

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT

1 Título de la Invención(200 caracteres o espacios máximos)

ÁCIDOS NUCLEICOS Y MÉTODOS PARA DETECTAR MICROORGANISMOS PATÓGENOS Y BENÉFICOS

2 Datos del Solicitante

Nombre:	OMYA INTERNATIONAL AG	Dirección Electrónica:	notificaciones@clarkemodet.com.co
----------------	-----------------------	-------------------------------	-----------------------------------

Dirección:	Baslerstrabe 42, CH-4665	Domicilio/País de constitución:	SUIZA - ARGOVIA - OFTRINGEN
-------------------	--------------------------	--	-----------------------------

Identificación:

☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA
☒ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT
☐ PASAPORTE

Número: 900044398-

3 Solicitantes

Apellidos - Nombres o Razón Social	Tipo	Identificación
1. OMYA INTERNATIONAL AG	EE	900044398

4 Datos del Inventor

Nombre:	Nicola DIMAIUTA	Dirección Electrónica:	notificaciones@clarkemodet.com.co	
Dirección:	Amselweg 8, CH- 4528	Domicilio/País de constitución:	SUIZA - SOLOTHURN - ZUCHWIL	
Identificación: ☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT ☐ PASAPORTE ☒ No Aplica Número: -				
5	Inventor(es)			
Apellidos - Nombres		Domicilio		
1.	DIMAIUTA Nicola	SUIZA		
2.	EGLI Konrad	SUIZA		
3.	GLAUBITZ Joachim	SUIZA		
4.	URWYLER Simon	SUIZA		
6	Datos Inventor(es)			
País de Residencia		Departamento/Estado	Ciudad	Dirección
1.	SUIZA	SOLOTHURN	ZUCHWIL	Amselweg 8, CH-4528
2.	SUIZA	SOLOTHURN	OLTEN	Hasenweid 10, CH-4600
3.	SUIZA	ARGOVIA	SINS	Rossweid 7. CH-5643
4.	SUIZA	BERN	BERN	Bruckfeldstrasse 13, CH-3012
7	Datos del Representante Legal / Apoderado			

Nombre:	CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO	Dirección Electrónica:	notificaciones@clarkemodet.com.co
Dirección:	CARRERA 11 NO. 86-53	Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - CUNDINAMARCA - BOGOTA D.C.
Identificación: ☒ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT ☐ PASAPORTE Número: 66783790-			
Presentación de Poder			
Año de Radicación			
Número de Radicación			
8	Datos Solicitud: PCT / WO		
Número Solicitud:	PCT/EP2014/073768	Fecha Solicitud:	05/11/2014
Número Publicacion:	WO 2015/067635	Fecha Publicacion:	14/05/2015
9	Declaraciones de prioridad	☒ SI ☐ NO	
1.	(33) País de origen EUROP PATENT ORGANIZATION(EPO)	Codigo del país EP	(31) No. Solicitud 13191823.7 (32) Fecha 06/11/2013
10	Reivindicaciones		
Número reivindicaciones:		27	Pago Reivindicaciones: Si
11	Reducción de tasas.		
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente. ☐ SI ☒ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento. ☐ Micro, pequeñas y medianas empresas			

☐ Universidades públicas o privadas

☐ Entidades sin ánimo de lucro

Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos

12	Documentos Anexos
-----------	--------------------------

☒ Reivindicaciones

☒ Descripción

☐ Dibujos y/o Figuras

☒ Resumen

☐ Certificado Depósito Material Biológico

☐ Uso de Conocimiento tradicional

☒ Listado de secuencias

☐ Artes finales 12 x 12 cm

☒ Poderes, si fuere el caso

☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad

☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad

☒ Otros Anexos

**ÁCIDOS NUCLEICOS Y MÉTODOS PARA DETECTAR MICROORGANISMOS
PATÓGENOS Y BENÉFICOS**

Campo de la Invención

5 La presente invención se refiere a los ácidos nucleicos y a métodos para detectar microorganismos patógenos y benéficos.

Antecedentes de la Invención

10 La enfermedad en las hierbas del césped o en los céspedes se desarrolla a partir de una interacción entre una planta susceptible, un entorno favorable para el desarrollo de la enfermedad, y un organismo patógeno (hongos y bacterias). Tales organismos también se pueden desarrollar en hierbas plantas y cultivos decorativos; realmente, la
15 enfermedad puede aparecer en cualquier sustrato orgánico adecuado. Así, el tratamiento de un sustrato enfermo, especialmente el césped, por lo general consiste en la aplicación de un agente de tratamiento que ya sea extermina el patógeno o detiene su crecimiento.

20 Sin embargo, el primer paso en el manejo de la enfermedad, y especialmente el manejo de la enfermedad del césped, siempre debe consistir en identificar el agente patógeno causante. El conocimiento del agente patógeno causante de una enfermedad es importante para seleccionar el
25 agente de tratamiento más apropiado (fungicidas,

bactericidas, etc.). Realmente, es importante haber identificado correctamente la enfermedad de modo que un fungicida o bactericida adecuado pueda ser seleccionado. El tratamiento inadecuado no cura la enfermedad y puede tener un efecto severo en el suelo y otros organismos benéficos. El uso del tratamiento equivocado es ineficaz en cuanto al costo y puede implicar el riesgo de exacerbar la enfermedad, además de causar otros efectos secundarios no deseados.

Los métodos clásicos para la identificación del agente patógeno causante, esencialmente dependen de los síntomas que se pueden observar en la planta individual y en el tallo del césped, así como sobre las estructuras de los patógenos, que se pueden encontrar en el entorno del césped enfermo.

Sin embargo, estos métodos pueden requerir un tiempo prolongado para ser implementados, ya que a menudo implican el aislamiento y el cultivo del patógeno en un laboratorio. Además, la diferenciación de las especies de patógenos estrechamente relacionados puede ser difícil.

Por consiguiente, se han desarrollado métodos de biología molecular que resuelven estas dificultades. Uno de los métodos más populares de detección de hongos se basa en la amplificación por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de los espaciadores transcritos internos (1, 2) y el gen del rRNA 5.8S (ITS1 -5.8S-ITS2) del operón del rRNA

fungoso (Goodwin et al (1995) Plant Pathology 44:384-391; Ranjard et al. (2001) Applied and Environmental Microbiology 67:4479-4487).

Para la detección de las bacterias, se utiliza la
5 amplificación por PCR y la secuenciación del gen del rRNA 16S
(Nam HR, Lee HM, Lee Y. Isolation of
quinupristin/dalfopristin-resistant *Streptococcus agalactiae*
from asymptomatic Korean women. J Microbiol. febrero 2008;
46(1):108-11. doi: 10.1007/s12275-007-0217-1, PubMed PMID:
10 18337702).

Sin embargo, la secuenciación de la región de un
par de cebadores específicos es a menudo necesaria para la
identificación de una especie patógena dada, lo que hace a
este método engorroso cuando se desconoce la identidad del
15 patógeno y del cual se mantiene su búsqueda. Además, la
secuenciación de las mezclas de agentes patógenos es cara y
laboriosa. Las especies de cebadores específicos para
identificar ciertas especies de mezclas no están disponibles
para todos los microorganismos. En consecuencia, estos
20 métodos no se utilizan en la rutina para la determinación del
agente anti-patógeno más adecuado para tratar una enfermedad
dada del césped.

La solicitud de patente japonesa No. 2008005760
describe 458 sondas para la detección de mohos que se pueden
25 encontrar en los alimentos. Estas 458 sondas están diseñadas

para la detección de los mohos por un método basado en la hibridación que implican el uso de una Micromatriz.

La solicitud de patente WO 2009/147017 A1, del mismo solicitante, describe ácidos nucleicos y métodos para la
5 detección de hongos patógenos en el césped. Esta invención se refiere al césped pero se centra en AFLP y T-RFLP como métodos para la identificación. Este método tiene el límite que a menudo muchas especies de hongos diferentes, patógenos y no patógenos, están presentes en el césped. Muchas especies
10 diferentes en una muestra compleja hacen que sea difícil o incluso imposible la identificación de especies con baja representación numérica. La especie patógena que causa la enfermedad, sin embargo, no es necesariamente la especie más abundante.

15 Como consecuencia, los métodos actuales de elección para la detección de patógenos de plantas y microorganismos benéficos requieren de mucho tiempo, no son suficientemente sensibles, no son lo suficientemente específicos, y/o no son lo suficientemente amplios como para detectar el espectro de
20 los microorganismos.

Por lo tanto, un objetivo de la presente invención es proporcionar ácidos nucleicos específicos que permitan la identificación de los agentes patógenos y los microorganismos benéficos presentes en una muestra.

25 También es un objetivo de la presente invención

proporcionar una Micromatriz-Chip única que contenga hasta 100 puntos con estos ácidos nucleicos específicos. Estos ácidos nucleicos son específicos para, por ejemplo, 90 hongos conocidos y, por ejemplo, 10 especies de bacterias.

5 Un objeto adicional de la presente invención es un método que permita poner a prueba en una sola muestra hasta un máximo de 100 especies diferentes. Como las secuencias de ADN de especies estrechamente relacionadas son idénticas, este método también es capaz de incluir la detección de los
10 microorganismos. Por lo tanto, este método permite seleccionar muy rápido muchos microorganismos. Además, el método es adaptable para un alto rendimiento. El método de acuerdo con la invención es por lo tanto muy sensible y permite la detección de los patógenos que están presentes en
15 niveles bajos.

Breve Descripción de la Invención

La presente invención surge de la identificación, por los inventores, de una selección de secuencias de nucleótidos específicas para una región conservada en el gen
20 del rRNA y sus regiones intergénicas de hongos y bacterias generalmente relevantes para la salud de los céspedes, pero también para otros sustratos orgánicos.

Por lo tanto, la presente invención se refiere al uso de un conjunto de ácidos nucleicos que comprende o que
25 consiste de:

(i) las secuencias seleccionadas del grupo que consiste de:

- GGGTTGCTTGCTTGCGAGCTCC (SEC ID N° 1);
- CTGGTGTTTGGACTCGCCTTAAAC (SEC ID N° 2);
- GCACATATTTTGCCTTTGTATCAGG (SEC ID N° 3);
- 5 - TCCGCCAGGGAARACCAAACTCT (SEC ID N° 4);
- CGGAGCGCGGGCCGTCGCG (SEC ID N° 5);
- ACTTATACCCAAAACGTTGCCTCG (SEC ID N° 6);
- CATTATCGAGTTTACGCTCCATAAC (SEC ID N° 7);
- GCGCAGCTATTAGATCTACGGTG (SEC ID N° 8);
- 10 - GCAAGGCTGGAGTATTTTATTACCCT (SEC ID N° 9);
- CCGTGGCCTTGTTGCCACGCCC (SEC ID N° 10);
- ATTGGGGCCTTGTTGCCACACCC (SEC ID N° 11);
- TTTTGCCTTTGTCCAGTTGCGG (SEC ID N° 12);
- GATTCGTCGCCCCCCTCCTGG (SEC ID N° 13);
- 15 - GACCTTATTCAAACCTTTTTTTTCAGTT (SEC ID N° 14);
- GCTGTTGGGGACCGGCTCACCCG (SEC ID N° 15);
- TGACCGTTGTCACGAGACGACTTTAT (SEC ID N° 16);
- CTTGGTGTTGGGAGCTGCAGTCC (SEC ID N° 17);
- CCATTGCGTAGTAGTAAAACCC (SEC ID N° 18);
- 20 - AACGCGCTTCGTTTCGGAGGCTT (SEC ID N° 19);
- TTCAACCCTCAAGCCCCCGGGTTTG (SEC ID N° 20);
- CGAAGTAGTGATATTCGCATCGG (SEC ID N° 21);
- GTTAGGGGGTCCCCCTCTCCGG (SEC ID N° 22);
- CTCGGTCTCGAGCCGCCGG (SEC ID N° 23);
- 25 - ACACCCCATTTGAACCTATTTATTTTYAA (SEC ID N° 24);

- ACATCTCGCGCTTTGCATTCAGAA (SEC ID N° 25);
- CGATTTTGGGGGGTGGCTAGTGC (SEC ID N° 26);
- CTCTGAGTACGAAAAGAACCTGAAA (SEC ID N° 27);
- TGCTGGCTCTTCTAGAGTCGGCTC (SEC ID N° 28);
- 5 - GGCCAGACGACAGCCATAAACC (SEC ID N° 29);
- CGCCGGTGGACTACCTAAACTCT (SEC ID N° 30);
- CGTCGTCGCTGTTGCAAGGAC (SEC ID N° 31);
- TCGGGCAACGGAACCAGGCGC (SEC ID N° 32);
- GTTGCCTCGGCGGGCACGGC (SEC ID N° 33);
- 10 - CCAGTTATATAGGCACCCAATAAGCC (SEC ID N° 34);
- CACCAAACCAGCTTGGGAAACCTT (SEC ID N° 35);
- GTCACGTGGTCTTGGTTTTGAA (SEC ID N° 36);
- CGCAACCGGGAGCCGCGGCGCGG (SEC ID N° 37);
- TGGACTGGCTTCGGCTAGACTGG (SEC ID N° 38);
- 15 - ACCATAGCTCAGTTGCTTGGCTTTT (SEC ID N° 39);
- TGGCGAATGTTTGGACTTCGGTCT (SEC ID N° 40);
- GCGCAAGCTGGGGTGGRCGAG (SEC ID N° 41);
- GAACTTGTGTCTCTGCGGCGCG (SEC ID N° 42);
- AACTGGTGAACCGTAGCTGTGTGGT (SEC ID N° 43);
- 20 - CCGTACATTAAACTTGACTTTCTTCC (SEC ID N° 44);
- GGAACTCCACCCTTGAATACTG (SEC ID N° 45);
- CGACCCCTTTTATAATTCACCCAAC (SEC ID N° 46);
- CTAAAAAACCCCTCATAACCTTTTTTTT (SEC ID N° 47);
- CTCCTAAAACCCAATATCTTATTTTAAAG (SEC ID N° 48);
- 25 - CAATACTGCCATCTTGTTTTTGAAGG (SEC ID N° 49);

- ATACTTGCCATCTTTTTTGAAGG (SEC ID N° 50);
- CCTAAAAACCCCCCTTATCA (SEC ID N° 51);
- CAACCTTTTTTGGAGTATTCTAATGAT (SEC ID N° 52);
- ATACTGCCATCTTATTTAAGGGAGAC (SEC ID N° 53);
- 5 - CAGGGCTATCCCCCTGCCAGG (SEC ID N° 54);
- GGAGGGTTGCGCACTTTGTGCGTG (SEC ID N° 55);
- GACGCCCTGTTTTCGGATAGGG (SEC ID N° 56);
- TGGCGTGCGTTTGCTTGCGCTTC (SEC ID N° 57);
- CTATACTCCGAGAACGAAAGTTTTTGG (SEC ID N° 58);
- 10 - TAGTAGTGTGTGTRGCACGTTGTC (SEC ID N° 59);
- TGTTTTTGTGTTTGTGGAAATACGCTGTTT (SEC ID N° 60);
- GTAGAATTTTGCTGCTCTTGGGCG (SEC ID N° 61);
- CTGTGTAGTCAGGGATGGAATGTGC (SEC ID N° 62);
- TGAACGCATCATGTTGCTTCGGG (SEC ID N° 63);
- 15 - CTGGCTTTTGTGTTTGGATTTGGAGGT (SEC ID N° 64);
- CAGCGACAACCGACTCTAAGTTCA (SEC ID N° 65);
- CTCGTGAAACACATGAAGTCTGAG (SEC ID N° 66);
- TCGGCGCCCCAGGAGAAATCCT (SEC ID N° 67);
- AGTCCATGTCCGCAATGGCAGG (SEC ID N° 68);
- 20 - AACACATACCTCTCGTTACAGGGTC (SEC ID N° 69);
- GAGCTGCTCTTCGGGGCCTTGTAT (SEC ID N° 70);
- CTTGTATGCGCGCCAGAGAATATCA (SEC ID N° 71);
- TATTGGGCGTCCGCGGGGGA (SEC ID N° 72);
- GCGGAGTTCACGAGCCCTCAC (SEC ID N° 73);
- 25 - GCGCCTTGTCTCTCGCGAGAC (SEC ID N° 74);

- AGCTGGATCTCAGTGTTATGCTTGG (SEC ID N° 75);
- GTGCCTCTCGGGGCTTCTGCCG (SEC ID N° 76);
- CCTGTGTAGTAATGCTTAGCTTACAC (SEC ID N° 77);
- CTACGGAGGGGTGGCTGCGTTG (SEC ID N° 78);
- 5 - CTACGGAGGGGTGGCTGCGTTG (SEC ID N° 79);
- ACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATG (SEC ID N° 80);
- GTCCAATGTAGGCGCAGCGTAA (SEC ID N° 81);
- ATTAGCTGGAACCTCTTGTGGACC (SEC ID N° 82);
- ATTAGCTGGAACCTCTTGTGGACC (SEC ID N° 83);
- 10 - CTCATTAAACAATTTTTCTTATAAAGATTG (SEC ID N° 84);
- GTCATTGCACTCAGGTAGACGTAACA (SEC ID N° 85);
- CTTTTTCTTTTGGAAAAGGTTGACG (SEC ID N° 86);
- ACAGACAATTTTATTGAACACTTTTT (SEC ID N° 87);
- TTTGAAGAGTTGGCGGATCGGTAT (SEC ID N° 88);
- 15 - ACGGACAATTTTATTTAACACTTTTG (SEC ID N° 89);
- GCCCTTAAAAKCAAGTGGCGGACC (SEC ID N° 90);
- TAATACATGCAAGTCGAGCGGACAGAT (SEC ID N° 91);
- GGGTACTTACCTAATACGTGAGTAT (SEC ID N° 92);
- GAAGGGTARTGTCTTAATACGGCATT (SEC ID N° 93);
- 20 - GGAAGGGYAGTGTGTTAATAGCAC (SEC ID N° 94);
- ATGACTGTCCATCGCATGGTGGAT (SEC ID N° 95);
- CTGCGGATCGCATGGTCTGCG (SEC ID N° 96);
- AATACTTCTCCTCGCATGGGGAGG (SEC ID N° 97);
- ATGACACACGACCGCATGGTCTGT (SEC ID N° 98);
- 25 - CACCGGAAACGGCCAGAGATGGTCG (SEC ID N° 99); y

- GAGTGTGGTAGAGGATGGCGGAA (SEC ID N° 100);

(ii) las secuencias que tienen al menos 80 % de identidad con la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y

SEC ID N° 100,

(iii) las secuencias complementarias de (i) o (ii),
para la detección mediante técnicas de hibridación
de al menos un patógeno y/o un microorganismo benéfico en una
5 muestra.

La invención también se refiere a un método para la
detección por técnicas de hibridación de al menos un patógeno
y/o un microorganismo benéfico en una muestra, el método
comprende el uso de un conjunto de ácidos nucleicos que
10 comprende o que consiste de:

(i) las secuencias seleccionadas del grupo que
consiste de la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID
N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC
ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N°
15 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17,
SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC
ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N°
26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30,
SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC
20 ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N°
39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43,
SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC
ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N°
52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56,
25 SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC

ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y SEC ID N° 100,

(ii) las secuencias que tienen al menos 80 % de identidad con la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEC ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEC ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC ID N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60,

SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC
 ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N°
 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73,
 SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC
 5 ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N°
 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86,
 SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC
 ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N°
 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y
 10 SEC ID N° 100, o

(iii) las secuencias complementarias de (i) o (ii).

En una modalidad, la invención también se refiere
 al uso de al menos un ácido nucleico que comprende o que
 consiste de:

15 (i) una secuencia seleccionada del grupo que
 consiste de la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID
 N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC
 ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N°
 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17,
 20 SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC
 ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N°
 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30,
 SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC
 ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N°
 25 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43,

SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC
 ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N°
 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56,
 SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC
 5 ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N°
 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69,
 SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC
 ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N°
 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82,
 10 SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC
 ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N°
 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95,
 SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y SEC
 ID N° 100,

15 (ii) una secuencia que tiene al menos 80 % de
 identidad con la SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC
 ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9,
 SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC
 ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N°
 20 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22,
 SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID
 N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N°
 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35,
 SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC
 25 ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N°

44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48,
 SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC
 ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N°
 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61,
 5 SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC
 ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N°
 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74,
 SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC
 ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N°
 10 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87,
 SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC
 ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N°
 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 o SEC ID N° 100,
 o

15 (iii) una secuencia complementaria de (i) o (ii),
 para la detección por técnicas de hibridación de al
 menos un patógeno y/o un microorganismo benéfico en una
 muestra.

En una modalidad particular, la presente invención
 20 también se refiere a un método para detectar por técnicas de
 hibridación al menos un patógeno y/o un microorganismo
 benéfico en una muestra, el método comprende el uso de al
 menos un ácido nucleico que comprende o que consiste de:

(i) una secuencia seleccionada del grupo que
 25 consiste de la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID

N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y SEC ID N° 100,

(ii) una secuencia que tiene al menos 80 % de identidad con la SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC

ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9,
 SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC
 ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N°
 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22,
 5 SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID
 N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N°
 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35,
 SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC
 ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N°
 10 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48,
 SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC
 ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N°
 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61,
 SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC
 15 ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N°
 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74,
 SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC
 ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N°
 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87,
 20 SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC
 ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N°
 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 o SEC ID N° 100,
 o

(iii) las secuencias complementarias de (i) o (ii).

25 La presente invención también se refiere a una

Micromatriz-Chip que comprende un conjunto de ácidos nucleicos que comprende o que consiste de:

(i) las secuencias SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC

ID N° 99 y SEC ID N° 100,

(ii) las secuencias que tienen al menos 80 % de identidad con la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y

SEC ID N° 100, o

(iii) las secuencias complementarias de (i) o (ii).

En una modalidad particular, la presente invención también se refiere a una Micromatriz-Chip que
 5 comprende al menos un ácido nucleico que comprende o que consiste de:

(i) una secuencia seleccionada del grupo que consiste de la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC
 10 ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30,
 15 SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N°
 20 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC
 25 ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N°

78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82,
 SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC
 ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N°
 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95,
 5 SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y SEC
 ID N° 100,

(ii) una secuencia que tiene al menos 80 % de
 identidad con la SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC
 ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9,
 10 SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC
 ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N°
 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22,
 SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID
 N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N°
 15 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35,
 SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC
 ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N°
 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48,
 SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC
 20 ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N°
 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61,
 SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC
 ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N°
 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74,
 25 SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC

ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 o SEC ID N° 100, o

(iii) una secuencia complementaria de (i) o (ii).

La presente invención también se refiere a un método de detección de patógenos y/o microorganismos benéficos en una muestra orgánica, que comprende las etapas de:

- a) el aislamiento del ADN de la muestra y de los estándares que comprenden el ADN de los patógenos y/o de los microorganismos benéficos,
- 15 b) la amplificación de los ADN aislados de la etapa a) por PCR;
- c) la hibridación de los productos de PCR obtenidos por una Micromatriz-Chip como se definió anteriormente;
- d) la detección de los ADN unidos; y
- 20 e) la deducción a partir de los mismos de que si la muestra contiene los patógenos y/o los microorganismos benéficos.

La presente invención también se refiere a un kit para la detección de los patógenos y/o los microorganismos benéficos en una muestra orgánica que

comprende:

(i) los ácidos nucleicos de las siguientes
secuencias: SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N°
4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID
5 N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13,
SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC
ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N°
22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC
ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N°
10 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35,
SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC
ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N°
44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48,
SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC
15 ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N°
57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61,
SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC
ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N°
70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74,
20 SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC
ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N°
83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87,
SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC
ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N°
25 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y SEC ID N° 100,

(ii) los ácidos nucleicos de las secuencias que tienen al menos 80 % de identidad con la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC ID N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y SEC ID N° 100, o

(iii) los ácidos nucleicos de las secuencias complementarias de (i) o (ii).

La presente invención también se refiere a un método de tratamiento de un césped enfermo que comprende las
5 etapas de:

a) detectar mediante un método que combina la PCR y una Micromatriz-Chip, la ausencia o la presencia de ácidos nucleicos de al menos un hongo patógeno y/o bacterias en una muestra de suelo en el que el césped enfermo está creciendo,
10 o en una muestra del césped enfermo, con al menos un ácido nucleico como se definió anteriormente, en particular con el conjunto de ácidos nucleicos como se definió anteriormente;

b) si se han detectado uno o más ácidos nucleicos de los hongos patógenos y/o bacterias en la etapa a),
15 seleccionar uno o más agentes antifúngicos y/o antibacterianos que tienen como objetivo el uno o más hongos patógenos y/o bacterias de los cuales se han detectado los ácidos nucleicos; y

c) aplicar el uno o más agentes antifúngicos y/o
20 antibacterianos de la etapa b) al césped enfermo.

Descripcion Detallada de la Invencion

Los ácidos nucleicos, como están propuestos en el presente documento, pueden ser de cualquier tipo, sin embargo se prefiere que sean de ADN.

25 La tabla 1 siguiente proporciona detalles sobre las

secuencias de ácidos nucleicos que se pueden utilizar para la identificación de las especies asignadas. La misma proporciona la SEC ID de referencia, el nombre del oligonucleótido, las especies correspondientes y cual tipo se necesita de los 2 PCR para amplificarlos (ITS: región genómica que comprende los genes y las regiones intergénicas que codifican el ARN ribosómico en los hongos; el 16S rRNA: región genómica que codifica el ARN ribosómico de 16S en las bacterias).

Tabla 1:

SEC ID N°	ID Oligo	Especies	Secuencias de ácidos nucleicos	Región
1	ARME	Armillaria mellea	GGGTTGCTTGCTTGCGAGCTCC	ITS
2	ASPH	Ascochyta phleina	CTGGTGTGGACTCGCCTTAAAC	ITS
3	BISO	Bipolaris sorokiniana	GCACATATTTGCGCTTTGTATCAGG	ITS
4	BLGR	Blumeria graminis	TCCGCCAGGGAARACCAAACTCT	ITS
5	CEZE	Cercospora zebrina	CGGAGCGCGGGCCGTCGCG	ITS
6	CLPU	Claviceps purpurea	ACTTATACCCAAAACGTTGCCTCG	ITS
7	COTR	Colletotrichum trifolii	CATTATCGAGTTTACGCTCCATAAC	ITS
8	COFU	Corticium fuciforme	GCGCAGCTATTAGATCTACGGTG	ITS
9	CUAF	Curvularia affinis	GCAAGGCTGGAGTATTTTATTACCCT	ITS
10	DRDI	Drechslera dictyoides	CCGTGGCCTTGTTGCCACGCC	ITS
11	DRPH	Drechslera phlei	ATTGGGGCCTTGTTGCCACACCC	ITS
12	DRPO	Drechslera poae	TTTTGCGCTTTGTCCAGTTGCGG	ITS
13	DRSI	Drechslera siccans	GATTGTCGCCCCCCTCCTGG	ITS
14	DRTR	Drechslera tritici-repentis	GACCTTATTCAAACCTTTTTTTCAGTT	ITS
15	EPTY	Epichloe typhina	GCTGTTGGGGACCGGCTCACCCG	ITS
16	EXTU	Exserohilum turcicum	TGACCGTTGTCACGAGACGACTTTAT	ITS
17	FUCU	Fusarium culmorum	CTTGGTGTTGGGAGCTGCAGTCC	ITS
18	FUPO	Fusarium poae	CCATTGCGTAGTAGTAAAACCC	ITS
19	GAGR	Gaeumannomyces graminis	AACGCGCTTCGTTCCGAGGCTT	ITS

5	20	FUPR	Gibberella intermedia	TTCAACCCTCAAGCCCCCGGGTTTG	ITS
	21	GLCA	Gliocladium catenulatum	CGAAGTAGTGATATTCCGCATCGG	ITS
	22	GLGR	Glomerella graminicola	GTTAGGGGGTCCCCTCTCCGG	ITS
	23	KACA	Kabatiella caulivora	CTCGGTCTCGAGCCGCCGG	ITS
	24	LEKO	Leptosphaeria korrae	ACACCCCATTTGAACCTATTTATTTTAA	ITS
10	25	LEAU	Leptosphaerulina australis	ACATCTCGCGCTTTGCATTAGAA	ITS
	26	MAPH	Macrophomina phaseolina	CGATTTTGGGGGGTGGCTAGTGC	ITS
	27	MAPO	Magnaporthe poae	CTCTGAGTACGAAAAGAACCTGAAA	ITS
	28	MAOR	Marasmius oreades	TGCTGGCTCTTCTAGAGTCGGCTC	ITS
	29	MIBO	Microdochium bolleyi	GGCCAGACGACAGCCATAAACC	ITS
15	30	MINI	Microdochium nivale	CGCCGGTGGACTACCTAACTCT	ITS
	31	MITR	Microsphaera trifolii	CGTCGTCGCTGTTCGCAAGGAC	ITS
	32	MYRO	Myrothecium roridum	TCGGGCAACGGAACCAGGCGC	ITS
	33	NESP	Neotyphodium sp.	GTTGCCTCGGCGGGCACGGC	ITS
	34	OPHE	Ophiosphaerella herpotricha	CCAGTTATATAGGCACCCAATAAGCC	ITS
20	35	LENO	Ophiosphaerella narmari	CACCAAACCAGCTTGGGAAACCTT	ITS
	36	PETR	Peronospora trifoliorum	GTCACGTGGTCTTGGTTTTGAA	ITS
	37	PHSP	Phyllachora vulgata	CGCAACCGGGAGCCGCGGCGCGG	ITS
	38	PLBR	Phytophthora brassicae	TGGACTGGCTTCGGCTAGACTGG	ITS
	39	PHCA	Phytophthora cactorum	ACCATAGCTCAGTTGCTTGGCTTTT	ITS
25	40	PHCI	Phytophthora citricola	TGGCGAATGTTTGGACTTCGGTCT	ITS
	41	PHDR	Phytophthora drechsleri	GCGCAAGCTGGGGTGGRCGAG	ITS
	42	PHFR	Phytophthora fragariae	GAACCTGTGTCTCTGCGGCGCG	ITS
	43	PHME	Phytophthora megasperma	AACTGGTGAACCGTAGCTGTGTGGT	ITS
	44	PHNI	Phytophthora nicotianae	CCGTACATTAACTTGACTTTCTTCC	ITS
	45	PSME	Pseudopeziza medicaginis	GGAACCTCCACCCTTGAATACACTG	ITS
	46	PUCO1	Puccinia coronata	CGACCCCTTTTATAATTCACCCAAC	ITS
	47	PUCO2	Puccinia coronata	CTAAAAAACCCCTCATAACCTTTTTT	ITS

5	48	PUGRA	<i>Puccinia graminis</i>	CTCCTAAAACCCAATATCTTATTTTAAAG	ITS
	49	PUPO	<i>Puccinia poae-nemoralis</i>	CAATACTGCCATCTTGTTTTGAAGG	ITS
	50	PUPA	<i>Puccinia poarum</i>	ATACTTGCCATCTTTTTGGAAGG	ITS
	51	PURE	<i>Puccinia recondita</i>	CCTAAAAACCCCCCTTATCA	ITS
	52	PUSO	<i>Puccinia sorghi</i>	CAACCTTTTTGGAGTATTCTAATGAT	ITS
10	53	PUST	<i>Puccinia striiformis</i>	ATACTGCCATCTTATTKAAGGGAGAC	ITS
	54	PUTR	<i>Puccinia triticea</i>	CAGGGCTATCCCCCTGCCAGG	ITS
	55	PYLY	<i>Pyrenochaeta lycopersici</i>	GGAGGGTTGCGCACTTTGTGCGTG	ITS
	56	PYAP	<i>Pythium aphanidermatum</i>	GACGCCCTGTTTTCGGATAGGG	ITS
	57	PYDE	<i>Pythium debaryanum</i>	TGGCGTGCGTTTGCTTGCGCTTC	ITS
15	58	PHGR	<i>Pythium graminicola</i>	CTATACTCCGAGAACGAAAGTTTTTG	ITS
	59	PYIR	<i>Pythium irregulare</i>	TAGTAGTGTGTGTRGCACGTTGTC	ITS
	60	PYMA	<i>Pythium mastophorum</i>	TGTTTTTGTGTTTGGAATACGCTGTTT	ITS
	61	PYSU	<i>Pythium sulcatum</i>	GTAGAATTTTGCTGCTCTTGGGCG	ITS
	62	PYUL	<i>Pythium ultimum</i>	CTGTGTAGTCAGGGATGGAATGTGC	ITS
20	63	RACO	<i>Ramularia collycygni</i>	TGAACGCATCATGTTGCTTCGGG	ITS
	64	RHCE	<i>Rhizoctonia cerealis</i>	CTGGCTTTTGTGTTTGATTGGAGGT	ITS
	65	RHFR	<i>Rhizoctonia fragariae</i>	CAGCGACAACCGACTCTAAGTTCA	ITS
	66	RHOR	<i>Rhynchosporium orthosporum</i>	CTCGTGAAACACATGAAGTCTGAG	ITS
	67	RHSE	<i>Rhynchosporium secalis</i>	TCGGCGCCCCAGGAGAAATCCT	ITS
25	68	SCBO	<i>Sclerotinia borealis</i>	AGTCCATGTCCGCAATGGCAGG	ITS
	69	SCHO	<i>Sclerotinia homoeocarpa</i>	AACACATACCTCTCGTTACAGGGTC	ITS
	70	SCSC	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	GAGCTGCTCTTCGGGGCCTTGAT	ITS
	71	SCTR	<i>Sclerotinia trifoliorum</i>	CTTGTATGCGCGCCAGAGAATATCA	ITS
	72	SEMA	<i>Septoria macropoda</i>	TATTGGGCGTCCGCGGGGGA	ITS
	73	SETR	<i>Septoria tritici</i>	GCGGAGTTCACGAGCCCTCAC	ITS
	74	STSA	<i>Stemphylium sarcinaeforme</i>	GCGCCTTGCTCTCGCGAGAC	ITS
	75	THCU	<i>Thanatephorus cucumeris</i>	AGCTGGATCTCAGTGTTATGCTTGG	ITS
	76	CHEL	<i>Thielaviopsis basicola</i>	GTGCCTCTCGGGGCTTCTGCCG	ITS
	77	CHTH	<i>Thielaviopsis populi</i>	CCTGTGTAGTAATGCTTAGCTTACAC	ITS
	78	TICA	<i>Tilletia caries</i>	CTACGGAGGGGTGGCTGCGTTG	ITS
	79	TICO	<i>Tilletia controversa</i>	CTACGGAGGGGTGGCTGCGTTG	ITS

5	80	TRHA	Trichoderma hamatum	ACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATG	ITS
	81	TYIN	Typhula incarnate	GTCCAATGTAGGCGCAGCGTAA	ITS
	82	TYIS1	Typhula ishikariensis	ATTAGCTGGAACCTCTTGTGGACC	ITS
	83	TYIS2	Typhula ishikariensis	ATTAGCTGGAACCTCTTGTGGACC	ITS
	84	URDA	Uromyces dactylidis	CTCATTAACAATTTTTCTTATAAAGATTG	ITS
10	85	URTR	Uromyces trifolii-repentis	GTCATTGCACTCAGGTAGACGTAACA	ITS
	86	USMA	Ustilago maydis	CTTTTTCTTTTGAAAAGGTTGACG	ITS
	87	USNU	Ustilago nuda	ACAGACAATTTTATTGAACACTTTTT	ITS
	88	USST	Ustilago striiformis	TTTGAAGAGTTGGCGGATCGGTAT	ITS
	89	USTR	Ustilago tritici	ACGGACAATTTTATTTAACACTTTTG	ITS
15	90	VEDA	Verticillium dahliae	GCCCTTAAAAKCAAGTGGCGGACC	ITS
	91	BASU	Bacillus amyloliquefaciens	TAATACATGCAAGTCGAGCGGACAGAT	16S rRNA
	92	PSCH	Pseudomonas chlororaphis	GGGTACTTACCTAATACGTGAGTAT	16S rRNA
	93	SEEN	Serratia entomophila	GAAGGGTARTGTCTTAATACGGCATT	16S rRNA
	94	SEPL	Serratia plymuthica	GGAAGGGYAGTGTGTTAATAGCAC	16S rRNA
20	95	STAL	Streptomyces albidoflavus	ATGACTGTCCATCGCATGGTGGAT	16S rRNA
	96	STGR1	Streptomyces graminofaciens	CTGCGGATCGCATGGTCTGCG	16S rRNA
	97	STGR2	Streptomyces griseoviridis	AATACTTCTCCTCGCATGGGGAGG	16S rRNA
	98	STRI	Streptomyces rimosus	ATGACACACGACCGCATGGTCTGT	16S rRNA
	99	STSC	Streptomyces scabiei	CACCGGAAACGGCCAGAGATGGTTCG	16S rRNA
	100	XATR	Xanthomonas translucens	GAGTGTGGTAGAGGATGGCGGAA	16S rRNA

Las secuencias de nucleótidos se escriben
 20 utilizando el código de bases de nucleótidos (IUPAC)
 (Cornish-Bowden, A. Acid Nucl Res 13, 3021-3030 (1985)). En
 las secuencias de nucleótidos las letras G, A, T, C
 significan Guanina, Adenina, Timina y Citosina, M significa A
 y C, R significa A y G, W significa A y T, Y significa C y T,
 25 S significa C y G, K significa G y T, H significa A y C y T,

V significa A y C y G, D significa A y G y T, B significa C y G y T, N significa A y C y G y T.

Tal como se pretende en el presente documento, los ácidos nucleicos que comprenden o que consisten de secuencias
5 que tienen al menos 80% de identidad con la SEQ ID N° 1 a 100 como se mencionó anteriormente, son secuencias de ácidos nucleicos 80 a 100% idénticas a las secuencias de ácidos nucleicos de la SEQ ID N° 1 a 100. En particular, estas secuencias de ácidos nucleicos son 90 a 100% idénticas, más
10 particularmente 95 a 100%, aún más preferiblemente 95, 96, 97, 98, 99 o 100% idénticas a las secuencias de ácidos nucleicos de la SEQ ID N° 1 a 100.

Por ácidos nucleicos que tienen al menos, por ejemplo, 95% de identidad con una secuencia de ácidos
15 nucleicos de consulta de la presente invención, está propuesto que la secuencia de ácidos nucleicos sea idéntica a la secuencia de consulta, excepto que la secuencia puede incluir hasta cinco alteraciones de ácidos nucleicos por cada 100 ácidos nucleicos de la secuencia de ácidos nucleicos de
20 consulta. En otras palabras, para obtener un ácido nucleico que tiene una secuencia al menos 95% idéntica a una secuencia de ácidos nucleicos de consulta, hasta 5% (5 de 100) de los ácidos nucleicos en la secuencia objetivo pueden insertarse, eliminarse o sustituirse con otro ácido nucleico.

25 En el contexto de la presente solicitud, el

porcentaje de identidad se calcula utilizando una alineación global (es decir, las dos secuencias se comparan en toda su longitud). Los métodos para comparar la identidad de dos o más secuencias son bien conocidos en la técnica. El programa
5 "needle", que utiliza el algoritmo de alineamiento global de Needleman-Wunsch (Needleman y Wunsch, 1970, J. Mol Biol. 48:443-453) para encontrar la alineación óptima (incluyendo los huecos) de dos secuencias cuando se considera toda su longitud, se puede utilizar por ejemplo.

10 En particular, la longitud máxima de los ácidos nucleicos de acuerdo con la invención es inferior o igual a 500 nucleótidos, preferiblemente menos de o igual a 300, más preferiblemente menos de o igual a 200, aún más preferiblemente menos de o igual a 100, incluso más
15 preferiblemente menos de o igual a 50, todavía aún más preferiblemente menos de o igual a 35; en una modalidad particular, la longitud de la secuencia de nucleótidos es de 19 a 31 nucleótidos.

En el contexto de la invención, por "al menos un
20 ácido nucleico", se entiende, por ejemplo, 1, 2, 3, 10, 20, 30, 40, 50 o más (hasta 100) ácidos nucleicos que comprenden o que consisten de las secuencias elegidas de las secuencias SEC N° 1 a 100, las secuencias al menos 80% idénticas a la SEC ID N° 1 a 100 y las secuencias complementarias de las
25 mismas. El mismo puede ser, por ejemplo de al menos 40 ácidos

nucleicos, al menos 50, 60, 70, 80 o 90 ácidos nucleicos que comprenden o que consisten de las secuencias elegidas de tales secuencias. Se tiene que señalar que cualquiera de las secuencias anteriormente mencionadas en (i), (ii) y (iii) se
5 pueden elegir y se combinan juntas.

En una modalidad particular de los usos, los métodos y Micromatrices-Chips de acuerdo con la invención, se utilizan al menos 40 ácidos nucleicos, y más particularmente al menos 50 ácidos nucleicos.

10 Las "condiciones rigurosas" se pueden definir fácilmente por la persona experta en la técnica usando el conocimiento común. Si fuese necesario, la orientación para definir estas condiciones se puede encontrar en numerosos libros de texto, tales como Tijssen, 1993, Laboratory
15 Techniques in Biochemistry and Molecular Biology - Hybridization with Nucleic Acid Probes, Parte 1, Capítulo 2 "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid probe assays", Elsevier, New York. En particular, las condiciones restrictivas de acuerdo con la
20 invención pueden estar constituidas mediante una reacción de hibridación que requieren una combinación optimizada del amortiguador de hibridación y la temperatura de hibridación, dependiendo de los ingredientes del amortiguador de hibridación. Tal determinación de las condiciones de
25 hibridación está comprendida en el trabajo de rutina de la

persona experta en la técnica.

A manera de ejemplo, que no ha de considerarse como limitativo de la presente invención, la hibridación puede llevarse a cabo a 55 °C de acuerdo con el protocolo de la

5 Matriz de ADN de ALERE y mediante el uso de los amortiguadores de hibridación mencionadas en el mismo (kit de hibridación, ALERE Technologies GmbH, Alemania, números de orden 245200100 y 24520K100).

Como está propuesto en el presente documento, "un

10 patógeno" es un microorganismo de cualquier tipo que causa la enfermedad en su hospedero. El hospedero puede ser un animal, una planta, o incluso otro microorganismo. En particular, el patógeno se selecciona de bacterias y/u hongos. Más particularmente, los hongos y/o bacterias se seleccionan del

15 grupo que consiste de: *Armillaria mellea*, *Ascochyta phleina*, *Bipolaris sorokiniana*, *Blumeria graminis*, *Cercospora zebrine*, *Claviceps purpurea*, *Colletotrichum trifolii*, *Corticium fuciforme*, *Curvularia affinis*, *Drechslera dictyoides*, *Drechslera phlei*, *Drechslera poae*, *Drechslera siccans*,

20 *Drechslera tritici-repentis*, *Epichloe typhina*, *Exserohilum turcicum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Gaeumannomyces graminis*, *Gibberella intermedia*, *Gliocladium catenulatum*, *Glomerella graminicola*, *Kabatiella caulivora*, *Leptosphaeria korrae*, *Leptosphaerulina australis*, *Macrophomina phaseolina*,

25 *Magnaporthe poae*, *Marasmius oreades*, *Microdochium bolleyi*,

Microdochium nivale, *Microsphaera trifolii*, *Myrothecium*
roridum, *Neotyphodium* sp., *Ophiosphaerella herpotricha*,
Ophiosphaerella narmari, *Peronospora trifoliorum*, *Phyllachora*
vulgata, *Phytophthora brassicae*, *Phytophthora cactorum*,
5 *Phytophthora citricola*, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora*
fragariae, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*,
Pseudopeziza medicaginis, *Puccinia coronata*, *Puccinia*
coronata, *Puccinia graminis*, *Puccinia poae-nemoralis*,
Puccinia poarum, *Puccinia recondite*, *Puccinia sorghi*,
10 *Puccinia striiformis*, *Puccinia triticina*, *Pyrenochaeta*
lycopersici, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium debaryanum*,
Pythium graminicola, *Pythium irregulare*, *Pythium mastophorum*,
Pythium sulcatum, *Pythium ultimum*, *Ramularia collo-cygni*,
Rhizoctonia cerealis, *Rhizoctonia fragariae*, *Rhynchosporium*
15 *orthosporum*, *Rhynchosporium secalis*, *Sclerotinia borealis*,
Sclerotinia homoeocarpa, *Sclerotinia sclerotiorum*,
Sclerotinia trifoliorum, *Septoria macropoda*, *Septoria*
tritici, *Stemphylium sarcinaeforme*, *Thanatephorus cucumeris*,
Thielaviopsis basicola, *Thielaviopsis populi*, *Tilletia*
20 *caries*, *Tilletia controversa*, *Trichoderma hamatum*, *Typhula*
incamata, *Typhula ishikariensis*, *Typhula ishikariensis*,
Uromyces dactylidis, *Uromyces trifolii-repentis*, *Ustilago*
maydis, *Ustilago nuda*, *Ustilago striiformis*, *Ustilago*
tritici, *Verticillium dahliae*; *Bacillus amyloliquefaciens*,
25 *Pseudomonas chlororaphis*, *Serratia entomophila*, *Serratia*

plymuthica, *Streptomyces albidoflavus*, *Streptomyces graminofaciens*, *Streptomyces griseoviridis*, *Streptomyces rimosus*, *Streptomyces scabiei*, *Xanthomonas translucens*.

Se va a entender que un hongo y/o una bacteria que
 5 forma parte de la lista mencionada anteriormente, pero que
 podrían tener nombres sinónimos y/o que podrían haber
 cambiado de nombre, también se incluyen. Además, las especies
 estrechamente relacionadas de aquellos mencionados en la
 lista anterior también están en el marco de la presente
 10 invención. Por especies estrechamente relacionadas, se
 entienden especies que tienen una secuencia idéntica a uno o
 más nucleótidos(s) de las SEC ID Nos 1 a 100, como se
 describió anteriormente, dentro de sus regiones conservadas.

En una modalidad particular, la presente invención
 15 se refiere al uso de un conjunto de ácidos nucleicos que
 comprende o que consiste de:

(i) las secuencias SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID
 N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC
 ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N°
 20 12, SEC ID N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16,
 SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC
 ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N°
 25 ID N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29,
 SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC
 ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N°

38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42,
 SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC
 ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N°
 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55,
 5 SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC
 ID N° 60, SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N°
 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68,
 SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC
 ID N° 73, SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N°
 10 77, SEC ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81,
 SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC
 ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N°
 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94,
 SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC
 15 ID N° 99 y SEC ID N° 100,

(ii) las secuencias que comprenden o que consisten
 de las secuencias que tienen al menos 80 % de identidad con
 la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEC ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID
 N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC
 20 ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC ID N°
 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18,
 SEC ID N° 19, SEC ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC
 ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC ID N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N°
 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N° 31,
 25 SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC

ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y SEC ID N° 100, o

(iv) las secuencias complementarias de (i) o (ii), para la detección de todos los hongos y bacterias se han mencionado en la lista anterior.

Como está propuesto en el presente documento, "un microorganismo benéfico" es cualquier organismo que beneficie al proceso de crecimiento, incluyendo insectos, arácnidos, otros animales, plantas, bacterias, hongos, virus, y nematodos. En particular, el microorganismo benéfico es una rizobacteria promotora del crecimiento de las plantas.

Como está propuesto en el presente documento, la

muestra en la que los ácidos nucleicos van a ser detectados puede ser de cualquier tipo de sustrato orgánico susceptible de contener ácidos nucleicos. En particular, puede ser una muestra de césped, tierra, abonos naturales, semillas o de
5 cultivos. Más particularmente, el fertilizante natural puede ser de origen animal, tales como estiércol de animal o excrementos de animal, o de origen vegetal o herbáceo tales como las hojas, tallos, raíces, semillas, el cuerpo frutal o la flor.

10 Cuando la muestra es una muestra de césped, puede ser una muestra obtenida de la hierba de césped en su conjunto o de una muestra de una parte del césped, tales como la raíz, las semillas o el suelo. En particular, la muestra puede ser una raíz o una semilla o una hoja del césped de la
15 muestra de césped.

En particular, los céspedes que deben considerarse dentro del marco de la presente invención se describen en particular en el Compendium of Turfgrass Diseases, tercera edición (2005) emitido por la American Phytopathological
20 Society.

Más particularmente, la muestra de césped se selecciona del grupo que consiste de *Festaceae*, *Aveneae*, *Triticeae*, *Chlorideae*, *Zoysieae*, *Paniceae* y *Andropogoneae* Tribe.

25 Cuando la muestra es una muestra de suelo, se toma

preferiblemente de manera directa debajo de la zona enferma o en las proximidades del área enferma, preferiblemente del césped.

La muestra se puede obtener directamente del
5 césped, del fertilizante, de la semilla, del cultivo o del suelo, o puede ser obtenida después de las etapas de tratamiento, tales como las etapas de la molienda, la congelación o la extracción, en particular, la extracción de ácidos nucleicos.

10 En una modalidad particular, la muestra en la que se van a detectar los ácidos nucleicos no es de origen humano.

Como está propuesto en la presente invención, al menos un ácido nucleico como se definió anteriormente o el
15 conjunto de ácidos nucleicos como se definió anteriormente va a ser utilizado en una técnica de hibridación, en particular, un método de detección basado en la hibridación de ácidos nucleicos. Los ejemplos de tales métodos son los análisis por Micromatriz-Chip, el análisis de Southern Blot, análisis de
20 Northern Blot, o las reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) en donde los ácidos nucleicos se pueden utilizar como un cebador, sonda o una plantilla para la hibridación. Dependiendo del método de elección, el ácido nucleico está etiquetado o no etiquetado. Los ejemplos de tales etiquetas
25 son la biotina, estreptavidina, los productos químicos

fluorescentes, isótopos radiactivos, digoxigenina y muchos otros que permiten la detección del ADN unido.

Los métodos de detección basados en la hibridación de ácidos nucleicos son bien conocidos para una persona
5 experta en la técnica.

Las Micromatrices-Chips, por ejemplo, están bien descritos en "Microarray Technology in Practice" por Steve Russell (2008, ISBN-10: 012372516X, ISBN-13: 978-0123725165) y son utilizadas en numerosas publicaciones (Oh S, et al.,
10 Genomic diversity of Escherichia isolates from diverse habitats. PLoS One. 2012;7(10):e47005.doi: 10.1371/journal.pone.0047005. Epub 8 oct 2012).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), el análisis de Southern Blot y el análisis de Northern Blot, por
15 ejemplo, están bien descritos en Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4/a. edición (2012, ISBN-10: 1936113422 | ISBN-13: 978-1936113422).

Para las reacciones en cadena de la polimerasa como el método de detección de elección, al menos un ácido
20 nucleico tal como se ha definido anteriormente o el conjunto de ácidos nucleicos como se ha definido anteriormente, se utiliza para transmitir la especificidad de la PCR, en donde el ácido nucleico puede estar etiquetado o no etiquetado y puede ser usado como un cebador o una sonda.

25 Para el análisis de Southern Blot o Northern como

método de detección de elección, al menos un ácido nucleico como se ha definido anteriormente o el conjunto de ácidos nucleicos como se ha definido anteriormente, se utiliza durante la hibridación en donde el ácido nucleico puede estar etiquetado o no etiquetado.

Para la Micromatriz-Chip como el método de detección de elección, al menos un ácido nucleico tal como se ha definido anteriormente o el conjunto de ácidos nucleicos como se ha definido anteriormente, se utiliza como la sonda en la Micromatriz-Chip, en donde el ácido nucleico puede estar etiquetado o no etiquetado.

Los métodos de hibridación de Micromatriz-Chip anteriores pueden ser combinados con PCR generales para aumentar la sensibilidad o especificidad del ensayo. Al menos una secuencia de ácidos nucleicos como se ha definido anteriormente o el conjunto de ácidos nucleicos como se ha definido anteriormente serán parte del producto final de la PCR. Tales métodos de amplificación, que utilizan la PCR, y las variaciones de la misma, son bien conocidos para el experto en la técnica.

En una modalidad particular de la presente invención, la técnica de hibridación puede comprender así una PCR combinada con una Micromatriz-Chip, en donde la PCR aumenta la sensibilidad, reduce el fondo y/o añade una etiqueta de detección al producto de PCR.

Si las secuencias de nucleótidos de los hongos o el ADN aislado de los hongos van a ser amplificadas por PCR, la PCR comprende cebadores dirigidos a una secuencia dentro del genoma (Espaciador Transcrito Interno (ITS, por sus siglas en inglés)) de uno o más hongos que comprenden al menos una secuencia de ácidos nucleicos descrita anteriormente. En particular, un cebador se dirige a la región del rDNA/ITS1 18S o la región del rDNA ITS2/28S de uno o más hongos. El operón del rRNA del hongo comprende el gen del rRNA 18S, el Espaciador Transcrito Interno 1 (ITS1), el gen del ARNr 5.8S, el Espaciador Transcrito Interno 2 (ITS2), y el gen del rRNA 28S. Así, las regiones de 18S rDNA/ITS1 e ITS2/28S rDNA están relacionadas así con las regiones del genoma de los uno o más hongos en la proximidad, respectivamente, de la unión del gen de rRNA 18S y ITS1, y de la unión de ITS2 y el gen de rRNA 28S. Como será claro para cualquier experto en la técnica, para diseñar un ácido nucleico como un cebador directo, el cebador que se enfoca en la región de ADNr 18S/ITS1 o la región de rDNA ITS2/28S será un cebador inverso, y viceversa. Las secuencias de las regiones de ADNr 18S/ITS1 y de rDNA ITS2/28S ya son bien conocidas por un experto en la técnica y por lo general se puede acceder a las bases de datos de secuencias públicas. En donde las secuencias de las regiones de ADNr 18S/ITS1 y de rDNA ITS2/28S no estarían a disposición del público para una especie de hongo en particular, las

mismas pueden ser secuenciadas de forma rutinaria. Además, está muy dentro del conocimiento común de cualquier experto en la técnica seleccionar los cebadores dentro de las secuencias conocidas.

5 A modo de ejemplo de un cebador que se dirige a la región 18S rDNA/ITS1, se puede citar el así llamado "cebador ITS1" de la secuencia de TCCGTAGGTGAACCTGCGG (SEC ID N° 101). Por el contrario, a modo de ejemplo de un cebador que se dirige a la región de rDNA ITS2/288 se puede citar el así
10 llamado "cebador ITS4" de la secuencia de TCCTCCGCTTATTGATATGC (SEC ID N° 102). Todavía otros ejemplos están disponibles del documento WO 2009/147017 A1, White et al. 1990, Gardes y Bruns 1993.

 Si las secuencias de nucleótidos de las bacterias o
15 el ADN aislado de las bacterias son para que sean amplificados por PCR, la PCR comprende los cebadores dirigidos a una secuencia dentro del genoma (16S rRNA) de las una o más bacterias que comprenden al menos una secuencia de ácidos nucleicos descrita anteriormente. Sin embargo, se
20 prefiere que el cebador se dirija al gen para el 16S rRNA. Como será evidente para cualquier experto en la técnica, para diseñar un ácido nucleico como un cebador directo, el otro cebador será un cebador inverso, y viceversa. Las secuencias del gen 16S rRNA son bien conocidas para un experto en la
25 técnica y por lo general se puede acceder a las bases de

datos de secuencias públicas. En donde las secuencias del gen
16S rRNA no estarían disponibles públicamente para una
especie de bacteria particular, las mismas se pueden
secuenciar de forma rutinaria. Además, está muy dentro del
5 conocimiento común de cualquier experto en la técnica
seleccionar los cebadores dentro de las secuencias conocidas.

A modo de ejemplo de un cebador que se dirige al
16S rRNA, se puede citar el así llamado "cebador EUB8m_f" de
la secuencia de AGAGTTTGATCMTGGCTCAG (SEC ID N° 103) y el
10 "cebador EUB1088_r" de la secuencia de CTCGTTGCGGGACTTAACC
(SEC ID N° 104), en donde un cebador actúa como un cebador
directo y el otro como cebador inverso.

Como está propuesto en este documento, los
cebadores que van a ser utilizados pueden ser ácidos
15 nucleicos no modificados o modificados, en particular del
ADN. Cuando los cebadores son ácidos nucleicos modificados
los mismos pueden ser notablemente los ácidos nucleicos
etiquetados, en particular, los ácidos nucleicos etiquetados
con biotina, etiquetados fluorescentemente o etiquetados
20 radiactivamente.

Los ácidos nucleicos pueden necesitar ser aislados
y purificados a partir de las muestras orgánicas (por
ejemplo, del césped, del suelo, de los cultivos, de las
plantas, de los abonos, de las semillas, etc.). Los métodos
25 para el aislamiento de los ácidos nucleicos son bien

conocidos por la persona experta en la técnica y pueden depender del método de detección usado para la detección y la fuente de la muestra orgánica. A modo de ejemplo, se describen métodos para el aislamiento de ácidos nucleicos en la literatura científica (por ejemplo, Michele K. Nishiguchi, Phaedra Doukakis, Mary Egan et al., "DNA Isolation Methods", Methods and Tools in Biosciences and Medicine, Techniques in molecular systematics and evolution, ed. por Rob DeSalle et al.© 2002 Birkhäuser Verlag Basilea/Suiza). Todavía otros ejemplos son muchos métodos o los kits disponibles comercialmente (por ejemplo, "Dneasy® Plant Mini Kit (QIAGEN 69104) o el Kit de Aislamiento del ADN "PowerSoil® (MO BIO laboratories Inc, Cat no. 12888-100).

Como se ha mencionado anteriormente, la presente invención también se refiere a una Micromatriz-Chip que comprende al menos un ácido nucleico de acuerdo con la presente invención.

En particular, la Micromatriz-Chip comprende el conjunto de todos los ácidos nucleicos de acuerdo con la invención, y se ha mencionado anteriormente.

De acuerdo con una modalidad de la presente invención, la Micromatriz-Chip según la invención se utiliza para la detección de al menos un patógeno y/o un microorganismo benéfico en una muestra, el patógeno, el microorganismo benéfico y la muestra, son como se han

definido anteriormente.

En particular, la Micromatriz-Chip de acuerdo con la invención se utiliza para la detección de todos los hongos y las bacterias mencionadas en la lista anterior.

5 Como se ha mencionado anteriormente, la presente invención también se refiere a un método de detección de patógenos y/o microorganismos benéficos en una muestra orgánica.

10 En particular, este método es para la detección de todos los hongos y bacterias definidos en la lista mencionada anteriormente, y dos PCR se llevan a cabo en su etapa b), la primera dirigida a los ADN de hongos y la segunda dirigida a los ADN de las bacterias.

15 En una modalidad particular, las dos PCR se combinan en un tubo de una sola reacción.

Procedimiento experimental

20 El ADN se aísla de la muestra orgánica (por ejemplo del césped, del suelo, de los cultivos, de partes de las plantas, etc.) y de los estándares (bacterias aisladas, hongos aislados etc.). Los métodos ya son conocidos por una persona experta. Los ejemplos se describen en la literatura científica (por ejemplo Michele K. Nishiguchi, Phaedra Doukakis, Mary Egan et al., "DNA Isolation Methods", Methods and Tools in Biosciences and Medicine, Techniques in
25 molecular systematics and evolution, ed. por Rob DeSalle et

al.© 2002 Birkhäuser Verlag Basilea/Suiza) y muchos métodos disponibles comercialmente, también (por ejemplo, "Dneasy® Plant Mini Kit (QIAGEN 69104) o el Kit de Aislamiento del ADN "PowerSoil® (MO BIO laboratories Inc, Cat no. 12888-100).

5 Una PCR para hongos (ITS) puede llevarse a cabo. Por medio de una PCR específica para los hongos, pero no específica para la especie, se amplifica la secuencia espaciadora transcrita interna del rDNA (ITS). Un ejemplo para tal par de cebadores son la ITS1 (TCCGTAGGTGAACCTGCGG)
 10 (SEC ID N° 101) e ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) (SEC ID N° 102), dirigido a la región de 18S rDNA/ITS1 e ITS2/28S rDNA, como se describe en otro lugar (White et al. 1990, Gardes y Bruns 1993). Otros pares de cebadores, que amplifican la misma región, son aplicables, también, con este método. Una
 15 persona experta en la técnica será capaz de diseñar y/o usar tales cebadores que se dirigen a esta región en todos los organismos.

 Una PCR para bacterias (16S rRNA) también puede llevarse a cabo. Por medio de una PCR específica para las
 20 bacterias, pero no específica para la especie, se amplifica el 16S rRNA bacteriano. Un ejemplo para tal par de cebadores es el "cebador EUB8m_f" de la secuencia AGAGTTTGATCMTGGCTCAG (SEC ID N° 103) y el "cebador EUB1088_r" de la secuencia CTCGTTGCGGGACTTAACC (SEC ID N° 104). Otros pares de
 25 cebadores, que amplifican la misma región o todo el 16S rRNA,

son aplicables, también, con este método. Una persona experta en la técnica será capaz de diseñar y/o usar tales cebadores que se dirigen a esta región en todos los organismos.

Las dos PCR se pueden combinar en un solo tubo de
5 reacción. La persona experta en la técnica será capaz de hacer esto.

Eventualmente, el producto de la PCR tiene que ser etiquetado. Existen muchos métodos y tintes para hacer esto (colorante fluorescente, biotina, isótopos, etiquetado con
10 digoxigenina). El producto de PCR se puede etiquetar durante la PCR (por ejemplo por cebadores etiquetados,) o el producto de PCR es etiquetado después de la amplificación.

El producto de PCR se purifica por medio de métodos estándares (por ejemplo, kit de purificación de QIAGEN PCR).

15 Los productos de PCR purificados individuales o combinadas se hibridizan con el ADN en una Micromatriz-Chip de acuerdo con la presente invención y como se describió anteriormente, y se lavó rigurosamente con el fin de eliminar el ADN no unido (por ejemplo, kit de hibridación, ALERE
20 Technologies GmbH, Alemania, números de orden 245200100 y 24520K100).

El ADN unido se detecta por un método de detección específico de la etiqueta que se ha añadido al producto de PCR durante la amplificación.

25 Tales método de detección ya son bien conocidos

por la persona experta en la técnica. Por ejemplo, las etiquetas fluorescentes pueden ser medidas usando un aparato capaz de excitar el fluorocromo y para medir la señal emitida usando cámaras sensibles fluorescentes. Las etiquetas de biotina puede detectarse usando estreptavidina ligada a peroxidasa de rábano picante (HRP). La HRP cataliza los sustratos de conversión en productos coloreados. La presencia de HRP y por lo tanto de la biotina se mide entonces por la detección del sustrato procesado. Los ejemplos de los sustratos son 3,3'-diaminobencidina o 3,3',5,5'-tetrametilbencidina. Los métodos para la medición del producto dependen del sustrato y pueden ser cámaras sensibles a las señales quimioluminiscentes o cámaras ópticas de medición del espectro óptico, incluyendo el ojo humano. Los ejemplos específicos de tales aparatos son ATR3 ArrayTube™ Reader (para Micromatrices, por Identibac, Alere) o el formador de imágenes ChemiDoc™ MP (en las transferencias de Southern y Northern por BioRad) y Rotor Gene Q (para la PCR por QIAGEN).

Entonces es posible deducir de ello si la muestra contiene patógenos y/o microorganismos benéficos y para identificar las especies presentes en la muestra.

En particular, este método se puede utilizar para la selección de muestras orgánicas antes de su uso para verificar la ausencia de patógenos y pueden detectar los patógenos desde antes que surja el patógeno y cause la

enfermedad.

Como se ha mencionado anteriormente, la presente invención también se refiere a un kit de detección para la detección de patógenos y/o microorganismos benéficos en una muestra orgánica.

Como se ha mencionado anteriormente, la presente invención también se refiere a un método de tratamiento de un césped enfermo.

De este modo, gracias a la presente invención, es posible el análisis del césped, los suelos, los fertilizantes naturales (por ejemplo, la ausencia de patógenos), semillas, y los cultivos y la detección del patógeno causante en la hierba que muestra la enfermedad.

La invención será ilustrada adicionalmente mediante el siguiente ejemplo.

Ejemplo 1

Los tubos para Micromatriz fueron ligados covalentemente con las secuencias de ácidos nucleicos de acuerdo con la invención (SEC ID NOs 1 a 100) (proporcionados por Alere Technologies GmbH, Jena, Alemania). Las secuencias de ácidos nucleicos de acuerdo con la invención y descritas anteriormente fueron transferidos por puntos por duplicado sobre la micromatriz con el fin de generar un resultado reproducible. Cada punto contuvo 0.02 μmol del nucleótido y los nucleótidos se inmovilizan sobre la matriz mediante una

modificación de 3'C7-amino.

El ADN de los hongos, el césped o la tierra, aislados, se extrajo utilizando el kit comercial del DNA PowerSoil® (de MO BIO laboratories Inc., número de orden 5 12888-100) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El ADN de las muestras consistentes del césped fue aislado utilizando 0.3 g máximo del suelo.

La amplificación de la región genómica del rDNA fúngico (ITS) se realizó utilizando los pares de cebadores 10 ITS1 e ITS4 que contuvieron un marcador de biotina en su extremo 5'. Los cebadores se compraron de Microsynth (Balgach, Suiza). Los productos de PCR fueron purificados utilizando el "kit de purificación de PCR" de Qiagen (# 28104) para eliminar los cebadores, los amortiguadores y los 15 nucleótidos residuales.

Los productos de PCR biotinilados purificados resultantes se hibridizaron en los tubos de Micromatrices. El protocolo de hibridación y los reactivos fueron de Alere (kit de Hibridación, ALERE Technologies GmbH, Alemania, número de 20 orden 245200100). Se aumentó la temperatura de hibridación (desde 55 hasta 61 °C) para aumentar la especificidad. Después de la hibridación y retirar por lavado el ADN no unido, los productos de PCR biotinilados se detectaron utilizando la peroxidasa de rábano picante y el sustrato de 25 peroxidasa de rábano picante etiquetado con estreptavidina de

Alere (kit de Hibridación, ALERE Technologies GmbH, Alemania, número de orden 24520K100).

Las intensidades de la señal en los tubos de Micromatrices y la localización hasta el chip con los puntos
 5 o manchas transferidas se midieron con el ATR3 (versión 3 del lector de tubos Alere). Las mediciones de intensidad produjeron un valor semi-cuantitativo del producto de PCR unido. El software de análisis (IconoClust, versión estándar, Build: 3.6r0), desarrollado por Alere, midió las intensidades
 10 de señal procesada y las señales del fondo recibidas desde un punto dado y se asignan las intensidades de la señal al ácido nucleico presente en un punto determinado. Cada mancha produjo intensidades de la señal entre aproximadamente 0 y +1 (unidades arbitrarias), calculadas a partir de los puntos de
 15 control y la intensidad de la señal.

Los resultados se proporcionan en la Tabla 2 a continuación.

Table 2: Intensidades de señal detectadas en diferentes muestras (A-E: muestras de césped individuales, F: mezcla de
 20 cultivos de hongos aislados: cepa 583 de *Bipolaris sorokiniana*, cepa 454 de *Sclerotinia minor*, cepa 45 de *Pyrenochaeta lycopersici*, que se espera que se unan a las sondas de BISO, SCSC y PYLY, *S.minor* está relacionada muy estrechamente con *S.sclerotiorum* y espera que se una a la
 25 sonda. Intensidades de la señal > 0.07 se escriben en

negritas. La correspondencia entre Oligo ID y las especies se puede encontrar en la Tabla 1.

<i>ID de Oligo</i>	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	<i>E</i>	<i>F</i>
ARME	0.00	-0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
ASPH	0.65	0.84	0.28	0.35	0.62	0.06
BASU	0.05	0.01	0.00	-0.01	0.00	-0.01
BISO	0.00	0.00	0.00	-0.01	0.12	0.83
BLGR	0.01	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00
CEZE	0.00	0.00	0.00	-0.01	0.01	0.00
CHEL	0.00	0.00	-0.01	0.01	-0.01	-0.01
CHTH	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
CLPU	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00
COFU	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
COTR	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
CUAF	0.00	0.00	0.00	0.18	0.00	0.00
DRDI	0.02	-0.01	-0.01	0.01	-0.01	0.00
DRPH	0.00	0.00	0.01	-0.01	0.00	0.00
DRPO	0.00	0.01	0.00	-0.01	-0.01	0.01
DRSI	0.00	0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.00
DRTR	0.00	0.02	0.00	-0.01	-0.01	0.00
EPTY	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
EXTU	0.00	0.01	0.01	0.01	-0.01	0.00
FUCU	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	-0.01
FUPO	0.01	0.00	-0.01	-0.01	0.01	0.00
FUPR	0.01	0.86	0.60	0.79	0.24	0.01
GAGR	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
GLCA	0.01	0.01	0.00	0.02	0.01	0.00
GLGR	-0.01	-0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.00
KACA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-0.01
LEAU	0.03	0.81	0.04	0.05	0.22	0.00
LEKO	-0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
LENO	0.00	0.00	0.01	0.01	-0.01	-0.01
MAOR	0.00	0.00	-0.01	0.00	0.00	-0.01
MAPH	0.01	0.00	0.00	-0.01	0.01	0.01
MAPO	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
MIBO	0.00	0.05	0.00	-0.01	0.00	-0.01
MINI	0.53	0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.00
MITR	0.01	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00
MYRO	0.00	0.00	0.01	-0.01	0.01	0.00
NESP	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
OPHE	0.00	0.00	0.00	-0.01	0.00	-0.01
PETR	0.00	0.01	0.00	-0.01	0.00	0.00
PHCA	0.00	0.01	-0.01	0.01	0.00	0.00
PHCI	-0.01	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00
PHDR	-0.01	0.00	-0.01	0.02	0.00	0.00
PHFR	0.00	-0.01	0.00	-0.01	-0.01	-0.01
PHGR	0.00	0.38	0.01	0.00	-0.01	-0.01
PHME	0.07	-0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
PHNI	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
PHSP	0.00	0.01	0.00	-0.01	0.00	0.00
PLBR	0.01	0.00	0.00	0.02	0.00	-0.01
PSCH	0.01	0.00	-0.01	0.01	-0.01	-0.01
PSME	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00
PUCO1	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00

5	PUCO2	0.00	0.01	0.00	-0.01	0.00	0.00
	PUGRA	-0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
	PUPA	-0.01	0.01	-0.01	0.00	-0.01	0.00
	PUPO	0.00	0.01	0.00	-0.01	0.00	0.00
	PURE	-0.01	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00
10	PUSO	0.00	0.01	0.01	-0.01	0.01	0.00
	PUST	0.00	0.01	0.01	0.01	-0.01	0.00
	PUTR	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
	PYAP	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00
	PYDE	0.01	0.01	0.01	0.01	-0.01	0.00
	PYIR	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01
	PYLY	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.07
	PYMA	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
	PYSU	0.01	0.00	0.00	-0.01	-0.01	-0.01
	PYUL	-0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
15	RACO	0.00	0.00	0.01	-0.01	0.00	0.00
	RHCE	0.00	-0.01	0.00	0.12	0.13	-0.01
	RHFR	0.02	0.01	0.02	0.00	0.00	0.00
	RHOR	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00
	RHSE	-0.01	0.01	-0.01	0.00	0.01	-0.01
	SCBO	0.00	0.00	0.02	0.01	-0.01	0.03
	SCHO	0.05	0.00	0.00	0.00	0.01	0.01
	SCSC	0.00	0.01	0.00	0.01	-0.01	0.36
	SCTR	0.07	0.01	0.00	0.01	0.02	0.01
	SEEN	-0.01	0.00	-0.01	-0.01	0.00	0.00
	SEMA	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	SEPL	-0.01	0.00	-0.01	-0.01	-0.01	0.00
	SETR	0.00	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00
	STAL	0.00	0.00	0.01	0.01	0.00	0.00
	STGR1	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00	0.00
20	STGR2	-0.01	0.01	-0.01	-0.01	0.00	0.00
	STRI	0.00	0.02	0.00	0.00	-0.01	0.00
	STSA	0.01	0.00	0.00	0.00	0.01	0.00
	STSC	0.00	0.00	0.02	0.01	0.01	0.01
	THCU	0.00	0.01	0.00	-0.01	-0.01	0.00
	TICA	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
	TICO	0.00	0.00	0.00	-0.01	-0.01	0.00
	TRHA	-0.01	0.00	0.26	0.01	0.00	0.00
	TYIN	0.00	-0.01	0.00	0.00	0.00	0.00
	TYIS1	0.00	0.00	0.01	0.01	0.01	0.00
	TYIS2	0.00	-0.01	-0.01	-0.01	-0.01	-0.01
	URDA	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00
	URTR	0.00	-0.01	-0.01	0.01	0.00	0.00
	USMA	0.00	0.00	0.00	0.01	-0.01	0.01
	USNU	-0.01	0.00	0.00	0.01	-0.01	0.00
	USST	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00
	USTR	0.00	0.01	0.00	-0.01	0.00	0.00
	VEDA	0.14	0.63	0.56	0.79	0.78	0.01
	XATR	-0.01	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00
	Control de Biotina	0.85	0.85	0.85	0.87	0.87	0.85

Conclusion:

La presente invención permite la identificación de los microorganismos a partir de una gran selección de

especies fungosas y bacterianas.

El método de acuerdo con la invención es más rápido, tiene un espectro más amplio de microorganismos que pueden ser identificados y es más específico que los métodos
5 convencionales.

REIVINDICACIONES

1. El uso de un conjunto de ácidos nucleicos que comprende o que consiste de:

(i) las secuencias seleccionadas del grupo que consiste de:

- 5 - GGGTTGCTTGCTTGCGAGCTCC (SEC ID N° 1);
- CTGGTGTTTGGACTCGCCTTAAAAC (SEC ID N° 2);
- GCACATATTTTGCCTTTGTATCAGG (SEC ID N° 3);
- TCCGCCAGGGAARACCAAACTCT (SEC ID N° 4);
- CGGAGCGCGGGCCGTCGCG (SEC ID N° 5);
- 10 - ACTTATACCCAAAACGTTGCCTCG (SEC ID N° 6);
- CATTATCGAGTTTACGCTCCATAAC (SEC ID N° 7);
- GCGCAGCTATTAGATCTACGGTG (SEC ID N° 8);
- GCAAGGCTGGAGTATTTTATTACCCT (SEC ID N° 9);
- CCGTGGCCTTGTTGCCACGCCC (SEC ID N° 10);
- 15 - ATTGGGGCCTTGTTGCCACACCC (SEC ID N° 11);
- TTTTGCCTTTGTCCAGTTGCGG (SEC ID N° 12);
- GATTCGTCGCCCCCCTCCTGG (SEC ID N° 13);
- GACCTTATTCAAACCTTTTTTTCAGTT (SEC ID N° 14);
- GCTGTTGGGGACCGGCTCACCCG (SEC ID N° 15);
- 20 - TGACCGTTGTCACGAGACGACTTTAT (SEC ID N° 16);
- CTTGGTGTTGGGAGCTGCAGTCC (SEC ID N° 17);
- CCATTGCGTAGTAGTAAAACCC (SEC ID N° 18);
- AACGCGCTTCGTTGAGGCTT (SEC ID N° 19);
- TTCAACCCTCAAGCCCCCGGGTTTG (SEC ID N° 20);
- 25 - CGAAGTAGTGATATTCGCATCGG (SEC ID N° 21);

- GTTAGGGGGTCCCCTCTCCGG (SEC ID N° 22);
- CTCGGTCTCGAGCCGCCGG (SEC ID N° 23);
- ACACCCCATTTGAACCTATTTATTTTYAA (SEC ID N° 24);
- ACATCTCGCGCTTTGCATTCAGAA (SEC ID N° 25);
- 5 - CGATTTTGGGGGTGGCTAGTGC (SEC ID N° 26);
- CTCTGAGTACGAAAAGAACCTGAAA (SEC ID N° 27);
- TGCTGGCTCTTCTAGAGTCGGCTC (SEC ID N° 28);
- GGCCAGACGACAGCCATAAACC (SEC ID N° 29);
- CGCCGGTGGACTACCTAAACTCT (SEC ID N° 30);
- 10 - CGTCGTCGCTGTTGCAAGGAC (SEC ID N° 31);
- TCGGGCAACGGAACCAGGCGC (SEC ID N° 32);
- GTTGCCCTCGGCGGGCACGGC (SEC ID N° 33);
- CCAGTTATATAGGCACCCAATAAGCC (SEC ID N° 34);
- CACCAAACCAGCTTGGGAAACCTT (SEC ID N° 35);
- 15 - GTCACGTGGTCTTGGTTTTGAA (SEC ID N° 36);
- CGCAACCGGGAGCCGCGGCGCGG (SEC ID N° 37);
- TGGACTGGCTTCGGCTAGACTGG (SEC ID N° 38);
- ACCATAGCTCAGTTGCTTGGCTTTT (SEC ID N° 39);
- TGGCGAATGTTTGGACTTCGGTCT (SEC ID N° 40);
- 20 - GCGCAAGCTGGGGTGGRCGAG (SEC ID N° 41);
- GAACTTGTGTCTCTGCGGCGCG (SEC ID N° 42);
- AACTGGTGAACCGTAGCTGTGTGGT (SEC ID N° 43);
- CCGTACATTAAACTTGACTTTCTTCC (SEC ID N° 44);
- GGAACTCCACCCTTGAATACACTG (SEC ID N° 45);
- 25 - CGACCCCTTTTATAATTCACCCAAC (SEC ID N° 46);

- CTAAAAAACCCCTCATAACCTTTTTTTT (SEC ID N° 47);
- CTCCTAAAACCCAATATCTTATTTTAAAG (SEC ID N° 48);
- CAATACTGCCATCTTGTTTTTGAAGG (SEC ID N° 49);
- ATACTTGCCATCTTTTTTGAAGG (SEC ID N° 50);
- 5 - CCTAAAAACCCCCCTTATCA (SEC ID N° 51);
- CAACCTTTTTGGAGTATTCTAATGAT (SEC ID N° 52);
- ATACTGCCATCTTATTTKAAGGGAGAC (SEC ID N° 53);
- CAGGGCTATCCCCCTGCCAGG (SEC ID N° 54);
- GGAGGGTTGCGCACTTTGTGCGTG (SEC ID N° 55);
- 10 - GACGCCCTGTTTTCGGATAGGG (SEC ID N° 56);
- TGGCGTGCGTTTGCTTGCGCTTC (SEC ID N° 57);
- CTATACTCCGAGAACGAAAGTTTTTGG (SEC ID N° 58);
- TAGTAGTGTGTGTRGCACGTTGTC (SEC ID N° 59);
- TGTTTTTGTGGAAATACGCTGTTT (SEC ID N° 60);
- 15 - GTAGAATTTTGCTGCTCTTGGGCG (SEC ID N° 61);
- CTGTGTAGTCAGGGATGGAATGTGC (SEC ID N° 62);
- TGAACGCATCATGTTGCTTCGGG (SEC ID N° 63);
- CTGGCTTTTGTGGATTTGGAGGT (SEC ID N° 64);
- CAGCGACAACCGACTCTAAGTTCA (SEC ID N° 65);
- 20 - CTCGTGAAACACATGAAGTCTGAG (SEC ID N° 66);
- TCGGCGCCCCAGGAGAAATCCT (SEC ID N° 67);
- AGTCCATGTCCGCAATGGCAGG (SEC ID N° 68);
- AACACATACCTCTCGTTACAGGGTC (SEC ID N° 69);
- GAGCTGCTCTTCGGGGCCTTGTAT (SEC ID N° 70);
- 25 - CTTGTATGCGCGCCAGAGAATATCA (SEC ID N° 71);

- TATTGGGCGTCCGCGGGGGA (SEC ID N° 72);
- GCGGAGTTCACGAGCCCTCAC (SEC ID N° 73);
- GCGCCTTGTCTCTCGCGAGAC (SEC ID N° 74);
- AGCTGGATCTCAGTGTATGCTTGG (SEC ID N° 75);
- 5 - GTGCCTCTCGGGGCTTCTGCCG (SEC ID N° 76);
- CCTGTGTAGTAATGCTTAGCTTACAC (SEC ID N° 77);
- CTACGGAGGGGTGGCTGCGTTG (SEC ID N° 78);
- CTACGGAGGGGTGGCTGCGTTG (SEC ID N° 79);
- ACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATG (SEC ID N° 80);
- 10 - GTCCAATGTAGGCGCAGCGTAA (SEC ID N° 81);
- ATTAGCTGGAACCTCTTGTGGACC (SEC ID N° 82);
- ATTAGCTGGAACCTCTTGTGGACC (SEC ID N° 83);
- CTCATTAAACAATTTTTTCTTATAAAGATTG (SEC ID N° 84);
- GTCATTGCACTCAGGTAGACGTAACA (SEC ID N° 85);
- 15 - CTTTTTTCTTTTGAAAAGGTTGACG (SEC ID N° 86);
- ACAGACAATTTTATTGAACACTTTTT (SEC ID N° 87);
- TTTGAAGAGTTGGCGGATCGGTAT (SEC ID N° 88);
- ACGGACAATTTTATTTAACACTTTTG (SEC ID N° 89);
- GCCCTTAAAAKCAGTGGCGGACC (SEC ID N° 90);
- 20 - TAATACATGCAAGTCGAGCGGACAGAT (SEC ID N° 91);
- GGGTACTTACCTAATACGTGAGTAT (SEC ID N° 92);
- GAAGGGTARTGTCTTAATACGGCATT (SEC ID N° 93);
- GGAAGGGYAGTGTGTTAATAGCAC (SEC ID N° 94);
- ATGACTGTCCATCGCATGGTGGAT (SEC ID N° 95);
- 25 - CTGCGGATCGCATGGTCTGCG (SEC ID N° 96);

- AATACTTCTCCTCGCATGGGGAGG (SEC ID N° 97);
- ATGACACACGACCGCATGGTCTGT (SEC ID N° 98);
- CACCGGAAACGGCCAGAGATGGTCG (SEC ID N° 99); y
- GAGTGTGGTAGAGGATGGCGGAA (SEC ID N° 100);

5 (ii) las secuencias que tienen al menos 80 % de
 identidad con la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC
 ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8,
 SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID
 N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N°
 10 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21,
 SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID
 N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N°
 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34,
 SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC
 15 ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N°
 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47,
 SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC
 ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N°
 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60,
 20 SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC
 ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N°
 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73,
 SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC
 ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N°
 25 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86,

SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y SEC ID N° 100, o

5 (iii) las secuencias complementarias de (i) o (ii),
para la detección mediante técnicas de hibridación
de al menos un patógeno y/o un microorganismo benéfico en una
muestra.

2. El uso de conformidad con la reivindicación 1,
10 en donde al menos un patógeno se selecciona de las bacterias
y/o los hongos.

3. El uso de conformidad con la reivindicación 2,
en donde al menos un hongo y/o bacteria se selecciona del
grupo que consiste de: *Armillaria mellea*, *Ascochyta phleina*,
15 *Bipolaris sorokiniana*, *Blumeria graminis*, *Cercospora zebrine*,
Claviceps purpurea, *Colletotrichum trifolii*, *Corticium*
fuciforme, *Curvularia affinis*, *Drechslera dictyoides*,
Drechslera phlei, *Drechslera poae*, *Drechslera siccans*,
Drechslera tritici-repentis, *Epichloe typhina*, *Exserohilum*
20 *turcicum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Gaeumannomyces*
graminis, *Gibberella intermedia*, *Gliocladium catenulatum*,
Glomerella graminicola, *Kabatiella caulivora*, *Leptosphaeria*
korrae, *Leptosphaerulina australis*, *Macrophomina phaseolina*,
Magnaporthe poae, *Marasmius oreades*, *Microdochium bolleyi*,
25 *Microdochium nivale*, *Microsphaera trifolii*, *Myrothecium*

roridum, *Neotyphodium* sp., *Ophiosphaerella herpotricha*,
Ophiosphaerella narmari, *Peronospora trifoliorum*, *Phyllachora*
vulgata, *Phytophthora brassicae*, *Phytophthora cactorum*,
Phytophthora citricola, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora*
 5 *fragariae*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*,
Pseudopeziza medicaginis, *Puccinia coronata*, *Puccinia*
coronata, *Puccinia graminis*, *Puccinia poae-nemoralis*,
Puccinia poarum, *Puccinia recondite*, *Puccinia sorghi*,
Puccinia striiformis, *Puccinia triticina*, *Pyrenochaeta*
 10 *lycopersici*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium debaryanum*,
Pythium graminicola, *Pythium irregulare*, *Pythium mastophorum*,
Pythium sulcatum, *Pythium ultimum*, *Ramularia collo-cygni*,
Rhizoctonia cerealis, *Rhizoctonia fragariae*, *Rhynchosporium*
orthosporum, *Rhynchosporium secalis*, *Sclerotinia borealis*,
 15 *Sclerotinia homoeocarpa*, *Sclerotinia sclerotiorum*,
Sclerotinia trifoliorum, *Septoria macropoda*, *Septoria*
tritici, *Stemphylium sarcinaeforme*, *Thanatephorus cucumeris*,
Thielaviopsis basicola, *Thielaviopsis populi*, *Tilletia*
caries, *Tilletia controversa*, *Trichoderma hamatum*, *Typhula*
 20 *incamate*, *Typhula ishikariensis*, *Typhula ishikariensis*,
Uromyces dactylidis, *Uromyces trifolii-repentis*, *Ustilago*
maydis, *Ustilago nuda*, *Ustilago striiformis*, *Ustilago*
tritici, *Verticillium dahliae*; *Bacillus amyloliquefaciens*,
Pseudomonas chlororaphis, *Serratia entomophila*, *Serratia*
 25 *plymuthica*, *Streptomyces albidoflavus*, *Streptomyces*

graminofaciens, *Streptomyces griseoviridis*, *Streptomyces rimosus*, *Streptomyces scabiei*, *Xanthomonas translucens*.

4. El uso de conformidad con la reivindicación 1, para la detección de todos los hongos y bacterias definidos en la reivindicación 3.

5. El uso de conformidad con la reivindicación 1, en donde al menos un microorganismo benéfico es una rizobacteria promotora del crecimiento de la planta.

6. El uso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la muestra es una muestra del césped; del suelo; de un fertilizante natural, en particular, de un fertilizante natural de origen animal, tales como el estiércol de animal o el excremento de animal o de origen vegetal o herbáceo tales como las muestras de las hojas, el tallo, la raíz, la semilla, el cuerpo frutal o la flor; de la semilla o de los cultivos.

7. El uso de conformidad con la reivindicación 6, en donde la muestra es una muestra de la raíz o de una semilla o de una hoja del césped.

8. El uso de conformidad con las reivindicaciones 6 o 7, en donde el césped se selecciona del grupo que consiste de *Festaceae*, *Aveneae*, *Triticeae*, *Chlorideae*, *Zoysieae*, *Paniceae* y *Andropogoneae* Tribe.

9. El uso de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la técnica de

hibridación se elige entre Micromatriz-Chip, Southern Blot, Northern Blot, o reacción en cadena de polimerasa.

10. El uso de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde la técnica de
5 hibridación comprende una reacción en cadena de la polimerasa en combinación con una Micromatriz-Chip, en donde la reacción en cadena de la polimerasa aumenta la sensibilidad, reduce el fondo y/o añade una etiqueta de detección al producto de la reacción en cadena de la polimerasa.

10 11. Una Micromatriz-Chip, caracterizada porque comprende un conjunto de ácidos nucleicos que comprenden o que consisten de:

(i) las secuencias SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC
15 ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29,
20 SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N°
25 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55,

SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC
 ID N° 60, SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N°
 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68,
 SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC
 5 ID N° 73, SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N°
 77, SEC ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81,
 SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC
 ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N°
 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94,
 10 SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC
 ID N° 99 y SEC ID N° 100,

(ii) las secuencias que tienen al menos 80 % de
 identidad con la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEC ID N° 3, SEC
 ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8,
 15 SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID
 N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N°
 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEC ID N° 20, SEC ID N° 21,
 SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC ID N° 25, SEC ID
 N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N°
 20 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34,
 SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC
 ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N°
 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47,
 SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC
 25 ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N°

56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60,
 SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC
 ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N°
 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73,
 5 SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC
 ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N°
 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86,
 SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC
 ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N°
 10 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y
 SEC ID N° 100, o

(iii) las secuencias complementarias de (i) o (ii).

12. El uso de una Micromatriz-Chip de conformidad
 con la reivindicación 11, para la detección de al menos un
 15 agente patógeno y/o un microorganismo benéfico en una
 muestra.

13. El uso de conformidad con la reivindicación 12,
 en donde al menos un patógeno se selecciona de las bacterias
 y/o de los hongos.

20 14. El uso de conformidad con la reivindicación 13,
 en donde al menos un hongo y/o una bacteria se selecciona del
 grupo que consiste de: *Armillaria mellea*, *Ascochyta phleina*,
Bipolaris sorokiniana, *Blumeria graminis*, *Cercospora zebrine*,
Claviceps purpurea, *Colletotrichum trifolii*, *Corticium*
 25 *fuciforme*, *Curvularia affinis*, *Drechslera dictyoides*,

Drechslera phlei, *Drechslera poae*, *Drechslera siccans*,
Drechslera tritici-repentis, *Epichloe typhina*, *Exserohilum*
turcicum, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Gaeumannomyces*
graminis, *Gibberella intermedia*, *Gliocladium catenulatum*,
5 *Glomerella graminicola*, *Kabatiella caulivora*, *Leptosphaeria*
korrae, *Leptosphaerulina australis*, *Macrophomina phaseolina*,
Magnaporthe poae, *Marasmius oreades*, *Microdochium bolleyi*,
Microdochium nivale, *Microsphaera trifolii*, *Myrothecium*
roridum, *Neotyphodium sp.*, *Ophiosphaerella herpotricha*,
10 *Ophiosphaerella narmari*, *Peronospora trifoliorum*, *Phyllachora*
vulgata, *Phytophthora brassicae*, *Phytophthora cactorum*,
Phytophthora citricola, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora*
fragariae, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*,
Pseudopeziza medicaginis, *Puccinia coronata*, *Puccinia*
15 *coronata*, *Puccinia graminis*, *Puccinia poae-nemoralis*,
Puccinia poarum, *Puccinia recondite*, *Puccinia sorghi*,
Puccinia striiformis, *Puccinia triticina*, *Pyrenochaeta*
lycopersici, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium debaryanum*,
Pythium graminicola, *Pythium irregulare*, *Pythium mastophorum*,
20 *Pythium sulcatum*, *Pythium ultimum*, *Ramularia collo-cygni*,
Rhizoctonia cerealis, *Rhizoctonia fragariae*, *Rhynchosporium*
orthosporum, *Rhynchosporium secalis*, *Sclerotinia borealis*,
Sclerotinia homoeocarpa, *Sclerotinia sclerotiorum*,
Sclerotinia trifoliorum, *Septoria macropoda*, *Septoria*
25 *tritici*, *Stemphylium sarcinaeforme*, *Thanatephorus cucumeris*,

Thielaviopsis basicola, *Thielaviopsis populi*, *Tilletia caries*, *Tilletia controversa*, *Trichoderma hamatum*, *Typhula incarnate*, *Typhula ishikariensis*, *Typhula ishikariensis*, *Uromyces dactylidis*, *Uromyces trifolii-repentis*, *Ustilago*
 5 *maydis*, *Ustilago nuda*, *Ustilago striiformis*, *Ustilago tritici*, *Verticillium dahliae*; *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Serratia entomophila*, *Serratia plymuthica*, *Streptomyces albidoflavus*, *Streptomyces graminofaciens*, *Streptomyces griseoviridis*, *Streptomyces*
 10 *rimosus*, *Streptomyces scabiei*, *Xanthomonas translucens*.

15. El uso de conformidad con la reivindicación 12, para la detección de todos los hongos y bacterias definidos en la reivindicación 14.

16. El uso de conformidad con la reivindicación 12,
 15 en donde al menos un microorganismo benéfico es una rizobacteria promotora del crecimiento de la planta.

17. El uso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 12 a 16, en donde la muestra es una muestra del césped; del suelo; de un fertilizante natural, en
 20 particular, de un fertilizante natural de origen animal, tales como el estiércol animal o el excremento animal o de origen vegetal o herbáceo tales como las muestras de las hojas, el tallo, la raíz, la semilla, el cuerpo frutal o la flor; de la semilla o de los cultivos.

25 18. El uso de conformidad con la reivindicación 17,

en donde la muestra es una muestra de la raíz o de una semilla o de una hoja del césped.

19. El uso de conformidad con las reivindicaciones 17 o 18, en donde el césped se selecciona del grupo que
5 consiste de *Festaceae*, *Aveneae*, *Triticeae*, *Chlorideae*, *Zoysieae*, *Paniceae* y *Andropogoneae* Tribe.

20. Un método de detección de patógenos y/o microorganismos benéficos en una muestra orgánica, caracterizado porque comprende las etapas de:

10 a) el aislamiento del ADN de la muestra y de los estándares que comprenden el ADN de los patógenos y/o de los microorganismos benéficos,

b) la amplificación de los ADN aislados de la etapa a) por la reacción en cadena de la polimerasa;

15 c) la hibridación de los productos de la reacción en cadena de la polimerasa obtenidos por una Micromatriz-Chip como se definió en la reivindicación 11;

d) la detección de los ADN unidos; y

20 e) la deducción a partir de los mismos de que si la muestra contiene los patógenos y/o los microorganismos benéficos.

21. Un método de conformidad con la reivindicación 20, caracterizado porque los patógenos que van a ser detectados se seleccionan de las bacterias y/o los hongos.

25 22. Un método de conformidad con la reivindicación

21, caracterizado porque los hongos y/o las bacterias se seleccionan del grupo que consiste de: *Armillaria mellea*, *Ascochyta phleina*, *Bipolaris sorokiniana*, *Blumeria graminis*, *Cercospora zebrina*, *Claviceps purpurea*, *Colletotrichum*
5 *trifolii*, *Corticium fuciforme*, *Curvularia affinis*, *Drechslera dictyoides*, *Drechslera phlei*, *Drechslera poae*, *Drechslera siccans*, *Drechslera tritici-repentis*, *Epichloe typhina*, *Exserohilum turcicum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Gaeumannomyces graminis*, *Gibberella intermedia*, *Gliocladium*
10 *catenulatum*, *Glomerella graminicola*, *Kabatella caulivora*, *Leptosphaeria korrae*, *Leptosphaerulina australis*, *Macrophomina phaseolina*, *Magnaporthe poae*, *Marasmius oreades*, *Microdochium bolleyi*, *Microdochium nivale*, *Microsphaera trifolii*, *Myrothecium roridum*, *Neotyphodium* sp.,
15 *Ophiosphaerella herpotricha*, *Ophiosphaerella narmari*, *Peronospora trifoliorum*, *Phyllachora vulgata*, *Phytophthora brassicae*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora fragariae*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*, *Pseudopeziza*
20 *medicaginis*, *Puccinia coronata*, *Puccinia coronata*, *Puccinia graminis*, *Puccinia poae-nemoralis*, *Puccinia poarum*, *Puccinia recondite*, *Puccinia sorghi*, *Puccinia striiformis*, *Puccinia trititica*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium debaryanum*, *Pythium graminicola*, *Pythium irregulare*,
25 *Pythium mastophorum*, *Pythium sulcatum*, *Pythium ultimum*,

Ramularia collo-cygni, *Rhizoctonia cerealis*, *Rhizoctonia*
fragariae, *Rhynchosporium orthosporum*, *Rhynchosporium*
secalis, *Sclerotinia borealis*, *Sclerotinia homoeocarpa*,
Sclerotinia sclerotiorum, *Sclerotinia trifoliorum*, *Septoria*
5 *macropoda*, *Septoria tritici*, *Stemphylium sarcinaeforme*,
Thanatephorus cucumeris, *Thielaviopsis basicola*,
Thielaviopsis populi, *Tilletia caries*, *Tilletia controversa*,
Trichoderma hamatum, *Typhula incarnate*, *Typhula ishikariensis*,
Typhula ishikariensis, *Uromyces dactylidis*, *Uromyces*
10 *trifolii-repentis*, *Ustilago maydis*, *Ustilago nuda*, *Ustilago*
striiformis, *Ustilago tritici*, *Verticillium dahliae*; *Bacillus*
amyloliquefaciens, *Pseudomonas chlororaphis*, *Serratia*
entomophila, *Serratia plymuthica*, *Streptomyces albidoflavus*,
Streptomyces graminofaciens, *Streptomyces griseoviridis*,
15 *Streptomyces rimosus*, *Streptomyces scabiei*, *Xanthomonas*
translucens.

23. Un método de conformidad con la reivindicación
 20, para la detección de todos los hongos y bacterias
 definidas en la reivindicación 22, caracterizado porque se
 20 llevan a cabo dos reacciones en cadena de la polimerasa en la
 etapa b), la primera dirigida a los ADN de los hongos y la
 segunda dirigida a los ADN de las bacterias.

24. Un método de conformidad con la reivindicación
 23, caracterizado porque las dos reacciones en cadena de la
 25 polimerasa se combinan en un solo tubo de reacción.

25. Un método de conformidad con la reivindicación 20, caracterizado porque los microorganismos benéficos son rizobacterias promotoras del crecimiento de la planta.

26. Un método de conformidad con cualquiera de las
5 reivindicaciones 20 a 24, caracterizado porque se utiliza para la selección de muestras antes de su uso para verificar la ausencia de patógenos.

27. Un kit para la detección de patógenos y/o microorganismos benéficos en una muestra orgánica,
10 caracterizado porque comprende:

(i) los ácidos nucleicos de las siguientes secuencias: SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13,
15 SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35,
20 SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61,

SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC
 ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N°
 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74,
 SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC
 5 ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N°
 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87,
 SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC
 ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N°
 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y SEC ID N° 100,

10 (ii) los ácidos nucleicos de las secuencias que
 tienen al menos 80 % de identidad con la SEC ID N° 1, SEC ID
 N° 2, SEC ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC
 ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N°
 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15,
 15 SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEC
 ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N°
 24, SEC ID N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC
 ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N°
 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37,
 20 SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC
 ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N°
 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50,
 SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC
 ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N°
 25 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63,

SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC
 ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N°
 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76,
 SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC
 5 ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N°
 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89,
 SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC
 ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N°
 98, SEC ID N° 99 y SEC ID N° 100, o

10 (iii) los ácidos nucleicos de las secuencias
 complementarias de (i) o (ii).

28. Un método de tratamiento de un césped enfermo,
 caracterizado porque comprende las etapas de:

a) detectar mediante un método que combina la reacción
 15 en cadena de la polimerasa y una Micromatriz-Chip, la
 ausencia o la presencia de ácidos nucleicos de al menos un
 hongo patógeno y/o bacteria en una muestra de suelo en la
 cual el césped enfermo está creciendo, o en una muestra del
 césped enfermo, con el conjunto de ácidos nucleicos como se
 20 definió en la reivindicación 1;

b) si se han detectado uno o más ácidos nucleicos de
 los hongos patógenos y/o bacterias en la etapa a),
 seleccionar uno o más agentes antifúngicos y/o
 antibacterianos que tengan como objetivo el uno o más hongos
 25 patógenos y/o bacterias de los cuales se han detectado los

ácidos nucleicos; y

c) aplicar el uno o más agentes antifúngicos y/o antibacterianos de la etapa b) al césped enfermo.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a ácidos nucleicos, a micromatrices y a métodos para detectar microorganismos patógenos y benéficos, en particular los
5 hongos patógenos del césped y las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas.

REIVINDICACIONES

1. El uso de un conjunto de ácidos nucleicos que comprende o que consiste de:

(i) las secuencias seleccionadas del grupo que consiste de:

- 5 - GGGTTGCTTGCTTGCGAGCTCC (SEC ID N° 1);
- CTGGTGTTTGGACTCGCCTTAAAAC (SEC ID N° 2);
- GCACATATTTTGCCTTTGTATCAGG (SEC ID N° 3);
- TCCGCCAGGGAARACCAAACTCT (SEC ID N° 4);
- CGGAGCGCGGGCCGTCGCG (SEC ID N° 5);
- 10 - ACTTATACCCAAAACGTTGCCTCG (SEC ID N° 6);
- CATTATCGAGTTTACGCTCCATAAC (SEC ID N° 7);
- GCGCAGCTATTAGATCTACGGTG (SEC ID N° 8);
- GCAAGGCTGGAGTATTTTATTACCCT (SEC ID N° 9);
- CCGTGGCCTTGTTGCCACGCCC (SEC ID N° 10);
- 15 - ATTGGGGCCTTGTTGCCACACCC (SEC ID N° 11);
- TTTTGCCTTTGTCCAGTTGCGG (SEC ID N° 12);
- GATTCGTCGCCCCCCTCCTGG (SEC ID N° 13);
- GACCTTATTCAAACCTTTTTTTCAGTT (SEC ID N° 14);
- GCTGTTGGGGACCGGCTCACCCG (SEC ID N° 15);
- 20 - TGACCGTTGTCACGAGACGACTTTAT (SEC ID N° 16);
- CTTGGTGTTGGGAGCTGCAGTCC (SEC ID N° 17);
- CCATTGCGTAGTAGTAAAACCC (SEC ID N° 18);
- AACGCGCTTCGTTGCGAGGCTT (SEC ID N° 19);
- TTCAACCCTCAAGCCCCCGGGTTTG (SEC ID N° 20);
- 25 - CGAAGTAGTGATATTCGCGATCGG (SEC ID N° 21);

- GTTAGGGGGTCCCCTCTCCGG (SEC ID N° 22);
- CTCGGTCTCGAGCCGCCGG (SEC ID N° 23);
- ACACCCCATTTGAACCTATTTATTTTYAA (SEC ID N° 24);
- ACATCTCGCGCTTTGCATTCAGAA (SEC ID N° 25);
- 5 - CGATTTTGGGGGTGGCTAGTGC (SEC ID N° 26);
- CTCTGAGTACGAAAAGAACCTGAAA (SEC ID N° 27);
- TGCTGGCTCTTCTAGAGTCGGCTC (SEC ID N° 28);
- GGCCAGACGACAGCCATAAACC (SEC ID N° 29);
- CGCCGGTGGACTACCTAAACTCT (SEC ID N° 30);
- 10 - CGTCGTCGCTGTTGCAAGGAC (SEC ID N° 31);
- TCGGGCAACGGAACCAGGCGC (SEC ID N° 32);
- GTTGCCTCGGCGGGCACGGC (SEC ID N° 33);
- CCAGTTATATAGGCACCCAATAAGCC (SEC ID N° 34);
- CACCAAACCAGCTTGGGAAACCTT (SEC ID N° 35);
- 15 - GTCACGTGGTCTTGGTTTTGAA (SEC ID N° 36);
- CGCAACCGGGAGCCGCGGCGCGG (SEC ID N° 37);
- TGGACTGGCTTCGGCTAGACTGG (SEC ID N° 38);
- ACCATAGCTCAGTTGCTTGGCTTTT (SEC ID N° 39);
- TGGCGAATGTTTGGACTTCGGTCT (SEC ID N° 40);
- 20 - GCGCAAGCTGGGGTGGRCGAG (SEC ID N° 41);
- GAACTTGTGTCTCTGCGGCGCG (SEC ID N° 42);
- AACTGGTGAACCGTAGCTGTGTGGT (SEC ID N° 43);
- CCGTACATTAAACTTGACTTTCTTCC (SEC ID N° 44);
- GGAACTCCACCCTTGAATACACTG (SEC ID N° 45);
- 25 - CGACCCCTTTTATAATTCACCCAAC (SEC ID N° 46);

- CTAAAAAACCCCTCATAACCTTTTTTTT (SEC ID N° 47);
- CTCCTAAAACCCAATATCTTATTTTAAAG (SEC ID N° 48);
- CAATACTGCCATCTTGTTTTTGAAGG (SEC ID N° 49);
- ATACTTGCCATCTTTTTTGAAGG (SEC ID N° 50);
- 5 - CCTAAAAACCCCCCTTATCA (SEC ID N° 51);
- CAACCTTTTTGGAGTATTCTAATGAT (SEC ID N° 52);
- ATACTGCCATCTTATTKAAGGGAGAC (SEC ID N° 53);
- CAGGGCTATCCCCCTGCCAGG (SEC ID N° 54);
- GGAGGGTTGCGCACTTTGTGCGTG (SEC ID N° 55);
- 10 - GACGCCCTGTTTTCGGATAGGG (SEC ID N° 56);
- TGGCGTGCGTTTGCTTGCGCTTC (SEC ID N° 57);
- CTATACTCCGAGAACGAAAGTTTTTGG (SEC ID N° 58);
- TAGTAGTGTGTGTRGCACGTTGTC (SEC ID N° 59);
- TGTTTTTGTGGAAATACGCTGTTT (SEC ID N° 60);
- 15 - GTAGAATTTTGCTGCTCTTGGGCG (SEC ID N° 61);
- CTGTGTAGTCAGGGATGGAATGTGC (SEC ID N° 62);
- TGAACGCATCATGTTGCTTCGGG (SEC ID N° 63);
- CTGGCTTTTGTGGATTTGGAGGT (SEC ID N° 64);
- CAGCGACAACCGACTCTAAGTTCA (SEC ID N° 65);
- 20 - CTCGTGAAACACATGAAGTCTGAG (SEC ID N° 66);
- TCGGCGCCCCAGGAGAAATCCT (SEC ID N° 67);
- AGTCCATGTCCGCAATGGCAGG (SEC ID N° 68);
- AACACATACCTCTCGTTACAGGGTC (SEC ID N° 69);
- GAGCTGCTCTTCGGGGCCTTGTAT (SEC ID N° 70);
- 25 - CTTGTATGCGCGCCAGAGAATATCA (SEC ID N° 71);

- TATTGGGCGTCCGCGGGGGA (SEC ID N° 72);
- GCGGAGTTCACGAGCCCTCAC (SEC ID N° 73);
- GCGCCTTGTCTCTCGCGAGAC (SEC ID N° 74);
- AGCTGGATCTCAGTGTTATGCTTGG (SEC ID N° 75);
- 5 - GTGCCTCTCGGGGCTTCTGCCG (SEC ID N° 76);
- CCTGTGTAGTAATGCTTAGCTTACAC (SEC ID N° 77);
- CTACGGAGGGGTGGCTGCGTTG (SEC ID N° 78);
- CTACGGAGGGGTGGCTGCGTTG (SEC ID N° 79);
- ACAGCTCTGAGCAAAAATTCAAAATG (SEC ID N° 80);
- 10 - GTCCAATGTAGGCGCAGCGTAA (SEC ID N° 81);
- ATTAGCTGGAACCTCTTGTGGACC (SEC ID N° 82);
- ATTAGCTGGAACCTCTTGTGGACC (SEC ID N° 83);
- CTCATTAAACAATTTTTTCTTATAAAGATTG (SEC ID N° 84);
- GTCATTGCACTCAGGTAGACGTAACA (SEC ID N° 85);
- 15 - CTTTTTTCTTTTGAAAAGGTTGACG (SEC ID N° 86);
- ACAGACAATTTTATTGAACACTTTTT (SEC ID N° 87);
- TTTGAAGAGTTGGCGGATCGGTAT (SEC ID N° 88);
- ACGGACAATTTTATTTAACACTTTTG (SEC ID N° 89);
- GCCCTTAAAAKCAGTGGCGGACC (SEC ID N° 90);
- 20 - TAATACATGCAAGTCGAGCGGACAGAT (SEC ID N° 91);
- GGGTACTTACCTAATACGTGAGTAT (SEC ID N° 92);
- GAAGGGTARTGTCTTAATACGGCATT (SEC ID N° 93);
- GGAAGGGYAGTGTGTTAATAGCAC (SEC ID N° 94);
- ATGACTGTCCATCGCATGGTGGAT (SEC ID N° 95);
- 25 - CTGCGGATCGCATGGTCTGCG (SEC ID N° 96);

- AATACTTCTCCTCGCATGGGGAGG (SEC ID N° 97);
- ATGACACACGACCGCATGGTCTGT (SEC ID N° 98);
- CACCGGAAACGGCCAGAGATGGTCG (SEC ID N° 99); y
- GAGTGTGGTAGAGGATGGCGGAA (SEC ID N° 100);

5 (ii) las secuencias que tienen al menos 80 % de
 identidad con la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC
 ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8,
 SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID
 N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N°
 10 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21,
 SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID
 N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N°
 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34,
 SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC
 15 ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N°
 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47,
 SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC
 ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N°
 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60,
 20 SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC
 ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N°
 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73,
 SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC
 ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N°
 25 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86,

SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y SEC ID N° 100, o

5 (iii) las secuencias complementarias de (i) o (ii),
 para la detección mediante técnicas de hibridación
 de al menos un patógeno y/o un microorganismo benéfico en una
 muestra.

2. El uso de conformidad con la reivindicación 1,
 10 en donde al menos un patógeno se selecciona de las bacterias
 y/o los hongos.

3. El uso de conformidad con la reivindicación 2,
 en donde al menos un hongo y/o bacteria se selecciona del
 grupo que consiste de: *Armillaria mellea*, *Ascochyta phleina*,
 15 *Bipolaris sorokiniana*, *Blumeria graminis*, *Cercospora zebrine*,
Claviceps purpurea, *Colletotrichum trifolii*, *Corticium*
fuciforme, *Curvularia affinis*, *Drechslera dictyoides*,
Drechslera phlei, *Drechslera poae*, *Drechslera siccans*,
Drechslera tritici-repentis, *Epichloe typhina*, *Exserohilum*
 20 *turcicum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Gaeumannomyces*
graminis, *Gibberella intermedia*, *Gliocladium catenulatum*,
Glomerella graminicola, *Kabatiella caulivora*, *Leptosphaeria*
korrae, *Leptosphaerulina australis*, *Macrophomina phaseolina*,
Magnaporthe poae, *Marasmius oreades*, *Microdochium bolleyi*,
 25 *Microdochium nivale*, *Microsphaera trifolii*, *Myrothecium*

roridum, *Neotyphodium* sp., *Ophiosphaerella herpotricha*,
Ophiosphaerella narmari, *Peronospora trifoliorum*, *Phyllachora*
vulgata, *Phytophthora brassicae*, *Phytophthora cactorum*,
Phytophthora citricola, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora*
 5 *fragariae*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*,
Pseudopeziza medicaginis, *Puccinia coronata*, *Puccinia*
coronata, *Puccinia graminis*, *Puccinia poae-nemoralis*,
Puccinia poarum, *Puccinia recondite*, *Puccinia sorghi*,
Puccinia striiformis, *Puccinia triticina*, *Pyrenochaeta*
 10 *lycopersici*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium debaryanum*,
Pythium graminicola, *Pythium irregulare*, *Pythium mastophorum*,
Pythium sulcatum, *Pythium ultimum*, *Ramularia collo-cygni*,
Rhizoctonia cerealis, *Rhizoctonia fragariae*, *Rhynchosporium*
orthosporum, *Rhynchosporium secalis*, *Sclerotinia borealis*,
 15 *Sclerotinia homoeocarpa*, *Sclerotinia sclerotiorum*,
Sclerotinia trifoliorum, *Septoria macropoda*, *Septoria*
tritici, *Stemphylium sarcinaeforme*, *Thanatephorus cucumeris*,
Thielaviopsis basicola, *Thielaviopsis populi*, *Tilletia*
caries, *Tilletia controversa*, *Trichoderma hamatum*, *Typhula*
 20 *incamate*, *Typhula ishikariensis*, *Typhula ishikariensis*,
Uromyces dactylidis, *Uromyces trifolii-repentis*, *Ustilago*
maydis, *Ustilago nuda*, *Ustilago striiformis*, *Ustilago*
tritici, *Verticillium dahliae*; *Bacillus amyloliquefaciens*,
Pseudomonas chlororaphis, *Serratia entomophila*, *Serratia*
 25 *plymuthica*, *Streptomyces albidoflavus*, *Streptomyces*

graminofaciens, *Streptomyces griseoviridis*, *Streptomyces rimosus*, *Streptomyces scabiei*, *Xanthomonas translucens*.

4. El uso de conformidad con la reivindicación 1, para la detección de todos los hongos y bacterias definidos en la reivindicación 3.

5. El uso de conformidad con la reivindicación 1, en donde al menos un microorganismo benéfico es una rizobacteria promotora del crecimiento de la planta.

6. El uso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la muestra es una muestra del césped; del suelo; de un fertilizante natural, en particular, de un fertilizante natural de origen animal, tales como el estiércol de animal o el excremento de animal o de origen vegetal o herbáceo tales como las muestras de las hojas, el tallo, la raíz, la semilla, el cuerpo frutal o la flor; de la semilla o de los cultivos.

7. El uso de conformidad con la reivindicación 6, en donde la muestra es una muestra de la raíz o de una semilla o de una hoja del césped.

8. El uso de conformidad con las reivindicaciones 6 o 7, en donde el césped se selecciona del grupo que consiste de *Festaceae*, *Aveneae*, *Triticeae*, *Chlorideae*, *Zoysieae*, *Paniceae* y *Andropogoneae* Tribe.

9. El uso de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la técnica de

hibridación se elige entre Micromatriz-Chip, Southern Blot, Northern Blot, o reacción en cadena de polimerasa.

10. El uso de conformidad con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores en donde la técnica de
5 hibridación comprende una reacción en cadena de la polimerasa en combinación con una Micromatriz-Chip, en donde la reacción en cadena de la polimerasa aumenta la sensibilidad, reduce el fondo y/o añade una etiqueta de detección al producto de la reacción en cadena de la polimerasa.

10 11. Una Micromatriz-Chip, caracterizada porque comprende un conjunto de ácidos nucleicos que comprenden o que consisten de:

(i) las secuencias SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC
15 ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29,
20 SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N°
25 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55,

SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC
 ID N° 60, SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N°
 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68,
 SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC
 5 ID N° 73, SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N°
 77, SEC ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81,
 SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC
 ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N°
 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94,
 10 SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC
 ID N° 99 y SEC ID N° 100,

(ii) las secuencias que tienen al menos 80 % de
 identidad con la SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEC ID N° 3, SEC
 ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8,
 15 SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID
 N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N°
 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEC ID N° 20, SEC ID N° 21,
 SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC ID N° 25, SEC ID
 N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N°
 20 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34,
 SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC
 ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N°
 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47,
 SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC
 25 ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N°

56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60,
 SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC
 ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N°
 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73,
 5 SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC
 ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N°
 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86,
 SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC
 ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N°
 10 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y
 SEC ID N° 100, o

(iii) las secuencias complementarias de (i) o (ii).

12. El uso de una Micromatriz-Chip de conformidad
 con la reivindicación 11, para la detección de al menos un
 15 agente patógeno y/o un microorganismo benéfico en una
 muestra.

13. El uso de conformidad con la reivindicación 12,
 en donde al menos un patógeno se selecciona de las bacterias
 y/o de los hongos.

20 14. El uso de conformidad con la reivindicación 13,
 en donde al menos un hongo y/o una bacteria se selecciona del
 grupo que consiste de: *Armillaria mellea*, *Ascochyta phleina*,
Bipolaris sorokiniana, *Blumeria graminis*, *Cercospora zebrine*,
Claviceps purpurea, *Colletotrichum trifolii*, *Corticium*
 25 *fuciforme*, *Curvularia affinis*, *Drechslera dictyoides*,

Drechslera phlei, *Drechslera poae*, *Drechslera siccans*,
Drechslera tritici-repentis, *Epichloe typhina*, *Exserohilum*
turcicum, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Gaeumannomyces*
graminis, *Gibberella intermedia*, *Gliocladium catenulatum*,
5 *Glomerella graminicola*, *Kabatiella caulivora*, *Leptosphaeria*
korrae, *Leptosphaerulina australis*, *Macrophomina phaseolina*,
Magnaporthe poae, *Marasmius oreades*, *Microdochium bolleyi*,
Microdochium nivale, *Microsphaera trifolii*, *Myrothecium*
roridum, *Neotyphodium sp.*, *Ophiosphaerella herpotricha*,
10 *Ophiosphaerella narmari*, *Peronospora trifoliorum*, *Phyllachora*
vulgata, *Phytophthora brassicae*, *Phytophthora cactorum*,
Phytophthora citricola, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora*
fragariae, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*,
Pseudopeziza medicaginis, *Puccinia coronata*, *Puccinia*
15 *coronata*, *Puccinia graminis*, *Puccinia poae-nemoralis*,
Puccinia poarum, *Puccinia recondite*, *Puccinia sorghi*,
Puccinia striiformis, *Puccinia triticina*, *Pyrenochaeta*
lycopersici, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium debaryanum*,
Pythium graminicola, *Pythium irregulare*, *Pythium mastophorum*,
20 *Pythium sulcatum*, *Pythium ultimum*, *Ramularia collo-cygni*,
Rhizoctonia cerealis, *Rhizoctonia fragariae*, *Rhynchosporium*
orthosporum, *Rhynchosporium secalis*, *Sclerotinia borealis*,
Sclerotinia homoeocarpa, *Sclerotinia sclerotiorum*,
Sclerotinia trifoliorum, *Septoria macropoda*, *Septoria*
25 *tritici*, *Stemphylium sarcinaeforme*, *Thanatephorus cucumeris*,

Thielaviopsis basicola, *Thielaviopsis populi*, *Tilletia caries*, *Tilletia controversa*, *Trichoderma hamatum*, *Typhula incarnate*, *Typhula ishikariensis*, *Typhula ishikariensis*, *Uromyces dactylidis*, *Uromyces trifolii-repentis*, *Ustilago*
 5 *maydis*, *Ustilago nuda*, *Ustilago striiformis*, *Ustilago tritici*, *Verticillium dahliae*; *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pseudomonas chlororaphis*, *Serratia entomophila*, *Serratia plymuthica*, *Streptomyces albidoflavus*, *Streptomyces graminofaciens*, *Streptomyces griseoviridis*, *Streptomyces*
 10 *rimosus*, *Streptomyces scabiei*, *Xanthomonas translucens*.

15. El uso de conformidad con la reivindicación 12, para la detección de todos los hongos y bacterias definidos en la reivindicación 14.

16. El uso de conformidad con la reivindicación 12,
 15 en donde al menos un microorganismo benéfico es una rizobacteria promotora del crecimiento de la planta.

17. El uso de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 12 a 16, en donde la muestra es una muestra del césped; del suelo; de un fertilizante natural, en
 20 particular, de un fertilizante natural de origen animal, tales como el estiércol animal o el excremento animal o de origen vegetal o herbáceo tales como las muestras de las hojas, el tallo, la raíz, la semilla, el cuerpo frutal o la flor; de la semilla o de los cultivos.

25 18. El uso de conformidad con la reivindicación 17,

en donde la muestra es una muestra de la raíz o de una semilla o de una hoja del césped.

19. El uso de conformidad con las reivindicaciones 17 o 18, en donde el césped se selecciona del grupo que
5 consiste de *Festaceae*, *Aveneae*, *Triticeae*, *Chlorideae*, *Zoysieae*, *Paniceae* y *Andropogoneae* Tribe.

20. Un método de detección de patógenos y/o microorganismos benéficos en una muestra orgánica, caracterizado porque comprende las etapas de:

10 a) el aislamiento del ADN de la muestra y de los estándares que comprenden el ADN de los patógenos y/o de los microorganismos benéficos,

b) la amplificación de los ADN aislados de la etapa a) por la reacción en cadena de la polimerasa;

15 c) la hibridación de los productos de la reacción en cadena de la polimerasa obtenidos por una Micromatriz-Chip como se definió en la reivindicación 11;

d) la detección de los ADN unidos; y

e) la deducción a partir de los mismos de que si la
20 muestra contiene los patógenos y/o los microorganismos benéficos.

21. Un método de conformidad con la reivindicación 20, caracterizado porque los patógenos que van a ser detectados se seleccionan de las bacterias y/o los hongos.

25 22. Un método de conformidad con la reivindicación

21, caracterizado porque los hongos y/o las bacterias se seleccionan del grupo que consiste de: *Armillaria mellea*, *Ascochyta phleina*, *Bipolaris sorokiniana*, *Blumeria graminis*, *Cercospora zebrina*, *Claviceps purpurea*, *Colletotrichum*
5 *trifolii*, *Corticium fuciforme*, *Curvularia affinis*, *Drechslera dictyoides*, *Drechslera phlei*, *Drechslera poae*, *Drechslera siccans*, *Drechslera tritici-repentis*, *Epichloe typhina*, *Exserohilum turcicum*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium poae*, *Gaeumannomyces graminis*, *Gibberella intermedia*, *Gliocladium*
10 *catenulatum*, *Glomerella graminicola*, *Kabatella caulivora*, *Leptosphaeria korrae*, *Leptosphaerulina australis*, *Macrophomina phaseolina*, *Magnaporthe poae*, *Marasmius oreades*, *Microdochium bolleyi*, *Microdochium nivale*, *Microsphaera trifolii*, *Myrothecium roridum*, *Neotyphodium* sp.,
15 *Ophiosphaerella herpotricha*, *Ophiosphaerella narmari*, *Peronospora trifoliorum*, *Phyllachora vulgata*, *Phytophthora brassicae*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora citricola*, *Phytophthora drechsleri*, *Phytophthora fragariae*, *Phytophthora megasperma*, *Phytophthora nicotianae*, *Pseudopeziza*
20 *medicaginis*, *Puccinia coronata*, *Puccinia coronata*, *Puccinia graminis*, *Puccinia poae-nemoralis*, *Puccinia poarum*, *Puccinia recondita*, *Puccinia sorghi*, *Puccinia striiformis*, *Puccinia triticina*, *Pyrenochaeta lycopersici*, *Pythium aphanidermatum*, *Pythium debaryanum*, *Pythium graminicola*, *Pythium irregulare*,
25 *Pythium mastophorum*, *Pythium sulcatum*, *Pythium ultimum*,

Ramularia collo-cygni, *Rhizoctonia cerealis*, *Rhizoctonia*
fragariae, *Rhynchosporium orthosporum*, *Rhynchosporium*
secalis, *Sclerotinia borealis*, *Sclerotinia homoeocarpa*,
Sclerotinia sclerotiorum, *Sclerotinia trifoliorum*, *Septoria*
5 *macropoda*, *Septoria tritici*, *Stemphylium sarcinaeforme*,
Thanatephorus cucumeris, *Thielaviopsis basicola*,
Thielaviopsis populi, *Tilletia caries*, *Tilletia controversa*,
Trichoderma hamatum, *Typhula incarnate*, *Typhula ishikariensis*,
Typhula ishikariensis, *Uromyces dactylidis*, *Uromyces*
10 *trifolii-repentis*, *Ustilago maydis*, *Ustilago nuda*, *Ustilago*
striiformis, *Ustilago tritici*, *Verticillium dahliae*; *Bacillus*
amyloliquefaciens, *Pseudomonas chlororaphis*, *Serratia*
entomophila, *Serratia plymuthica*, *Streptomyces albidoflavus*,
Streptomyces graminofaciens, *Streptomyces griseoviridis*,
15 *Streptomyces rimosus*, *Streptomyces scabiei*, *Xanthomonas*
translucens.

23. Un método de conformidad con la reivindicación
 20, para la detección de todos los hongos y bacterias
 definidas en la reivindicación 22, caracterizado porque se
 20 llevan a cabo dos reacciones en cadena de la polimerasa en la
 etapa b), la primera dirigida a los ADN de los hongos y la
 segunda dirigida a los ADN de las bacterias.

24. Un método de conformidad con la reivindicación
 23, caracterizado porque las dos reacciones en cadena de la
 25 polimerasa se combinan en un solo tubo de reacción.

25. Un método de conformidad con la reivindicación 20, caracterizado porque los microorganismos benéficos son rizobacterias promotoras del crecimiento de la planta.

26. Un método de conformidad con cualquiera de las
5 reivindicaciones 20 a 24, caracterizado porque se utiliza para la selección de muestras antes de su uso para verificar la ausencia de patógenos.

27. Un kit para la detección de patógenos y/o microorganismos benéficos en una muestra orgánica,
10 caracterizado porque comprende:

(i) los ácidos nucleicos de las siguientes secuencias: SEC ID N° 1, SEC ID N° 2, SEQ ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N° 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13,
15 SEC ID N° 14, SEC ID N° 15, SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEQ ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N° 24, SEC N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N° 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35,
20 SEC ID N° 36, SEC ID N° 37, SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N° 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50, SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N° 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61,

SEC ID N° 62, SEC ID N° 63, SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC
 ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N°
 70, SEC ID N° 71, SEC ID N° 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74,
 SEC ID N° 75, SEC ID N° 76, SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC
 5 ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N°
 83, SEC ID N° 84, SEC ID N° 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87,
 SEC ID N° 88, SEC ID N° 89, SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC
 ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N°
 96, SEC ID N° 97, SEC ID N° 98, SEC ID N° 99 y SEC ID N° 100,

10 (ii) los ácidos nucleicos de las secuencias que
 tienen al menos 80 % de identidad con la SEC ID N° 1, SEC ID
 N° 2, SEC ID N° 3, SEC ID N° 4, SEC ID N° 5, SEC ID N° 6, SEC
 ID N° 7, SEC ID N° 8, SEC ID N° 9, SEC ID N° 10, SEC ID N°
 11, SEC ID N° 12, SEC ID N° 13, SEC ID N° 14, SEC ID N° 15,
 15 SEC ID N° 16, SEC ID N° 17, SEC ID N° 18, SEC ID N° 19, SEC
 ID N° 20, SEC ID N° 21, SEC ID N° 22, SEC ID N° 23, SEC ID N°
 24, SEC ID N° 25, SEC ID N° 26, SEC ID N° 27, SEC ID N° 28, SEC
 ID N° 29, SEC ID N° 30, SEC ID N° 31, SEC ID N° 32, SEC ID N°
 33, SEC ID N° 34, SEC ID N° 35, SEC ID N° 36, SEC ID N° 37,
 20 SEC ID N° 38, SEC ID N° 39, SEC ID N° 40, SEC ID N° 41, SEC
 ID N° 42, SEC ID N° 43, SEC ID N° 44, SEC ID N° 45, SEC ID N°
 46, SEC ID N° 47, SEC ID N° 48, SEC ID N° 49, SEC ID N° 50,
 SEC ID N° 51, SEC ID N° 52, SEC ID N° 53, SEC ID N° 54, SEC
 ID N° 55, SEC ID N° 56, SEC ID N° 57, SEC ID N° 58, SEC ID N°
 25 59, SEC ID N° 60, SEC ID N° 61, SEC ID N° 62, SEC ID N° 63,

SEC ID N° 64, SEC ID N° 65, SEC ID N° 66, SEC ID N° 67, SEC
 ID N° 68, SEC ID N° 69, SEC ID N° 70, SEC ID N° 71, SEC ID N°
 72, SEC ID N° 73, SEC ID N° 74, SEC ID N° 75, SEC ID N° 76,
 SEC ID N° 77, SEC ID N° 78, SEC ID N° 79, SEC ID N° 80, SEC
 5 ID N° 81, SEC ID N° 82, SEC ID N° 83, SEC ID N° 84, SEC ID N°
 85, SEC ID N° 86, SEC ID N° 87, SEC ID N° 88, SEC ID N° 89,
 SEC ID N° 90, SEC ID N° 91, SEC ID N° 92, SEC ID N° 93, SEC
 ID N° 94, SEC ID N° 95, SEC ID N° 96, SEC ID N° 97, SEC ID N°
 98, SEC ID N° 99 y SEC ID N° 100, o

10 (iii) los ácidos nucleicos de las secuencias
 complementarias de (i) o (ii).

28. Un método de tratamiento de un césped enfermo,
 caracterizado porque comprende las etapas de:

a) detectar mediante un método que combina la reacción
 15 en cadena de la polimerasa y una Micromatriz-Chip, la
 ausencia o la presencia de ácidos nucleicos de al menos un
 hongo patógeno y/o bacteria en una muestra de suelo en la
 cual el césped enfermo está creciendo, o en una muestra del
 césped enfermo, con el conjunto de ácidos nucleicos como se
 20 definió en la reivindicación 1;

b) si se han detectado uno o más ácidos nucleicos de
 los hongos patógenos y/o bacterias en la etapa a),
 seleccionar uno o más agentes antifúngicos y/o
 antibacterianos que tengan como objetivo el uno o más hongos
 25 patógenos y/o bacterias de los cuales se han detectado los

ácidos nucleicos; y

c) aplicar el uno o más agentes antifúngicos y/o antibacterianos de la etapa b) al césped enfermo.

- (51) International Patent Classification:
C12Q 1/68 (2006.01)
- (21) International Application Number:
PCT/EP2014/073768
- (22) International Filing Date:
5 November 2014 (05.11.2014)
- (25) Filing Language: English
- (26) Publication Language: English
- (30) Priority Data:
13191823.7 6 November 2013 (06.11.2013) EP
- (71) Applicant: OMYA INTERNATIONAL AG [CH/CH];
Baslerstrasse 42, CH-4665 Oftringen (CH).
- (72) Inventors: DIMAIUTA, Nicola; Amselweg 8, CH-4528
Zuchwil (CH). EGLI, Konrad; Hasenweid 10, CH-4600
Olten (CH). GLAUBITZ, Joachim; Rossweid 7, CH-5643
Sins (CH). URWYLER, Simon; Brückfeldstrasse 13, CH-
3012 Bern (CH).
- (74) Agents: BLOT, Philippe et al.; Lavoix, 2, place d'Estienne
d'Orves, F-75009 Paris (FR).
- (81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,

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

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

- Published:
- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments (Rule 48.2(h))
- with sequence listing part of description (Rule 5.2(a))

- (88) Date of publication of the international search report:
- 25 June 2015

(54) Title: NUCLEIC ACIDS AND METHODS FOR DETECTING PATHOGENS AND BENEFICIAL MICROORGANISMS

(57) Abstract: The present invention relates to nucleic acids, microarrays and methods for detecting pathogens and beneficial mi-
croorganisms, in particular turfgrass pathogenic fungi and plant growth promoting rhizobacteria.



WO 2015/067635 A3

316-co-745

Clarke, Modet & C^o

COLOMBIA

Carrera 11 N° 86-53 Piso 6 Bogotá Colombia Tel: (57 1) 6181088 · Fax: (57 1) 6350824 · Email: info@clarkemodet.com.co

PODER

POWER OF ATTORNEY

Yo (nosotros), abajo firmante(s)

I (we), the undersigned

en mi (nuestro) carácter de representante(s) legales de

legal representative(s) of

OMYA INTERNATIONAL AG

OMYA INTERNATIONAL AG

una sociedad organizada y existente de acuerdo con las leyes de

an organization existing under the laws of

y en actual cumplimiento de su objeto social, con domicilio en **Baslerstraße 42 CH-4665 Oftringen, Suiza**

and in present execution of its business activity, domiciled at **Baslerstraße 42 CH-4665 Oftringen, CH**

por el presente instrumento confiro (conferimos) poder especial a favor de **SILVANA MARIA LÓPEZ DÍAZ**, con Cédula de Ciudadanía No. 22.468.787 de Barranquilla, y tp. 147463 y/o **CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO**, con Cédula de Ciudadanía No. 66.783.790 de Palmira Valle, y tp. 141563 con domicilio en Bogotá, Colombia, para que actuando en su orden en nombre del (de la) otorgante le (la) representen ante cualquier entidad, autoridad y/o persona, especialmente ante las del orden Administrativo, Contencioso Administrativo, Judicial, Tribunales de Arbitramento y/o cualquier otro en lo referente a los siguientes asuntos:

do hereby grant POWER OF ATTORNEY to **SILVANA MARIA LÓPEZ DÍAZ**, identification card No. 22.468.787 of Barranquilla, and tp. 147463 and/or **CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO**, identification card No. 66.783.790 of Palmira Valle, and tp. 141563 residing in Bogotá Colombia, to act in the order of their appointment in behalf of grantor before any entity, authority and/or natural or juridical person, specially before those Administrative, Administrative-Contentious, Judicial, arbitration courts, and/or any other, in all matters concerning the following:

- 1) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar cualquiera de las modalidades de Propiedad Industrial, tales como: patentes de invención, modelos de utilidad; diseños industriales, variedades vegetales; marcas, lemas, nombres y enseñas comerciales y denominaciones de origen; así como sus renovaciones, prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 2) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar derechos de autor, en cualquiera de sus presentaciones así como la protección de secretos industriales y know-how.
- 3) Solicitar, tramitar, obtener y/o registrar registros sanitarios, permisos y/o licencias de funcionamiento; así como sus renovaciones o prórrogas, transferencias, cambios de nombre y/o domicilio, contratos y licencias.
- 4) Ejercer acciones de oposición, observación, reclamos, reconsideración, reposición, apelación, cancelación administrativa o judicial, nulidad, protección al consumidor, concesión de licencias, protección de secretos industriales y demás acciones y recursos relacionados con derechos derivados de los asuntos arriba indicados y en contra de la competencia desleal, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de indemnización de perjuicios. También podrá(n) intervenir en juicios civiles, comerciales, penales, contencioso-administrativos, tutelas y de policía; en acciones o juicios promovidos por el (la) mandante o en contra el (ella)
- 5) Registrar nombres de dominio ante la entidad competente.
- 6) En el ejercicio de este mandato los mandatarios arriba mencionados quedan facultados para: conciliar, cancelar, transigir, comprometer en árbitros, desistir, recibir y tomar posesión de la cosa objeto de litigio y renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, admitir los hechos del proceso.
- 7) Ratificar o no la agencia oficiosa.
- 8) Así mismo faculto (facultamos) a los mencionados apoderados para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales, sustituir el presente poder y revocar las sustituciones que hicieren.

- 1) To apply, process, obtain and/or register any of the modalities of Industrial Property, such as: Patents of Invention, Utility Models; Designs, plant varieties; Marks, Slogans, Trade Names and emblems and appellations of Origin; as well as their renewals, assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 2) To apply, process, obtain and/or register copyrights of any kind as well as protection of industrial secrets or know-how.
- 3) To apply, process, obtain and/or register sanitary registrations, operating authorizations and/or licenses; as well as their renewals or assignments, changes of name and/or domicile, agreements and licenses.
- 4) To bring actions of opposition, observations, claims, reconsideration, appeal or legal remedies, cancellations, nullity, protection to the consumer, granting of licenses, protection of trade secrets and other actions related with rights derived from the above-mentioned matters and against the unfair competition, actions resulting from the obtaining or exploitation of licenses, recovering damages actions. They can also intervene or participate in Civil, Commercial, Criminal or Contentious-Administrative Trials; the actions for writ mandamus, police actions; in actions, lawsuits or litigations instituted by the grantor or against him.
- 5) To register domain names before the competent entity.
- 6) To the effect of this mandate the above-named proxy are empowered to: conciliate, cancel, settle, submit to arbitration, withdraw and to receive and take possession of the litigation related object and waive or renounce the rights granted or in process of granting, admit the facts of the case.
- 7) To ratify or not the officious agency.
- 8) I (we) hereby appoint the afore mentioned attorneys with powers to receive notifications and to designate judicial and extrajudicial attorneys, substitute this Power of Attorney and to revoke such substitutions.

Dado y firmado en

Granted and signed at

on this 5 day of March of 2015

a los

días de



Simona Lang (IP Administrator)
Firma / signature



Nicole Russ (EP Attorney)

LISTADO DE SECUENCIAS

	<110>	OMYA INTER AG	
5	<120>	ACIDOS NUCLEICOS Y METODOS PARA DETECTAR MICROORGANISMOS PATOGENOS Y BENEFICOS	
	<130>	BET14P2536	
10	<150>	EP13191823.7	
	<151>	06-11-2013	
	<160>	104	
15	<170>	PatentIn version 3.5	
	<210>	1	
	<211>	22	
	<212>	ADN	
20	<213>	Armillaria mellea	
	<400>	1	
		gggttgcttg cttgcgagct cc	22
25	<210>	2	
	<211>	25	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
30	<220>		
	<223>	Ascochyta phleina	
	<400>	2	
35		ctggtggttg gactgcctt aaaac	25
	<210>	3	
	<211>	26	
40	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Bipolaris sorokiniana	
45	<400>	3	
		gcacatattt tgcgctttgt atcagg	26
50	<210>	4	
	<211>	24	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	

	<220>		
	<223>	Blumeria graminis	
5	<400>	4	
	tccgccaggg	aaraccaaaa ctct	24
10	<210>	5	
	<211>	19	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
15	<220>		
	<223>	Cercospora zebrina	
	<400>	5	
	cggagcgcgg	gccgtcgcg	19
20	<210>	6	
	<211>	24	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
25	<220>		
	<223>	Claviceps purpurea	
30	<400>	6	
	acttataccc	aaaacgttgc ctgc	24
35	<210>	7	
	<211>	25	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
40	<220>		
	<223>	Colletotrichum trifolii	
	<400>	7	
	cattatcgag	tttacgctcc ataac	25
45	<210>	8	
	<211>	23	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
50	<220>		
	<223>	Corticium fuciforme	
	<400>	8	
	gcgcagctat	tagatctacg gtg	23

5	<210>	9	
	<211>	26	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
10	<223>	Curvularia affinis	
	<400>	9	
		gcaaggctgg agtatatttat taccct	26
	<210>	10	
	<211>	22	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Drechslera dictyoides	
	<400>	10	
20		ccgtggcctt gttgccacgc cc	22
	<210>	11	
	<211>	23	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
25	<220>		
	<223>	Drechslera phlei	
	<400>	11	
		attggggcct tgttgccaca ccc	23
	<210>	12	
30	<211>	23	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Drechslera poae	
35	<400>	12	
		ttttgcgctt tgtccagttg cgg	23
	<210>	13	
	<211>	22	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Drechslera poae	
	<400>	12	
		ttttgcgctt tgtccagttg cgg	23
45	<210>	13	
	<211>	22	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
50	<223>	Drechslera poae	
	<400>	12	
		ttttgcgctt tgtccagttg cgg	23
	<210>	13	
	<211>	22	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		

	<223> Drechslera siccans	
5	<400> 13 gattcgctgc cccccctoct gg	22
10	<210> 14 <211> 27 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
15	<220> <223> Drechslera tritici-repentis	
	<400> 14 gaccttattc aaaccttttt ttcagtt	27
20	<210> 15 <211> 23 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
25	<220> <223> Epichloe typhina	
30	<400> 15 gctggtgggg accggctcac ccg	23
35	<210> 16 <211> 26 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
40	<220> <223> Exserohilum turcicum	
	<400> 16 tgaccgttgt cacgagacga ctttat	26
45	<210> 17 <211> 23 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
50	<220> <223> Fusarium culmorum	
	<400> 17 cttggtgttg ggagctgcag tcc	23

5	<210>	18	
	<211>	22	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
10	<223>	Fusarium poae	
	<400>	18	
		ccattgcgta gtagtaaaac cc	22
	<210>	19	
	<211>	22	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Gaeumannomyces graminis	
	<400>	19	
20		aacgcgcttc gttcggaggc tt	22
	<210>	20	
	<211>	25	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
25	<220>		
	<223>	Gibberella intermedia	
	<400>	20	
		ttcaaccctc aagcccccggtttg	25
	<210>	21	
30	<211>	24	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Gliocladium catenulatum	
35	<400>	21	
		cgaagtagtg atattccgca tcgg	24
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
40	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
45	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
50	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
55	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
60	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
65	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
70	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
75	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
80	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
85	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
90	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
95	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
100	<213>	Glomerella graminicola	
	<400>	22	
	<210>	22	
	<211>	21	
	<212>	ADN	

	gtaggggggt cccctctccg g	21
5	<210> 23 <211> 19 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> Kabatiella caulivora <400> 23 ctcggtctcg agccgcgg	19
15	<210> 24 <211> 28 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> Leptosphaeria korrae <400> 24 acacccatt gaacctattt attttyaa	28
25	<210> 25 <211> 24 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
30	<220> <223> Leptosphaerulina australis <400> 25 acatctcgcg ctttgcatc agaa	24
35	<210> 26 <211> 23 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
40	<220> <223> Macrophomina phaseolina <400> 26 cgattttggg gggtagtag tgc	23
45	<210> 27 <211> 25 <212> ADN	
50		

	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
5	<223>	Magnaporthe poae	
	<400>	27	
		ctctgagtac gaaaagaacc tgaaa	25
10	<210>	28	
	<211>	24	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
15	<220>		
	<223>	Marasmius oreades	
	<400>	28	
20		tgctggctct tctagagtcg gctc	24
	<210>	29	
	<211>	22	
	<212>	ADN	
25	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Microdochium bolleyi	
30	<400>	29	
		ggccagacga cagccataaa cc	22
35	<210>	30	
	<211>	23	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
40	<223>	Microdochium nivale	
	<400>	30	
		cgccggtgga ctacctaaac tct	23
45	<210>	31	
	<211>	22	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
50	<220>		
	<223>	Microsphaera trifolii	
	<400>	31	

	cgtcgctcgct gttcgcaagg ac	22
5	<210> 32 <211> 21 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> Myrothecium roridum <400> 32 tcgggcaacg gaaccaggcg c	21
15	<210> 33 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> Neotyphodium sp. <400> 33 gttgcctcgg cgggcacggc	20
25	<210> 34 <211> 26 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
30	<220> <223> Ophiosphaerella herpotricha <400> 34 ccagttatat aggcacccaa taagcc	26
35	<210> 35 <211> 24 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
40	<220> <223> Ophiosphaerella narmari <400> 35 caccaaacca gcttgggaaa cctt	24
45	<210> 36 <211> 22 <212> ADN	
50		

	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
5	<223>	Peronospora trifoliorum	
	<400>	36	
		gtcacgtggt cttggttttg aa	22
10	<210>	37	
	<211>	23	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
15	<220>		
	<223>	Phyllachora vulgata	
	<400>	37	
20		cgcaaccggg agccgcggcg cgg	23
	<210>	38	
	<211>	23	
	<212>	ADN	
25	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Phytophthora brassicae	
30	<400>	38	
		tggactggct tcggctagac tgg	23
35	<210>	39	
	<211>	25	
	<212>	ADN	
	<213>	Phytophthora cactorum	
	<400>	39	
40		accatagctc agttgcttgg ctttt	25
	<210>	40	
	<211>	24	
45	<212>	ADN	
	<213>	Phytophthora citricola	
	<400>	40	
50		tggcgaatgt ttggacttcg gtct	24
	<210>	41	
	<211>	21	
	<212>	ADN	

	<213> Phytophthora drechsleri	
5	<400> 41 gcgcaagctg ggggtggroga g	21
10	<210> 42 <211> 22 <212> ADN <213> Phytophthora fragariae	
15	<400> 42 gaacttggtgt ctctgcggcg cg	22
20	<210> 43 <211> 25 <212> ADN <213> Phytophthora megasperma	
25	<400> 43 aactggtgaa ccgtagctgt gtggt	25
30	<210> 44 <211> 26 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> Phytophthora nicotianae	
40	<400> 44 ccgtacatta aacttgactt tcttcc	26
45	<210> 45 <211> 24 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
50	<220> <223> Pseudopeziza medicaginis	
	<400> 45 ggaactccac ccttgaatac actg	24
	<210> 46 <211> 25 <212> ADN <213> Puccinia coronata	
	<400> 46	

	cgaccccttt tataattcac ccaac	25
5	<210> 47 <211> 27 <212> ADN <213> Puccinia coronata	
10	<400> 47 ctaaaaaacc cctcataacc ttttttt	27
15	<210> 48 <211> 29 <212> ADN <213> Puccinia graminis	
20	<400> 48 ctcctaaaac ccaatatctt atttttaag	29
25	<210> 49 <211> 26 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
30	<220> <223> Puccinia poae-nemoralis <400> 49 caatactgcc atcttgTTTT tgaagg	26
35	<210> 50 <211> 23 <212> ADN <213> Puccinia poarum	
40	<400> 50 atacttgcca tcttttttggg agg	23
45	<210> 51 <211> 20 <212> ADN <213> Puccinia recondita	
50	<400> 51 cctaaaaacc ccccttatca	20
	<210> 52 <211> 26 <212> ADN	

	<213> Puccinia sorghi	
5	<400> 52 caaccttttt ggagtattct aatgat	26
10	<210> 53 <211> 26 <212> ADN <213> Puccinia striiformis	
15	<400> 53 atactgccat cttattkaag ggagac	26
20	<210> 54 <211> 21 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
25	<220> <223> Puccinia triticina <400> 54 cagggctatc cccctgccag g	21
30	<210> 55 <211> 24 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> Pyrenochaeta lycopersici <400> 55 ggagggttgc gcactttgtg cgtg	24
40	<210> 56 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
45	<220> <223> Pythium aphanidermatuma <400> 56 gacgccctgt tttcggatag gg	22
50	<210> 57 <211> 23 <212> ADN	

	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
5	<223>	Pythium debaryanum	
	<400>	57	
		tggcgtgcgt ttgcttgcgc ttc	23
10	<210>	58	
	<211>	27	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
15	<220>		
	<223>	Pythium graminicola	
	<400>	58	
20		ctatactccg agaacgaaag tttttgg	27
	<210>	59	
	<211>	24	
	<212>	ADN	
25	<213>	Pythium irregulare	
	<400>	59	
		tagtagtgtg tgtrgcacgt tgtc	24
30	<210>	60	
	<211>	29	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
35	<220>		
	<223>	Pythium mastophorum	
	<400>	60	
40		tgtttttggt ttgtggaaat acgctgttt	29
	<210>	61	
	<211>	24	
45	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Pythium sulcatum	
50	<400>	61	
		gtagaatttt gctgctcttg ggcg	24

5	<210>	62	
	<211>	25	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
10	<223>	Pythium ultimum	
	<400>	62	
		ctgtgtagtc agggatggaa tgtgc	25
	<210>	63	
	<211>	23	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Ramularia collo-cygni	
	<400>	63	
20		tgaacgcatac atgttgcttc ggg	23
	<210>	64	
	<211>	26	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
25	<220>		
	<223>	Rhizoctonia cerealis	
	<400>	64	
		ctggcttttg ttttggattt ggaggt	26
	<210>	65	
30	<211>	24	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Rhizoctonia fragariae	
35	<400>	65	
		cagcgacaac cgactctaag ttca	24
	<210>	66	
	<211>	24	
	<212>	ADN	
40	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Rhizoctonia fragariae	
	<400>	65	
		cagcgacaac cgactctaag ttca	24
45	<210>	66	
	<211>	24	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
50	<223>	Rhizoctonia fragariae	
	<400>	66	
		ctgtgtagtc agggatggaa tgtgc	25
	<210>	67	
	<211>	25	

	<223> Rhynchosporium orthosporum	
5	<400> 66 ctcgtgaaac acatgaagtc tgag	24
10	<210> 67 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
15	<220> <223> Rhynchosporium secalis	
	<400> 67 tcggcgcccc aggagaaatc ct	22
20	<210> 68 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
25	<220> <223> Sclerotinia borealis	
30	<400> 68 agtccatgtc cgcaatggca gg	22
35	<210> 69 <211> 25 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
40	<220> <223> Sclerotinia homoeocarpa	
	<400> 69 aacacatacc tctcgttaca gggtc	25
45	<210> 70 <211> 24 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
50	<220> <223> Sclerotinia sclerotiorum	
	<400> 70 gagctgctct tcggggcctt gtat	24

5	<210>	71	
	<211>	25	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
10	<223>	<i>Sclerotinia trifoliorum</i>	
	<400>	71	
	cttgtatg	cgccagagaa tatca	25
	<210>	72	
	<211>	20	
15	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	<i>Septoria macropoda</i>	
	<400>	72	
20	tattgggcgt	ccgcggggga	20
	<210>	73	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
25	<220>		
	<223>	<i>Septoria tritici</i>	
	<400>	73	
	gcggagttca	cgagccctca c	21
	<210>	74	
30	<211>	21	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	<i>Stemphylium sarcinaeforme</i>	
35	<400>	74	
	gcgccttg	tctcgcgaga c	21
	<210>	75	
	<211>	25	
	<212>	ADN	
40	<213>	<i>Thanatephorus cucumeris</i>	
	<220>		
	<223>		
	<400>	75	
45	<210>	75	
	<211>	25	
	<212>	ADN	
	<213>	<i>Thanatephorus cucumeris</i>	
	<220>		
50	<223>		
	<400>	75	

	agctggatct cagtgttatg cttgg	25
5	<210> 76 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> Thielaviopsis basicola	
	<400> 76 gtgcctctcg gggcttctgc cg	22
15	<210> 77 <211> 26 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> Thielaviopsis populi	
25	<400> 77 cctgtgtagt aatgcttagc ttacac	26
30	<210> 78 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> Tilletia caries	
	<400> 78 ctacggaggg gtggctgcgt tg	22
40	<210> 79 <211> 22 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
45	<220> <223> Tilletia controversa	
50	<400> 79 ctacggaggg gtggctgcgt tg	22
	<210> 80 <211> 26 <212> ADN	

	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Trichoderma hamatum	
5	<400>	80	
		acagctctga gcaaaaattc aaaatg	26
10	<210>	81	
	<211>	22	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
15	<220>		
	<223>	Typhula incarnate	
	<400>	81	
20		gtccaatgta ggcgcagcgt aa	22
	<210>	82	
	<211>	24	
	<212>	ADN	
25	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Typhula ishikariensis	
30	<400>	82	
		attagctgga acctcttgtg gacc	24
	<210>	83	
35	<211>	24	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
40	<223>	Typhula ishikariensis	
	<400>	83	
		attagctgga acctcttgtg gacc	24
45	<210>	84	
	<211>	31	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
50	<220>		
	<223>	Uromyces dactylidis	
	<400>	84	

	ctcattaaac aattttttct tataaagatt g	31
5	<210> 85 <211> 26 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> Uromyces trifolii-repentis <400> 85 gtcattgcac tcaggtagac gtaaca	26
15	<210> 86 <211> 26 <212> ADN <213> Ustilago maydis	
20	<400> 86 cttttttctt ttggaaaagg ttgacg	26
25	<210> 87 <211> 26 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
30	<220> <223> Ustilago nuda <400> 87 acagacaatt ttattgaaca cttttt	26
35		
40	<210> 88 <211> 24 <212> ADN <213> Secuencia Artificial <220> <223> Ustilago striiformis	
45	<400> 88 tttgaagagt tggcggatcg gtat	24
50	<210> 89 <211> 26 <212> ADN <213> Secuencia Artificial <220>	

	<223> Ustilago tritici	
5	<400> 89 acggacaatt ttatttaaca cttttg	26
10	<210> 90 <211> 23 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
15	<220> <223> Verticillium dahliae	
	<400> 90 gcccttaaaa kcagtggcgg acc	23
20	<210> 91 <211> 27 <212> ADN <213> Bacillus amyloliquefaciens	
25	<400> 91 taatacatgc aagtcgagcg gacagat	27
30	<210> 92 <211> 25 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
35	<220> <223> Pseudomonas chlororaphis	
	<400> 92 gggtacttac ctaatacgtg agtat	25
40	<210> 93 <211> 26 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
45	<220> <223> Serratia entomophila	
50	<400> 93 gaagggtart gtcttaatac ggcatt	26
	<210> 94 <211> 24 <212> ADN	

	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
5	<223>	Serratia plymuthica	
	<400>	94	
		ggaaggggag tgtgttaata gcac	24
10	<210>	95	
	<211>	24	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
15	<220>		
	<223>	Streptomyces albidoflavus	
	<400>	95	
20		atgactgtcc atcgcatggt ggat	24
	<210>	96	
	<211>	21	
	<212>	ADN	
25	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	Streptomyces graminofaciens	
30	<400>	96	
		ctgcggatcg catggtctgc g	21
35	<210>	97	
	<211>	24	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
40	<223>	Streptomyces griseoviridis	
	<400>	97	
		aatacttctc ctgcgatggg gagg	24
45	<210>	98	
	<211>	24	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
50	<220>		
	<223>	Streptomyces rimosus	
	<400>	98	

	atgacacacg accgcatggt ctgt	24
5	<210> 99 <211> 25 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
10	<220> <223> Streptomyces scabiei <400> 99 caccggaaac ggccagagat ggtcg	25
15	<210> 100 <211> 23 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
20	<220> <223> Xanthomonas translucens <400> 100 gagtgtggta gaggatggcg gaa	23
25	<210> 101 <211> 19 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
30	<220> <223> cebador de ITS1 <400> 101 tccgtaggtg aacctgcgg	19
35	<210> 102 <211> 20 <212> ADN <213> Secuencia Artificial	
40	<220> <223> cebador de ITS4 <400> 102 tectccgctt attgatatgc	20
45	<210> 103 <211> 20 <212> ADN	
50		

	<213>	Secuencia Artificial	
	<220>		
	<223>	cebador de EUB8m_f	
5	<400>	103	
		agagtttgat cmtggctcag	20
10	<210>	104	
	<211>	19	
	<212>	ADN	
	<213>	Secuencia Artificial	
15	<220>		
	<223>	cebador de EUB1088_r	
	<400>	104	
20		ctcgttgcgg gacttaacc	19

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a ácidos nucleicos, a micromatrices y a métodos para detectar microorganismos patógenos y benéficos, en particular los
5 hongos patógenos del césped y las rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas.