamente 0,04. Cuando los tubos de tratamiento se
5 mezclaron vigorosamente durante 10 segundos con agitador vórtex, la turbidez aumentó dramáticamente debido la re-suspensión del sílice cristalino, que se había asentado en los fondos de los tubos. La disminución de la turbidez debido al asentamiento del sílice cristalino se monitoreó en el
10 tiempo después de mezclar al medir el OD600. Los resultados de la Tabla 10 mostraron que la turbidez disminuyó mucho más rápidamente en los tratamientos no inoculados que en los controles según lo indica la reducción de porcentaje en el OD600 para el cultivo no inoculado en comparación con el
15 control a 1 min y a los 10 min después de mezclar.

Esto fue causado porque las partículas de sílice formaron grandes pedazos, de hasta 100 micrones de diámetro según lo determinado mediante examen microscópico, en los tratamientos inoculados, los cuales se asentaron rápidamente en comparación
20 con las partículas de 2-20 μ dispersas y no conglomeradas en los tubos control no inoculados. El comportamiento contrastante de las partículas de sílice mostró que la cepa 97AE3-12 formó una fuerte interacción adhesiva con las partículas de sílice cristalino adyacentes, lo que originó el
25 amontonamiento de las partículas. La conglomeración ocurrió en

los cultivos de la cepa 97AE3-12 tanto en los medios de nitrato como de fumarato, aunque ocurrió más conglomeración con el nitrato como aceptor de electrones.

5 Tabla 10. Asentamiento de partículas de sílice debido a conglomeración de partículas inducida con microbios.

10	Donante y aceptor de electrones	Densidad óptica (OD), 600 nm	Densidad óptica (OD), 600 nm, antes de mezclar	Densidad óptica (OD), 600 nm, 1 minuto después de mezclar	Densidad óptica (OD), 600 nm, 10 minutos después de mezclar
15		Tratamiento			
20	1000 ppm Citrato	Control no inoculado, núm. 1	-0,0013	0,4597	0,4430
		Control no inoculado, núm. 2	0,0013	0,4794	0,4699
	2000 ppm NaNO ₃	Media	0	0,4696	0,4565
		Prueba inoculada núm. 1	0,0852	0,1738	0,1527
25		Prueba inoculada núm. 2	0,0826	0,1393	0,112

		Media	0,0839	0,1566	0,1324
		<u>% reducción de OD</u>	No aplicable	66,7 %	71,0 %
5	1000 ppm Citrato 3500 ppm Fumarato de Na	Control no inoculado, núm. 1	0,011	0,444	0,339
		Control no inoculado, núm. 2	0,011	0,486	0,360
		Media	0,011	0,465	0,350
10		Prueba inoculada núm. 1	0,018	0,265	0,217
		Prueba inoculada núm. 2	0,025	0,272	0,213
		Media	0,021	0,268	0,215
15		<u>% reducción de OD</u>	No aplicable	42,3 %	38,6 %

Ejemplo 8

Mediciones de disminución de presión de tubo delgado control

20 El ajuste del tubo delgado descrito en los Métodos
generales se usó para medir cambios de presión de una muestra
control de arena durante el tiempo. El Saladar núm. 1 que había
sido esterilizado con filtro se suministró de forma continua
por 8 días al tubo delgado 9a al mismo tiempo que se medía la
25 disminución de presión en todo en tubo delgado (día 4 hasta día

12 en la Figura 7). La disminución de presión permaneció en aproximadamente 0,0207 mega Pascales (3 psi). Esto ilustra la estabilidad de la arena colocada en el tubo delgado al ser inundada con el saladar de la inyección filtrada, puesto que en el experimento no se observó cambio en la disminución de presión en el tubo delgado. Esto contrasta con los tubos delgados tratados descritos abajo en los Ejemplos 9 y 10 que mostraron marcados cambios en la disminución de presión como resultado del tratamiento microbiano.

10

Ejemplo 9

Inoculado, mediciones de disminución de presión de tubo delgado alimentado por lotes

El tubo delgado 9a del Ejemplo 8 se preinoculó con 60 ml de agua fresca de inyección (Saladar núm. 1 que no se esterilizó con filtro) a una velocidad de 15 ml/hora durante 4 horas. Después de esta preinoculación, se colectó una muestra de efluente del tubo delgado 9a y se midieron los conteos celulares, los cuales se muestran en la Tabla 11 (Conteo celular 1: 9a).

Un día después de la preinoculación con agua fresca de inyección no filtrada (Saladar núm. 1), el tubo delgado se inoculó con la cepa 97AE3-12 (ATCC núm. PTA-11409). Una dilución 1:1 de un cultivo en crecimiento de la cepa 97AE3-12 con agua fresca de inyección no filtrada se cultivó en

Saladar núm. 5 y se incubó a temperatura ambiente durante 48 horas con agitación y, después, se diluyó 1:30 en Saladar núm. 5 para inocular el tubo delgado 9a. Los conteos celulares de este inóculo se determinaron y se muestran en la Tabla 11 (Conteo celular 2: 9a). Un volumen de 50 ml de este inóculo se bombeó hacia el tubo delgado a una velocidad de aproximadamente 0,25 ml/min. El proceso de inoculación del tubo delgado tomó aproximadamente 4 h para ser completado. Después de la inoculación, el tubo delgado se conservó cerrado durante 6 días. Después del período de 6 días de permanencia cerrada se tomó una muestra de efluente y se midieron los conteos celulares, los cuales se muestran en la Tabla 11 (Conteo celular 3: 9a).

A partir del día 20, después de finalizar el período de envejecimiento, se suministró Saladar núm. 2 al tubo delgado 9a a un ritmo de 4 a 8 horas a una velocidad de 3,6 ml/hora dos veces a la semana (una vez cada 3 o 4 días) durante aproximadamente 25 días (finalizó el día 45, Figura 8). La disminución de presión se midió a lo largo del tubo delgado 9a durante todo el régimen de alimentación a intervalos. Los días 20 y 24 se proporcionaron suministros cada cuatro horas. Los días 27, 32, 34, 41 y 44 se proporcionaron suministros cada ocho horas. Entre cada uno de estos suministros de nutrientes se proporcionó Saladar núm. 1 a una velocidad de 3,6 ml/h. La disminución de presión inicialmente fue aproximadamente

0,0207 mega Pascales (3 psi). Diez días después de iniciar la alimentación a intervalos en el tubo delgado 9a, hubo un notable aumento de la disminución de presión que se hizo más pronunciado con el tiempo (Figura 8). Al final del experimento, el día 45, la disminución de presión era casi el triple que el control (Ejemplo 8). En ese momento se tomó una muestra de efluente y se midieron los conteos celulares, los cuales se muestran en la Tabla 11 (Conteo celular 4: 9a). Este considerable aumento de la presión demuestra el potencial que tiene el *Arcobacter* sp. 97AE3-12 (ATCC núm. PTA-11409) para modificar de forma efectiva la permeabilidad de roca porosa cuando se alimenta en lotes con nutrientes.

Ejemplo 10

15 Mediciones de disminución de presión de tubo delgado de arena de núcleo alimentado de forma continua

El tubo delgado 9b (Métodos generales) se pre-inoculó con agua fresca de inyección proveniente del sitio del pozo a ser sometido a pruebas (Saladar núm. 1 no filtrado), se tomaron muestras para los conteos celulares en el efluente del tubo delgado (Tabla 11, Conteo celular 1: 9b), y se inoculó con la cepa 97AE3-12 como en el Ejemplo 9, excepto que la cepa de *Arcobacter* sp. 97AE3-12 no se diluyó 1:1 con inyección no filtrada de Saladar núm. 1. El conteo celular se midió en este inóculo y se muestra en la Tabla 11 (Conteo celular 2: 9b).

Después de la inoculación con la cepa de *Arcobacter* sp. 97AE3-12 el tubo delgado 9b se añejó durante 6 días según se describió más arriba. Después de la inoculación se tomó una muestra de efluente y se midieron los conteos celulares, los cuales se muestran en la Tabla 11 (Conteo celular 3: 9b). Al tubo delgado 9b se le proporcionó la alimentación nutriente de Saladar núm. 2 de forma continua a una velocidad de 3,6 ml/hora por el tiempo de duración del experimento mientras se medía la disminución de presión en el mismo (Figura 9). Inicialmente, la disminución de presión fue de aproximadamente 0,0137 mega Pascales (2 psi) como se muestra en la Figura 9 (ver el día 20). Para el día 32, la disminución de presión observada para el tubo delgado 9b había aumentado aproximadamente en un factor de 2 a 3 comparado con la disminución de presión inicial el día 20. El día 32,8 se detuvo el suministro de Saladar núm. 2 debido a una falla de la bomba. Para volver a encender la bomba, esta tuvo que ser imprimada a una alta velocidad de flujo. Dicha operación de imprimado de la bomba al parecer redujo la disminución de presión tal y como se observó después del día 32,8 en la Figura 9. Sin embargo, después del día 33, se suministró nuevamente Saladar de alimentación nutriente núm. 3 a una velocidad de 3,6 ml/hora y la presión subió de nuevo de forma que fue aproximadamente un factor de 2 más alto al final del experimento el día 45 en comparación con la disminución inicial de presión el día 20. En ese momento se tomó una

muestra de efluente y se midieron los conteos celulares, los cuales se muestran en la Tabla 11 (Conteo celular 4: 9b). Este significativo aumento de presión demuestra el potencial que tiene el *Arcobacter* sp. 97AE3-12 (ATCC núm. PTA-11409) para
 5 modificar de forma efectiva la permeabilidad de roca porosa cuando es alimentado continuamente con nutrientes.

Tabla 11. Conteos celulares en diferentes muestras de experimento en tubo delgado

10	Análisis	Tubo delgado 9a	Tubo delgado 9b
	Conteo celular 1: efluente del tubo delgado después de la preinoculación con saladar	$2,3 \times 10^4$ CFU/ml	$2,3 \times 10^5$ CFU/ml
15	Conteo celular 2 del inóculo de <i>Arcobacter</i>	$1,1 \times 10^6$ CFU/ml	$1,7 \times 10^5$ CFU/ml
20	Conteo celular 3 en efluente del tubo delgado después de un envejecimiento de 6 días con inóculo de <i>Arcobacter</i>	$5,2 \times 10^6$ CFU/ml	$7,6 \times 10^5$ CFU/ml
	Conteo celular 4: MPNs en efluente	$1,2 \times 10^7$ CFU/ml	$3,1 \times 10^5$ CFU/ml

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.

REIVINDICACIONES (DIVISIONAL)

1. Una composición para mejorar la recuperación de
5 petróleo; la composición comprende:

a) una cepa aislada de Arcobacter clado 1 que
comprende una secuencia parcial de ADNr 16S seleccionada del
grupo que consiste en la sec. con núms. de ident.; 1, 33, 34,
35, 36, 37 y 38;

10 b) aceptores de electrones; en donde el aceptor de
electrones es una sal iónica de fumarato, o una sal iónica
de nitrato o combinaciones de los mismos, o una sal iónica
de ión férrico; y

c) una fuente de carbono.

15 2. La composición de la reivindicación 1, en donde
la cepa de Arcobacter se selecciona del grupo que consiste
en 97AE3-3 (ATCC núm. PTA-11410) y 97AE3-12 (ATCC núm. PTA-
11409).

3. La composición de la reivindicación 1, en donde
20 la una fuente de carbono se selecciona del grupo que
consiste en lactato, acetato, formato y succinato.

4. La composición de la reivindicación 1, que
comprende, además, microorganismos adicionales.

5. La composición de la reivindicación 4, en donde los microorganismos adicionales crecen en presencia de petróleo bajo condiciones desnitrificantes.

6. La composición de la reivindicación 5, en donde
5 los microorganismos adicionales comprenden una especie *Shewanella* o *Thauera* sp. AL9:8 (ATCC núm. PTA-949).

RESUMEN DE LA INVENCION

Se proporcionan métodos, microorganismos y composiciones, en donde depósitos de petróleo se inoculan con microorganismos que pertenecen a *Arcobacter* de clado 1 y un medio que incluye un aceptor de electrones. Las cepas de *Arcobacter* crecen en el
5 depósito de petróleo para formar biopelículas obturadoras que reducen la permeabilidad en áreas de formaciones subterráneas y, por lo tanto, aumentan la eficiencia de barrido y mejoran la recuperación de petróleo.

Figura 1

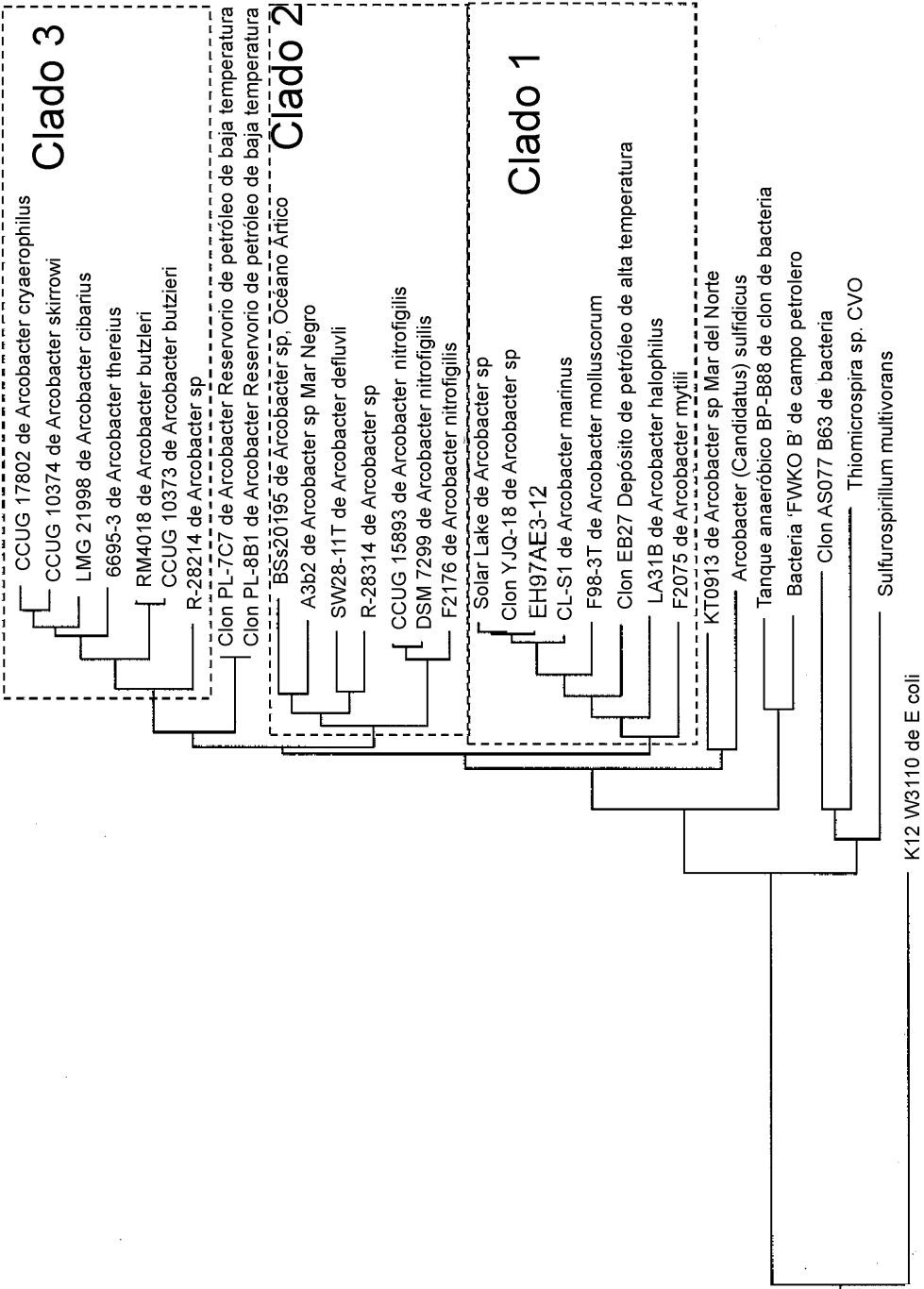


Figura 2

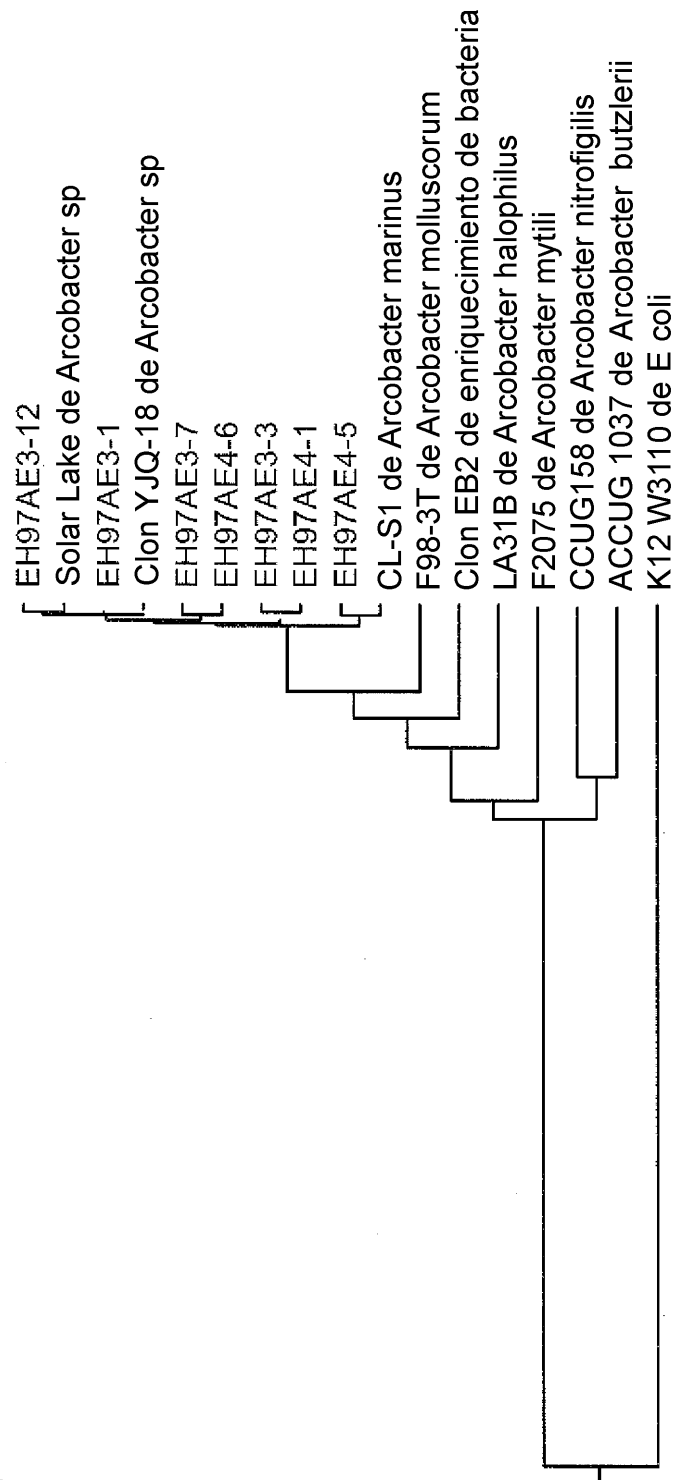
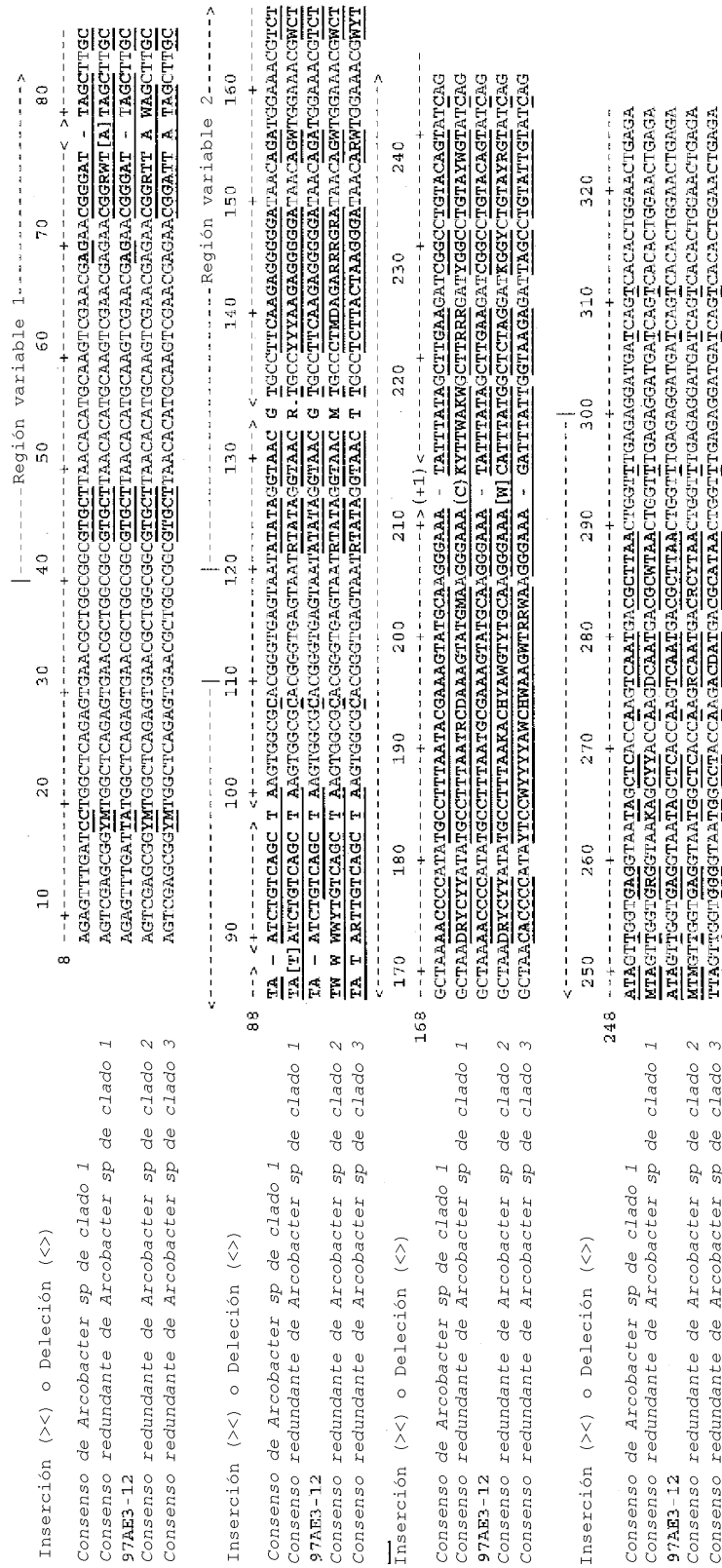


Figura 3A



Consenso de *Arcobacter* sp de clado 1
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 1
 97AE3-12
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 2
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 3

[illegible]

Consenso de *Arcobacter* sp de clado 1
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 1
 57AE-12
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 2
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 3

[illegible]

Consenso de *Arcobacter* sp de clado 1
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 1
 97AE3-12
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 2
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 3

511
CTCCGTCGCAAGCAGCCGCGGTAAATACGGAGGTCGAAGCGTTACTTCGGAATCACTTCGGCTTAAAGAGCGTGTAGCGGGAT
CTCCGTCGCAAGCAGCCGCGCGGTAAATACGGAGGTCGAAGCGTTACTTCGGAATCACTTCGGCTTAAAGAGCGTGTAGCGGGAT
CTCCGTCGCAAGCAGCCGCGCGGTAAATACGGAGGTCGAAGCGTTACTTCGGAATCACTTCGGCTTAAAGAGCGTGTAGCGGGAT
CTCCGTCGCAAGCAGCCGCGCGGTAAATACGGAGGTCGAAGCGTTACTTCGGAATCACTTCGGCTTAAAGAGCGTGTAGCGGGAT
CTCCGTCGCAAGCAGCCGCGCGGTAAATACGGAGGTCGAAGCGTTACTTCGGAATCACTTCGGCTTAAAGAGCGTGTAGCGGGAT
CTCCGTCGCAAGCAGCCGCGGTAAATACGGAGGTCGAAGCGTTACTTCGGAATCACTTCGGCTTAAAGAGCGTGTAGCGGGAT

Consenso de *Arcobacter* sp de clado 1
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 1
 97AE3-12
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 2
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 3
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 3

[illegible]

Consenso de *Arcobacter* sp de clado 1
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 1
 97AE3-12
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 2
 Consenso redundante de *Arcobacter* sp de clado 3

[illegible]

Figura 3D

Inserción (><) o Delección (<>)	1147	1150	1160	1170	1180	1190	1200	1210	1220	
Consenso de Arcobacter sp de clado 1		CTCTAAAGAGACTGCTTAGG	-	CAAGTAGGAGAGAGTGAAGACGAGCTCAAGTCATCATGCGCCCTTAGCA	CCAGGGCTA					
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 1		CTCTAAAGAGACTGCTTAGG	-	CAASVAGGAGAGAGTGAAGACGAGCTCAAGTCATCATGCGCCCTTAGCA	CCAGGGCTA					
97AE3-12		CTCTAAAGAGACTGCTTAGG	-	CAAGTAGGAGAGAGTGAAGACGAGCTCAAGTCATCATGCGCCCTTAGCA	CCAGGGCTA					
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 2		CTCTAAAGAGACTGCTTAGG	-	CAASVAGGAGAGAGTGAAGACGAGCTCAAGTCATCATGCGCCCTTAGCA	CCAGGGCTA					
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 3		CTCTAAAGAGACTGCTTAGG	-	CAAGTAGGAGAGAGTGAAGACGAGCTCAAGTCATCATGCGCCCTTAGCA	CCAGGGCTA					
Inserción (><) o Delección (<>)		1230	1240	1250	1260	1270	1280	1290	1300	
Consenso de Arcobacter sp de clado 1	1226	CACACGTGCTACAAATGGGTATACAAAGAGCAGCGATACAGTGTGGAGCAATCTAA	-	AAATACCTCCAGTTCCG						
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 1		CACACGTGCTACAAATGGGTATACAAAGAGCAGCGATACAGTGTGGAGCAATCTAA	-	AAATACCTCCAGTTCCG						
97AE3-12		CACACGTGCTACAAATGGGTATACAAAGAGCAGCGATACAGTGTGGAGCAATCTAA	-	AAATACCTCCAGTTCCG						
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 2		CACACGTGCTACAAATGGGTATACAAAGAGCAGCGATACAGTGTGGAGCAATCTAA	-	AAATACCTCCAGTTCCG						
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 3		CACACGTGCTACAAATGGGTATACAAAGAGCAGCGATACAGTGTGGAGCAATCTAA	-	AAATACCTCCAGTTCCG						
Inserción (><) o Delección (<>)		1310	1320	1330	1340 (+1)	1350	1360 (+1)	1370	1380	
Consenso de Arcobacter sp de clado 1	1305	GATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTTCGAATCG	-	CTAGTAATCGTAGATCAG	C	AATGCTACG	-	GTGAATACGT		
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 1		GATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTTCGAATCG	-	CTAGTAATCGTAGATCAG	C	AATGCTACG	-	GTGAATACGT		
97AE3-12		GATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTTCGAATCG	-	CTAGTAATCGTAGATCAG	C	AATGCTACG	-	GTGAATACGT		
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 2		GATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTTCGAATCG	-	CTAGTAATCGTAGATCAG	C	AATGCTACG	-	GTGAATACGT		
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 3		GATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTTCGAATCG	-	CTAGTAATCGTAGATCAG	C	AATGCTACG	-	GTGAATACGT		
Inserción (><) o Delección (<>)		1390	1400	1410	1420	1430	1440	1450	1460	
Consenso de Arcobacter sp de clado 1	1381	TCCCGGGTCTTGTACTACCGCCCGCTCACACCATGGAGTGAATTTACTCGAACGGGGATGCTAAGT	-	AGCT						
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 1		TCCCGGGTCTTGTACTACCGCCCGCTCACACCATGGAGTGAATTTACTCGAACGGGGATGCTAAGT	-	AGCT						
97AE3-12		TCCCGGGTCTTGTACTACCGCCCGCTCACACCATGGAGTGAATTTACTCGAACGGGGATGCTAAGT	-	AGCT						
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 2		TCCCGGGTCTTGTACTACCGCCCGCTCACACCATGGAGTGAATTTACTCGAACGGGGATGCTAAGT	-	AGCT						
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 3		TCCCGGGTCTTGTACTACCGCCCGCTCACACCATGGAGTGAATTTACTCGAACGGGGATGCTAAGT	-	AGCT						
Inserción (><) o Delección (<>)		1470	1480	1490	1500	1510				
Consenso de Arcobacter sp de clado 1	1361	ACCTTCCACAGTGGATTTAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAAACAAGTTAACCG								
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 1		ACCTTCCACAGTGGATTTAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAAACAAGTTAACCG								
97AE3-12		ACCTTCCACAGTGGATTTAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAAACAAGTTAACCG								
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 2		ACCTTCCACAGTGGATTTAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAAACAAGTTAACCG								
Consenso redundante de Arcobacter sp de clado 3		ACCTTCCACAGTGGATTTAGCGACTGGGGTGAAGTCGTAAACAAGTTAACCG								

Figura 4

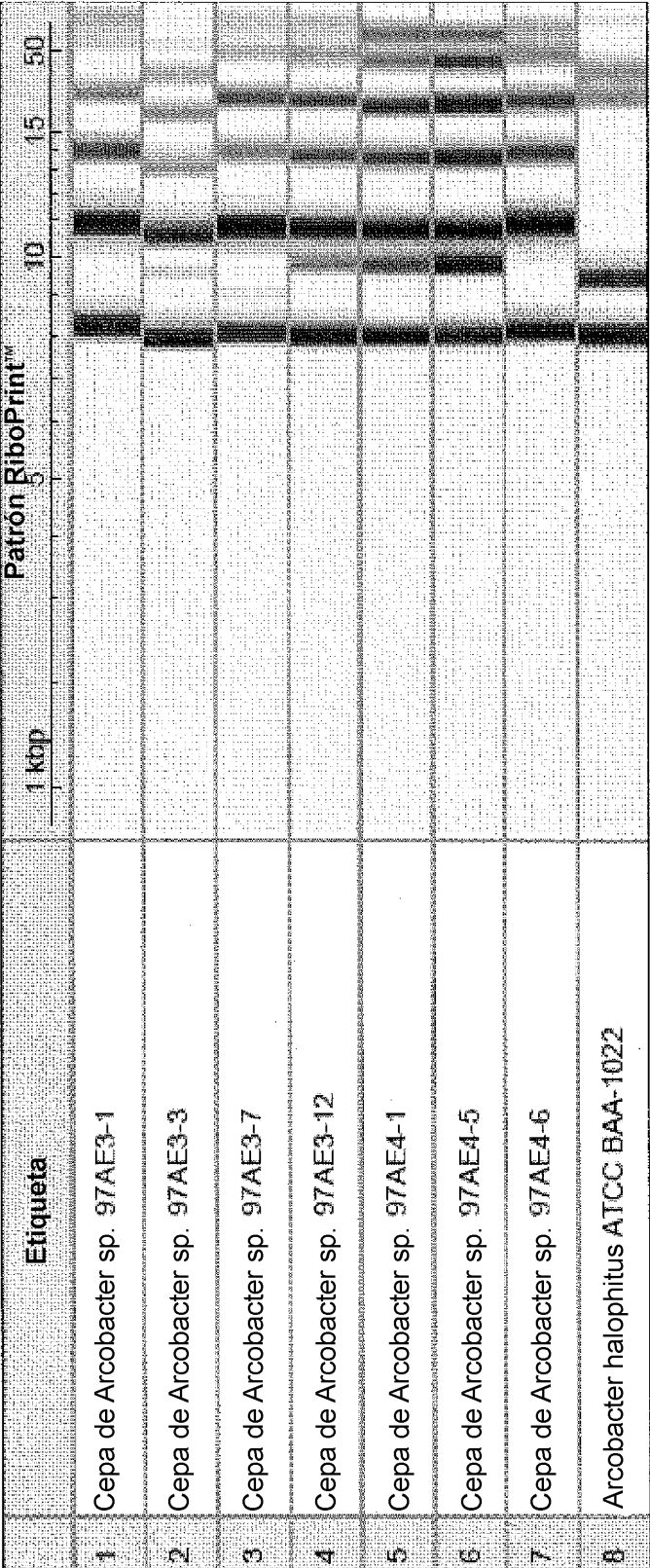


Figura 5

A. Secuencia distintiva Región variable 2 34 bases
Sec. con núm. de ident.

	170	180	190	200	203
	+-----+-----+-----+-----+-----+				
47 Distintivo dominante de Shewanella	GCATACGCCCTACGGGGGAAAGAGGGGGACTTTC 203				
48 Distintivo degenerado de Shewanella	GCATACGCCCTACGGGGGAAARRRGGGGGNNYYT <u>M</u> 203				

B. Secuencia distintiva Región variable 5 41 bases

	820	830	840	850	860
	+-----+-----+-----+-----+-----+				
49 Distintivo dominante de Shewanella	TCGGAGTTTGGTGTCTTGAACACTGGGCTCTCAAGCTTAACG 860				
50 Distintivo degenerado de Shewanella	TCGGARTTTGGT <u>VHCTT</u> RRACACTGGKYTYYYMAAGCTAACG 860				

C. Secuencia distintiva Región variable 8 96 bases

	1230	1240	1250	1260	1270	1379
	-----+-----+-----+-----+-----+					
51 Distintivo dominante de Shewanella	ACAATGGCGAGTACAGAGGGTTGCAAGCCGCGAGGTGGAGCTAATCTCA 1379					
52 Distintivo degenerado de Shewanella	ACAATGGBVDDTACAGAGGGTTGCRRAAGCCGCRAGGTSDAGCTAATCYCA 1379					

Distintivo dominante continuado de Shewanella CAAAGCTCGTCGTAGTCCGGATGGAGTCTGCAACTCGACTCCATG 1325

Distintivo redundante continuado de Shewanella BAAAGBHBGTCGTAGTCCGGATYGGAGTCTGCAACTCGACTCCRTG 1325

Leyenda

R=A/G; Y=T/C; M=A/C; W=A/T; S=G/C; N=A/C/G/T; H=A/C/G/T; V=A/C/G/ no T B=C/G/T/ no A

D=A/G/T/ no C

Figura 6

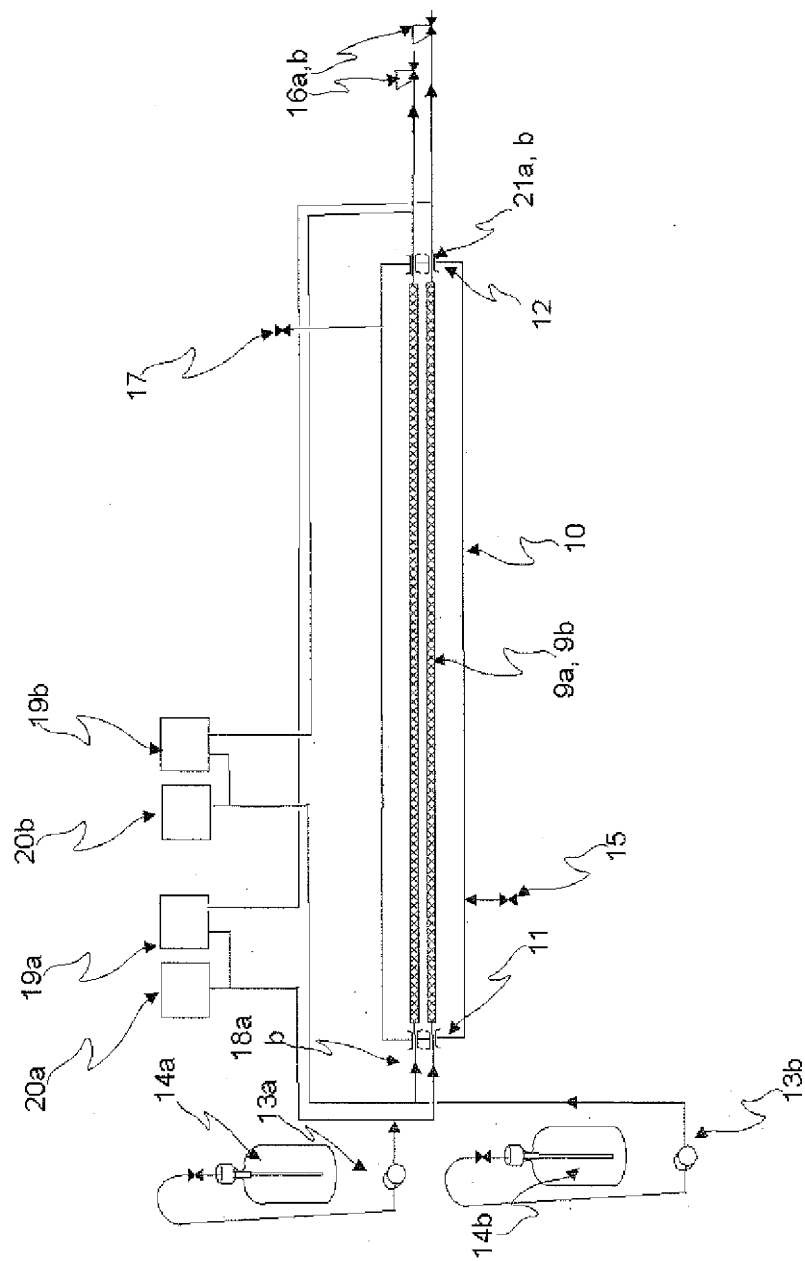


Figura 7

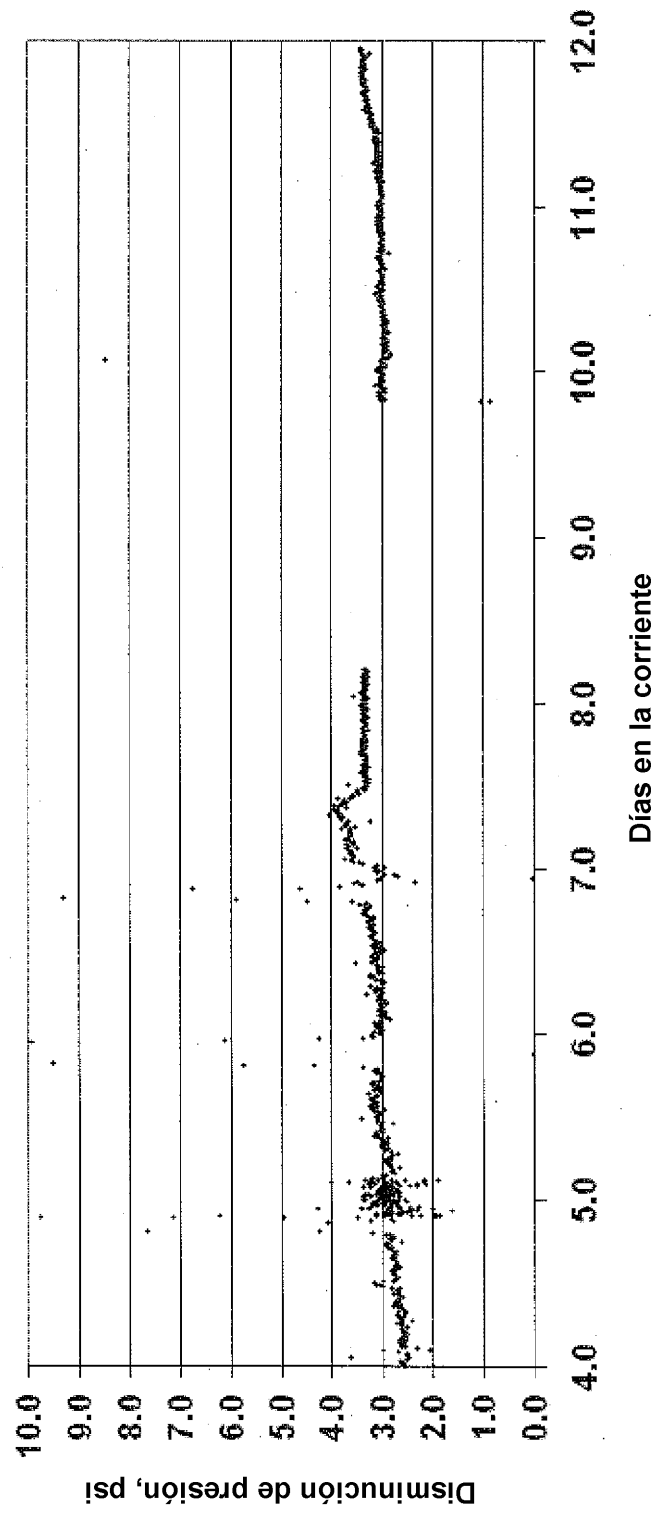


Figura 8

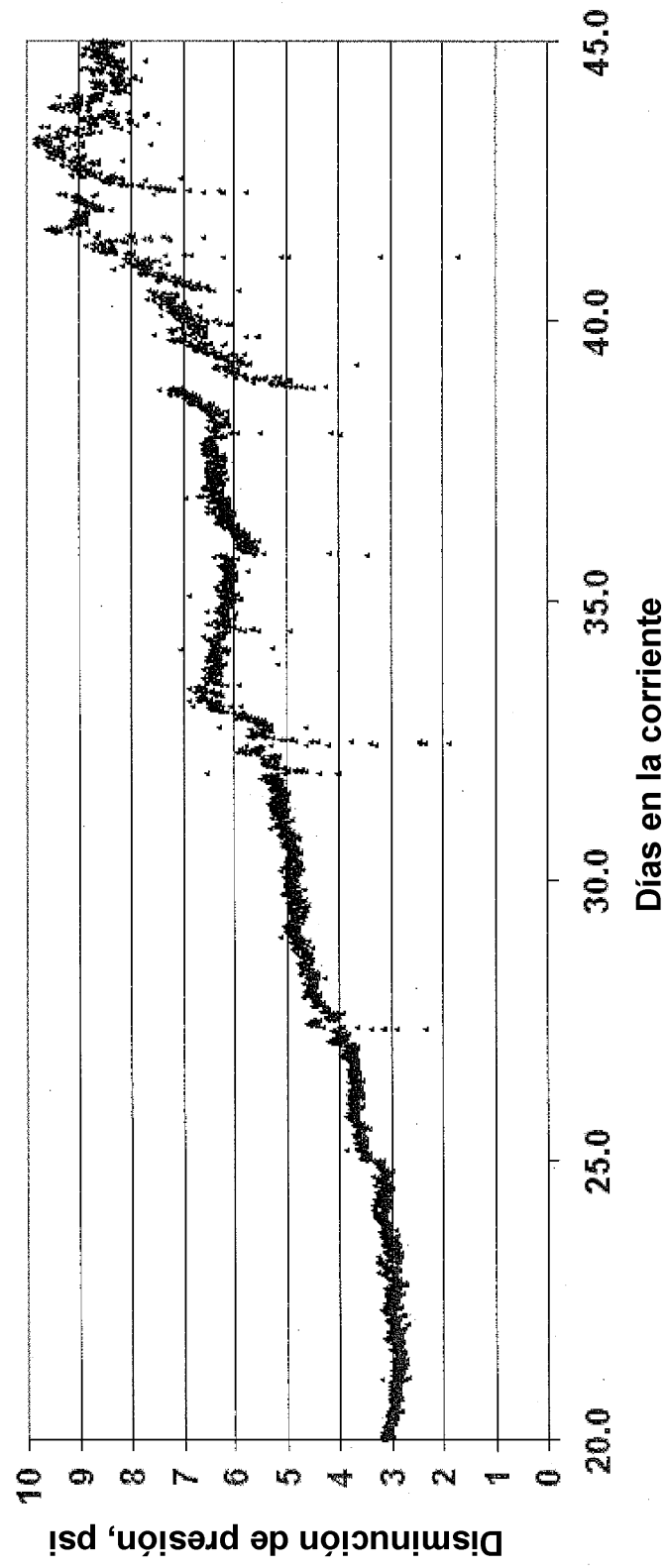
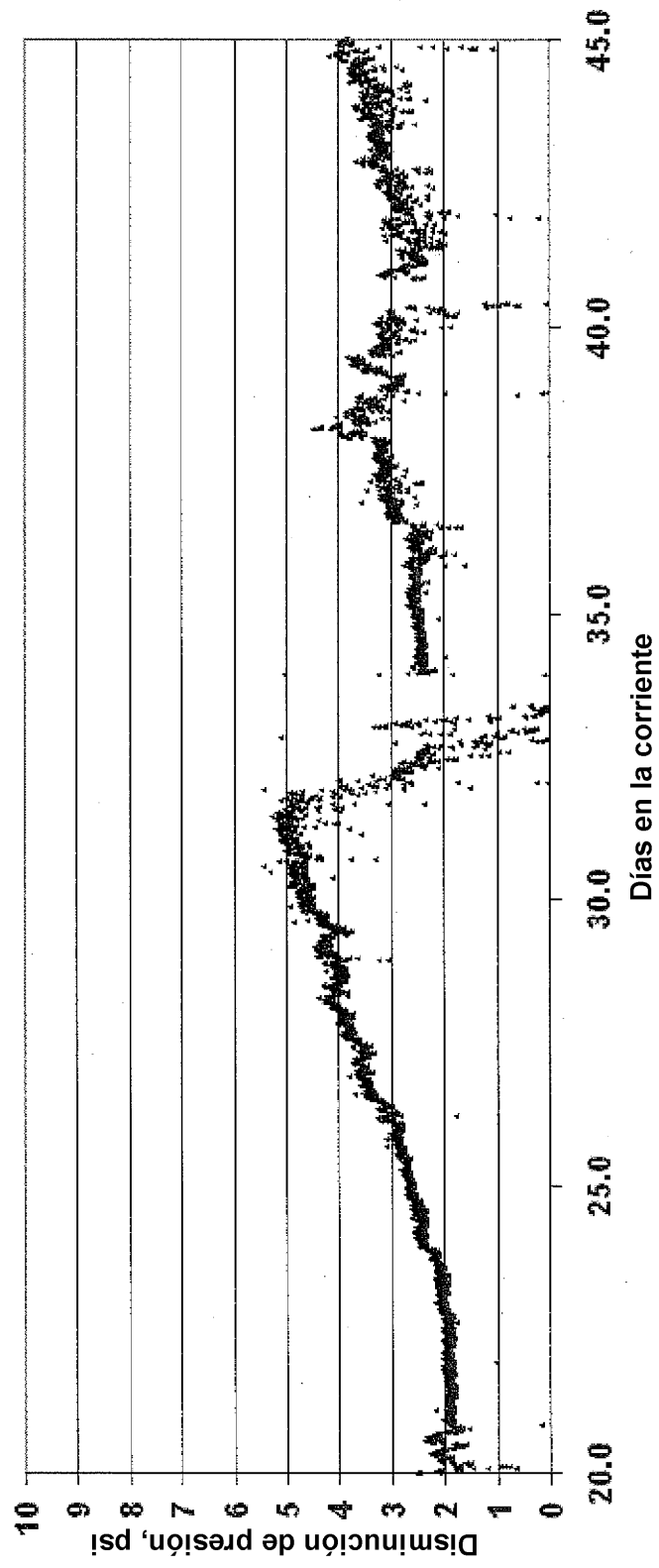


Figura 9



LISTA DE SECUENCIAS

<110> DuPont Company

Hendrickson, Edwin

<120> METODOS, CEPAS Y COMPOSICIONES UTILES PARA RECUPERACIÓN MEJORADA
DE PETROLEO MEDIANTE EL USO DE MICROBIOS: Arcobacter de clado 1

<130> CL5181

<160> 52

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 1477

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 1

agagtttgat tatggctcag agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac 60

gagaacggga ttagcttgct aatctgtcag ctaagtggcg cacgggtgag taatatatag 120

gtaacgtgcc ttcaagaggg ggataacaga tggaaacgtc tgctaaaacc ccatatgcct 180

ttaatgcgaa agtatgcaag ggaaatattt atagcttgaa gatcggcctg tacagtatca	240
gatatgttggg gaggtaatag ctcaccaagt caatgacgct taactggttt gagaggatga	300
tcagtcacac tggaactgag acacggtcca gactcctacg ggaggcagca gtggggaata	360
ttgcacaatg ggggaaaccc tgatgcagca acgccgcgtg gaggatgaca catttcggtg	420
cgtaaaactcc ttttatataa gaagataatg acggtattat atgaataagc accggctaac	480
tccgtgccag cagccgcggt aatacggagg gtgcaagcgt tactcggaat cactgggcgt	540
aaagagcgtg taggcggata gataagtcag aagtgaaatc caatagctta actattgaac	600
tgcttttgaa actgtctatc tagagtatgg gagaggtaga tggaatttct ggtgtagggg	660
taaaatccgt agagatcaga aggaataccg attgcgaagg cgatctactg gaacataact	720
gacgctgaga cgcgaaagcg tggggagcaa acaggattag ataccctggg agtccacgcc	780
ctaaacgatg tacactagtt gttgctatgc tcgacatagc agtaatgcag ttaacacatt	840
aagtgtaccg cctggggagt acggtcgcaa gattaaaact caaaggaata gacggggacc	900
cgcacaagcg gtggagcatg tggtttaatt cgacgatacg cgaagaacct tacctggtct	960
tgacatagta agaaccattt agagatagat ggggtgtctgc ttgcagaaac ttatatacag	1020
gtgctgcacg gctgtcgtca gctcgtgtcg tgagatgttg ggttaagtcc cgcaacgagc	1080

gcaaccctcg tcattagttg ctaacacttc gggtgagaac tctaatagaga ctgcctacgc	1140
aagtaggagg aaggtgagga cgacgtcaag tcatcatggc cttacgacc agggctacac	1200
acgtgctaca atgggggtata caaagagcag cgatacagtg atgtggagca aatctaaaaa	1260
atacctccca gttcggattg tagtctgcaa ctcgactaca tgaagttgga atcgctagta	1320
atcgtagatc agcaatgcta cggatgaatac gttcccgggt cttgtactca ccgcccgtca	1380
caccatggga gttgatttca ctggaagcgg ggatgctaag atagctaccc tccacagtgg	1440
aattagcgac tgggggtgaag tcgtaacaag gtaaccg	1477

<210> 2

<211> 1437

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<220>

<221> misc_feature

<222> (9) .. (9)

<223> N e s a , c , g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (414)..(414)

<223> N e s a , c , g o t

<400> 2

agagtgaang ctggcggcgt gcttaacaca tgcaagtcga acgagaacgg gattagcttg	60
ctaactctgtc agctaagtgg cgcacgggtg agtaatatat aggtaacgtg ccttcaagag	120
ggggataaca gatggaaacg tctgctaaaa ccccatatgc ctttaatgcg aaagtatgca	180
agggaaatat ttatagcttg aagatcggcc tgtacagtat cagatagttg gtgaggtaat	240
agctcaccaa gtcaatgacg cttactgggt ttgagaggat gatcagtcac actggaactg	300
agacacggtc cagactccta cgggaggcag cagtggggaa tattgcacaa tgggggaaac	360
cctgatgcag caacgccgcg tggaggatga cacatttcgg tgcgtaaact cctnttatat	420
aagaagataa tgacgggtatt atatgaataa gcaccggcta actccgtgcc agcagccgcg	480
gtaatacggg ggggtgcaagc gttactcgga atcactgggc gtaaagagcg ttaggcgga	540
tagataagtc agaagtgaaa tccaatagct taactattga actgcttttg aaactgtcta	600
tctagagtat gggagaggta gatggaattt ctggtgtagg ggtaaaatcc gtagagatca	660
gaaggaatac cgattgcgaa ggcatctac tggaacataa ctgacgctga gacgcgaaag	720

cgtggggagc aaacaggatt agataccctg gtagtcacg ccctaaacga tgtacactag	780
ttgttgctat gctcgacata gcagtaatgc agttaacaca ttaagtgtac cgctgggga	840
gtacggtcgc aagggttaaaa ctcaaaggaa tagacgggga cccgcacaag cggaggagta	900
tgtggtttta ttcgacgata cgcaagaac cttacctggt cttgacatag taagaacat	960
ttagagatag atgggtgtct gcttcagaa acttatatac aggtgctgca cggctgtcgt	1020
cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga gcgcaaccct cgtcattagt	1080
tgctaact tgggtgaga actctaata gactgcctac gcaagtagga ggaaggtag	1140
gacgacgtca agtcatcatg gcccttacga ccagggtac acacgtgcta caatgggga	1200
tacaaagagc agcgatacag tgatgtggag caaatctaaa aaatacctcc cagttcggat	1260
tgtagtctgc aactcgacta catgaagttg gaatcgctag taatcgtaga tcagcaatgc	1320
tacggtgaat acgttcccg gtcttgata caccgcccgt cacaccatgg gagttgattt	1380
cactcgaagc ggggatgcta agatagctac cctccacagt ggaattagcg actggg	1437

<210> 3

<211> 1473

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Species Arcobacter

<400> 3

agagtttgat cctggctcag agtaacgctg gcggcgtgct taacacatgc aagtcgaacg	60
agaacgggat tagcttgcta atctgtcagc taagtggcgc acgggtgagt aatatatagg	120
taacgtgcct tcaagagggg gataacagat ggaaacgtct gctaaaaccc catatgcctt	180
taatgcgaaa gtatgcaagg gaaatattta tagcttgaag atcggcctgt acagtatcag	240
atagttggtg aggtaatagc tcaccaagtc aatgacgctt aactggtttg agaggatgat	300
cagtcacact ggaactgaga cacggtccag actcctacgg gaggcagcag tggggaatat	360
tgcacaatgg gggaaaccct gatgcagcaa cgccgcgtgg aggatgacac atttcggtgc	420
gtaaactcct tttatataag aagataatga cggtattata tgaataagca ccggctaact	480
ccgtgccagc agccgcggtg atacggaggg tgcaagcggt actcggaatc actgggcgta	540
aagagcgtgt aggcggatag ataagtcaga agtgaaatcc aatagcttaa ctattgaact	600
gcttttgaaa ctgtctatct agagtatggg agaggtagat ggaatttctg gtgtaggggt	660
aaaatccgta gagatcagaa ggaataccga ttgcgaaggc gatctactgg aacataactg	720
acgctgagac gcgaaagcgt ggggagcaaa caggattaga taccctggta gtccacgccc	780

taaacgatgt acactagttg ttgctatgct cgacatagca gtaatgcagt taacacatta	840
agtgtaccgc ctggggagta cggtcgcaag attaaaactc aaaggaatag acggggaccc	900
gcacaagcgg tggagcatgt ggtttaattc gacgatacgc gaagaacctt acctggtctt	960
gacatagtaa gaaccattta gagatagatg ggtgtctgct tgcagaaact tatatacagg	1020
tgctgcacgg ctgtcgtcag ctcgtgtcgt gagatgttgg gttaagtccc gcaacgagcg	1080
caaccctcgt cattagttgc taacacttcg ggtgagaact ctaatgagac tgcctacgca	1140
agtaggagga aggtgaggac gacgtcaagt catcatggcc cttacgacca gggctacaca	1200
cgtgctacaa tgggggtatac aaagagcagc gatacagtga tgtggagcaa atctaaaaaa	1260
tacctcccag ttcggattgt agtctgcaac tcgactacat gaagttggaa tcgctagtaa	1320
tcgtagatca gcaatgctac ggtgaatacg ttcccgggtc ttgtactcac cgcccgtcac	1380
accatgggag ttgatttcac tcgaagcggg gatgctaaga tagctaccct ccacagtgga	1440
attagcgact ggggtgaagt cgtaacaagg taa	1473

<210> 4

<211> 1426

<212> ADN

<213> Arcobacter marinus

<400> 4

ctggctcaga gtgaacgctg gcggcgtgct taacacatgc aagtcgaacg agaacgggat	60
tagcttgcta atctgtcagc taagtggcgc acgggtgagt aatatatagg taacgtgcct	120
tcaagagggg gataacagat ggaaacgtct gctaagaccc catatgcctt taatacaaaa	180
gtatgaaagg gaaatattta tagcttgaag atcggcctgt acagtatcag atagttggtg	240
aggtaatggc tcaccaagtc aatgacgctt aactggtttg agaggatgat cagtcacact	300
ggaactgaga cacggtccag actcctacgg gaggcagcag tggggaatat tgcacaatgg	360
gggaaaccct gatgcagcaa cgccgctggg aggatgacac atttcggtgc gtaaactcct	420
tttatataag aagataatga cgggtattata tgaataagca ccggctaact ccgtgccagc	480
agccgcggta atacggaggg tgcaagcgtt actcggaatc actgggcgta aagagcgtgt	540
aggcggatag ataagtcaga agtgaaatcc aatagcttaa ctattgaact gcttttgaaa	600
ctgtctatct agagtatggg agaggtagat ggaatttctg gtgtaggggt aaaatccgta	660
gagatcagaa ggaataccga ttgcgaaggc gatctactgg aacataactg acgtgagac	720
gcgaaagcgt ggggagcaaa caggattaga taccctggta gtccacgcc taaacgatgt	780
acactagttg ttgctatgct cgacatagca gtaatgcagt taacacatta agtgtaccgc	840
ctggggagta cggtcgcaag attaaaactc aaaggaatag acggggaccc gcacaagcgg	900

tggagcatgt ggtttaattc gacgatacgc gaagaacctt acctggtctt gacatagtaa	960
gaaccattta gagatagatg ggtgtctgct tgcagaaact tatatacagg tgctgcacgg	1020
ctgtcgtcag ctggtgtcgt gagatgttgg gttaagtccc gcaacgagcg caaccctcgt	1080
cattagttgc taacacttcg ggtgagaact ctaatgagac tgcctacgca agtaggagga	1140
aggtgaggac gacgtcaagt catcatggcc cttacgacca gggctacaca cgtgctacaa	1200
tggggtatac aaagagcagc gatacagtga tgtggagcaa atctaaaaaa tacctcccag	1260
ttcggattgt agtctgcaac tcgactacat gaagttggaa tcgctagtaa tcgtagatca	1320
gcaatgctac ggtgaatacg ttcccgggtc ttgtactcac cgcccgtcac accatgggag	1380
ttgatttcac tcgaagcggg gatgctaaga tagctaccct cctcag	1426

<210> 5

<211> 1474

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Clon EB27.1 de cultivo de enriquecimiento de bacteria

<400> 5

gtttgatcct ggctcagaag tgaacgctgg cggcgtgctt aacacatgca agtcgaacga	60
---	----

gaacgggatt agcttgctaa tctgtcagct aagtggcgca cgggtgagta atatataggt	120
aacgtgcctt caagaggggg ataacagatg gaaacgtctg ctaaaacccc atatgccttt	180
aatgcgaaag tatgcaaggg aaatatttat agcttgaaga tcggcctgta cagtatcaga	240
tagttggtga ggtaatagct caccaagtca atgacgctta actggtttga gaggatgatc	300
agtcacactg gaactgagac acggtccaga ctctacggg aggcagcagt ggggaatatt	360
gcacaatggg ggaaaccctg atgcagcaac gccgcgtgga ggatgacaca tttcgggtgcg	420
taaactcctt ttataagaag ataatgacgg tattatatga ataagcaccg gctaactccg	480
tgccagcagc cgcggttaata cggaggggtgc aagcgttact cggagtcact gggcgtaaag	540
agcgtgtagg cggatagata agtcagaagt gaaatccaat agcttaacta ctgaactgct	600
tttgaaaactg tctatctaga gtatgggaga ggtagatgga atttctggtg taggggtaaa	660
atccgtagag atcagaagga ataccgattg cgaaggcgat ctactggaac attactgacg	720
ctgagacgcg aaagcgtggg gagcaaacag gattagatac cctggtagtc cacgccctaa	780
acgatgtgca ctagttgttg cgatgctaga cattgcagta atgcagtaaa cacattaagt	840
gcaccgcctg gggagtacgg tcgcaagatt aaaactcaaa ggaaaagacg gggacccgca	900
caagcgggtg agcatgtggt ttaattcgac gatacgcgaa gaaccttacc tggctcttgac	960

atagaaagaa ctttccagag atggattggt gcctgcttgc aggagctttc atacaggtgc	1020
tgcacggctg tcgtcagctc gtgtcgtgag atggtgggtt aagtcccgca acgagcgcaa	1080
ccctcgtcgt tagttgctaa cagttcggct gagaactcta acgagactgc ctacgcaagt	1140
aggaggaagg tgaggacgac gtcaagtcac catggccctt acgaccaggg ctacacacgt	1200
gctacaatgg ggtatacaaa gagcagcaat acggtgacgt ggagcgaatc tcaaaaatgc	1260
ctcccagttc ggattgtagt ctgcaactcg actacatgaa gttggaatcg ctagtaatcg	1320
tagatcagct atgctacggt gaatacgttc ccgggtcttg tactcaccgc ccgtcacacc	1380
atggggagttg aattcattcg aagcggggat gctaaaatag ctaccttccc cagtggatth	1440
agcgactggg gtgaagtcgt aacaaggtag ccgt	1474

<210> 6

<211> 1402

<212> ADN

<213> Arcobacter halophilus

<400> 6

taacacatgc aagtcgaacg agaacggatt atagcttgct ataattgtca gctaagtggc	60
gcacgggtga gtaatatata ggtaacgtgc ctctaagaaa gggataacag atggaaacgt	120

ctgctaatac cttatatgcc ttttaatacga aagtatgcaa gggaaacgct ttagtgctta	180
gagatcggcc tgtacagtat cagctagttg gtgaggtaag agctcaccaa ggcaatgacg	240
cttaactggc ttgagaggat gatcagtcac actggaactg agacacggtc cagactccta	300
cgggaggcag cagtggggaa tattgcacaa tgggggaaac cctgatgcag caacgccgcg	360
tggaggatga cacatttcgg tgcgtaaact ccttttatat aggaagaaaa tgacggtact	420
atatgaataa gcgccggcta actccgtgcc agcagccgcg gtaatacga gggcgcaagc	480
gttactcgga atcactgggc gtaaagagcg tgtaggcgga tagataagtt aggagtga	540
tcctatggct caaccataga actgcttcta aaactgtcta tctagagtat gggagaggta	600
gatggaattt ctggtgtagg ggtaaaatcc gtagagatca gaaggaatac cgattgcgaa	660
ggcgatctac tggaacataa ctgacgctga gacgcgaaag cgtggggagc aaacaggatt	720
agataccctg gtagtcacg ccctaaacga tgtacactag ttgttgccat gctcgacatg	780
gcagtaatgc agttaacaca ttaagtgtac cgcctgggga gtacggtcgc aagattaaaa	840
ctcaaaggaa tagacgggga cccgcacaag cgggtggagca tgtggtttta ttcgacgata	900
cgcaagaac cttacctggc cttgacatag taagaacct ttagagatag atgggtgtct	960
gcttgcagaa gcttatatac aggtgctgca cggctgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt	1020

tggtgtaagt cccgcaacga gcgcaaccct cgtcgtagt tgctaacagt acggctgaga	1080
actctaacga gactgcctgg gcaaccagga ggaaggtgag gacgacgtca agtcatcatg	1140
gcccttacga ccagggctac acacgtgcta caatggggta taaaagagc agcaatacag	1200
tgatgtggag caaatctaaa aaatacctcc cagttcggat agtagtctgc aactcgacta	1260
cttgaagttg gaatcgctag taatcgtaga tcagcaatgc tacggtgaat acgttcccgg	1320
gtcttgtagt caccgcccgt cacaccatgg gagttgattt cactcgaagc ggggatgcta	1380
agatagctac cctccacagt gg	1402

<210> 7

<211> 1401

<212> ADN

<213> Arcobacter molluscorum

<400> 7

taacacatgc aagtcgaacg agaacggatt atagcttgct ataattgtca gctaagtggc	60
gcacgggtga gtaatatata ggtaatgtgc cttcaagagg gggataacag atggaaacgt	120
ctgctaagac cccatatgcc tttaatacaa aagtatgcaa gggaaatatt aatagcttga	180
agatcggcct gtacagtatc agatagttgg tgaggtaatg gctcaccaag tcaatgacgc	240
ttaactgggt tgagaggatg atcagtcaca ctggaactga gacacgggtc agactcctac	300

gggaggcagc agtggggaat attgcacaat gggggaaacc ctgatgcagc aacgccgcgt	360
ggaggatgac acatttcggt gcgtaaactc cttttatata ggaagataat gacggtacta	420
tatgaataag cgccggctaa ctccgtgcca gcagccgcgg taatacggag ggcgcaagcg	480
ttactcggaa tcaactggcg taaagagcgt gtaggcggat aaataagtca ggagtgaaat	540
ccaatagctc aactattgaa ctgcttttga aactgtttat ctagagtatg ggagaggtag	600
atggaatttc tgggtgtaggg gtaaaatccg tagagatcag aaggaatacc gattgcgaag	660
gcgatctact ggaacataac tgacgctgag acgcgaaagc gtggggagca aacaggatta	720
gataccctgg tagtccacgc cctaaacgat gtacactagt tgttgctatg ctcgacatag	780
cagtaatgca gttaacacat taagtgtacc gcctggggag tacggtcgca agattaaaac	840
tcaaaggaat agacggggac ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgacgatac	900
gcgaagaacc ttacctggtc ttgacatagt aagaacattc cagagatggg atggtgtctg	960
cttgcagaaa cttatataca ggtgctgcac ggctgtcgtc agctcgtgtc gtgagatggt	1020
gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctc gtcattagtt gctaacactt cgggtgagaa	1080
ctctaagtag actgcctacg caagtaggag gaaggtaggg acgacgtcaa gtcacatggt	1140
cccttacgac cagggctaca cacgtgctac aatgggggtat acaaagagca gcgatacggg	1200

gacgtggagc aaatcttaaa aatatctctc agttcggatt gtagtctgca actcgactac	1260
atgaagttgg aatcgctagt aatcgtagat cagcaatgct acggtgaata cgttcccggg	1320
tcttgactc accgcccgtc acaccatggg agttgatttc actcgaagca gggatgttaa	1380
gataactacc ttccacagtg g	1401

<210> 8

<211> 1544

<212> ADN

<213> Arcobacter mytili

<400> 8

taacacatgc aagtcgaacg agaacggatt atagcttgct ataattgtca gctaagtggc	60
gcacgggtga gtaatatata tcatggctca gagtgaacgc tggcggcgtg cttaacacat	120
gcaagtcgaa cgagaacggg atatagcttg ctatatattgt cagctaagtg gcgcacgggt	180
gagtaatgta taggtaacat gccctttaca aggaaataac agttggaaac gactgctaata	240
gtcctatatg cctttaatac taaagtatgc aagggaaaga tttatcggta aaggattggc	300
ctgtattgta tcagttagtt ggtggggtaa tggcctacca agacaatgac gcataactgg	360
tttgagagga tgatcagtca cactggaact gagacacggg ccagactcct acgggaggca	420

gcagtgggga atattgcaca atgggggggaa ccctgatgca gcaacgccgc gtggaggatg	480
acacatttcg gtgcgtaaac tccttttata taggaagata atgacggtac tatatgaata	540
agcgccggct aactccgtgc cagcagccgc ggtaatacgg agggcgcaag cgttactcgg	600
aatcactggg cgtaaagagc gtgtaggcgg atcgataagt caggagtga atcctatggc	660
tcaaccatag aactgctctt gaaactgtca atctagagta tgggagaggt agatggaatt	720
tctggtgtag gggtaaaatc cgtagagatc agaaggaata ccgattgcga aggcgatcta	780
ctggaacata actgacgtg agacgcgaaa gcgtggggag caaacaggat tagataccct	840
ggtagtccac gccctaaacg atgtacacta gttgttgcca tactagatat ggcagtaatg	900
cagttaacac attaagtgtc ccgcctgggg agtacggctg caagattaaa actcaaagga	960
atagacgggg acccgcaaca gcggtggagc atgtggttta attcgacgat acgcgaagaa	1020
ccttacctgg tcttgacata gtaagaatat tttagagata gaatagtgt agcttgctag	1080
aacttacata caggtgctgc acggctgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag	1140
tcccgaacg agcgcaacc tcgtcgtag ttgctaacag ttcggctgag aactctaacg	1200
agactgccta cgcaagtagg aggaagggtg ggacgacgtc aagtcatcat ggcccttacg	1260
accagggcta cacacgtgct acaatggggt atacaaagag cagcaatacg gtgacgtgga	1320

gcaaattctca aaaatacctc ccagttcgga ttgtagtctg caactcgact acatgaagtt 1380

ggaatcgcta gtaatcgtag atcagctacg ctacggtgaa tacgttcccg ggtcttgtag 1440

tcaccgcccg tcacaccatg ggagttgatt tcaactgaag cagggatgct aagatagcta 1500

ccttccacag tggaatcagc gactggggtg aagtcgtaac aggg 1544

<210> 9

<211> 1461

<212> ADN

<213> *Arcobacter nitrofigilis*

<220>

<221> misc_feature

<222> (118)..(118)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (178)..(178)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (723)..(723)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (765)..(765)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (769)..(769)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (789)..(789)

<223> N es a, c, g o t

<400> 9

atggagagtt tgatcctggc tcagagtgaa cgctggcggc gtgcttaaca catgcaagtc 60

gaacgagaac gggttaaagc ttgctttaac tgtcagctaa gtggcgcacg ggtgagtnat 120

atataggtaa catgccctag agagggggat aacagatgga aacgtctgct aacacccnat 180

atgcctttaa gacyaaagtc tgcaaggga acatttatgg ctctaggatt ggctgtacg 240

gtatcagcta gttggtgagg taatggctca ccaaggcaat gacacctaac tggtttgaga 300

ggatgatcag tcacactgga actgagacac ggtccagact cctacgggag gcagcagtgg 360

ggaatattgc acaatggacg aaagtctgat gcagcaacgc cgcgtggagg atgacacatt 420

tcggtgcgta aactcctttt atataggaag ataatgacgg tactatatga ataagcaccg	480
gctaactccg tgccagcagc cgcggtaata cggaggggtgc aagcgttact cggaattact	540
gggcgtaaag agcgtgtagg cgggtaaata agttggaagt gaaatcctat ggctcaacca	600
tagaactgct tccaaaactg ttaacctaga atgtgggaga ggtagatgga atttctggtg	660
taggggtaaa atccgtagat atcagaagga ataccgattg cgaaggcgat ctactggaac	720
atnattgacg ctgagacgcg aaagcgtggg gagcaaacag gattngatnc cctggtagtc	780
cacgccctna acgatgtaca ctagtgttg tgaggctaga ccttgcaagta atgcagttaa	840
cacattaagt gtaccgcctg gggagtacgg tcgcaagatt aaaactcaaa ggaatagacg	900
gggacccgca caagcggtagg agcatgtggt ttaattcgaa gatacacgaa gaaccttacc	960
tggtcttgac atagtaagaa ctttttagag ataaattggg gtctgcttgc agaaacttac	1020
atacaggtgc tgcacggctg tcgtcagctc gtgtcgtgag atgttggggt aagtcccgca	1080
acgagcgcaa ccctcgtcgt tagttgctaa cagttcggct gagaactcta acgagactgc	1140
ctacgcaagt aggaggaagg tgaggacgac gtcaagtcac catggccctt acgaccaggg	1200
ctacacacgt gctacaatgg ggtatacaaa gagcagcgat acggtgacgt ggagcgaatc	1260
tcaaaaatgc ctcccagttc ggattgtagt ctgcaactcg actacatgaa gttggaatcg	1320

ctagtaatcg tagatcagct atgctacggt gaatacgttc ccgggtcttg tactcaccgc 1380

ccgtcacacc atgggagtts aattcattcg aagcggggat gctaaaatag ctaccttcca 1440

cagtggattt agygactggg g 1461

<210> 10

<211> 1403

<212> ADN

<213> Arcobacter defluvii

<400> 10

taacacatgc aagtcgaacg agaacggatt atagcttgct ataattgtca gctaagtggc 60

gcacgggtga gtaatgtata gataacctgc cctctagaaa ggaataacag atggaaacgt 120

ctgctaatgc cctatatgcc tttatacat aagtatgcaa gggaaacgct ttagtgctag 180

aggatgggtc tgtatggtat cagcttggtg gtgaggtaat ggctcaccaa ggcaatgacg 240

cctaactggg ttgagaggat gatcagtcac actggaactg agacacggtc cagactccta 300

cgggaggcag cagtggggaa tattgcacaa tggacgaaag tctgatgcag caacgccgcg 360

tggaggatga cacatttcgg tgcgtaaaact ccttttatat aggaagataa tgacggtact 420

atatgaataa gcaccggcta actccgtgcc agcagccgcg gtaatacggg gggtgcaagc 480

gttactcgga atcactgggc gtaaagagcg tgtaggcggg tatataagtc agaagtgaaa 540

tccaatagct taactwttga actgcttttg aaactgtata cctaraatgt gggagaggta	600
gatggaattt ctggtgtagg ggtaaaatcc gtagagatca gaaggaatac cgattgcgaa	660
ggcgatctac tggaacatta ttgacgctga gacgcgaaag cgtgggggagc aaacaggatt	720
agataccctg gtagtccacg ccctaaacga tgtacactag ttgttgtgag gctcgacctt	780
gcagtaatgc agttaacaca ttaagtgtmc cgctgggga gtacggtcgc aagattaaaa	840
ctcaaaggaa tagacgggga cccgcacaag cggaggagca tgtgggtttaa ttcgacgata	900
cacgaagaac cttacctgga cttgacatag taagaacttt ctagagatag attggtgtct	960
gcttgcagaa acttatatac aggtgctgca cggtgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt	1020
tgggttaagt cccgcaacga gcgcaaccct cgtcattagt tgctaacagt tcggctgaga	1080
actctaata gactgcctac gcaagtagga ggaaggtag gacgacgtca agtcatcatg	1140
gcccttacgt ccagggctac acacgtgcta caatggggta taaaagagc agcaatacag	1200
tgatgtggag caaatctcaa aaatatctcc cagttcggat tgtagtctgc aactcgacta	1260
catgaagttg gaatcggcta gtaatcgtag atcagctatg ctacggtgaa tacgttcccg	1320
ggtcttgtag tcaccgcccg tcacaccatg ggagttgaac tcattcgaag cggggatgct	1380
aaagtagcta ccttccacag tgg	1403

<210> 11

<211> 1464

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 11

tgatccctgg ctcagagtga acgctggcgg cgtgcttaac acatgcaagt cgaacgagaa 60

cggattatag cttgctataa ttgtcagcta agtggcgcac gggtgagtaa tatataggta 120

atgtgcccta gagaagagga taacagttgg aaacgactgc taagactcta tatgccttta 180

agacagaagt ctgcaaggga aatatttata gctctaggat cagcctgtac agtatcagct 240

agttggtgag gtaatggctc accaaggcaa tgacacttaa ctggtttgag aggatgatca 300

gtccacactg gaactgagac acggtcccag actcctacgg gaggcagcag tggggaatat 360

tgcacaatgg acgaaagtct gatgcagcaa cgccgcgtgg aggatgacac attttcggtg 420

cgtaaaactcc ttttatatgg gaagataatg acggtaccat atgaataagc accggctaac 480

tccgtgccag cagccgcggt aatacggagg gtgcaagcgt tactcggaat cactgggcgt 540

aaagagcgtg taggcggata tataagtcag aagtgaaatc caatagctta actattgaac 600

tgcttttgaa actgtatatc tagaatgtgg gagaggtaga tggaatttct ggtgtagggg	660
taaaatccgt agagatcaga aggaataccg attgcgaagg cgatctactg gaacattatt	720
gacgctgaga cgcgaaagcg tggggagcaa acaggattag ataccctggg agtccacgcc	780
ctaaacgatg cacactagtt gttgtgaggc tagaccttgc agtaatgcag ttaacacatt	840
aagtgtgccg cctggggagt acggtcgcaa gattaaaact caaaggaata gacggggacc	900
cgcacaagcg gtggagcatg tggtttaatt cgacgataca cgaagaacct tacctggact	960
tgacatagta agaactttct agagatagat tgggtgtctgc ttgcagaaac ttatatacag	1020
gtgctgcacg gctgtcgtca gctcgtgtcg tgagatgttg ggttaagtcc cgcaacgagc	1080
gcaaccctcg tcattagttt gctaacagtt cggtcgagaa ctctaagag actgcctacg	1140
taagtaggag gaaggtgagg acgacgtcaa gtcacatggt cccttacgtc cagggctaca	1200
cacgtgctac aatgggggtat acaaagagcc gcaatacagt gatgtggagc aaatctcaaa	1260
aatatctccc agttcggatt gtagtctgca actcgactac atgaagttgg aatcgctagt	1320
aatcgtagat cagctatgct acgggtgaata cgttccccggg tcttgactc accgcccgtc	1380
acaccatggg agttgaactc attcgaagcg gggatgctaa aatagctacc ttccacagtg	1440
gatttagcga ctggggtgaa gtcg	1464

<210> 12

<211> 1455

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 12

gctggcggcg tgcttaacac atgcaagtcg aacgagaacg gattaaagct tgctttaatt 60

gtcagctaag tggcgcacgg gtgagtaata tataggtaac gtgccttcaa gaaggggata 120

acaattggaa acgattgcta ataccctata tgcctttagg acttaagtct gcaagggaaa 180

tatttatagc ttgaagatcg gcctgtacag tatcagttag ttggtgaggt aatggctcac 240

caagacaatg acgcttaact ggtttgagag gatgatcagt cacactggaa ctgagacacg 300

gtccagactc ctacgggagg cagcagtggg gaatattgca caatggacga aagtctgatg 360

cagcaacgcc gcgtggagga tgacacattt cgggtgcgtaa actcctttta tataggaaga 420

taatgacggg actatatgaa taagcaccgg ctaactccgt gccagcagcc gcggtataac 480

ggaggggtgca agcgttactc ggaatcactg ggcgtaaaga gaatgtaggc ggatagataa 540

gtttgaagtg aaatccaatg gctcaaccat tgaactgctt tgaaaactgt ckatctagaa 600

tatgggagag gtagatggaa tttctggtgt aggggtaaaa tccgtagaga tcagaaggaa	660
taccgattgc gaaggcgatc tactggaaca ttattgacgc tgagattcga aagcgtgggg	720
agcaaacagg attagatacc ctggtagtcc acgccctaaa cgatgcacac tagttgttgt	780
gaggctagac cttgcagtaa tgcagttaac acattaagtg tgccgcctgg ggagtacggt	840
cgcaagatta aaactcaaag gaatagacgg ggacccgcac aagcggtgga gcatgtggtt	900
taattcgacg atacgcgaag aaccttacct ggacttgaca tagatagaat ataacagaga	960
tgtaatagtg ctagcttgct agaactatca tacaggtgct gcacggctgt cgtcagctcg	1020
tgtcgtgaga tgttgggtta agtcccgcaa cgagcgcaac cctcgtcatt agttgctaac	1080
agttcggtcg agaactctaa tgagactgcc tgggtaacca ggaggaaggt gaggacgacg	1140
tcaagtcatc atggccctta cgtccagggc tacacacgtg ctacaatggg gtatacaaag	1200
agcagcaata cmgygakgtg gagcaaactc caaaaatatc tcccagttcg gatagcagtc	1260
tgcaactcga ctgcttgaag ttggaatcgc tagtaatcgt agatcagcaa tgctacggtg	1320
aatacgttcc cgggtcttgt actcaccgcc cgtcacacca tgggaattga actcattcga	1380
agcgggaatg ctaaagtagc taccctccac agtggattca gtaactgggg tgaagtcgta	1440
acaaggtaac cgtag	1455

<210> 13

<211> 1478

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 13

agagtttgat cctggctcag agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac 60

gagaacgggt attagcttgc taatactgtc agctaagtgg cgcacgggtg agtaatatat 120

agttaacctg ccctagagaa ggggataacg tttggaaaacg gacgctaaca ccctatatgc 180

ctttaataca taagtatgca agggaaacat ttatggctct aggatgggac tgtacggtat 240

cagttagttg gtgaggtaat ggctcaccaa gacaatgaca cctaactggt ttgagaggat 300

gatcagtcac actggaactg agacacggtc cagactccta cgggaggcag cagtggggaa 360

tattgcacaa tggacgaaag tctgatgcag caacgccgcg tggaggatga cacatttcgg 420

tgcgtaaact ccttttatat aggaagataa tgacgggtact atatgaataa gcaccggcta 480

actccgtacc agcagccgcg gtaatacggg ggggtgcaagc gttactcgga atcactgggc 540

gtaaaagagcg tgtaggcgga ttaataagtt ggaagtgaaa tcctatggct caaccataga 600

actgctttca aaactgttta tctagaatat gggagaggta gatggaattt ctggtgtagg	660
ggtaaaatcc gtagagatca gaaggaatac cgattgcgaa ggcgatctac tggaacatta	720
ttgacgctga gacgcgaaag cgtgggggagc aaacaggatt agataccctg gtagtccacg	780
ccctaaacga tgcacactag ttgttgcgag gctagacctt gcagtaatgc agttaacaca	840
ttaagtgtgc cgctgggga gtacggtcgc aagattaaaa ctcaaaggaa tagacgggga	900
ccgcacaag cgggtggagca tgtggtttaa ttcgacgata cggaagaac cttacctgga	960
cttgacatag taagaacgtt ctagagatag aatggtgtct gcttgcagaa acttatatac	1020
aggtgctgca cggctgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga	1080
gcgcaaccct cgtgttttagt tgataacagt tcggtgata actctaaaca gactgcctgg	1140
gtaaccagga ggaaggtag gacgacgtca agtcatcatg gcccttatgt ccagggctac	1200
acacgtgcta caatggggta taaaagagc agcgatacgg tgacgtggag caaatctcaa	1260
aaatatctcc cagttcggat agtagtctgc aactcgacta cttgaagttg gaatcgctag	1320
taatcgtaga tcagcaatgc tacggtgaat acgttccccg gtcttggtact caccgcccgt	1380
cacaccatgg gagttgaact cattcgaagc ggggatgcta aagtagctac cctccacagt	1440
ggatttagcg actgggggtga agtcgtaaca aggtaacc	1478

<210> 14

<211> 1507

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 14

agagtttgat tatggctcag agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac 60

gagaacgggt tatagcttgc tataattgtc agctaagtgg cgcacgggtg agtaatatat 120

aggtaacgtg ccctagagag ggggataaca gttggaaaacg actgctaaca ccccatatgc 180

ctttaataca aatgtatgca agggaaatat ttatagctct aggatcggcc tgtacggtat 240

cagcttggtg gtgaggtaat ggctcaccaa ggcaatgaca cctaactggt ttgagaggat 300

gatcagtcac actggaactg agacacggtc cagactccta cgggaggcag cagtggggaa 360

tattgcacaa tggacgaaag tctgatgcag caacgccgcg tggaggatga cacatttcgg 420

tgcgtaaaact ccttttatat aggaagataa tgacgggtact atatgaataa gcaccggcta 480

actccgtgcc agcagccgcg gtaatacggg ggggtgcaagc gttactcgga atcactgggc 540

gtaaaagagca tgtaggcggg taattaagtc agaagtgaaa tccaatagct caactattga 600

actgcttttg aaactgggta cctagaatat gggagaggta gatggaattt ctggtgtagg	660
ggtaaaatcc gtagagatca gaaggaatac cgattgcgaa ggcgatctac tggaacatta	720
ttgacgctga gatgcgaaag cgtgggggagc aaacaggatt agataccctg gtagtccacg	780
ccctaaacga tgcacactag ttgttgctat gctagacata gcagtaatgc agttaacaca	840
ttaagtgtgc cgctgggga gtacggtcgc aagattaaaa ctcaaaggaa tagacgggga	900
cccgcacaaag cgggtggagca tgtggtttaa ttcgacgata cggaagaac cttacctgga	960
cttgacatag taagaacctt ttagagatag aagggtgtct gcttgcagaa acttatatac	1020
aggtgctgca cggctgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga	1080
gcgcaaccct cgtcgtagt tgctaacagt tcggtgaga actctaacga gactgcctgg	1140
gtaaccagga ggaaggtgag gacgacgtca agtcatcatg gcccttacgt ccagggtac	1200
acacgtgcta caatggggta taaaagagc agcgatacgg tgacgtggag caaatcttaa	1260
aaatatctcc cagttcgat ttagtctgc aactcgacta catgaagttg gaatcgctag	1320
taatcgtaga tcagcaatgc tacggtgaat acgttcccggt gtcttgtagt caccgcccgt	1380
cacaccatgg gagttgattt cattcgaagc ggggatgcta aagtagctac cctccacagt	1440
ggaattagcg actgggggtga agtcgtaaca aggtaaccgt aggagaacct gcggttgat	1500

cacctcc 1507

<210> 15

<211> 1505

<212> ADN

<213> *Arcobacter nitrofigilis*

<400> 15

agagtttgat cctggctcag agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac 60

gagaacgggt taaagcttgc tttaactgtc agctaagtgg cgcacgggtg agtaatatat 120

aggtaacatg ccctagagag ggggataaca gatggaaacg tctgctaaca ccccatatgc 180

ctttaagacc taagtctgca agggaaacat ttatggctct aggattggcc tgtacggtat 240

cagctagttg gtgaggtaat ggctcaccaa ggcaatgaca cctaactggg ttgagaggat 300

gatcagtcac actggaactg agacacggtc cagactccta cgggaggcag cagtggggaa 360

tattgcacaa tggacgaaag tctgatgcag caacgccgcg tggaggatga cacatttcgg 420

tgcgtaaact ccttttatat aggaagataa tgacgggtact atatgaataa gcaccggcta 480

actccgtgcc agcagccgcg gtaatacggg ggggtgcaagc gttactcgga attactgggc 540

gtaaagagcg tgtaggcggg taaataagtt ggaagtgaaa tcctatggct caaccataga 600

actgcttcca aaactgttaa cctagaatgt gggagaggta gatggaattt ctggtgtagg	660
ggtaaaatcc gtagatatca gaaggaatac cgattgcgaa ggcgatctac tggaacataa	720
ttgacgctga gacgcgaaag cgtggggagc aaacaggatt agataccctg gtagtccacg	780
ccctaaacga tgtacactag ttgttgtgag gctagacctt gcagtaatgc agttaacaca	840
ttaagtgtac cgcctgggga gtacggtcgc aagattaata ctcaaaggaa tagacgggga	900
ccgcacaaag cgggtggagca tgtggtttaa ttcgacgata cgcaagaac cttacctggt	960
cttgacatag taagaacttt ttagagataa attggtgtct gcttgcagaa acttacatac	1020
agggtgctgca cggctgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga	1080
gcgcaaccct cgtcgttagt tgctaacagt tcggctgaga actctaacga gactgcctac	1140
gcaagtagga ggaaggtag gacgacgtca agtcatcatg gcccttacga ccagggtac	1200
acacgtgcta caatggggta tacaagagc agcgatacgg tgacgtggag cgaatctcaa	1260
aaatgcctcc cagttcggat tgtagtctgc aactcgacta catgaagttg gaatcgctag	1320
taatcgtaga tcagctatgc tacggtgaat acgttcccgg gtcttgtagt caccgcccgt	1380
cacaccatgg gagttgaatt cattcgaagc ggggatgcta aaatagctac cttccacagt	1440
ggatttagcg actgggggtga agtcgtaaca aggtaaccgt aggagaacct gcggttggt	1500

cacct 1505

<210> 16

<211> 1467

<212> ADN

<213> *Arcobacter nitrofigilis*

<400> 16

acatggctca gagtgaacgc tggcggcgtg cttaacacat gcaagtcgaa cgagaacggg 60

ttaaagcttg ctttaactgt cagctaagtg gcgcacgggt gagtaatata taggtaacat 120

gccctagaga gggggataac agatggaaac gtctgctaac accccatatg cctttaagac 180

gtaagtctgc aagggaaaca tttatggctc taggattggc ctgtacggta tcagttagtt 240

ggtgaggtaa tggctcacca agacaatgac acctaactgg ttgagagga tgatcagtca 300

cactggaact gagacacggc ccagactcct acgggaggga gcagtgggga atattgcaca 360

atggacgaaa gtctgatgca gcaacgccgc gtggaggatg acacatttcg gtgcgtaaac 420

tccttttata taggaagata atgacggtag tatatgaata agcaccggct aactccgtgc 480

cagcagccgc ggtaatacgg agggtgcaag cgttactcgg aattactggg cgtaaagagc 540

gtgtaggcgg gtaaataagt tggaagtga atcctatggc tcaaccatag aactgcttcc 600

aaaactgtta acctagaatg tgggagaggt agatggaatt tctggtgtag gggtaaaatc 660

cgtagatatc agaaggaata ccgattgcga aggcgatcta ctggaacaca attgacgctg	720
agacgcgaaa gcgtggggag caaacaggat tagataccct ggtagtccac gccctaaacg	780
atgtacacta gttgtttgtga ggctagacct tgcagtaatg cagttaacac attaagtgtg	840
ccgcctgggg agtacggtcg caagattaaa actcaaagga atagacgggg acccgacaaa	900
gcggtggagc atgtggttta attcgacgat acgcgaagaa ccttacctgg tcttgacata	960
gaaagaactt tccagagatg gattggtgcc tgcttgacagg agctttcata cagggtgctgc	1020
acggctgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcaacg agcgcaaccc	1080
tcgtcgttag ttgctaacag ttcggctgag aactctaacg agactgccta cgcaagtagg	1140
aggaagggtg ggacgacgtc aagtcatcat ggcccttacg accagggcta cacacgtgct	1200
acaatggggg atacaaagag cagcaatacg gtgacgtgga gcgaatctca aaaatgcctc	1260
ccagttcgga ttgtagtctg caactcgact acatgaagtt ggaatcgcta gtaatcgtag	1320
atcagctatg ctacggtgaa tacgttcccg ggtcttgtac tcaccgcccg tcacaccatg	1380
ggagttgaat tcattcgaag cggggatgct aaaatagcta ccttcacag tggatttagc	1440
gactgggggtg aagtcgtaac aggggta	1467

<210> 17

<211> 1441

<212> ADN

<213> *Arcobacter cryaerophilus*

<400> 17

agagtgaacg ctggcggcgt gcttaacaca tgcaagtcga acgagaacgg gctatagctt 60

gctatagttg tcagctaagt ggcgcacggg tgagtaatgt ataggtaata tgcctcttac 120

taagggataa caattggaaa cgattgctaa taccttatac tccttattaa cctaagttaa 180

taagggaaag atttattggt aagagattag cctgtattgt atcagttagt tgggtgggta 240

atggcctacc aagactatga cacataactg gtttgagagg atgatcagtc aactggaac 300

tgagacacgg tccagactcc tacgggaggc agcagtgggg aatattgcac aatggacgaa 360

agtctgatgc agcaacgccg cgtggaggat gacacatttc ggtgcgtaaa ctctttttat 420

atgagaagat aatgacggta ttatatgaat aagcaccggc taactccgtg ccagcagccg 480

cggtaatacg ggggtgcaag cgttactcgg aatcactggg cgtaaagagc atgtaggcgg 540

attaataagt ttgaagtga atcctatagc ttaactatag aactgctttg aaaactgtta 600

atctagaatg tgggagaggt agatggaatt tctggtgtag gggtaaaatc cgtagagatc 660

agaaggaata ccgattgcga aggcgatcta ctggaacatt attgacgctg agatgcgaaa 720

gcgtggggag caaacaggat tagataccct ggtagtcac gccctaaacg atgtacacta	780
gttggttgta gacttgatct tgcagtaatg cagttaacac attaatgta ccgcctgggg	840
agtacggtcg caagattaaa actcaaagga atagacgggg acccgacaa gcggtggagc	900
atgtgggttta attcgacgat acacgaagaa ccttacctgg acttgacata gtaagaactt	960
tctagagata gattgggtgc tgcttcaga aacttatata caggtgctgc acggctgtcg	1020
tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcaacg agcgcaacc tcgtgtttag	1080
ttgctaacag ttcggtgag aactctaaac agactgccta cgcaagtagg aggaaggtga	1140
ggacgacgtc aagtcacat gcccttacg tccagggcta cacacgtgct acaatgggat	1200
atacaaagag cggcaatacg gtgacgtgga gcaaacttta taaaatatct ccagttcgg	1260
attgtagtct gcaactcgac tacatgaagt tggaatcgct agtaatcgta gatcagctat	1320
gctacgggtga atacgttccc gggctctgta ctcaccgcc gtcacacat gggagtcgaa	1380
ctcattcgaa gcgggggatgc taaaatagct accttcaca gtggatttgg cgactggggt	1440
g	1441

<210> 18
 <211> 1460
 <212> ADN

<213> Arcobacter cibarius

<400> 18

gcggcgtgct taacacatgc aagtcgaacg agaacgggtt atagcttgct ataattgtca	60
gctaagtggc gcacgggtga gtaatgtata ggtaatatgc ctcttactaa gggataacaa	120
atggaaacgt ttgctaatac cttatactcc ttactaacta aagttagtaa gggaaagatt	180
tattggtaag agattagcct gtattgtatc agttagtggg tggggtaatg gcctaccaag	240
acaatgacgc ataactgggt tgagaggatg atcagtcaca ctggaactga gacacggtcc	300
agactcctac gggaggcagc agtggggaat attgcacaat ggacgaaagt ctgatgcagc	360
aacgccgcgt ggaggatgac acatttcggt gcgtaaactc cttttatata agaagataat	420
gacggtatta tatgaataag caccggctaa ctccgtgcc a gcagccgcgg taatacgggg	480
ggtgcaagcg ttactcggaa tcactgggcg taaagagcat gtaggcggat taataagttt	540
gaagtgaaat cctatagctt aactatagaa ctgctttgaa aactgttagt ctagaatgtg	600
ggagaggtag atggaatttc tgggtgtaggg gtaaaatccg tagagatcag aaggaatacc	660
gattgcgaag gcgatctact ggaacattat tgacgctgag atgcgaaagc gtggggagca	720
aacaggatta gataccctgg tagtccacgc cctaaacgat gtacactagt tgttgtgaga	780
cttgatcttg cagtaatgca gttaacacat taagtgtacc gcctggggag tacggtcgca	840

agattaaaac tcaaaggaat agacggggac ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat	900
tcgacgatac acgaagaacc ttacctggac ttgacatagt aagaactttc tagagataga	960
ttggtgtctg cttgcagaaa cttatatata ggtgctgcac ggctgtcgtc agctcgtgtc	1020
gtgagatggt gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccctc gtccttagtt gctaacagtt	1080
cggtcgagaa ctctaaggag actgcctacg caagtaggag gaaggtgagg acgacgtcaa	1140
gtcatcatgg cccttacgtc cagggctaca cacgtgctac aatgggatat acaatgagcc	1200
gcaatacggg gacgtggagc aaatcttata aaatatctcc cagttcggat ttagtctgtc	1260
aactcgacta catgaagttg gaatcgctag taatcgtaga tcagctatgc tacgagtga	1320
tacgttcccg ggtcttgtac tcaccgcccgc tcacaccatg ggagttgaac tcattcgaag	1380
cggggatgct aaagtagcta ccttcacagc tggattcagc gactggggtg aagtcgtaac	1440
aaggtaaccg taggagaacc	1460

<210> 19

<211> 1483

<212> ADN

<213> *Arcobacter thereius*

<220>

<221> misc_feature

<222> (1478)..(1478)

<223> N e s a , c , g o t

<400> 19

tagagtttga tcatggctca gagtgaacgc tggcggcgtg cttaacacat gcaagtcgaa	60
cgagaacggg ctatagcttg ctatagttgt cagctaagtg gcgcacgggt gagtaatgta	120
taggtaatat gccttttact aagggataac agttggaaac gactgctaata accttatatt	180
ccttttcaac ataagttgat aagggaaaga tttattggta agagattagc ctgtattgta	240
tcagttagtt ggtggggtaa tggctcacca agacaatgac gcataactgg tttgagagga	300
tgatcagtca cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga	360
atattgcaca atggacggaa gtctgatgca gcaacgccgc gtggaggatg acacatttcg	420
gtgcgtaaac tccttttata taagaagata atgacgggat tatatgaata agcaccggct	480
aactccgtgc cagcagccgc ggtaatacgg ggggtgcaag cgttactcgg aatcactggg	540
cgtaaagagc atgtaggcgg attgataagt ttgaagtga atcctatagc ttaactatag	600
aactgctttg aaaactgtta atctagaatg tgggagagggt agatggaatt tctggtgtag	660
gggtaaaatc cgtagagatc agaaggaata ccgattgcga aggcgatcta ctggaacact	720

attgacgctg agatgcgaaa gcgtggggag caaacaggat tagataccct ggtagtccac	780
gccctaaacg atgtacacta gttgtttgtga gacttgatct tgcagtaatg cagttaacac	840
attaagtgta ccgcctgggg agtacggtcg caagattaaa actcaaagga atagacgggg	900
acccgcacaa gcggtggagc atgtggttta attcgacgat acgcgaagaa ccttacctgg	960
acttgacata gtaagaactt tcaagagatt gattggtgtc tgcttgcaga aacttatata	1020
cagggtgctgc acggctgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcacg	1080
agcgcaaccc tcgtgttttag ttgctaacag ttcggctgag aactctaaac agactgccta	1140
cgcaagtagg aggaaggtga ggacgacgtc aagtcatcat ggcccttacg tccagggcta	1200
cacacgtgct acaatgggat atacagtgag ctgcgataca gtgatgtgga gcaaacttta	1260
taaaatatct ccagttcgg attgtagtct gcaactcgac tacatgaagt tggaatcgct	1320
agtaatcgta gatcagctat gctacggtga atacgttccc gggctcttgta ctaccgccc	1380
gtcacaccat gggagtcgaa ctcatcgaa gcggggatgc taaagtagct accttcaca	1440
gtggatttgg cgactggggt gaagtcgtaa caaggtancc gta	1483

<210> 20

<211> 1462

<212> ADN

<213> Arcobacter skirrowi

<220>

<221> misc_feature

<222> (171)..(171)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (187)..(187)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (789)..(789)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (818)..(818)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (918)..(925)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (940)..(943)

<223> N e s a , c , g o t

<400> 20

atggagagtt tgatcctggc tcagagtga cgcctggcggc gtgcttaaca catgcaagtc 60

gaacgagaac gggctatagc ttgctatagt tgtcagctaa gtggcgacg ggtgagtaat 120

gtataggtaa tatgcctctt actaagggat aacaaatgga aacgtttgct natakcttat 180

actcctntta aacaaaagtt taaaaggga agatttattg gtaagagatt agcctgtatt 240

gtatcagtta gttggtggg taatggctta ccaagactat gacacataac tggtttgaga 300

ggatgatcag tcacactgga actgagacac ggtccagact cctrcgggag gcagcagtgg 360

ggaatattgc acaatggacg aaagtctgat gcagcaacgc cgcgtggagg atgacacatt 420

tcggtgcgta aactcctttt atataagaag ataatgacgg tatttatatga ataagcaccg 480

gctaactccg tgccagcagc cgcggaata cgggggggtgc aagcgttact cggaatcact 540

gggcgtaaag agcatgtagg cggattaata agtttgaagt gaaatcctat agcttaacta 600

tagaactgct ttgaaaactg ttgatctaga atgtgggaga ggtagatgga atttctggtg 660

taggggtaaa atccgtagag atcagaagga ataccgattg cgaaggcgat ttactggaac 720

acaattgacg ctgagatgcg aaagcgtggg gagcaaacag gattagatac cctggtagtc 780

cacgccctna acgatgtaca ctagttgttg tgagactnga tcttgagta atgcagttaa	840
cacattaagt gtaccgcctg gggagtagcg tcgcaagatt aaaactcaaa ggaatagacg	900
gggacccgca caagcggnnn nnnnngtggg ttaattcgan nnnacacgaa gaaccttacc	960
tkgacttgac atagtaagaa ctttctagag atagattggg gtctgcttgc agaaacttat	1020
atacaggtgc tgcacggctg tcgtcagctc gtgtcgtgag atgttggggt aagccccgca	1080
acgagcgcaa ccctcgtggt tagttgctaa cagttcgggt gagaactcta aacagactgc	1140
ctacgcaagt aggaggaagg tgaggacgac gtcaagtcac catggccctt acgtccaggg	1200
ctacacacgt gctacaatgg gatatacaaa gagcggcaat acggtgacgt ggagcaaata	1260
ttataaaata tctcccagtt cggattgtag tctgcaactc gactacatga agttggaatc	1320
gctagtaata gtagatcagc tatgctacgg tgaatacgtt cccgggtctt gtactcaccg	1380
cccgtcacac catgggagtc gaactcattc gaagcgggga tgctaaagta gctaccttcc	1440
acagtggatt tggcgactgg gg	1462

<210> 21

<211> 1462

<212> ADN

<213> Arcobacter butzleri

<220>

<221> misc_feature

<222> (171)..(171)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (187)..(187)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (789)..(789)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (818)..(818)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (918)..(925)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (940)..(943)

<223> N es a, c, g o t

<400> 21

atggagaggtt tgatcctggc tcagagtga	cgctggcggc gtgcttaaca catgcaagtc	60
gaacgagaac gggctatagc ttgctatagt	tgtcagctaa gtggcgcacg ggtgagtaat	120
gtataggtaa tatgcctctt actaagggat	aacaaatgga aacgtttgct natakcttat	180
actcctntta aacaaaagtt taaaaggga	agatttattg gtaagagatt agcctgtatt	240
gtatcagtta gttggtgggg taatggctta	ccaagactat gacacataac tggtttgaga	300
ggatgatcag tcacactgga actgagacac	ggccagact cctrcgggag gcagcagtgg	360
ggaatattgc acaatggacg aaagtctgat	gcagcaacgc cgcgtggagg atgacacatt	420
tcggtgcgta aactcctttt atataagaag	ataatgacgg tattatatga ataagcaccg	480
gctaactccg tgccagcagc cgcggaata	cggggggtgc aagcgttact cggaatcact	540
ggcgtaaaag agcatgtagg cggattaata	agtttgaagt gaaatcctat agcttaacta	600
tagaactgct ttgaaaactg ttgatctaga	atgtgggaga ggtagatgga atttctggtg	660
taggggtaaa atccgtagag atcagaagga	ataccgattg cgaaggcgat ttactggaac	720
acaattgacg ctgagatgcg aaagcgtggg	gagcaaacag gattagatac cctggtagtc	780
cacgccctna acgatgtaca ctagttgttg	tgagactnga tcttgagta atgcagttaa	840

cacattaagt gtaccgcctg gggagtacgg tcgcaagatt aaaactcaaa ggaatagacg	900
gggacccgca caagcggnnn nnnnngtggg ttaattcgan nnnacacgaa gaaccttacc	960
tkgacttgac atagtaagaa ctttctagag atagattggg gtctgcttgc agaaacttat	1020
atacaggtgc tgcacggctg tcgtcagctc gtgtcgtgag atgttggggt aagtcccgca	1080
acgagcgcaa ccctcgtggt tagttgctaa cagttcggct gagaactcta aacagactgc	1140
ctacgcaagt aggaggaagg tgaggacgac gtcaagtcac catggccctt acgtccaggg	1200
ctacacacgt gctacaatgg gatatacaaa gagcggcaat acggtgacgt ggagcaaadc	1260
ttataaaata tctcccagtt cggattgtag tctgcaactc gactacatga agttggaatc	1320
gctagtaatc gtagatcagc tatgctacgg tgaatacgtt cccgggtctt gtactcaccg	1380
cccgtcacac catgggagtc gaactcattc gaagcgggga tgctaaagta gctaccttcc	1440
acagtggatt tggcgactgg gg	1462

<210> 22

<211> 1515

<212> ADN

<213> Arcobacter butzleri

<400> 22

atggagagtt tgatcctggc tcagagtgaac cgctggcggc gtgcttaaca catgcaagtc	60
--	----

gaacgagaac ggattatagc ttgctataat tgtcagctaa gtggcgcacg ggtgagtaat	120
gtataggtaa tatgcctctt actaagggat aacaattgga aacgattgct aataccttat	180
attccttttt atcaaaagat aaaaaggga agatttattg gtaagagatt agcctgtatt	240
gtatcagtta gttggtgggg taatggccta ccaagacgat gacgcataac tggtttgaga	300
ggatgatcag tcacactgga actgagacac ggtccagact cctacgggag gcagcagtgg	360
ggaatattgc acaatggacg aaagtctgat gcagcaacgc cgcgtggagg atgacacatt	420
tcggtgcgta aactcctttt atataagaag ataatgacgg tattatatga ataagcaccg	480
gctaactccg tgccagcagc cgcggtaata cggaggggtgc aagcgttact cggaatcact	540
gggcgtaaag agcgtgtagg cggattgata agtttgaagt gaaatcctat agcttaacta	600
tagaactgct ttgaaaactg ttaatctaga atgtgggaga ggtagatgga atttctggtg	660
taggggtaaa atccgtagag atcagaagga ataccgattg cgaaggcgat ctactggaac	720
aatattgacg ctgagacgcg aaagcgtggg gagcaaacag gattagatac cctggtagtc	780
cacgccctaa acgatgtaca ctagttgttg tgaggctcga ccttgacgta atgcagttaa	840
cacattaagt gtaccgcctg gggagtacgg tcgcaagatt aaaactcaaa ggaatagacg	900
gggacccgca caagcgtgg agcatgtggt ttaattcgac gatacacgaa gaaccttacc	960

tggacttgac atagtaagaa tgatttagag atagattagt gtctgcttgc agaaacttgc	1020
atacaggtgc tgcacggctg tcgtcagctc gtgtcgtgag atgttgggtt aagtcccgc	1080
acgagcgcaa ccctcgtcct tagttgctaa cagttcgggt gagaactcta aggagactgc	1140
ctacgcaagt aggaggaagg tgaggatgac gtcaagtcac catggccctt acgtccagg	1200
ctacacacgt gctacaatgg ggtatacaaa gagcagcaat acggtgacgt ggagcaaatac	1260
tcaaaaatgc ctcccagttc ggattgtagt ctgcaactcg actacatgaa gttggaatcg	1320
ctagtaatcg tagatcagct atgctacggt gaatacgttc ccgggtcttg tactcaccgc	1380
ccgtcacacc atgggagttg aactcattcg aagcggggat gctaaagtag ctaccttcca	1440
cagtggattc agcgactggg gtgaagtcgt aacaaggtaa ccgtaggaga acctgcggtt	1500
ggatcacctc ctttc	1515

<210> 23

<211> 1453

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 23

cctggctcag agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac gagaaacggt	60
ctagcttgct agatgcagtc taagtggcgc acgggtgagt aatatatagg taatatgcct	120
cttactaagg gataacagat ggaaacgtct gctaatacct tatatgcctt taggactaaa	180
gtccgcaagg gaaagattta tcggtaagag attagcctgt acagtatcag ttagttggtg	240
aggtaatggc tcaccaagac tatgacactt aactggtttg agaggatgat cagtcacact	300
ggaactgaga cacggtccag actcctacgg gaggcagcag tggggaatat tgcacaatgg	360
acggaagtct gatgcagcaa cgccgcgtgg aggatgacac atttcggtgc gtaaactcct	420
tttatatgag aagataatga cggtatcata tgaataagca ccggctaact ccgtgccagc	480
agccgcggta atacggaggg tgcaagcgtt actcggaatc actgggcgta aagagcgtgt	540
aggcgggttg ataagtttga agtgaaatcc tatagcttaa ctatagaact gctttgaaaa	600
ctgttaacct agaatatggg agaggtagat ggaatttctg gtgtaggggt aaaatccgta	660
gagatcagaa ggaataccga ttgcgaaggc gatctactgg aacattattg acgtgagac	720
gcgaaagcgt gggtagcaaa caggattaga taccctggta gtccacgcc taaacgatgt	780
acactagttg ttgtgaggct cgaccttgca gtaatgcagt taacacatta agtgtaccgc	840
ctggggagta cggtcgcaag attaaaactc aaaggaatag acggggaccc gcacaagcgg	900

tggagcatgt ggtttaattc gacgatacac gaagaacctt acctggactt gacatagtaa	960
gaactttcta gagatagatt ggtgtctgct tgcagaaact tatatacagg tgctgcacgg	1020
ctgtcgtcag ctcggtgctgt gagatgttgg gttaagtccc gcaacgagcg caaccctcgt	1080
cattagttgc taacagttcg gctgagaact ctaatgagac tgcctacgta agtaggagga	1140
aggtgaggac gacgtcaagt catcatggcc cttacgtcca gggctacaca cgtgctacaa	1200
tggggtatac aaagagcagc aatacgggtga cgtggagcaa atctcaaaaa tatctcccag	1260
ttcggattgt agtctgcaac tcgactacat gaagttggaa tcgctagtaa tcgtagatca	1320
gctatgctac ggtgaatacg ttcccgggtc ttgtactcac cgcccgtcac accatgggag	1380
ttgaactcat tcgaagcggg gatgctaaag tagctacott ccacagtgga tttagcgact	1440
ggggtgaagt cgt	1453

<210> 24

<211> 1478

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 24

agagtttgat catggctcag agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac	60
gagaaacgta tttagtttac taaatagcag tctaagtggc gcacgggtga gtaatgtata	120
ggtaacatgc ctcttactaa gggataacag atggaaacgt ctgctaatac cttatatgcc	180
tttaatacgg aagtatgcaa gggaaagatt tattggtaag agattggcct gtatgggtatc	240
agttagttagg tgaggtaatg gctcaccaag acaatgacac ctaactgggt tgagaggatg	300
atcagtcaca ctggaactga gacacggtcc agactcctac gggaggcagc agtggggaat	360
attgcacaat ggacgaaagt ctgatgcagc aacgccgcgt ggaggatgac acatttcggt	420
gcgtaaaactc cttttatagg tcaagataat gacggtagcc tatgaataag cgccggctaa	480
ctccgtgcc a gcagccgcg taatacggag ggcgcaagcg ttactcgga tcaactgggcg	540
taaagagcgt gtaggcggac taataagtca gaagtgaaat ccaatagctt aactattgaa	600
ctgcttttga aactgtttgt ctagagtgtg ggagaggtag atggaatttc tgggtgtaggg	660
gtaaaatccg tagatatcag aaggaatacc gattgcgaag gcgatctact ggaacataac	720
tgacgctgag acgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataccctgg tagtccacgc	780
cctaaacgat gtacactagt tgttgccttg ctagacaagg cagtaatgca cctaacggat	840
taagtgtacc gcctggggag tacggtcgca agattaaaac tcaaaggaat agacggggac	900

ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgacgatac gcgaagaacc ttacctggtc	960
ttgacatagt aagaactttc cagagatgga ttggtgctag cttgctagaa cttacataca	1020
ggtgctgcac ggctgtcgtc agctcgtgtc gtgagatggt gggttaagtc ccgcaacgag	1080
cgcaaccctc gtgttttagtt gctaacagtt cggctgagaa ctctaaacag actgcctacg	1140
caagtaggag gaaggtgagg acgacgtcaa gtcatcatgg cccttacgac cagggctaca	1200
cacgtgctac aatgggggtat acaaagagca gcgatacggg gacgtggagc aaatctataa	1260
aatgcctctc agttcggatt gtagtctgca actcgactac atgaagttgg aatcgctagt	1320
aatcgctgat cagcaatgcc acggtgaata cgttccccggg tcttgactc accgcccgtc	1380
acaccatggg agttgaattc attcgaagcg gggatgctaa agtagctacc ttccacagtg	1440
gatttagcga ctgggggtgaa gtcgtaacaa ggtaaccg	1478

<210> 25

<211> 1478

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 25

agagtttgat tatggctcag agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac	60
gagaaacgta tttagtttac taaatagcag tctaagtggc gcacgggtga gtaatgtata	120
ggtaacatgc ctcttactaa gggataacag atggaaacgt ctgctaatac cttatatgcc	180
tttaatacgg aagtatgcaa gggaaagatt tattggtaag agattggcct gtatggtatc	240
agttagttagg tgaggtaatg gctcaccaag acaatgacac ctaactgggt tgagaggatg	300
atcagtcaca ctggaactga gacacggtcc agactcctac gggaggcagc agtggggaat	360
attgcacaat ggacgaaagt ctgatgcagc aacgccgcgt ggaggatgac acatttcggt	420
gcgtaaaactc cttttatagg tcaagataat gacggtagcc tatgaataag cgccggctaa	480
ctccgtgcc a gcagccgcg taatacggag ggcgcaagcg ttactcgga tcaactgggcg	540
taaagagcgt gtaggcggac taataagtca gaagtgaat ccaatagctt aactattgaa	600
ctgcttttga aactgtttgt ctagagtgtg ggagaggtag atggaatttc tgggtgtaggg	660
gtaaaatccg tagatatcag aaggaatacc gattgcgaag gcgatctact ggaacataac	720
tgacgctgag acgcgaaagc gtggggagca aacaggatta gataccctgg tagtccacgc	780
cctaaacgat gtacactagt tgttgccttg ctagacaagg cagtaatgca cctaacggat	840
taagtgtacc gcctggggag tacggtcgca agattaaaac tcaaaggaat agacggggac	900

ccgcacaagc ggtggagcat gtggtttaat tcgacgatac gcgaagaacc ttacctggtc	960
ttgacatagt aagaactttc cagagatgga ttggtgctag cttgctagaa cttacataca	1020
ggtgctgcac ggctgtcgtc agctcgtgtc gtgagatggt gggttaagtc ccgcaacgag	1080
cgcaaccctc gtgttttagtt gctaacagtt cggctgagaa ctctaaacag actgcctacg	1140
caagtaggag gaaggtgagg acgacgtcaa gtcacatggt cccttacgac cagggctaca	1200
cacgtgctac aatgggggtat acaaagagca gcgatacggg gacgtggagc aaatctataa	1260
aatgcctctc agttcggatt gtagtctgca actcgactac atgaagttgg aatcgctagt	1320
aatcggtgat cagcaatgcc acggtgaata cgttccccggg tcttgactc accgcccgtc	1380
acaccatggg agttgaattc attcgaagcg gggatgctaa agtagctacc ttccacagtg	1440
gatttagcga ctggggtgaa gtcgtaacaa ggtaaccg	1478

<210> 26

<211> 1431

<212> ADN

<213> Arcobacter sulfidicus

<400> 26

gtgaacgctg gcggcgtgct taacacatgc aagtcgaacg agaacggatt aaagcttgct	60
---	----

ttaattgtca gctaagtggc gcacgggtga gtaatgtata ggtaatgtgc ctaagagaag	120
gggataacag atggaaacgc ctgctaagac cctatatgcc tttagaaca aagttygcaa	180
gggaaatatt tatagctctt cgatcggcct atattgtatc agtttgttgg tggggtaatg	240
gcctaccaag actatgacgc ataactggtt tgagaggatg atcagtcaca ctggaactga	300
gacacgggcc agactcctac gggaggcagc agtggggaat attgcacaat gggggaaacc	360
ctgatgcagc aacgccgcgt ggaggatgac acatttcggt gcgtaaactc cttttatata	420
agaagaaaat gacggtatta tatgaataag caccggctaa ctccgtgcc a gcagccgcgg	480
taatacgggg ggtgcaagcg ttactcgga tcaactggcg taaagcgc at gtaggcggat	540
agataagttg gaagtgaaat cctatggctt aaccatagaa ctgcttcaa aactgtctat	600
ctagaatatg ggagaggtag atggaatttc tgggtgtaggg gtaaaatccg tagagatcag	660
aaggaatacc gattgcgaag gcgatctact ggaacattat tgacgctgag atgcgaaagc	720
gtggggagca aacaggatta gataccctgg tagtccacgc cctaaacgat gtacactagt	780
tgttgcgatg ctagacattg cagtaatgca gttaacacat taagtgtacc gcctggggag	840
tacggtcgca agattaaaac tcaaaggaat agacggggac ccgcacaagc ggtggagcat	900
gtggtttaat tcgacgatac gcgaagaacc ttacctggcc ttgacatacc aagaacttat	960

cagagatgat ttggtgctag cttgctagaa cttggataca ggtgctgcac ggctgtcgtc	1020
agctcgtgtc gtgagatggt gggttaagtc ccgcaacgag cgcaaccac gtgtttagtt	1080
actaacagtt cggctgagga ctctaaacag actgccttcg caaggaggag gaaggtgtgg	1140
acgacgtcaa gtcacatggt cccttacggc cagggctaca cacgtgctac aatggggtat	1200
acaaagagcc gcaataccgc gaggtggagc aaatctcata aaatatctcc cagttcggat	1260
agtactctgc aactcgagtg cttgaagttg gaatcgctag taatcgtaaa tcagcaatgt	1320
tacgggtgaat acgttcccgg gtcttgact caccgcccggt cacaccatgg gagttgattt	1380
cattcgaagc ggggatgcta agatagctac cttccacagt ggaattagcg a	1431

<210> 27

<211> 1483

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Clon BP-B88 de bacteria sin cultivar

<400> 27

tagagtttga tcctggctca gagtgaacgc tggcggcgtg cttaacacat gcaagtcgaa	60
cgagaaacgg atttagcttg ctaaattgca gtctaagtgg cgcacgggtg agtaatgtat	120

aggtaacatg ccttttagta ggggataaca gatggaaacg tctgctaata ccctatattc	180
cttattagcg taagtgtgta agggaaagat ttattgctaa aagattggcc tatattgtat	240
cagctagttg gtagtgtaat ggactaccaa ggctatgacg cataactggg ttgagaggat	300
gatcagtcac actggaactg agacacgggc cagactccta cgggaggcag cagtggggaa	360
tattgcacaa tgggggaaac cctgatgcag caacgccgcg tggaggatga cacatttcgg	420
tgcgtaaact ccttttataa gagaagataa tgacgggtatc ttatgaataa gcaccggcta	480
actccgtgcc agcagccgcg gtaatacggg ggggtgcaagc gttactcgga atcactgggc	540
gtaaagagcg tgtaggcgga tttgtaagtt gggagtgaag gcctatggct caaccataga	600
actgcttcca aaactgcatg tctagagtgt gggagaggta gatggaattt ctggtgtagg	660
ggtaaaatcc gtagagatca gaaggaatac cgattgcgaa ggcgatctac tggaacataa	720
ctgacgctga gacgcgaaag cgtggggagt aaacaggatt agataccctg gtagtccacg	780
ccctaaacga tgtacactag ttgttgtagg gttcgacctt gcagtaatgc agttaacaca	840
gtaagtgtac cgctgggga gtacggtcgc aagattaaaa ctcaaaggaa tagacgggga	900
ccgcacaag cgggtggagca tgtgggttaa ttcgaagata cgcaagaac cttacctgga	960
cttgacattg aaagaatcct gtagagatac gggagtgcga gcttgctaga gcttgaaaac	1020

aggtgctgca cggctgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga	1080
gcgcaaccca cgtcgttagt tgctaacagt taggctgaga actctaacga gactgccttc	1140
gtaaggagga ggaagggtgtg gacgacgtca agtcatcatg gcccttacgt ccagggctac	1200
acacgtgcta caatggggta taaaagagc agcaatacgg tgacgtggag caaatctcat	1260
aaaatgcctc ccagttcgga ttgtagtctg caactcgact acatgaagtt ggaatcgcta	1320
gtaatcgtag atcagcattg ctacggtgaa tacgttcccg ggtcttgtag tcaccgccc	1380
tcacaccatg ggagttgatt tcgccttaag tcaaaatgct aaaatagcta ttgcccacgg	1440
cggaatcagc gactgggggtg aagtcgtaac aaggtaaccg taa	1483

<210> 28

<211> 1279

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Bacteria FWKOB de campo petrolero

<220>

<221> misc_feature

<222> (10)..(10)

<223> N es a, c, g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (322)..(322)

<223> N e s a , c , g o t

<400> 28

aacacatgcn agtcgaacga gaaacggatt tagcttgcta aattgcagtc taagtggcgc 60

acgggtgagt aatgtatagg taacatgcct tctactaggg gataacagtt ggaaacgact 120

gctaataccc tatattcctt attagcacia gtgtgtaagg gaaagattca ttggtagaag 180

attggcctat attgtatcag ctagttggtg gtgtaatgga ctaccaaggc tatgacgcat 240

aactggtttg agaggatgat cagtcacact ggaactgaga cacggtccag actcctacgg 300

gaggcagcag tggggaatat tncacaatgg gcgaaagcct gatgcagcaa cgccgcgtgg 360

aggatgacac atttcggtgc gtaaactcct tttatatggg aagataatga cggtagcata 420

tgaataagca ccggctaact ccgtgccagc agccgcggta atacggaggg tgcaagcggtt 480

actcggaatt actgggcgta aagagcgtgt aggcgggtta ataagttgga agtgaaatcc 540

tatggcttaa ccatagaact gcttccaaaa ctgtagcct agagtgtggg agaggtagat 600

ggaatttctg gtgtaggggt aaaatccgta gatatcagaa ggaataccga ttgcgaaggc 660

gatctactgg aacataactg acgctgagac gcgaaagcgt ggggagcaaa caggattaga 720

taccctggta gtccacgccc taaacgatgc acactagttg ttgtgaggct cgaccttgca	780
gtaatgcagt taacacagta agtgtgccgc ctggggagta cggtcgcaag attaaaaactc	840
aaaggaatag acgggggaccc gcacaagcgg tggagcatgt ggtttaattc gaagatacgc	900
gaagaacctt acctggcctt gacattgata gaatctggta gagatactgg agtgctagct	960
tgctagaact tgaaaacagg tgctgcacgg ctgtcgtcag ctcgtgtcgt gagatgttgg	1020
gttaagtccc gcaacgagcg caaccctcgt cgttagttgc taacagttag gctgagaact	1080
ctaacgagac tgccttcgta aggaggagga aggtgaggac gacgtcaagt catcatggcc	1140
cttacggcca gggctacaca cgtgctacaa tgggggtgtac agaaagctgc aatatcgcg	1200
gatggagcaa atctcaaaaa cacctcccag ttcggattgt tctctgcaac tcgagaacat	1260
gaagttggaa tcgctagta	1279

<210> 29

<211> 1464

<212> ADN

<213> *Sulfurospirillum multivorans*

<400> 29

agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac ggataaaata agcttgctta	60
---	----

ttttgttagt ggcgcacggg tgagtaatat atagctaacc tgccctttag tgggggacaa	120
cagttggaaa cgactgctaa tacccatac tccttcttgt cttaagataa gttgggaaag	180
atttatcgct aaaggatggg gctttattgt atcagctagt tgggtgggga atggcctacc	240
aaggctatga cgcatacctg gtctgagagg atgatcaggc aactggaac tgagacacgg	300
tccagactcc tacgggaggc agcagtgggg aatattgcac aatggaggaa actctgatgc	360
agcaacgccg cgtggaggat gacgcatttc ggtgtgtaaa ctccctttat aggggaagat	420
aatgacggta ccctatgaat aagcaccggc taactccgtg ccagcagccg cgtaatacgc	480
gagggtgcaa gcgttactcg gaatcactgg gcgtaaagga tgcgtaggct ggaaatcaag	540
tcgagagtga aatccaacgg ctcaaccgtt gaactgctct cgaaactggg tacctagaat	600
atgggagagg tagatggaat tagtggtgta ggggtaaaat ccgtagatat cactaggaat	660
accgattgcg aaggcgatct actggaacat tattgacgct gaggcataaa agcgtgggga	720
gcaaacagga ttagataccc tggtagtcca cgcctaaac gatgcacact agttgttgcg	780
atgctagtca ttgcagtaat gcacttaaca gattaagtgt gccgcctggg gactacggtc	840
gcaagattaa aactcaaagg aatagacggg gacccgcaca agcgggtggag catgtggttt	900
aattcgaaga tacacgaaga accttacctg gccttgatat cctaagaatc ctgtagagat	960

acgggagtg	c tagtttacta	gaacttagag	acaggtgctg	cacggctgtc	gtcagctcgt	1020
gtcgtgagat	gttgggttaa	gtcccgcaac	gagcgcaacc	ctcgtgatta	gttgctaaca	1080
gttcggctga	gcactcta	at cagactgcct	tcgtaaggag	gaggaagg	tg aggacgacgt	1140
caagtcatca	tggcccttat	ggccagggct	acacacgtgc	tacaatggct	aggacaaaga	1200
gacgcgatac	tgcgaagtgg	agcaa	atctt aaaacctagt	ctcagttcgg	attgaagtct	1260
gcaactcgac	ttcatgaagc	tggaatcgct	agtaatcgta	gatcagatat	gctacggtga	1320
atacgttccc	gggtcttgta	ctcaccgccc	gtcacaccat	gggagttgaa	ttcacccgaa	1380
gccggaatac	taaactagtt	accgaccacg	gygggttcag	cgactgggg	t gaagtcgtaa	1440
caaggt	aacc gtaggagaac	ctgc				1464

<210> 30

<211> 1470

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Clon AS077_B63 de bacteria

<400> 30

agagtttgat	cctggctcag	agtgaacgct	ggcggcgtgc	ttaacacatg	caagtcgaac	60
------------	------------	------------	------------	------------	------------	----

gatgaagctc tagcttgcta gagtggatta gtggcgcacg ggtgaggaat atatagctaa	120
tgtacccctt agagggggat aacagttgga aacgactgct aatacccat actccttctt	180
gtcataagag aagttgggaa agttttttcg ctaagggatc gggctatacg gtatcagctt	240
gttggtgagg taatggctca ccaaggctat gacgcctaac tggctctgaga ggatgatcag	300
tcacactgga actgagacac ggtccagact cctacgggag gcagcagtgg ggaatattgc	360
acaatggggg aagccctgat gcagcaacgc cgcgtggagg atgacacatt tcggtgcgta	420
aactcctttt atatgggaag ataatgacgg taccatatga ataagcaccg gctaactccg	480
tgccagcagc cgcggtaata cggaggggtgc aagcgttact cggactcact gggcgtaaag	540
cgcgcgcagg cggtcctta agttggatgt gaaatcctat ggctcaacca tagaactgca	600
tccaaaactg aggggctaga gtctgggagg ggaagatgga attagtgggtg taggggtaaa	660
atccgtagag atcactagga ataccaaaag cgaaggcgat cttctggaac agtactgacg	720
ctgaggcgcg aaagcgtggg gagcaaacag gattagatac cctggtagtc cacgccctaa	780
actatgaatg ttagtcgtcg gggagcttgt cttctcgggtg atgcagctaa cgcattaaac	840
attccgcctg gggagtacgg tcgcaagatt aaaactcaaa ggaatagacg gggacccgca	900
caagtgggtg agcatgtggt ttaattcgaa gatacgcaaa gaaccttacc tggccttgac	960

attgatagaa tctgctagag atagtggagt gcccttcggg gagcttgaaa acaggtgctg	1020
cacggctgtc gtcagctcgt gtcgtgagat gttgggttaa gtcccgaac gagcgcaacc	1080
ctcgtcacta gttactaacg gttcggccga ggactctagt gagactgcct tcgtaaggag	1140
gaggaaggtg aggacgacgt caagtcatca tggcccttac ggccagggcg acacacgtgc	1200
tacaatggga tgtacaatga gacgcaatac cgcgaggtgg agcaaata taaagcatct	1260
ctcagttcgg attgtagtct gcaactcgac tacatgaagc tggaatcacc agtaatcgta	1320
gatcagccat gctacggtga atacgttccc ggggtcttgta ctaccgccc gtcacaccat	1380
gggagttgat ttcacccgaa gcggggaagc taaattggct accctccacg gtgggatcag	1440
cgactggggg gaagtcgtaa caagtaacc	1470

<210> 31

<211> 1277

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especie *Thiomicrospira*

<220>

<221> misc_feature

<222> (115)..(115)
<223> N es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (927)..(927)
<223> N es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (945)..(946)
<223> N es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (949)..(949)
<223> N es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (1211)..(1211)
<223> N es a, c, g o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (1271)..(1271)
<223> N es a, c, g o t

<400> 31

aacacatgcc agtcgaacgg taacgcaaag tgcttgcaact ttggcgacga gtggcgcacg

ggtgagtaat atatagttaa tgtaccttca agaccgggat agccattgga aacgntgatt	120
aataccggat acaccttcat accataagat atgaagggaa atgttttttc gcttgaagat	180
cagactatat cccatcagtt tgttggtgag gtaagagctc accaagacta tgacgggtag	240
cgggtttgag aggatgatcc gccacactgg tactgagaca cggaccagac tcctacggga	300
ggcagcagtg aggaatattg cacaatggag gaaactctga tgcagcaacg ccgcgtggag	360
gatgacgcat ttcggtgtgt aaactccttt tatatgtcaa gaaaatgacg gtagcatatg	420
aataagcacc ggctaactcc gtgccagcag ccgcggtaat acggaggggtg caagcggttac	480
tcggaatcac tgggcgtaag ggacgcgtag gcgggatata aagtcagggtg tgaaatccta	540
cagcttaact gtagaactgc acttgaaaact ggtaacctag agtatgggag ggggagatgg	600
aattagtggg gtaggggtaa aatccgtaga tatcactagg aatacctaaa gcgaaggcga	660
tctcctggaa cataactgac gctaaggcgt gaaagcgtgg ggagcaaaca ggattagata	720
ccctggtagt ccacgccta aacgatgaac actagtcgtc gtgatgcttg tcattgcggt	780
gatgcactta acagattaag tgttccgcct ggggagtacg gtcgcaagat taaaactcaa	840
aggaatagac ggggaccgc acaagtgtg gagcatgtgg tttaattcga agatacgca	900
agaaccttac ctggccttga cattganaga aactgtaga gatanngtng tgcccttcgg	960

ggagcttgaa aacaggtgct gcacggctgt cgtcagctcg tgtcgtgaga tgttgggtta	1020
agtcccgcaa cgagcgcaac cctcgtcctt agttgccagc aggttaagct gggcactcta	1080
aggagactgc cttcgcaagg aggaggaagg tgaggacgac gtcaagtcac catggccctt	1140
acggccaggg ctacacacgt gctacaatgg ggcgtacaga gtgttgcaat accgcgaggt	1200
ggagccaatc ncttaaagcg tctctcagtt cggattggag tctgcaactc gactccatga	1260
agctggaatc nctagta	1277

<210> 32

<211> 1341

<212> ADN

<213> Escherichia coli

<400> 32

agtcgaacgg taacaggaag aagcttgctt ctttgctgac gagtggcgga cgggtgagta	60
atgtctggga aactgcctga tggaggggga taactactgg aaacggtagc taataaccga	120
taacgtcgca agaccaaaga gggggacctt cgggcctctt gccatcggat gtgcccagat	180
gggattagct agtaggtggg gtaacggctc acctaggcga cgatccctag ctggtctgag	240
aggatgacca gccacactgg aactgagaca cgggtccagac tcctacggga ggcagcagtg	300

gggaatattg cacaatgggc gcaagcctga tgcagccatg ccgcgtgtat gaagaaggcc	360
ttcgggttgt aaagtacttt cagcggggag gaagggagta aagttaatac ctttgctcat	420
tgacgttacc cgcagaagaa gcaccggcta actccgtgcc agcagccgcg gtaatacgg	480
gggtgcaagc gttaatcgg	540
agatgtgaaa tccccgggct caacctggga actgcatctg atactggcaa gcttgagtct	600
cgtagagggg ggtagaattc caggtgtagc ggtgaaatgc gtagagatct ggaggaatac	660
cgggtggcgaa ggcgggcccc tggacgaaga ctgacgctca ggtgcgaaag cgtggggagc	720
aaacaggatt agataccctg gtagtccacg ccgtaaacga tgtcgacttg gaggttgtgc	780
ccttgaggcg tggcttccgg agctaacgcg ttaagtcgac cgcctgggga gtacggccgc	840
aagggtaaaa ctcaaatgaa ttgacggggg cccgcacaag cgggtggagca tgtggtttaa	900
ttcgatgcaa cgcgaagaac cttacctggc cttgacatcc acggaagttt tcagagatga	960
gaatgtgcct tcgggaaccg tgagacaggt gctgcatggc tgtcgtcagc tcgtgttgtg	1020
aaatgttggg ttaagtcccg caacgagcgc aacccttata ctttgttgcc agcgtccgg	1080
ccgggaactc aaaggagact gccagtgata aactggagga aggtggggat gacgtcaagt	1140
catcatggcc cttacgacca gggctacaca cgtgctacaa tggcgcatatc aaagagaagc	1200

gacctcgcga gagcaagcgg acctcataaa gtgcgtcgta gtccggattg gagtctgcaa 1260

ctcgactcca tgaagtcgga atcgctagta atcgtggatc agaatgccac ggtgaatacg 1320

ttcccggggc ttgtacacac c 1341

<210> 33

<211> 1372

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 33

acgggattag cttgctaadc tgtcagctaa gtggcgcacg ggtgagtaat atataggtaa 60

cgtgccttca agagggggat aacagatgga aacgtctgct aaaaccccat atgcctttaa 120

tgcgaaagta tgcaaggga atatttatag cttgaagatc ggctgtaca gtatcagata 180

gttggtgagg taatagctca ccaagtcaat gacgcttaac tggtttgaga ggaatgacag 240

tcacactgga actgagacac ggtccagact cctacgggag gcagcagtgg ggaatattgc 300

acaatggggg aaaccctgat gcagcaacgc cgcgtggagg atgacacatt tcggtgcgta 360

aactcctttt atataagaag ataatgacgg tattatatga ataagcaccg gctaactccg 420

tgccagcagc cgcggttaata cggagggtgc aagcgttact cggaatcact gggcgtaaag	480
agcgtgtagg cggatagata agtcagaagt gaaatccaat agcttaacta ttgaactgct	540
tttgaaactg tctatctaga gtatgggaga ggtagatgga atttctggtg taggggtaaa	600
atccgtagag atcagaagga ataccgattg cgaaggcgat ctactggaac ataactgacg	660
ctgagacgcg aaagcgtggg gagcaaacag gattagatac cctggtagtc cacgccctaa	720
acgatgtaca ctagttgttg ctatgctcga catagcagta atgcagttaa cacattaagt	780
gtaccgcctg gggagtacgg tcgcaagatt aaaactcaaa ggaatagacg gggacccgca	840
caagcgggtg agcatgtggt ttaattcgac gatacgcgaa gaaccttacc tggctctgac	900
atagtaagaa ccatttagag atagatgggt gtctgcttgc agaaacttat atacaggtgc	960
tgcacggctg tcgtcagctc gtgtcgtgag atgttggggt aagtcccgca acgagcgcaa	1020
ccctcgtcac tagttgctaa cacttcgggt gagaactcta atgagactgc ctacgcaagt	1080
aggaggaagg tgaggacgac gtcaagtcac catggccctt acgaccaggg ctacacacgt	1140
gctacaatgg ggtatacaaa gagcagcgat acagtgatgt ggagcaaata taaaaaatac	1200
ctcccagttc ggattgtagt ctgcaactcg actacatgaa gttggaatcg ctagtaatcg	1260
tagatcagca atgctacggt gaatacgttc ccgggtcttg tactcaccgc ccgtcacacc	1320

atgggagttg atttcactcg aagcggggat gctaagatag ctaccctcca ca 1372

<210> 34

<211> 1389

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 34

atgcaagtcg aacgagaacg ggattagctt gctaactctgt cagctaagtg gcgcacgggt 60

gagtaatata taggtaacgt gccttcaaga gggggataac agatggaaac gtctgctaaa 120

accccatatg cctttaatgc gaaagtatgc aagggaataa tttatagctt gaagatcggc 180

ctgtacagta tcagatagtt ggtgaggtaa tagctcacca agtcaatgac gcttaactgg 240

tttgagagga tgatcagtca cactggaact gagacacggg ccagactcct acgggaggca 300

gcagtgggga atattgcaca atgggggaaa ccctgatgca gcaacgccgc gtggaggatg 360

acacatttcg gtgcgtaaac tccttttata taagaagata atgacggtat tatatgaata 420

agcaccggct aactccgtgc cagcagccgc ggtaatacgg aggggtgcaag cgttactcgg 480

aatcactggg cgtaaagagc gtgtaggcgg atagataagt cagaagtgaa atccaatagc 540

ttaactattg aactgctttt gaaactgtct atctagagta tgggagaggt agatggaatt	600
tctggtgtag gggtaaaatc cgtagagatc agaaggaata ccgattgcga aggcgatcta	660
ctggaacata actgacgctg agacgcgaaa gcgtggggag caaacaggat tagataccct	720
ggtagtccac gccctaaacg atgtacacta gttgttgcca tgctcgacat ggcagtaatg	780
cagttaacac attaagtgtg ccgcctgggg agtacggctg caagattaaa actcaaagga	840
atagacgggg acccgacaaa gcggtggagc atgtggttta attcgacgat acgcgaagaa	900
ccttacctgg tcttgacata gtaagaacca tttagagata gatgggtgtc tgcttgcaga	960
aacttatata caggtgctgc acggctgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag	1020
tcccgaacg agcgcaacc tcgtcattag ttgctaacac ttcgggtgag aactctaattg	1080
agactgccta cgcaagtagg aggaaggtga ggacgacgtc aagtcatcat ggcccttacg	1140
accagggcta cacacgtgct acaatgggg atacaaagag cagcgataca gtgatgtgga	1200
gcaaattctaa aaaatacctc ccagttcgga ttgtagtctg caactcgact acatgaagtt	1260
ggaatcgcta gtaatcgtag atcagcaatg ctacggtgaa tacgttcccg ggtcttgtag	1320
tcaccgcccg tcacaccatg ggagttgatt tcaactgaag cggggatgct aagatagcta	1380
ccctccaca	1389

<210> 35

<211> 937

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 35

ccgcggtaat acggaggggtg caagcggtac tcggaatcac tgggcgtaaa gagcgtgtag 60

gcggatagat aagtcagaag tgaaatccaa tagcttaact attgaactgc ttttgaaact 120

gtctatctag agtatgggag aggtagatgg aatttctggt gtaggggtaa aatccgtaga 180

gatcagaagg aataccgatt gcgaaggcga tctactggaa cataactgac gctgagacgc 240

gaaagcgtgg ggagcaaaca ggattagata ccctggtagt ccacgcccta aacgatgtac 300

actagttggt gctatgctcg acatagcagt aatgcagtta acacattaag tgtaccgcct 360

ggggagtacg gtcgcaagat taaaactcaa aggaatagac ggggacccgc acaagcggtg 420

gagcatgtgg tttaattcga cgatacgca agaaccttac ctggtcttga catagtaaga 480

accatttaga gatagatggg tgtctgcttg cagaaactta tatacaggtg ctgcacggct 540

gtcgtcagct cgtgtcgtga gatgttgggt taagtcccgc aacgagcgca accctcgtca 600

ttagttgcta acacttcggg tgagaactct aatgagactg cctacgcaag taggaggaag	660
gtgaggacga cgtcaagtca tcatggccct tacgaccagg gctacacacg tgctacaatg	720
gggtatacaa agagcagcga tacagtgatg tggagcaaat ctaaaaaata cctcccagtt	780
cggattgtag tctgcaactc gactacatga agttggaatc gctagtaatc gtagatcagc	840
aatgctacgg tgaatacgtt cccgggtctt gtactcaccg cccgtcacac catgggagtt	900
gatttcactc gaagcgggga tgctaagata gctaccc	937

<210> 36

<211> 1381

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 36

agtcgaacga gaacgggatt agcttgctaa tctgtcagct aagtggcgca cgggtgagta	60
atatataggt aacgtgcctt caagaggggg ataacagatg gaaacgtctg ctaaaacccc	120
atatgccttt aatacgaag tatgcaaggg aaatatattat agcttgaaga tcggcctgta	180
cagtatcaga tagttggtga ggtaatagct caccaagtca atgacgctta actggtttga	240

gaggatgata agtcacactg gaactgagac acggtccaga ctcctacggg aggcagcagt	300
ggggaatatt gcacaatggg ggaaaccctg atgcagcaac gccgcgtgga ggatgacaca	360
tttcggtgcg taaactcctt ttatataaga agataatgac ggtattatat gaataagcac	420
cggctaactc cgtgccagca gccgcggtaa tacggagggg gcaagcgta ctcggaatca	480
ctgggcgtaa agagcgtgta ggcggataga taagtcagaa gtgaaatcca atakcttaac	540
tattgaactg cctttgaaac tgtctatcta gagtatggga gaggtagatg gaatttctgg	600
tgtaggggta aaatccgtag agatcagaag gaataccgat tgcgaaggcg atctactgga	660
acataactga cgctgagacg cgaaagcgtg grgagcaaac aggattagat accctggtag	720
tccacgccct aaacgatgta cactagtgtg tgccatgctc gacatggcag taatgcagtt	780
aacacattaa gtgtaccgcc tggggagtac ggtcgcaaga ttaaaactca aaggaataga	840
cggggacccg cacaagcggg ggagcatgtg gtttaattcg acgatacgcg aagaacctta	900
cctggtcttg acatagtaag aaccatttag agatagatgg gtgtctgctt gcagaaactt	960
atatacaggt gctgcacggc tgtcgtcagc tcgtgctgtg agatgttggg ttaagtcccc	1020
caacgagcgc aaccctcgtc attagttgct aacacttcgg gtgagaactc taatgagact	1080
gcctacgcaa gtaggaggaa ggtgaggacg acgtcaagtc atcatggccc ttacgaccag	1140

ggctacacac gtgctacaat ggggtataca aagagcagcg atacagtgat gtggagcaaa	1200
tctaaaaaat acctcccagt tcggattgta gtctgcaact cgactacatg aagttggaat	1260
cgctagtaat cgtagatcag caatgctacg gtgaatacgt tcccgggtct tgtactcacc	1320
gcccgtcaca ccatgggagt tgatttcact cgaagcgggg atgctaagat agctaccctc	1380
c	1381

<210> 37

<211> 1477

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 37

agagtttgat catggctcag agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac	60
gagaacggga ttagcttgct aatctgtcag ctaagtggcg cacgggtgag taatatatag	120
gtaacgtgcc ttcaagaggg ggataacaga tggaaacgtc tgctaagacc ccatatgcct	180
ttaatacaaa agtatgaaag ggaaatattt atagcttgaa gatcggcctg tacagtatca	240
gatagttggt gaggtaatgg ctcaccaagt caatgacgct taactggttt gagaggatga	300

tcagtcacac tggaactgag acacggtcca gactcctacg ggaggcagca gtggggaata	360
ttgcacaatg ggggaaaccc tgatgcagca acgccgcgtg gaggatgaca catttcggtg	420
cgtaaactcc ttttatataa gaagataatg acggtattat atgaataagc accggctaac	480
tccgtgccag cagccgcggt aatacggagg gtgcaagcgt tactcggaat cactgggcgt	540
aaagagcgtg taggcggata gataagtcag aagtgaaatc caatagctta actattgaac	600
tgcttttgaa actgtctatc tagagtatgg gagaggtaga tggaatttct ggtgtagggg	660
taaaatccgt agagatcaga aggaataccg attgcgaagg cgatctactg gaacataact	720
gacgctgaga cgcgaaagcg tggggagcaa acaggattag ataccctggg agtccacgcc	780
ctaaacgatg tacactagtt gttgccatgc tcgacatggc agtaatgcag ttaacacatt	840
aagtgtaccg cctggggagt acggtcgcaa gattaaaact caaaggaata gacggggacc	900
cgcacaagcg gtggagcatg tggtttaatt cgacgatacg cgaagaacct tacctggtct	960
tgacatagta agaaccattt agagatagat ggggtgtctgc ttgcagaaac ttatatacag	1020
gtgctgcacg gctgtcgtca gctcgtgtcg tgagatgttg ggttaagtcc cgcaacgagc	1080
gcaaccctcg tcattagttg ctaacacttc gggtgagaac tctaatagaga ctgcctacgc	1140
aagtaggagg aaggtgagga cgacgtcaag tcatcatggc ccttacgacc agggctacac	1200

acgtgctaca atgggggtata caaagagcag cgatacagtg atgtggagca aatctaaaaa	1260
atacctccca gttcggattg tagtctgcaa ctcgactaca tgaagttgga atcgctagta	1320
atcgtagatc agcaatgcta cggatgaatac gttcccgggt cttgtactca ccgcccgtca	1380
caccatggga gttgatttca ctcgaagcgg ggatgctaag atagctaccc tccacagtgg	1440
aattagcgac tgggggtgaag tcgtaacaag gtaaccg	1477

<210> 38

<211> 1384

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 38

agtcgaacga gaacgggatt agcttgctaa tctgtcagct gagtggcgca cgggtgagta	60
atatataggt aacgtgcctt caagaggggg ataacagatg gaaacgtctg ctaaaacccc	120
atatgccttt aatacgaaag tatgcaaggg aaatatattat agcttgaaga tcggcctgta	180
cagtatcaga tagttgggtga ggtaatagct caccaagtca atgacgctta actggtttga	240
gaggatgatc agtcacactg gaactgagac acggtccaga ctctacggg aggcagcagt	300

ggggaatatt gcacaatggg ggaaaccctg atgcagcaac gccgcgtgga ggatgacaca	360
tttcggtgcg taaactcctt ttatataaga agataatgac ggtattatat gaataagcac	420
cggctaactc cgtgccagca gccgcggtaa tacggagggg gcaagcgta ctcggaatca	480
ctgggcgtaa agagcgtgta ggcggataga taagtcagaa gtgaaatcca atagcttaac	540
tattgaactg cttttgaaac tgtctatcta gagtatggga gaggtagatg gaatttctgg	600
tgtaggggta aaatccgtag agatcagaag gaataccgat tgcgaaggcg atctactgga	660
acataactga cgctgagacg cgaaagcgtg gggagcaaac aggattagat accctggtag	720
tccacgccct aaacgatgta cactagtgtg tgccatgctc gacatggcag taatgcagtt	780
aacacattaa gtgtaccgcc tggggagtac ggtcgcaaga ttaaaactca aaggaataga	840
cggggacccg cacaagcggg ggagcatgtg gtttaattcg acgatacgcg aagaacctta	900
cctggtcttg acatagtaag aaccatttag agatagatgg gtgtctgctt gcagaaactt	960
atatacaggt gctgcacggc tgtcgtcagc tcgtgctgtg agatgttggg ttaagtcccg	1020
caacgagcgc aaccctcgtc attagtgtgct aacacttcgg gtgagaactc taatgagact	1080
gcctacgcaa gtaggaggaa ggtgaggacg acgtcaagtc atcatggccc ttacgaccag	1140
ggctacacac gtgctacaat ggggtataca aagagcagcg atacagtgat gtggagcaaa	1200

tctaaaaaat acctcccagt tcggattgta gtctgcaact cgactacatg aagttggaat 1260

cgctagtaat cgtagatcag caatgctacg gtgaatacgt tcccgggtct tgtactcacc 1320

gcccgtcaca ccatgggagt tgatttcact cgaagcgggg atgctaagat agctaccctc 1380

caca 1384

<210> 39

<211> 1477

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<400> 39

agagtttgat cctggctcag agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac 60

gagaacggga ttagcttgct aatctgtcag ctaagtggcg cacgggtgag taatatatag 120

gtaacgtgcc ttcaagaggg ggataacaga tggaaacgtc tgctaaaacc ccatatgcct 180

ttaatacgaa agtatgcaag ggaaatattt atagcttgaa gatcggcctg tacagtatca 240

gatagttggt gaggtaatag ctcaccaagt caatgacgct taactggttt gagaggatga 300

tcagtcacac tggaactgag acacggtcca gactcctacg ggaggcagca gtggggaata 360

ttgcacaatg ggggaaaccc tgatgcagca acgccgcgtg gaggatgaca catttcggtg	420
cgtaaactcc ttttatataa gaagataatg acggtattat atgaataagc accggctaac	480
tccgtgccag cagccgcggt aatacggagg gtgcaagcgt tactcggaat cactgggcgt	540
aaagagcgtg taggcggata gataagtcag aagtgaaatc caatagctta actattgaac	600
tgcttttgaa actgtctatc tagagtatgg gagaggtaga tggaatttct ggtgtagggg	660
taaaatccgt agagatcaga aggaataaccg attgcgaagg cgatctactg gaacataact	720
gacgctgaga cgcgaaagcg tggggagcaa acaggattag ataccctggg agtccacgcc	780
ctaaacgatg tacactagtt gttgctatgc tcgacatagc agtaatgcag ttaacacatt	840
aagtgtaccg cctggggagt acggtcgcaa gattaaaact caaaggaata gacggggacc	900
cgcacaagcg gtggagcatg tggtttaatt cgacgatacg cgaagaacct tacctggtct	960
tgacatagta agaaccattt agagatagat ggggtgtctgc ttgcagaaac ttatatacag	1020
gtgctgcacg gctgtcgtca gctcgtgtcg tgagatgttg ggttaagtcc cgcaacgagc	1080
gcaaccctcg tcattagttg ctaacacttc gggtgagaac tctaatagaga ctgcctacgc	1140
aagtaggagg aaggtgagga cgacgtcaag tcatcatggc ccttacgacc agggctacac	1200
acgtgctaca atgggggtata caaagagcag cgatacagtg atgtggagca aatctaaaaa	1260

atacctccca gttcggattg tagtctgcaa ctgactaca tgaagttgga atcgctagta 1320

atcgtagatc agcaatgcta cggatgaatac gttcccgggt cttgtactca ccgcccgtca 1380

cacccatggga gttgatttca ctggaagcgg ggatgctaag atagctacc tccacagtgg 1440

aattagcgac tgggggtgaag tcgtaacaag gtaaccg 1477

<210> 40

<211> 1481

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<220>

<221> Variación

<222> (72)..(72)

<223> La base A72 existe en >1 secuencia de referencia; puede estar ausente en otras

<220>

<221> Variación

<222> (83)..(83)

<223> La base T83 existe en >1 secuencia de referencia; puede estar ausente en otras

<220>

<221> Variación

<222> (208)..(208)

<223> La base C208 se halló solamente en 1 secuencia de referencia y estaba ausente en otras

<220>

<221> Variación

<222> (1318)..(1318)

<223> La base G1318 se halló solamente en 1 secuencia de referencia y estaba ausente en otras

<400> 40

agtcgagcgg ymtggctcag agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac 60

gagaacggrw tatagcttgc tatatctgtc agctaagtgg cgcacgggtg agtaatrta 120

aggtaacrtg ccyyyaagag ggggataaca gwtggaaacg wctgctaadr ycytatatgc 180

ctttaatrcd aaagtatgma agggaaacky ttwakwgctt rrrgatyggc ctgtaywgta 240

tcagmtagtt ggtgrggtaa kagcyyacca agdcaatgac gcwtaactgg tttgagagga 300

tgatcagtca cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga 360

atattgcaca atggggggraa ccctgatgca gcaacgccgc gtggaggatg acacatttcg 420

gtgcgtaaac tccttttata targaagawa atgacggtay tatatgaata agcrccggct 480

aactccgtgc cagcagccgc ggtaatacgg agggygcaag cgttactcgg aatcactggg 540

cgtaaagagc gtgtaggcgg atmrataagt yagragtgaa atccwatrgc tyaacyatwg	600
aactgcttyt raaactgtyw atctagagta tgggagaggt agatggaatt tctggtgtag	660
gggtaaaatc cgtagagatc agaaggaata ccgattgcga aggcgatcta ctggaacata	720
actgacgctg agacgcgaaa gcgtggggag caaacaggat tagataccct ggtagtccac	780
gccctaaacg atgtacacta gttgttgcy a trctcgacat dgcagtaatg cagttaacac	840
attaagtgt a ccgctgggg agtacggtcg caagrttaaa actcaaagga atagacgggg	900
acccgcacaa gcggtggagy atgtggttta attcgacgat acgcgaagaa ccttacctgg	960
tcttgacata gwaagaayhm tyyagagata gatgggtggy wgcttgcwrr arcttwyata	1020
cagggtgctgc acggctgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcaacg	1080
agcgcaaccc tcgtcrttag ttgctaasac twcggstgag aactctaayg agactgcctr	1140
sgcaasyagg aggaaggtga ggacgacgtc aagtcatcat ggcccttacg accagggcta	1200
cacacgtgct acaatgggg atacaaagag cagcratacr gygaygtgga gcraatctha	1260
aaaatryctc ycagttcgga ttgtagtctg caactcgact acrtgaagtt ggaatcggct	1320
agtaatcgta gatcagcway gctacggtag atacgttccc gggctcttgta cwcaccgccc	1380
gtcacaccat gggagttgaw ttcacycgaa gcrgggatgy taarrtarct accytchca	1440

gtggawtyag cgactgggggt gaagtcgtaa carggtaacc g 1481

<210> 41

<211> 1480

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<220>

<221> Variación

<222> (208)..(208)

<223> La base W208 se halló solamente en 1 secuencia de referencia; puede estar ausente en otras.

<220>

<221> misc_feature

<222> (979)..(979)

<223> N es a, c, g o t

<400> 41

agtcgagcgg ymtggctcag agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac 60

gagaacggrrt tawagcttgc twwwytgtc agctaagtgg cgcacgggtg agtaatrta 120

aggtaacmtg ccctmdagar rrgrataaca gwtggaaacg wctgctaadr ycyyatatgc 180

ctttaakach yawgtytgca agggaaawca tttatggctc taggatkgyy ctgtayrgta	240
tcagmtmgtt ggtgaggtaa tggctcacca agrcaatgac rcytaactgg tttgagagga	300
tgatcagtca cactggaact gagacacggt ccagactcct acgggaggca gcagtgggga	360
atattgcaca atggacgaaa gtctgatgca gcaacgccgc gtggaggatg acacatttcg	420
gtgcgtaaac tccttttata taggaagata atgacgggtay yatatgaata agcaccggct	480
aactccgtgc cagcagccgc ggtaatacgg agggtgcaag cgttactcgg aatcactggg	540
cgtaaagagc rtgtaggcgg gtawwtaagt ydgaagtga atccwatrgc tyaacyatwg	600
aactgcttcc aaaactgkta acctagaatr tgggagaggat agatggaatt tctggtgtag	660
gggtaaaatc cgtagakatc agaaggaata ccgattgcga aggcgatcta ctggaacayw	720
attgacgctg agaygcgaaa gcgtggggag caaacaggat tagataccct ggtagtccac	780
gccctaaacg atgyacacta gttgtttgtga ggctagacct tgcagtaatg cagttaacac	840
attaagtgtr ccgcctgggg agtacggctg caagattaaa actcaaagga atagacgggg	900
acccgcacaa gcggtggagc atgtggttta attcgacgat acrcgaagaa ccttacctgg	960
wcttgacata gwaagaacnt whyagagata gatgggtggy wgcttgcwrr arctwwyata	1020
cagggtgctgc acggctgtcg tcagctcgtg tcgtgagatg ttgggttaag tcccgcacacg	1080

agcgcaaccc tcgtsdttag ttgctaagac ttcggtgag aactctaahg agactgcctr	1140
sgcaasyagg aggaaggtga ggacgacgtc aagtcacat gcccttacg wccagggcta	1200
cacacgtgct acaatggggg atacaaagag cagcratacr gygaygtgga gcraatctya	1260
aaaatryctc ccagttcgga ttgwagtctg caactcgact rcytgaagtt ggaatcgcta	1320
gtaatcgtag atcagcwawg ctacggtgaa tacgttcccg ggtcttgtag tcaccgccc	1380
tcacaccatg ggagttgawg tcactcgaag crgrgatgct aaartagcta ccytccacag	1440
tggawtyagc gactgggggtg aagtcgtaac arggtaaccg	1480

<210> 42

<211> 1481

<212> ADN

<213> Desconocido

<220>

<223> Especies Arcobacter

<220>

<221> misc_feature

<222> (1231)..(1231)

<223> N e s a , c , g o t

<220>

<221> Variación

<222> (1260)..(1260)

<223> La base T1260 se halló solamente en 1 secuencia de referencia y puede estar ausente en otras

<220>

<221> Variación

<222> (1346)..(1346)

<223> La base A1346 se halló solamente en 1 secuencia de referencia>; puede estar ausente en otras.

<400> 42

agtcgagcgg ymtggctcag agtgaacgct ggcggcgtgc ttaacacatg caagtcgaac 60

gagaacggat tatagcttgc tatarittgc agctaagtgg cgcacgggtg agtaatrta 120

aggtaacttg cctcttacta agggataaca rwtggaaacg wytgctaaca ccccataytc 180

cwywwwawch waagwtrrwa agggaaagat ttattggtaa gagattagcc tgtattgtat 240

cagttagttg gtggggtaat ggcctaccaa gacdatgacg cataactggt ttgagaggat 300

gatcagtcac actggaactg agacacggtc cagactccta cgggaggcag cagtggggaa 360

tattgcacaa tggacgaaag tctgatgcag caacgccgcg tggaggatga cacatttcgg 420

tgcgtaaact cctttttatat aagaagataa tgacgggtatt atatgaataa gcaccggcta 480

actccgtgcc agcagccgcg gtaatacggr ggggtgcaagc gttactcgga atcactgggc 540

gtaaagagcr tgtaggcgga ttrataagtt tgaagtgaaa tcctatagct taactataga	600
actgctttga aaactgttaa cctagaatgt gggagaggta gatggaattt ctggtgtagg	660
ggtaaaatcc gtagagatca gaaggaatac cgattgcgaa ggcgatctac tggaacahta	720
ttgacgctga gaygcgaaag cgtgggggagc aaacaggatt agataccctg gtagtccacg	780
ccctaaacga tgtacactag ttgttgtagag rctygayctt gcagtaatgc agttaacaca	840
ttaagtgtac cgctgggga gtacggtcgc aagattaaaa ctcaaaggaa tagacgggga	900
cccgcacaaag cgggtggagca tgtggtttaa ttcgacgata cacgaagaac cttacctgga	960
cttgacatag taagaaykwt ywagagatag atgggtgtct gcttgacagaa acttryatac	1020
aggtgctgca cggctgtcgt cagctcgtgt cgtgagatgt tgggttaagt cccgcaacga	1080
gcgcaaccct cgtcbttagt tgctaagact tcggtgaga actctaarga gactgcctrs	1140
gcaagtagga ggaaggtgag gaygacgtca agtcatcatg gcccttacgt ccagggtac	1200
acacgtgcta caatgggrta tacarwgagc ngcratacgg tgacgtggag caaatctyat	1260
aaaatryctc ccagttcgga ttgtagtctg caactcgact acatgaagtt ggaatcgcta	1320
gtaatcgtag atcagctatg ctacgagtga atacgttccc gggctttgta ctcaccgccc	1380
gtcacaccat gggagttgaa ctcactcgaa gcgggggatgc taaartagct accttcaca	1440

gtggattyag cgactggggt gaagtcgtaa caaggtaacc g

1481

<210> 43

<211> 20

<212> ADN

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Iniciador

<400> 43

cggttacctt gttacgactt

20

<210> 44

<211> 20

<212> ADN

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Iniciador

<400> 44

agagtttgat ymtggctcag

20

<210> 45

<211> 16

<212> ADN

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Iniciador

<400> 45

aacagctatg accatg

16

<210> 46

<211> 17

<212> ADN

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Iniciador

<400> 46

gtaaaacgac ggccagt

17

<210> 47

<211> 34

<212> ADN

<213> Shewanella oneidensis

<400> 47

gcatacgccc tacgggggaa agagggggac tttc

34

<210> 48

<211> 34

<212> ADN

<213> artificial sequence

<220>

<223> Secuencia distintiva redundante de ADNr 16S de Shewanella con
posiciones variables en la región 2

<220>

<221> misc_feature

<222> (22)..(24)

<223> n=a o g

<220>

<221> misc_feature

<222> (29)..(29)

<223> n=a o c

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> n=a,,c, g, o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(30)

<223> n=a, c, g, o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (31)..(32)

<223> n=t o c

<220>

<221> misc_feature

<222> (34)..(34)

<223> n=a o c

<400> 48

gcatacgccc tacgggggaa annngggggn nntn

34

<210> 49

<211> 41

<212> ADN

<213> Shewanella oneidensis

<400> 49

tcggagtttg gtgtcttgaa cactgggctc tcaagctaac g

41

<210> 50

<211> 41

<212> ADN

<213> artificial sequence

<220>

<223> Secuencia distintiva redundante de ADNr 16S de Shewanella con
posiciones variables en la región 5

<220>

<221> misc_feature

<222> (6)..(6)

<223> n=a o g

<220>

<221> misc_feature

<222> (13)..(13)

<223> n=a , c o g

<220>

<221> misc_feature

<222> (14)..(14)

<223> n=a , c o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (18)..(19)

<223> n=a o g

<220>

<221> misc_feature

<222> (27)..(27)

<223> n=g o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (28)..(28)

<223> n=t o c

<220>

<221> misc_feature

<222> (30)..(31)

<223> n=t o c

<220>

<221> misc_feature

<222> (32)..(32)

<223> n=a o c

<400> 50

tcggantttg gttncttnna cactggnntn nnaagctaac g

41

<210> 51

<211> 96

<212> ADN

<213> Shewanella oneidensis

<400> 51

acaatggcga gtacagaggg ttgcaaagcc gcgaggtgga gctaattctca caaagctcgt

60

cgtagtccgg attggagtct gcaactcgac tccatg

96

<210> 52

<211> 96
<212> ADN
<213> artificial sequence

<220>
<223> Secuencia distintiva redundante de ADNr 16S de Shewanella con
posiciones variables en la región 8

<220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> n=c, g, o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (9)..(9)
<223> n=a, c, o g

<220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(11)
<223> n=a, g, o t

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(25)
<223> n=a o g

<220>

<221> misc_feature

<222> (33)..(33)

<223> n=a o g

<220>

<221> misc_feature

<222> (38)..(38)

<223> n=g o c

<220>

<221> misc_feature

<222> (39)..(39)

<223> n=a, g, o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (48)..(48)

<223> n=t o c

<220>

<221> misc_feature

<222> (51)..(51)

<223> n=c, g, o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (56)..(56)

<223> n=c, g, o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (57)..(57)

<223> n=a, c, o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (58)..(58)

<223> n=c, g, o t

<220>

<221> misc_feature

<222> (73)..(73)

<223> n=t o c

<220>

<221> misc_feature

<222> (94)..(94)

<223> n=a o g

<400> 52

acaatggnnn ntacagaggg ttgcnaagcc gcnaggtnna gctaatchca naaagnnngt 60

cgtagtccgg atnggagtct gcaactcgac tccttg 96

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Colleen A. Taylor

3. acting in the capacity of Notary Public of the State of Delaware

4. bears the seal/stamp of Colleen A. Taylor, Notary Public, Delaware

Certified

5. at Dover, Delaware

6. the thirtieth day of April, A.D. 2013

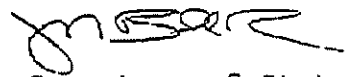
7. by Secretary of State, Delaware Department of State

8. No. 0493773

9. Seal/Stamp:



10. Signature:


Secretary of State

ASSIGNMENT

Edwin R. HENDRICKSON
Scott Christopher JACKSON and
Abigail K. LUCKRING

by means of this document assign to

E. I. du Pont de Nemours and Company

a corporation organized under the laws of

Delaware

domiciled in

1007 Market Street
Wilmington, Delaware 19898
United States of America

(hereinafter referred to as the "ASSIGNEE"),
all my (our) rights, title and interest in and to my
(our) invention for a new and useful
improvement entitled and as fully set forth and
described in:

METHODS, STRAINS, AND COMPOSITIONS
USEFUL FOR MICROBIALLY ENHANCED OIL
RECOVERY: ARCOBACTER CLADE 1

so far as the Republic of Colombia is concerned.

Place: Wilmington DE USA

Date: April 11, 2013


Edwin R. HENDRICKSON


Abigail K. LUCKRING

CESION

por medio de la presente cedo (cedemos) a

E. I. du Pont de Nemours and Company
una corporación organizada bajo las leyes de

Delaware

domiciliada en

1007 Market Street
Wilmington, Delaware 19898
Estados Unidos de América

(de ahora en adelante el "CESIONARIO"),
todos mis (nuestros) derechos, título e interés
sobre mi (nuestra) invención tal como describe
en:

en lo que concierne a la República de Colombia.

Lugar y fecha: _____

Scott Christopher JACKSON

United States of America)
)
State of Delaware) ss.
)
County of New Castle)

On this 11th day of April, 2013, personally appeared
before me Edwin R. Hendrickson and
Abigail K. Luckring

to me known and known to me to be the individual__ described in and who executed the
foregoing instrument, and who acknowledged to me that __he__ executed the same.

Colleen A. Taylor
Notary Public

COLLEEN A. TAYLOR
NOTARY PUBLIC
STATE OF DELAWARE
My Commission Expires on January 25, 2014

ASSIGNMENT

Edwin R. HENDRICKSON
Scott Christopher JACKSON and
Abigail K. LUCKRING

by means of this document assign to

E. I. du Pont de Nemours and Company

a corporation organized under the laws of

Delaware

domiciled in

1007 Market Street
Wilmington, Delaware 19898
United States of America

(hereinafter referred to as the "ASSIGNEE"),
all my (our) rights, title and interest in and to my
(our) invention for a new and useful
improvement entitled and as fully set forth and
described in:

METHODS, STRAINS, AND COMPOSITIONS
USEFUL FOR MICROBIALLY ENHANCED OIL
RECOVERY: ARCOBACTER CLADE 1

so far as the Republic of Colombia is concerned.

Place: April 16, 2013

Date: Wilmington DE USA

Edwin R. HENDRICKSON

Abigail K. LUCKRING

CESION

por medio de la presente cedo (cedemos) a

E. I. du Pont de Nemours and Company
una corporación organizada bajo las leyes de

Delaware

domiciliada en

1007 Market Street
Wilmington, Delaware 19898
Estados Unidos de América

(de ahora en adelante el "CESIONARIO"),
todos mis (nuestros) derechos, título e interés
sobre mi (nuestra) invención tal como describe
en:

en lo que concierne a la República de Colombia.

Lugar y fecha: _____


Scott Christopher JACKSON

United States of America)

State of)

Delaware)

ss.)

County of)

New Castle)

On this 16th day of April, 2013, personally appeared
before me Scott Christopher Jackson

to me known and known to me to be the individual__ described in and who executed the
foregoing instrument, and who acknowledged to me that __he__ executed the same.

Colleen A Taylor
Notary Public

COLLEEN A. TAYLOR
NOTARY PUBLIC
STATE OF DELAWARE
My Commission Expires on January 25, 2014

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
Este documento público
2. ha sido firmado por Colleen A. Taylor
3. actuando en calidad de Notario Público del Estado de Delaware
4. está marcado con la estampilla/sello de Colleen A. Taylor, Notario Público, Delaware

Certificado

5. en Dover, Delaware
6. el Día treinta de abril de 2013
7. por Secretario de Estado, Departamento de Estado de Delaware
8. No. 0493773
9. Sellado, SELLO DEL SECRETARIO DE ESTADO, DELAWARE
10. Firmado por SECRETARIO DE ESTADO

(Cesión de la invención MÉTODOS, VARIEDADES Y COMPOSICIONES UTILIZADAS PARA LA RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIAL DE ACEITE: ACTOBACTER CLADO 1, en idioma inglés y español firmada por Edwin R. HENDRICKSON y Abigail K. LUCKRING el día 11 de abril de 2013)

Estados Unidos de América)
Estado de Delaware) ss.
Condado de New Castle)

Este día 11 de abril de 2013, compareció personalmente ante mí Edwin R. Hendrickson y Abigail K. Luckring conocidos por mí y conocidos por mí como el individuo descrito en y quien suscribió el anterior instrumento, y que reconoció ante mí que suscribió el mismo.

(Firma)
Notario Público

(Sello Colleen A. Taylor, Notario Público, Estado de Delaware, Mi comisión vence el 25 de enero de 2014)

(Cesión de la invención MÉTODOS, VARIEDADES Y COMPOSICIONES UTILIZADAS PARA LA RECUPERACIÓN MEJORADA MICROBIAL DE ACEITE: ACTOBACTER CLADO 1, en idioma inglés y español firmada por Scott Christopher JACKSON el día 16 de abril de 2013)

Estados Unidos de América)
Estado de Delaware) ss.
Condado de New Castle)

Este día 16 de abril de 2013, compareció personalmente ante mí Scott Christopher Jackson conocido por mí y conocido por mí como el individuo descrito en y quien suscribió el anterior instrumento, y que reconoció ante mí que suscribió el mismo.

(Firma)
Notario Público

(Sello Colleen A. Taylor, Notario Público, Estado de Delaware, Mi comisión vence el 25 de enero de 2014)

TRADUCCIÓN OFICIAL N° 2603081 al español de un documento escrito en inglés, efectuada por Jaime Armando Garavito Burgos, c.c. N° 19.130.702 de Bogotá, Traductor e Intérprete Oficial inglés-español-inglés según Resolución N° 034 de enero 11 de 1983 expedida por el Ministerio de Justicia de la República de Colombia

Traducción al español de legalizaciones en poder conferido por E.I. du Pont de Nemours and Company

APOSTILLA

- 1. País: Estados Unidos de América
Este documento público
- 2. Ha sido firmado por Patricia Panariello
- 3. Quien actúa en calidad de Notario Público del Estado de Delaware
- 4. Lleva el sello de Patricia Panariello, Notario Público, Delaware

Certificado

- 5. En Dover, Delaware
- 6. El séptimo día de marzo 2008 A.D.
- 7. Por el Secretario de Estado, Departamento de Estado de Delaware
- 8. N° 0345347
- 9. Sello (Aparece adherido sello dorado)
- 10. Firma (firmado) Harriet Smith Windsor, Secretario de Estado

Jaime A. Garavito
JAIIME A. GARAVITO B.
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
RES. 034 DE ENERO 11 DE 1983
MINISTERIO DE JUSTICIA

[No se traduce texto del poder por estar en inglés y en español]

Se traduce lo siguiente después del texto del poder:

Dado y suscrito en Wilmington, Delaware, Estados Unidos de América

El 26 de febrero de 2008

Firma de la persona que expide el poder
[Firmado] Miriam A. Mecoxnahey

CERTIFICACIÓN NOTARIAL

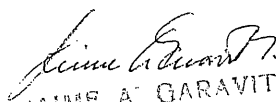
TRADUCCIÓN OFICIAL N° 2603081 al español de un documento escrito en inglés, efectuada por Jaime Armando Garavito Burgos, c.c. N° 19.130.702 de Bogotá, Traductor e Intérprete Oficial inglés-español-inglés según Resolución N° 034 de enero 11 de 1983 expedida por el Ministerio de Justicia de la República de Colombia

El 26 de febrero de 2008 el suscrito Notario

DA FE

1. Que **Miriam D. Meconnahey**, mayor y domiciliada en **1964 Lakeview Road, Wilmington, DE 19805**, suscribió de su puño y letra el documento que antecede.
2. Que conozco personalmente al otorgante y que éste tiene capacidad legal para el otorgamiento.
3. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de **Subsecretario - Junta de Patentes** de la persona jurídica **E.I. du Pont de Nemours and Company**
4. Que la persona jurídica **E.I. du Pont de Nemours and Company** tiene sede en **1007 Market Street, Wilmington, Delaware 19898 Estados Unidos de América**, está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se otorga el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.
5. Que el otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta y que ésta es legítima.
6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:

Directrices de la Junta de Patentes de DuPont y Poder fechado junio 12, 2006.

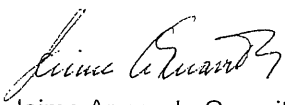

JAIME A. GARAVITO B. 2
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
POR RESOLUCION 034 DE ENERO 11 DE 1983
MINISTERIO DE JUSTICIA

TRADUCCIÓN OFICIAL N° 2603081 al español de un documento escrito en inglés, efectuada por Jaime Armando Garavito Burgos, c.c. N° 19.130.702 de Bogotá, Traductor e Intérprete Oficial inglés-español-inglés según Resolución N° 034 de enero 11 de 1983 expedida por el Ministerio de Justicia de la República de Colombia

[Firmado] Patricia Panariello, Notario Público

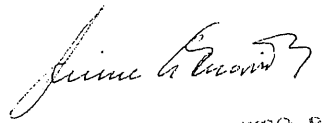
[Aparece adherido sello dorado]

La anterior es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en esta oficina para su confrontación.



Jaime Armando Garavito Burgos
c.c. N° 19.130.702 de Bogotá
Traductor e Intérprete Oficial según Resolución N° 034 de enero 11 de 1983 expedida por el Ministerio de Justicia

BOGDM5 # 107285



JAIME A. GARAVITO B
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
SEGUN RESOLUCION N° 034 DE ENERO 11 DE 1983
MINISTERIO DE JUSTICIA

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America

This public document:

2. has been signed by Patricia Panariello

3. acting in the capacity of Notary Public of the State of Delaware

4. bears the seal/stamp of Patricia Panariello, Notary Public, Delaware

Certified

5. at Dover, Delaware

6. the seventh day of March, A.D. 2008

7. by Secretary of State, Delaware Department of State

8. No. 0345347

9. Seal/Stamp:

10. Signature:

Harriet Smith Windsor

Secretary of State

POWER OF ATTORNEY

The undersigned.

E.I. Du Pont de Nemours and Company
domiciled in

1007 Market Street
Wilmington, Delaware 19898 US

declares that it hereby grants to

ALVARO CORREA-ORDOÑEZ and/or
OLGA GEORGETTE OTERO and/or
RICARDO METKE and/or
JUAN PABLO CONCHA

with domicile at Av. 82 No. 10 – 62, 6Th floor, of Bogotá D. C., Colombia, a full and sufficient power of attorney to 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, industrial designs, integrated circuits, layout-designs and vegetal varieties; the registration of trademarks, denominations of origin, commercial names, trade emblems, slogans and domain names; its renewal, assignments, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Processes of protection to the consumer, unfair competition, oppositions, cancellations, nullity, precautionary injunctions, infringement, granting of licenses, writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, an administrative processes relating to those rights. And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

I hereby ratify all actions previously taken on behalf of this company by the aforementioned attorneys with respect to the mentioned matters.

Done and subscribed in *Wilmington, DE USA*

On the *26* day of *February* of 2008

Signature of the person issuing the Power

Miriam A. Macenahey

PODER DE ABOGADO

La abajo firmada,

E.I. Du Pont de Nemours and Company
domiciliada en

1007 Market Street
Wilmington, Delaware 19898 US

declara por el presente que otorga a

ALVARO CORREA-ORDOÑEZ y/o
OLGA GEORGETTE OTERO y/o
RICARDO METKE y/o
JUAN PABLO CONCHA

con domicilio en la Av. 82 No. 10 – 62 Piso 6 en Bogotá D. C., Colombia, poder especial amplio y suficiente, 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 autoridades 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, diseños industriales, esquemas de trazado de circuitos integrados y variedades vegetales; el registro de marcas, denominaciones de origen, nombres comerciales, enseñas, lemas comerciales y nombres de dominio; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Los procesos para la protección del consumidor, competencia desleal, oposiciones, cancelaciones, nulidades, medidas cautelares, infracciones, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales, y en general procesos civiles, penales, administrativos relacionados con estos derechos. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del caso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

Igualmente, ratifico todo lo actuado hasta el momento en los mismos asuntos, por cualquiera de los mencionados apoderados en representación de ésta sociedad.

Dado y firmado en

A los _____ días del mes de _____ de 2008

Firma de la persona que firma el Poder

NOTARIAL CERTIFICATION

On this 22th day of February 2008, the undersigned Notary

CERTIFIES

1. That Miriam D. Meconnahey of legal age and domiciled in 1964 Lakeview Road, Wilmington, DE 19805 set his hand on the foregoing document.
2. That the grantor is to me personally known and that he/she has legal capacity to execute the instrument.
3. That the grantor has executed the foregoing document as Assistant Secretary – Patent Board of the judicial person E. I. duPont de Nemours and Company
4. That the judicial person E. I. duPont de Nemours and Company having its home office in 1007 Market Street, Wilmington, Delaware 19898 USA is duly organized, has present legal existence and that the purposes for which the power of attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.
5. That the grantor has in fact the referred to authority and that his/her representation is legal.
6. That I have based certifications 3, 4 and 5 above on the following authentic documents for such purpose exhibited to me and which I mention specifically, giving their dates and their origin or source:
DuPont Patent Board Guidelines and Power of Attorney dated June 12, 2006.

CERTIFICACION NOTARIAL

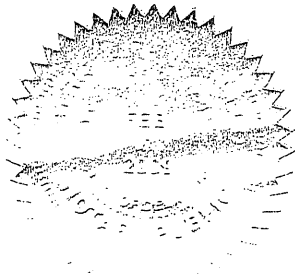
A los días del mes de de 2008, el suscrito Notario

DA FE

- 1 Que mayor y domiciliado en suscribió de su puño y letra el documento que antecede.
2. Que conozco al otorgante y que éste tiene capacidad legal para el otorgamiento.
- 3 Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de de la persona jurídica E. I. duPont de Nemours and Company
- 4 Que la persona jurídica E. I. duPont de Nemours and Company con sede en está legalmente constituida, que tiene existencia legal actual y que el acto para el cual se otorga el poder está comprendido entre los que constituyen su objeto social.
- 5 Que el otorgante tiene efectivamente la representación que ostenta y que ésta es legítima.
6. Que he basado las certificaciones 3, 4 y 5 anteriores en los siguientes documentos auténticos que al efecto se me exhibieron y que menciono específicamente con expresión de sus fechas y de su origen o procedencia:

Patricia Panariello

Patricia Panariello, Notary Public



El Notario Público

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN THE APPLICATION OF:

EDWIN R. HENDRICKSON et al.

CASE NO.: CL5181USNA

APPLICATION NO.:

CONFIRMATION NO.:

GROUP ART UNIT:

EXAMINER:

FILED:

FOR: METHODS, STRAINS, AND COMPOSITIONS USEFUL FOR MICROBially
ENHANCED OIL RECOVERY: ARCOBACTER CLADE 1

DECLARATION OF BIOLOGICAL CULTURE DEPOSIT**Via EFS-Web**

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

I, ROGER W. HERRELL, JR., declare the following:

- a) I am an attorney/agent of record in the above-identified application;
- b) Pursuant to 37 CFR 1.804, cultures of the following biological materials have been deposited with the following international depository(ies):

American Type Culture Collection (ATCC)
10801 University Blvd., Manassas, VA 20110-2209, U.S.A.

under conditions that satisfy the requirements of the Budapest Treaty on the International Recognition of the Deposit of Microorganisms for the Purposes of Patent Procedure ["the Treaty"];

- c) A copy of the receipt issued pursuant to Treaty Rules 7.3 and 10.2 is attached; and

<u>Depositor's Identification of Organism</u>	<u>International Depository Accession Number</u>	<u>Date of Deposit</u>
Arcobacter sp 97AE3-3	PTA-11410	October 14, 2010
Arcobacter sp 97AE3-12	PTA-11409	October 14, 2010

d) All restrictions on the availability to the public of the culture will be irrevocably removed upon the granting of a U.S. patent on the above-identified application.

Respectfully submitted,

/Roger W. Herrell, Jr/
ROGER W. HERRELL, JR.
ATTORNEY/AGENT FOR APPLICANTS
Registration No.: 62,228
Telephone: (302) 992-5463
Facsimile: (302) 355-3982

Dated: October 25, 2011
Attachment: Deposit Receipt



**BUDAPEST RESTRICTED CERTIFICATE OF DEPOSIT
BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION OF
THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE
INTERNATIONAL FORM
RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT ISSUED PURSUANT TO RULE 7.3
AND VIABILITY STATEMENT ISSUED PURSUANT TO RULE 10.2**

The American Type Culture Collection (ATCC®) has received your deposit of seeds/strain(s)/strain(s) in connection with the filing of an application for patent. The following information is provided to fulfill Patent Office requirements.

Robert S. Scott
E. I. duPont de Nemours and Company, Inc
200 Powder Mill Road
Experimental Station E301/317
Wilmington, DE 19880-0301

Deposited on Behalf of: **E. I. duPont de Nemours and Company, Inc**

Date of Receipt of seeds/strain(s) by the ATCC®: **October 14, 2010**

<u>Identification Reference by Depositor:</u>	<u>ATCC ®Patent Deposit Designation:</u>	<u>Quantity Received:</u>
Arcobacter sp: 97AE3-12	PTA-11409	25 vials
Arcobacter sp: 97AE3-3	PTA-11410	25 vials

The ATCC® understands that:

1. The deposit of these seeds/strain(s) does not grant ATCC® a license, either express or implied, to infringe the patent, and our release of these seeds/strain(s) to others does not grant them a license, either express or implied, to infringe the patent.
2. If the deposit should die or be destroyed during the effective term of the patent, it shall be your responsibility to replace it with viable material. It is also your responsibility to supply a sufficient quantity for distribution for the deposit term. ATCC® will distribute and maintain the material for 30 years or 5 years following the most recent request for the deposit, whichever is longer. The United States and many other countries are signatory to the Budapest Treaty.

Prior to the issuance of a U.S. Patent, the ATCC® agrees in consideration for a one-time service charge, not to distribute these seeds/strain(s) or any information relating thereto or to their deposit except as instructed by the depositor or relevant patent office. After relevant patent issues we are responsible to release the seeds/strain(s) and they will be made available for distribution to the public without any restrictions. We will inform you of requests for the seeds/strain(s) for 30 years from date of deposit.



The deposit was tested **November 5, 2010** and on that date, the seeds/strain(s) were viable
International Depository Authority: American Type Culture Collection (ATCC®), Manassas, VA, USA

Signature of person having authority to represent ATCC®:

Rochelle
Harrington

Digitally signed by Rochelle
Harrington
DN: cn=Rochelle Harrington,
o=ATCC, ou=IPLS,
email=rharrington@atcc.org, c=US
Location: Manassas, VA 20110
Date: 2010.11.09 10:56:32 -0500

ATCC® Patent Depository

November 9, 2010

cc: Neil Feltham

Date

Ref: Docket or Case No: CL5181

EN LA OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS

EN LA SOLICITUD DE:

EDWIN R. HENDRICKSON et al.

CASO No.: CL5181USNA

SOLICITUD No.:

CONFIRMACIÓN No:

UNIDAD DE GRUPO TECNICO:

EXAMINADOR:

PRESENTADA:

PARA: MÉTODOS, CEPAS Y COMPOSICIONES UTILES PARA LA
RECUPERACIÓN MICROBIALMENTE MEJORADA DEL PETROLEO:
ARCOBACTER CLADE 1

DECLARACION DEL DEPÓSITO DEL CULTIVO BIOLÓGICO

Via EFS-Web

Comisionado para patentes

P.O. Box1450

Alexandria, VA 22313-1450

Señor:

Yo, ROGER W. HERRELL, JR., declaro lo siguiente:

- a) Soy el apoderado registrado en la solicitud antes identificada;
- b) De acuerdo a la norma 37 CFR 1.804, los cultivos de los siguientes materiales biológicos han sido depositados con el (los) siguiente(s) depositario(s) internacional(es):

American Type Culture Collection (ATCC)

10801 University Blvd., Manassas, VA 20110, U.S.A.

Bajo condiciones que satisfacen los requerimientos del Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional de Depósitos de Microorganismos para el propósito de Procedimientos de patentes ["El Tratado"];

- c) Se adjunta una copia del recibo emitido de acuerdo con las Reglas del Tratado 7.3 y 10.2; y

Identificación del depositante del organismo	Número de acceso de depósito Internacional	Fecha del depósito
Arcobacter sp 97AE3-3	PTA-11410	Octubre 14, 2010
Arcobacter sp 97AE3-12	PTA-11409	Octubre 14, 2010

Caso No.: CL5181USNA

Declaración del Depósito de Cultivo Biológico

Pág. 2

- d) Todas las restricciones sobre la disponibilidad al público del cultivo serán removidas irrevocablemente luego del otorgamiento de la patente Estadounidense a la solicitud antes identificada.

Atentamente.

/Roger W. Herrell, Jr/

ROGER W. HERRELL, JR.

APODERADO DE LOS
SOLICITANTES

Registro No.: 62.228

Teléfono: (302) 992-5463

Fax: (302) 355-3982

Fechado: Octubre 25, 2011

Anexo: Recibo del Depósito

CERTIFICADO DE DEPÓSITO BAJO BUDAPEST
RECONOCIMIENTO INTERNACIONAL DE DEPÓSITOS DE
MICROORGANISMOS PARA EL PROPÓSITO DE PROCEDIMIENTOS DE
PATENTES

FORMA INTERNACIONAL

RECIBO EN EL CASO DE UN DEPOSITO ORIGINAL EMITIDO DE
ACUERDO CON LA REGLA 7.3

Y DECLARACIÓN DE VIABILIDAD EMITIDA DE ACUERDO CON LA REGLA
10.2

La American Type Culture Collection (ATCC®) ha recibido su depósito de semillas/cepas relacionadas con la presentación de una solicitud de patente. La siguiente información se suministra para cumplir con los requerimientos de la Oficina de Patentes.

Robert S. Scott

E. I. DuPont de Nemours and Company, Inc.

200 Powder Mill Road

Experimental Station E301/317

Wilmington, DE 19880-0301

Depositado a nombre de: **E. I. DuPont de Nemours and Company, Inc.**

Fecha de Recepción de las semillas/cepas por ATCC®: **Octubre 10, 2010**

Referencia Identificación <u>del Depositante</u>	Designación del Depósito <u>de Patente ATCC®</u>	Cantidad <u>Recibida</u>
Arcobacter sp: 97AE3-12	PTA-11409	25 frascos
Arcobacter sp: 97AE3-3	PTA-11410	25 frascos

La ATCC® entiende que:

1. El depósito de estas semillas/cepas no le otorga licencia a ATCC®, ni expresa ni implícita, para infringir la patente, y nuestra entrega de estas semillas/cepas a terceros no les otorga a estos una licencia, ni expresa ni implícita, para infringir la patente.
2. Si el depósito muriera o fuera destruido durante el término efectivo de vida de la patente, será su responsabilidad reemplazarlo con material viable. También será su responsabilidad suministrar una cantidad suficiente para su distribución durante el término del depósito. ATCC® distribuirá y mantendrá el material durante 30 años o 5 años según la solicitud más reciente para el depósito, el que sea más largo. Los Estados Unidos y muchos otros países son signatarios del Tratado de Budapest.

Antes del otorgamiento de una Patente Estadounidense, la ATCC® está de acuerdo en considerar un cargo por una vez por el servicio, no distribuir estas semillas/cepas o cualquier información relacionada con estas o su depósito excepto por instrucción del depositante o de la Oficina de patentes relevante. Después que la patente haya sido otorgada, nosotros somos responsables de liberar las semillas/cepas y por lo tanto estarán disponibles para su distribución al público sin restricciones. Les informaremos de las solicitudes de semillas/cepas durante 30 años a partir de la fecha del depósito.

El depósito fue probado el **5 de noviembre de 2010** y en esa fecha, las semillas/cepas fueron consideradas viables

Autoridad Depositaria Internacional: American Type Culture Collection
(ATCC®), Manassas, VA, USA

Firma de la persona que tiene autoridad para representar a ATCC®:

Rochelle Harrington

Firmado digitalmente por Rochelle Harrington (Letra pequeña ilegible)

ATCC® Depositaria para patente

Noviembre 9, 2010

Cc: Neil Feltham

Fecha

Ref: Expediente o caso No.: CL5181



10801 University Boulevard • Manassas, VA 20110-2209 USA • Telephone: 703-365-2700 • FAX: 703-334-2932

**BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION OF
THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE**

INTERNATIONAL FORM

**RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT ISSUED PURSUANT TO RULE 7.3
AND VIABILITY STATEMENT ISSUED PURSUANT TO RULE 10.2**

To: (Name and Address if Depositor or Attorney)

E.I. du Pont de Nemours and Company, Inc.
ATTN: Robert S. Scott
DuPont Experimental Station
E-301/317, 200 Powder Mill Road
P.O. Box 80301
Wilmington, De 19880-0301

Deposited on Behalf of: E.I. du Pont de Nemours and Company, Inc.

Date of Receipt of Culture by the ATCC®: September 17, 2008

Identification Reference by Depositor:

ATCC® Patent Deposit Designation:

Thauera aromatica

AL9-8

PTA-9497

The deposit was received by this International Depository Authority and has been accepted.

The strain will be made available if a patent office signatory to the Budapest Treaty certifies one's right to receive, or if a U.S. Patent is issued citing the strain, and ATCC® is instructed by the United States Patent & Trademark Office or the depositor to release said strain.

If the deposit should die or be destroyed during the effective term of the patent, it shall be your responsibility to replace it with viable material. It is also your responsibility to supply a sufficient quantity for distribution for the deposit term. ATCC® will distribute the material for 30 years or 5 years following the most recent request for the deposit, whichever is longer. The United States and many other countries are signatory to the Budapest Treaty.

We will inform you of requests for the strain for 30 years from date of deposit.

The deposit was tested October 03, 2007 and on that date, the culture was viable.

International Depository Authority: American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA

Signature of person having authority to represent ATCC®:

ATCC Patent Depository

October 7, 2008
Date

Cc: Chris Lhulier
Ref: Docket or Case No. CL4140

ATCC

10801 University Boulevard- Manassas, VA 20110-2209 USA – Teléfono 703-365-2700 – FAX: 703-334-2932

TRATADO DE BUDAPEST SOBRE EL RECONOCIMIENTO INTERNACIONAL
DEL DEPÓSITO DE MICROORGANISMOS PARA PROPÓSITOS DEL
PROCEDIMIENTO DE PATENTES

FORMATO INTERNACIONAL

RECIBO EN EL CASO DE UN DEPÓSITO ORIGINAL EMITIDO SEGÚN LA
REGLA 7.3 Y DECLARACIÓN DE VIABILIDAD EMITIDA SEGÚN LA REGLA 10.2

Para: (Nombre y dirección del Depositante o Abogado)

E.I. du Pont de Nemours and Company

ATT: Robert S. Scott

DuPont Experimental Station

E-301/317,200 Powder Mill Road

P.O. Box 80301

Wilmington, DE 19880-0301

Depositado a nombre de: E.I. du Pont de Nemours and Company

Fecha de recepción del cultivo por la ATCC®: **Septiembre 17, 2008**

Referencia de identificación por el Depositante

Designación del depósito de patente

ATCC®

Thauera aromatic

AL9-8

PTA-9497

El depósito fue recibido por esta Autoridad Depositaria Internacional y ha sido aceptado.

La cepa estará disponible si una oficina de patentes signataria al derecho de recibir del Tratado de Budapest, o si una patente Estadounidense ha sido emitida la cual cita la cepa, y la ATCC® ha recibido instrucciones de la Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos o del depositante para liberar dicha cepa.

Si el depósito muere o es destruido durante el término efectivo de la patente, será su responsabilidad el reemplazarlo con material viable. También será su responsabilidad suministrar una cantidad suficiente para su distribución durante el término del depósito. La ATCC® distribuirá el material durante 30 años o 5 años según la solicitud de depósito más reciente, el que sea más largo. Los Estados Unidos y muchos otros países son signatarios del Tratado de Budapest.

Usted será informado de las solicitudes que se hagan para la cepa durante los 30 años siguientes a la fecha del depósito.

El depósito fue verificado el 3 de octubre de 2007 y en esa fecha, el cultivo se encontró viable.

Autoridad Depositaria Internacional: American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA

Firma de la persona que tiene autoridad para representar la ATCC®:

Latha Ramakrishnan Firmado digitalmente por Latha Ramakrishnan

DN: cn=Roxane Collins, o-ATCC, ou=IP, Licenciamiento y

Servicios, email=lramakrishnan@atcc.org, c=US

Fecha: 7 de octubre de 2008

Fecha: 2008.10.07 13:54:59 – 04'00'

Depositario de Patentes de la ATCC

Cc: Chris Lhulier

Caso o Expediente No. CL4140



10801 University Boulevard • Manassas, VA 20110-2209 USA • Telephone: 703-365-2700 • FAX: 703-334-2932

**BUDAPEST TREATY ON THE INTERNATIONAL RECOGNITION OF
THE DEPOSIT OF MICROORGANISMS FOR THE PURPOSES OF PATENT PROCEDURE**

INTERNATIONAL FORM

**RECEIPT IN THE CASE OF AN ORIGINAL DEPOSIT ISSUED PURSUANT TO RULE 7.3
AND VIABILITY STATEMENT ISSUED PURSUANT TO RULE 10.2**

To: (Name and Address if Depositor or Attorney)

**E.I. du Pont de Nemours and Company
ATTN: Robert S. Scott
DuPont Experimental Station
E-301/317, 200 Powder Mill Road
P.O. Box 80301
Wilmington, DE 19880-0301**

Deposited on Behalf of: E.I. du Pont de Nemours and Company

Date of Receipt of Culture by the ATCC®: December 04, 2007

Identification Reference by Depositor:

**Shewanella putrefaciens
Pseudomonas stutzeri**

**LH4:18
LH4:15**

ATCC® Patent Deposit Designation:

**PTA-8822
PTA-8823**

The deposit was received by this International Depository Authority and has been accepted.

The strain will be made available if a patent office signatory to the Budapest Treaty certifies one's right to receive, or if a U.S. Patent is issued citing the strain, and ATCC® is instructed by the United States Patent & Trademark Office or the depositor to release said strain.

If the deposit should die or be destroyed during the effective term of the patent, it shall be your responsibility to replace it with viable material. It is also your responsibility to supply a sufficient quantity for distribution for the deposit term. ATCC® will distribute the material for 30 years or 5 years following the most recent request for the deposit, whichever is longer. The United States and many other countries are signatory to the Budapest Treaty.

We will inform you of requests for the strain for 30 years from date of deposit.

The deposit was tested December 18, 2007 and on that date, the culture was viable.

International Depository Authority: American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA

Signature of person having authority to represent ATCC®:

ATCC Patent Depository

Date: December 19, 2007

**cc: Chris Lhulier
Case or Docket No. CL4043: CL4096**

ATCC

10801 University Boulevard- Manassas, VA 20110-2209 USA – Teléfono 703-365-2700 – FAX: 703-334-2932

TRATADO DE BUDAPEST SOBRE EL RECONOCIMIENTO INTERNACIONAL
DEL DEPÓSITO DE MICROORGANISMOS PARA PROPÓSITOS DEL
PROCEDIMIENTO DE PATENTES

FORMATO INTERNACIONAL

RECIBO EN EL CASO DE UN DEPÓSITO ORIGINAL EMITIDO SEGÚN LA
REGLA 7.3 Y DECLARACIÓN DE VIABILIDAD EMITIDA SEGÚN LA REGLA 10.2

Para: (Nombre y dirección del Depositante o Abogado)

E.I. du Pont de Nemours and Company

ATT: Robert S. Scott

DuPont Experimental Station

E-301/317,200 Powder Mill Road

P.O. Box 80301

Wilmington, DE 19880-0301

Depositado a nombre de: E.I. du Pont de Nemours and Company

Fecha de recepción del cultivo por la ATCC®: **Diciembre 4, 2007**

Referencia de identificación por el Depositante		Designación del depósito de patente
		ATCC®
Shewanella putrefaciens	LH4:18	PTA-8822
Pseudomonas stutzeri	LH4:15	PTA-8823

El depósito fue recibido por esta Autoridad Depositaria Internacional y ha sido aceptado.

La cepa estará disponible si una oficina de patentes signataria al derecho de recibir del Tratado de Budapest, o si una patente Estadounidense ha sido emitida la cual cita la cepa, y la ATCC® ha recibido instrucciones de la Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos o del depositante para liberar dicha cepa.

Si el depósito muere o es destruido durante el término efectivo de la patente, será su responsabilidad el remplazarlo con material viable. También será su responsabilidad suministrar una cantidad suficiente para su distribución durante el término del depósito, el que sea más largo. Los Estados Unidos y muchos otros países son signatarios del Tratado de Budapest.

Usted será informado de las solicitudes que se hagan para la cepa durante los 30 años siguientes a la fecha del depósito.

El depósito fue verificado el 18 de diciembre de 2007 y en esa fecha, el cultivo se encontró viable.

Autoridad Depositaria Internacional: American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA

Firma de la persona que tiene autoridad para representar la ATCC®:

Roxane Collins Firmado digitalmente por Roxane Collins

DN: cn=Roxane Collins, o=ATCC, ou=IP, Licenciamiento y

Servicios, [email=rcollins@atcc.org](mailto:rcollins@atcc.org), c=US

Fecha: 19 de diciembre de 2007

Fecha: 2007.12.20 12:00:56 – 05'00'

Depositorio de Patentes de la ATCC

Cc: Chris Lhulier

Caso o Expediente No. CL4043: CL4096