

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Para incrementar la producción de biomasa de microorganismos de la especie *Bacillus* sp y de sus metabolitos (lipopéptidos), se debe cultivar el microorganismo en un medio de cultivo adecuado y bajo condiciones ambientales necesarias para incrementar la producción de biomasa y de sus metabolitos. Para ello, se prepara un medio de cultivo (en adelante medio D) que comprende uno o más componentes seleccionados del grupo que consiste de carbohidratos, extracto de levadura, sulfato de amonio, peptona, sales que contengan magnesio, azufre, manganeso, cloro, potasio, fósforo, calcio, y sodio bien sea en una matriz sólida, semisólida o líquida.

Las condiciones ambientales necesarias para llevar a cabo el proceso de la invención incluyen temperatura, pH, velocidad de agitación, tiempo de fermentación y aireación. El proceso de la presente invención se puede llevar a cabo a pequeña escala en el laboratorio o a gran escala en un biorreactor.

En una modalidad preferida, el medio D comprende, en porcentajes p/v, entre 3,0% y 3,5% de glucosa, entre 3,0% y 3,5% de extracto de levadura, entre $2,5 \times 10^{-3}\%$ y $5 \times 10^{-3}\%$ de sulfato de manganeso, entre $2 \times 10^{-3}\%$ y $4 \times 10^{-3}\%$ de cloruro de calcio, entre 0,08% y 0,12% de sulfato de amonio, entre 0,35% y 0,5% de sulfato de magnesio, entre 0,04% y 0,12% de fosfato disódico de potasio y entre 0,04% y 0,12% de fosfato monosódico de potasio.

En otra modalidad aún más preferida de la invención, el medio de cultivo D comprende, en porcentajes p/v, 3,34% de glucosa, 3,25% de extracto de levadura, $4,2 \times 10^{-3}\%$ de sulfato de manganeso, $3,1 \times 10^{-3}\%$ de cloruro de calcio, 0,1% de sulfato de amonio, 0,4% de sulfato de magnesio, 0,05% de fosfato disódico de potasio, 0,05% de fosfato monosódico de potasio.

En una modalidad preferida del proceso de la invención, el microorganismo se incuba durante un tiempo entre 24 y 96 horas con una velocidad de agitación entre 400 y 600 rpm, aireación entre 1 y 5 vvm, a una temperatura entre 20°C y 40°C y pH entre 5,5 y 7,5. Para controlar

del microorganismo y la actividad de los metabolitos en la composición durante largos periodos de tiempo.

Las composiciones se pueden preparar en un recipiente adecuado hermético para evitar contaminación. Allí se dispone de la biomasa y/o sus metabolitos, se agregan los adyuvantes y demás ingredientes hasta obtener una mezcla homogénea. El producto final así obtenido se puede disponer en envases adecuados y almacenarlo a temperatura ambiente.

En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a composiciones biocidas que comprenden *B. subtilis* EA-CB0015, *B. amyloliquefaciens* EA-CB0959 y/o sus metabolitos activos bien sea de manera individual, combinados o en asociación con otros agentes activos para potenciar la actividad biológica. Las composiciones biocidas de la presente invención pueden contener uno o más coadyuvantes y un vehículo agroquímicamente aceptable.

En una modalidad preferida, las composiciones biocidas de la presente invención comprenden entre el 80,0 y el 99,9% p/p de una suspensión acuosa de *B. subtilis* EA-CB0015 a una concentración de 1×10^7 a 1×10^{11} UFC/mL junto con una mezcla compuesta de 2,0% a 4,0% p/v de carboximetil celulosa sódica (CMC), 1,0% a 5,0% v/v de buffer de fosfatos 3M (pH 5,0), 1,0% a 4,0% v/v de glicerol, 0,25% a 0,75% v/v de tween 20®, 0,25% a 0,75% v/v de Triton X-100®, 0,01% a 1,0% v/v de sorbato de potasio, 0,05% a 0,15% p/v de goma xanthan, 0,2% a 1,5 % p/v de leche descremada y 0,028% a 1,0% p/v de TiO₂. Esta composición es de coloración blanca, tiene un pH de 4,0 a 6,5 y una viscosidad de 20 a 80 cp.

En una modalidad preferida adicional, las composiciones biocidas de la invención comprenden adicionalmente plaguicidas químicos, entre ellos, anilinopirimidinas, bitartenol, esteroides, difenoconazol, tebuconazol, epoxiconazol, mancozeb, clorotalonil y otros agentes para el control biológico de plagas, junto con uno o más coadyuvantes en un vehículo agroquímicamente aceptable.