

NUEVA CEPA DE LEVADURA Y SUS USOS PARA EL CONTROL DE FITOPATÓGENOS

La presente invención se refiere a una nueva cepa de levadura y sus usos para el control de fitopatógenos. Es importante destacar que la presente invención se refiere a una nueva cepa de levadura para el control de los principales fitopatógenos, que es eficaz en la prevención, tratamiento y control de una amplia gama de fitopatógenos y las enfermedades relacionadas que afectan a toda la planta (tanto la parte aérea como la raíz).

Es bien sabido que las plantas de cultivo pueden verse afectadas por diversas enfermedades fúngicas, bacterianas y virales, así como por numerosos insectos dañinos que también pueden ser vectores de fitopatógenos.

Actualmente, la protección de plantas se basa principalmente en el uso de pesticidas químicos. Sin embargo, las preocupaciones sobre el surgimiento de resistencia a ingredientes químicos activos en poblaciones de patógenos y el impacto de estos químicos en la salud humana y animal y en el medio ambiente, requieren el desarrollo de enfoques alternativos de protección de plantas, como el control biológico e integrado de las enfermedades de las plantas. El manejo integrado de plagas (MIP) consiste en el uso combinado de productos fitosanitarios químicos y biológicos junto con medidas agronómicas útiles para controlar los patógenos de las plantas, es decir, que no favorecen el ataque de los patógenos. La gestión biológica (es decir, control biológico o biocontrol), por otra parte, se basa principalmente en el uso de productos formulados con antagonistas microbianos, compuestos derivados de plantas o semioquímicos, que generalmente ocurren de forma natural y plantean riesgos bajos para la salud humana y el medio ambiente. En las últimas décadas, el uso de microorganismos para la protección de plantas ha dado lugar a una serie de productos comerciales bien establecidos, principalmente basados en bacterias y hongos del suelo, que actúan principalmente a través del micoparasitismo y la producción de compuestos naturales, como antibióticos o metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana. El uso de agentes antagonistas microbianos tiene como objetivo aumentar la gama de fórmulas de biocontrol con bajo o nulo impacto ambiental, que puedan reemplazar o integrar ingredientes químicos activos para los cuales se están aplicando medidas de mitigación de riesgos para reducir su uso o incluso retirar estos químicos del mercado.

Algunos aislados de levaduras ascomicetas y basidiomicetos son de particular interés para diversas aplicaciones agrícolas, incluso como agentes de biocontrol (BCA, por sus siglas en inglés) para contrarrestar los patógenos de las plantas. La microflora de hongos epífitos puebla abundantemente las partes aéreas de los órganos de las plantas y se adapta a una amplia gama de tensiones ambientales. Estas características naturales convierten a las levaduras y hongos levaduriformes en excelentes candidatos para el desarrollo de productos fitosanitarios para el control de patógenos de las plantas, tanto en el campo como durante el almacenamiento. Se han seleccionado y caracterizado para uso comercial como BCA varias especies de levadura con propiedades antagonistas contra diferentes patógenos, por ejemplo, *Candida oleophila* (Aspire®, Ecogen, Langhorne, PA, E.U.A.; Nexy®, Lesaffre-Bionext, Francia), *Cryptococcus albidus* (YieldPlus®, Lallemand, Montreal, Canadá), *Candida sake* (Candifruit®, IRTA,

Lleida, España), *Metschnikowia fructicola* (Shemer®, Bayer, Leverkusen, Alemania) y *Aureobasidium pullulans* (Boniprotect®, Biofa, Musingen, Alemania), este último un hongo levaduriforme.

Para el registro comercial de productos a base de BCA se requieren estudios biológicos, ecológicos y toxicológicos que demuestren que los microorganismos seleccionados son efectivos contra patógenos de las plantas e inofensivos para los humanos, los animales y el medio ambiente.

Sin embargo, el rango de eficacia de muchas levaduras de control biológico es demasiado estrecho tanto en términos de patógenos objetivo como de cultivos. De hecho, la mayoría de las fórmulas de base microbiana tienen un ámbito de aplicación extremadamente reducido, lo que lleva a la necesidad de un uso integrado con otros ingredientes activos. Además, el uso de una combinación de microorganismos de biocontrol con ingredientes químicos activos sintéticos tiene una limitación importante en la capacidad limitada de los BCA para tolerar ingredientes químicos activos. Por lo tanto, existen numerosas restricciones técnicas para las combinaciones de la mayoría de las especies microbianas utilizadas como BCA con productos químicos sintéticos, lo que limita aún más el uso de estos productos.

Ante esta situación, parece evidente la necesidad de utilizar nuevos BCA que puedan resolver los problemas antes mencionados y representar alternativas a los actualmente comercializados.

En este contexto, la presente invención representa una posible solución, ya que consiste en el formulado de un nuevo microorganismo para ser utilizado como agente de biocontrol de los principales patógenos de las plantas.

Según la presente invención, ahora se ha demostrado que las especies de levadura *Papiliotrema terrestris* y sus sustancias secretadas extracelularmente pueden usarse ventajosamente contra patógenos de las plantas.

En particular, el solicitante ha aislado una nueva cepa de levadura (PT22AV), perteneciente a la especie de levadura basidiomicetos *Papiliotrema terrestris*. La cepa de levadura antes mencionada fue presentada para fines de patente de acuerdo con los procedimientos establecidos en el Tratado de Budapest, el 26 de octubre de 2020, en el *Westerdijk Fungal Biodiversity Institute* (CBS), solicitante *AgroVentures srl*, con número de acceso proporcionado por la Autoridad Internacional de presentación de patentes. CBS147138 y con referencia de identificación proporcionada por el solicitante de PT22AV.

De acuerdo con la invención, la Tabla 1 muestra la clasificación taxonómica de la cepa PT22AV de *Papiliotrema terrestris*.

Tabla 1
Clasificación taxonómica de PT22AV.

5	Clasificación Científica	
	Reino	Hongos
	Filo	Basidiomycota
	Subfilo	Agaricomycotina
	Clase	Tremelomicetos
10	Subclase	Tremellomycetidae
	Orden	Tremellales
	Familia	Rhynchogastremataceae
	Género	<i>Papiliotrema</i>
	Especies	<i>Papiliotrema terrestris</i>
Sinónimos		
<i>Cryptococo terrestris</i>		
Cepa		
<i>Papiliotrema terrestris</i> PT22AV		

El género *papiliotrema* (Clase Tremellomycetes, Orden Tremellales, Familia Rhynchogastremataceae) se describió por primera vez en 2002 con el objetivo de clasificar una nueva especie microbiana, *Papiliotrema bandonii*. Recientemente, la reclasificación taxonómica, que involucra a muchas especies de levaduras basidiomicetosas, ha transferido numerosas especies del género *Cryptococcus* al género *Papiliotrema*. En la actualidad, este nuevo género de hongos incluye alrededor de 24 especies y entre ellas muchas están descritas como agentes de control biológico, como *P. laurentii* (antes *C. laurentii*). *Papiliotrema terrestris* es una especie relativamente nueva; de hecho, se describió por primera vez en 2015.

En particular, como se muestra en los ejemplos presentados a continuación, la cepa PT22AV de *Papiliotrema terrestris*, aislada según la presente invención, ha mostrado rendimientos mejores o comparables como agente de biocontrol en comparación con productos químicos y biológicos ya conocidos. En particular, las células PT22AV frescas, secas o deshidratadas, aplicadas en protocolos biológicos o integrados para recubrimiento de semillas, en semillero, en el campo o en la etapa postcosecha, mostraron una reducción en la incidencia de la enfermedad comparable a la obtenida con productos químicos sintéticos.

Como se muestra a continuación, la cepa PT22AV de *Papiliotrema terrestris* según la presente invención se probó en ensayos de eficacia y selectividad realizados durante un período de 3 años (2018-2019-2020) en 4 países de la UE en 6 cultivos contra una amplia gama de patógenos fúngicos biotróficos y necrotrofos, en el campo y en la postcosecha. Se probaron diferentes fórmulas basadas en la cepa PT22AV, que diferían entre sí en cuanto a composición y concentración de células de levadura, y se obtuvieron mediante diferentes enfoques y tecnologías.

Con base en los resultados obtenidos, la cepa PT22AV de *Papiliotrema terrestres* según la presente invención ha demostrado ser un mejor agente de biocontrol contra patógenos de las plantas en comparación con:

a) formulaciones microbianas comerciales basadas en bacterias (por ejemplo, *Bacillus subtilis* y *B. amyloliquefaciens*), levaduras (por ejemplo, *Aureobasidium pullulans*) y hongos (por ejemplo, *Trichoderma spp.*);

b) numerosos productos químicos fitosanitarios establecidos comercialmente.

5 En cuanto a la comparación con preparados a base de bacterias y levaduras (punto a), se ha demostrado según la presente invención que *Papillotrema terrestris* PT22AV, produce mejores rendimientos ya que puede usarse en concentraciones celulares mucho más bajas con la misma eficacia. En general, se demostró que la cepa PT22AV según la presente invención, utilizada sola o en combinación con otros agroquímicos (fungicidas, adyuvantes, fertilizantes, bioestimulantes, etc.) es mucho más efectiva
10 que otras fórmulas basadas en microbios comúnmente utilizadas (por ejemplo, *Bacillus spp.*) en el control de hongos fitopatógenos (incluidos los micotoxigénicos) y otros fitopatógenos, cuando se aplica tanto en campo como postcosecha, tanto en la parte aérea como en la raíz. Además, la cepa según la presente invención, a diferencia de las fórmulas químicas indicadas anteriormente (b), no presenta ningún riesgo de selección de poblaciones de patógenos resistentes, es más segura para los seres humanos y el medio
15 ambiente, actúa en un rango más amplio de cultivos, enfermedades, etapas fenológicas de las plantas, tiene una mejor capacidad de adaptación a condiciones ambientales, se puede usar mejor en la integración sinérgica con varios fungicidas químicos o biológicos, adyuvantes y otros agroquímicos.

Por otro lado, en lo que respecta a la comparación con productos químicos (punto b), la cepa según la presente invención ha mostrado rendimientos comparables o incluso superiores en comparación
20 con una amplia gama de fungicidas químicos. Además, según la presente invención, *P. terrestres* PT22AV no produce residuos químicos tóxicos a diferencia de los productos químicos. Además, la cepa se puede aplicar tanto antes como después de la cosecha, no permite la aparición de resistencia en las poblaciones de patógenos, es compatible con muchos agroquímicos cuando se usa en combinación con estos productos y se puede usar tanto en el manejo integrado de agricultura orgánica como en plagas.

25 Según la presente invención, la eficacia del tratamiento basado en la cepa PT22AV ha quedado claramente demostrada tanto para células frescas como deshidratadas.

Según la presente invención, las fórmulas que incluyen la cepa PT22AV son particularmente ventajosas ya que, si se aplican a los cultivos, protegen activamente la planta, promueven su crecimiento, estimulan la resistencia sistémica contra patógenos, reducen la producción y acumulación de micotoxinas,
30 mitigan los efectos nocivos de nematodos y otros factores estresantes bióticos y abióticos. Además, según la presente invención, la cepa PT22AV de *P. terrestres* es altamente activa en la prevención, supresión y control de una amplia gama de enfermedades/patógenos que afectan a toda la planta (partes aéreas y raíces), con posibilidad de aplicación en el campo, en postcosecha, en el suelo y para recubrimiento de semillas. En particular, la cepa PT22AV según la presente invención se puede utilizar ventajosamente para
35 el tratamiento de raíces y semillas y para todas las partes aéreas (incluidas flores y frutos) de plantas, y se puede aplicar sola o en combinaciones sinérgicas con otros productos para la agricultura, en particular con pesticidas (acaricidas, bactericidas, fungicidas, insecticidas, herbicidas, alguicidas, molusquicidas, nematocidas, rodenticidas, reguladores del crecimiento de las plantas, repelentes, semioquímicos, virucidas), biopesticidas, adyuvantes y otros agroquímicos (aditivos, fertilizantes, bioestimulantes).

Por lo tanto, según la presente invención, *P. terrestres* PT22AV, en comparación con otras levaduras biocontroladoras conocidas, puede usarse ventajosamente contra una amplia gama de patógenos en diferentes tipos de cultivos y es tolerante a principios activos químicos sintéticos, lo que posibilita su uso efectivo en combinación con estos químicos, como se muestra en los ejemplos a continuación.

En particular, la cepa PT22AV de *P. terrestris*, según la presente invención, puede usarse ventajosamente como agente de biocontrol (BCA) para el manejo de patógenos de las plantas tanto en agricultura orgánica como en el manejo integrado de enfermedades (MIE).

Además, según la presente invención, se ha descubierto que la cepa PT22AV tiene un metabolismo secundario muy activo y secreta una serie de metabolitos secundarios en el entorno extracelular. Entre ellos, tienen especial importancia los polímeros extracelulares, un grupo complejo de sustancias compuesto en gran parte por polisacáridos. La composición y producción de estos polímeros es muy compleja y se ha observado que está condicionada por varios factores, entre ellos la composición del medio de crecimiento, el pH, la temperatura y la oxigenación durante la producción de biomasa. Según la presente invención, se ha descubierto que los polímeros extracelulares producidos por *P. terrestris* cepa PT22AV se compone principalmente de carbohidratos (50-90%); los monómeros más representados son: manosa, xilosa, glucosa, galactosa, arabinosa. La estructura de estos polímeros es muy similar a la del almidón y el glucógeno; de hecho, está organizada en una cadena principal que consiste en unidades monoméricas unidas mediante enlaces α - (1 $\rightarrow$ 3) y ramas ancladas mediante enlaces β - (1 $\rightarrow$ 2). Estos compuestos se producen principalmente en condiciones de estrés trófico y en todas las condiciones que limitan el crecimiento celular. Estos polímeros son activos en la estimulación del metabolismo vegetal, en la inducción de resistencia contra patógenos, en la mejora de las características químicas, físicas y biológicas del suelo, en la promoción de la cicatrización de heridas en las plantas, y si se distribuyen en las partes aéreas constituyen un obstáculo físico para la penetración de patógenos.

Por lo tanto, según la presente invención, las sustancias extracelulares antes mencionadas producidas por la cepa de levadura PT22AV pueden usarse ventajosamente contra patógenos de plantas.

Artículos científicos sobre taxonomía molecular han destacado una alta homogeneidad genética dentro de la especie *P. terrestris*; esto indica que en esta especie la tasa de recombinación genética ligada a la reproducción sexual es baja, y que prevalece la reproducción asexual, lo que es garantía de estabilidad genética y fenotípica, y por lo tanto de alto rendimiento constante en el campo, en otras aplicaciones y también con el tiempo.

Hasta el momento, ninguna publicación técnica y/o científica ha documentado evidencia de actividades de biocontrol y bioestimulantes de especies de *P. terrestris* en la etapa previa a la cosecha: en el suelo o en campo abierto, en aplicaciones al suelo, en semillas y en partes aéreas de plantas. Por lo tanto, según la presente invención, se muestra por primera vez la actividad bioestimulante de la especie de levadura *P. terrestris*, en particular de la cepa PT22AV, en etapa previa a la cosecha (ver Ejemplo 5).

Además, según la presente invención, la actividad de biocontrol por parte de las especies de levadura *P. terrestris*, en particular de la cepa PT22AV, se muestra por primera vez en la etapa previa a la cosecha. Según la literatura científica internacional, la única actividad de biocontrol reportada por la

especie *P. terrestris* corresponde a la cepa LS28 (anteriormente clasificada como *Cryptococcus laurentii*), la cual no se aplicó en campo abierto, sino que solo se aplicó sobre los productos cosechados (postcosecha).) contra hongos patógenos poscosecha. Sin embargo, la actividad de biocontrol de la cepa PT22AV es significativamente mayor que la actividad de biocontrol de LS28, en comparación con el solicitante. Como se muestra en los datos experimentales comparativos informados a continuación (ver Ejemplo 6), la eficacia de PT22AV es significativamente mayor que la eficacia de LS28. Además, PT22AV mostró una capacidad significativamente mayor para resistir una amplia gama de estreses abióticos por parte de PT22AV en comparación con LS28.

La cepa PT22AV, según la presente invención, es segura para los humanos y el medio ambiente, su proceso de fabricación no tiene impacto ambiental y satisface principios de economía verde y circular, con subproductos de fabricación para ser utilizados como acondicionadores orgánicos del suelo y con posibilidad de uso de subproductos de la industria alimentaria como la melaza para su proceso de fermentación. La eficacia, selectividad, propiedades toxicológicas y ecotoxicológicas de las formulaciones basadas en la cepa PT22AV han sido ampliamente probadas en condiciones GAP - GLP (como exige la legislación vigente en materia de registro europeo de pesticidas de base microbiana).

En lo que respecta a la toxicología humana, *Papiliotrema terrestris* es una especie de levadura natural y no patógena. En este sentido, Ke et al. (2018) informan que *Papiliotrema terrestris* no fue patógeno en ratas Sprague-Dawley después de la administración intravenosa (IV) de 2.4×10^8 UFC y la administración oral de 1.3×10^9 UFC. Los resultados genotóxicos del concentrado de enzima galactosidasa son negativos, tanto en una prueba de mutación inversa bacteriana (prueba de Ames) como en una prueba de aberración cromosómica en cultivos de células de fibroblastos de pulmón de hámster chino (CHL/IU). Además, en el estudio de alimentación forzada de 13 semanas en ratas Sprague-Dawley, no se observaron efectos adversos en ninguno de los grupos probados y un nivel sin efectos adversos observados (NOAEL) de 2000 mg/kg pc/día [sólidos orgánicos totales (TOS) 1800 mg/kg pc/día], que fue la dosis más alta probada, se estableció. El análisis de la secuencia de alergenidad no reveló evidencia de que la enzima galactosidasa sea un alérgeno. Los datos presentados en este estudio respaldan la conclusión de que la galactosidasa producida por *P. terrestris* es segura para su uso en la producción de alimentos. El Solicitante ha llevado a cabo estudios toxicológicos adicionales (datos no mostrados), que confirman que la cepa PT22AV según la presente invención tiene un perfil toxicológico favorable basado en valores obtenidos de pruebas orales, pulmonares, intraperitoneales, dérmicas, de irritación ocular y otras pruebas toxicológicas relevantes.

En materia de toxicología ambiental, el Solicitante ha realizado diversos estudios (datos no mostrados), necesarios para el proceso de registro comercial en Europa y Estados Unidos, que confirman que las formulaciones basadas en la cepa PT22AV son seguras para el medio ambiente. Los estudios incluyen evaluaciones de aves, mamíferos, artrópodos no objetivo como abejas, ácaros depredadores, organismos del suelo como lombrices y otros, organismos acuáticos como peces, dafnias y algas, así como otros organismos no objetivo, para los cuales se realizan estudios de selectividad son requeridos por los organismos reguladores en Europa y EE. UU.

Según la presente invención, la cepa PT22AV de *P. terrestres* se puede utilizar eficazmente como fungicida de amplio espectro (tanto en términos de plantas de cultivo como de patógenos de las plantas) en la agricultura orgánica, así como para programas de manejo integrado de plagas.

Además, la capacidad de colonizar rápidamente las superficies de las plantas, las aberturas naturales y las heridas permite ventajosamente que la cepa PT22AV contrarreste eficazmente incluso las bacterias fitopatógenas que penetran en sus huéspedes a través de estas aberturas (por ejemplo, *Pseudomonas* spp., *Xanthomonas* spp., *Clavibacter* spp., *Ralstonia* spp., *Erwinia* spp.). En particular, la cepa PT22AV produce una gran cantidad de polisacáridos en ambientes extracelulares durante el crecimiento tanto *in vitro* como *in vivo*. Esta matriz muy compleja protege la cepa de factores estresantes abióticos, mejora la adhesión a las superficies y desencadena la resistencia sistémica de las plantas, mejorando la tolerancia a una amplia gama de patógenos, incluidos los virus.

Además, la especie *P. terrestris*, en particular la cepa PT22AV, según la presente invención, pueden aplicarse ventajosamente también al suelo, en particular para la mejora de la propia estructura del suelo y para el control de nematodos. De hecho, la aplicación de la cepa PT22AV al suelo produce una serie de efectos beneficiosos, entre ellos una acción positiva sobre el microbioma del suelo y la rizosfera. La matriz de polisacáridos, que facilita la formación de agregados y por lo tanto mejora la estructura del suelo, es una fuente de nutrientes para bacterias útiles, microfauna y protistas depredadores, y contribuye a los procesos biogeoquímicos ecológicos que son esenciales para la preservación del ecosistema del suelo. Además, las formulaciones que incluyen la cepa PT22AV según la presente invención son particularmente ventajosas ya que, si se aplican a cultivos, protegen activamente la planta y promueven su crecimiento y resistencia a factores estresantes bióticos, como el daño de los nematodos. En particular, cuando se aplica como tratamiento de raíces, la cepa PT22AV, si bien reduce parcialmente la proliferación de nematodos, también es especialmente eficaz para limitar sus efectos nocivos, como se muestra midiendo la altura de las plantas (ver Ejemplo 7). Las posibles especies de nematodos son *Meloidogyne* spp., *Heterodera* spp., *Globodera* spp., *Belonolaimus* spp., *Pratylenchus* spp., *Rotylenchulus* spp., *Trichodorus* spp., *Paratylenchus* spp. etc.

La cepa PT22AV es eficaz en un amplio espectro de concentraciones al mejorar la salud general de las plantas.

Los mecanismos subyacentes a la acción antagonista de la cepa PT22AV según la presente invención permiten ventajosamente su aplicación sobre un amplio espectro de plantas huésped y patógenos (hongos, bacterias y virus), y una alta flexibilidad en su aplicación tanto en términos de tiempo (todas las fases fenológicas) como en términos de los órganos tratados (semilla, raíz, partes epigeas de la planta, flor, fruto). Además, la capacidad de adaptarse a condiciones ambientales muy heterogéneas (humedad, temperatura, irradiación UV, etc.) permite su aplicación en diferentes zonas climáticas.

La eficacia de la cepa PT22AV en el control de enfermedades de las plantas subyace a la capacidad de sobrevivir y persistir en la superficie de la planta o en los tejidos heridos durante largos períodos. En particular, la tolerancia al estrés ambiental como la deshidratación, el estrés oxidativo, la radiación UV, el estrés osmótico y la tolerancia a los fungicidas permiten la adaptación de la cepa PT22AV al entorno de aplicación.

Según la presente invención, la protección de plantas contra muchos patógenos fúngicos ejercida por *P. terrestres* PT22AV es principalmente preventiva. En particular, la aplicación de células vivas de la cepa previene el establecimiento del proceso de infección en las primeras etapas de la interacción planta-patógeno (por ejemplo, germinación de conidios, elongación del tubo germinal, colonización del sitio de infección). Además, la bioprotección es el resultado de varios mecanismos con diferente relevancia, que regulan las interacciones tanto con patógenos como con otros microorganismos que pueblan el mismo nicho ecológico.

Los modos de acción que caracterizan la actividad de biocontrol de la cepa de levadura PT22AV según la presente invención se enumeran a continuación.

- Competencia de las heridas: para la mayoría de los hongos necrotróficos, los tejidos vegetales heridos representan el principal sitio de penetración para establecer el proceso infeccioso. Como ya se describe ampliamente en la literatura, los tejidos vegetales responden a una amplia gama de estreses desencadenando procesos de naturaleza oxidativa. Entre ellos, los tejidos vegetales heridos desencadenan una fuerte respuesta oxidativa, lo que conlleva la acumulación de especies reactivas de oxígeno (principalmente anión superóxido y peróxido de hidrógeno) y otras sustancias oxidantes. Los estudios realizados por el Solicitante demuestran cómo el agente de control biológico PT22AV coloniza eficazmente los tejidos lesionados al resistir el estrés oxidativo ejercido por especies reactivas de oxígeno (ROS: anión superóxido O_2^- , y peróxido de hidrógeno, H_2O_2) generado por los tejidos vegetales como consecuencia de una herida. La cepa de levadura seleccionada, según la invención, tolera los estresores oxidativos a través de dos enzimas (superóxido dismutasa y catalasa). La resistencia al estrés oxidativo puede considerarse el primer mecanismo implementado por PT22AV contra los patógenos de las heridas postcosecha. En particular, el solicitante ha demostrado la gran capacidad de la cepa PT22AV para resistir los fenómenos oxidativos mediante la evaluación de la dinámica de la población en heridas artificiales en manzanas, lo que demostró cómo este microorganismo es capaz de colonizar eficazmente este entorno. La población de la cepa se evaluó colocando en placas muestras de levadura en medio de agar nutritivo extraídas del tejido herido inoculado con la cepa PT22AV. De este análisis surgió que la cepa PT22AV coloniza la herida muy rápidamente, duplicando su concentración dentro de las 6 horas posteriores a la inoculación. Además, el solicitante investigó más a fondo la resistencia de la cepa al estrés oxidativo evaluando el crecimiento del microorganismo en presencia de peróxido de hidrógeno. Para ello, se añadieron concentraciones crecientes de peróxido de hidrógeno a las placas de agar NYDA y posteriormente se inocularon con una suspensión de células de la cepa PT22AV. De este análisis se desprende que este microorganismo resiste eficazmente concentraciones de peróxido de hidrógeno de hasta 30 mM, es decir, un nivel de estrés oxidativo mucho mayor que el que se produce al herir un tejido vegetal. El solicitante investigó más a fondo la resistencia de la cepa al estrés oxidativo evaluando el crecimiento del microorganismo en presencia de peróxido de hidrógeno. Para ello, se añadieron concentraciones crecientes de peróxido de hidrógeno a las placas de agar NYDA y posteriormente se inocularon con una suspensión de células de la cepa PT22AV. De este análisis se desprende que este microorganismo resiste eficazmente concentraciones de peróxido de hidrógeno de hasta 30 mM, es decir, un nivel de estrés oxidativo mucho mayor que el que se produce al herir un tejido vegetal.

- Competencia por espacio y nutrientes: PT22AV actúa compitiendo eficientemente por espacio y nutrientes con hongos patógenos. El aislado de *Papiliotrema terrestris* inhibe eficazmente el desarrollo del patógeno en sus primeras etapas de crecimiento al prevenir el proceso de infección. Los experimentos *in vivo* realizados por el solicitante han puesto de relieve cómo la adición de nutrientes exógenos en heridas artificiales reduce drásticamente la eficacia del biocontrol de la levadura. Además, en la competencia espacial, la cepa de levadura PT22AV se ve favorecida por la formación de una cápsula de polisacárido extracelular que puede promover la adhesión a la superficie de la fruta, evitando así el contacto entre la fruta huésped y el patógeno (Fig. 2). Por lo tanto, la competencia por el espacio y los nutrientes es un mecanismo clave de *P. terrestris* PT22AV en su antagonismo contra hongos necrotróficos y está estrechamente relacionada con la resistencia al estrés oxidativo y, por lo tanto, con la capacidad de colonizar los tejidos vegetales. La competencia espacial efectiva y oportuna es un rasgo importante de PT22AV que lo hace efectivo contra cualquier enfermedad y cualquier cultivo vegetal (es decir, confiere a esta levadura una actividad de biocontrol de amplio espectro). Más específicamente, la competencia eficaz de PT22AV por el espacio (y, en consecuencia, por los nutrientes) es un rasgo fenotípico muy complejo que depende de muchos genes, lo que permite a este BCA ejercer una acción análoga a la de los fungicidas multisitio, pero con una gama mucho más amplia de mecanismos de acción y número de genes involucrados; de hecho, en analogía con estos fungicidas, la competencia hace muy improbable, si no imposible, en el caso del PT22AV, la selección de poblaciones de patógenos resistentes a este BCA.

La actividad de β -1,3-glucanasa: *P. terrestris* cepa PT22AV, además de competir por espacio y nutrientes, puede interactuar directamente con hongos patógenos a través de la degradación de su pared celular mediada por la producción de células extracelulares. Enzima β -1,3-glucanasa. Los estudios *in vitro* realizados por el solicitante han demostrado que *P. terrestris* PT22AV es capaz de producir niveles significativamente más altos de β -1,3-glucanasa extracelular cuando se cultiva en presencia de paredes celulares de hifas de los patógenos *P. expansum* y *B. cinerea* como únicas fuentes de carbono. Este mecanismo debe considerarse de segundo nivel en términos de relevancia en comparación con los mecanismos antes mencionados.

- Sin antibiosis: los estudios metabólicos realizados por el Solicitante han demostrado que, a diferencia de otros microorganismos activos contra patógenos de las plantas y registrados como ingrediente activo en fórmulas de base microbiana (en particular, bacterias) *P. terrestres* PT22AV no produce moléculas con actividad antifúngica. En condiciones experimentales, la antibiosis parece no estar implicada en la actividad antagonista ejercida por la cepa PT22AV, descartando así la posibilidad de que los hongos patógenos desarrollen resistencia. Esto hace que PT22AV sea un BCA mucho más seguro y sostenible que las fórmulas basadas en bacterias, cuyo número es actualmente mayor que el de otras especies microbianas (hongos y levaduras).

- Inducción de resistencia de las plantas: las plantas tienen un “sistema inmunológico” innato para reconocer y responder a los patógenos (hongos, bacterias y virus); La “respuesta inmune” de esta planta puede ser desencadenada por varios microorganismos beneficiosos que inducen resistencia tanto a nivel local como sistémico. Las levaduras de biocontrol pueden provocar resistencia sistémica de las plantas contra una amplia gama de patógenos y esta acción está implícita en su actividad de biocontrol. La

inducción de resistencia puede ser provocada por células microbianas, partes de ellas o incluso por moléculas secretadas en el entorno extracelular una vez reconocidas por las plantas. *Papiliotrema terrestres* PT22AV produce muchas sustancias extracelulares que pueden desencadenar una respuesta de defensa sistémica en la planta huésped, mejorando así la tolerancia a los patógenos. Esta actividad de producción de sustancias extracelulares no tiene comparación con ningún otro microorganismo de biocontrol disponible comercialmente.

- Adhesión a la superficie vegetal: durante la producción de biomasa y después de su aplicación en campo, la cepa PT22AV produce una abundante matriz de polisacáridos que permite que las células de levadura se adhieran a superficies sólidas. Esta matriz extracelular promueve la adhesión de PT22AV a plantas y tejidos heridos, mejora la resistencia al lavado causado por la lluvia y minimiza los efectos negativos de los factores estresantes bióticos y abióticos. Esta actividad es mucho mayor que la de cualquier otro BCA disponible comercialmente o descrito en la literatura.

Por lo tanto, un objeto específico de la presente invención es una cepa de levadura perteneciente a la especie *Papiliotrema terrestres*, estando depositada dicha cepa en el Westerdijk Fungal Biodiversity Institute con número de depósito CBS147138, en lo sucesivo también denominada cepa PT22AV.

Según la presente invención, dicha cepa de levadura puede estar en una forma seleccionada entre células frescas, células secas, células deshidratadas, células desvitalizadas, células inactivadas, células congeladas o células en suspensión acuosa, incluidos derivados (principalmente polisacáridos extracelulares) del proceso de producción de la biomasa celular.

La presente invención también se refiere a una composición fitosanitaria para uso agrícola, en particular para controlar fitopatógenos en plantas o cultivos, dicha composición comprendiendo la cepa de levadura PT22av de la especie *Papiliotrema terrestris* definida anteriormente, como principio activo, junto con uno o más excipientes o adyuvantes fitofarmacológicamente aceptables.

Según la presente invención, dicha composición puede estar en forma líquida o sólida.

Además, según la presente invención, la concentración de dicha cepa de levadura dentro de la composición puede oscilar entre 10^3 UFC y 10^{13} UFC por gramo de composición sólida o entre 10^2 UFC y 10^{12} UFC por ml de composición líquida. Los formulados sólidos y líquidos en una concentración superior a 10^7 UFC por gramo o mL son principalmente adecuados para aplicaciones foliares y postcosecha, mientras que para los formulados con una concentración inferior a 10^7 UFC por gramo o mL se pueden utilizar para tratamientos de suelo, enriquecimiento de composta u otros sustratos para siembra, trasplante o cultivo de plantas y recubrimiento de semillas.

La concentración del ingrediente activo en los formulados según la invención se expresa como unidades formadoras de colonias (UFC) por gramo o ml. La cuantificación también se puede realizar mediante otras técnicas como PCR en tiempo real, citometría de flujo, etc.

La concentración de la cepa PT22AV en soluciones para fertirrigación o en cultivos hidropónicos, etc. puede oscilar entre 10^2 y 10^{12} UFC por ml de solución. En sistemas de distribución que implican el uso de insectos polinizadores, la concentración de levadura en las bandejas dispensadoras puede oscilar entre 10^2 y 10^{12} .

La composición según la presente invención puede estar en forma de comprimidos, cápsulas, gránulos, gránulos, polvo, tal como polvo seco o polvo humectable, gránulos humectables, fluido, fluido seco, emulsión, suspensión, solución, dispersión.

En particular, una composición según la presente invención puede estar en forma de: Aerosol (A);
 5 cebo para la dispersión de polinizadores (B); Polvo (D); Fluido seco (DF); Emulsionable (E); Concentrado emulsionable (EC); Fluido (FL); Gránulo (G); Microencapsulado (M); Comprimido (P); Polvo soluble (SP); Polvo humectable (WP); Gránulo dispersable en agua (WG/WDG).

Más específicamente, la composición puede estar en forma de: cebo de cereales (AB); concentrado de cebo (CB); suspensión en cápsulas para el tratamiento de semillas (CF); gránulo
 10 encapsulado (CG); suspensión de cápsulas (CS); concentrado dispersable (DC); polvo dispersable (DP); polvo para tratamiento de semillas secas (DS); concentrado emulsionable (EC); emulsión, agua en aceite (EO); emulsión para tratamiento de semillas (ES); emulsión, aceite en agua (EW); gránulo fino (FG); concentrado fluido para tratamiento de semillas (FS); cebo granular (GB); microgránulo (GG); polvo de flo (GP); Gránulo (GR); solución para el tratamiento de semillas (LS); microemulsión (ME); microgránulo (MG);
 15 dispersión de aceite (OD); concentrado fluido miscible en aceite (OF); líquido miscible en aceite (OL); polvo dispersable en aceite (OP); pasta (PA); semilla recubierta con pesticida (PS); concentrado en suspensión (SC); suspo-emulsión (SE); gránulos solubles en agua (SG); concentrado soluble (SL); polvo soluble en agua (SP); polvo soluble en agua para tratamiento de semillas (SS); suspensión de volumen ultrabajo (SU); tableta (TB); material técnico (CT); concentrado técnico (TK); granular dispersable en agua
 20 (WG/WDG); polvo humectable (WP); polvo dispersable humectable para tratamiento de semillas en purines (WS).

Según una modalidad de la presente invención, dicha composición puede comprender además uno o más compuestos químicos, por ejemplo compuestos químicos sintéticos, y/o uno o más agentes biológicos, por ejemplo microorganismos tales como bacterias, levaduras, hongos, virus, algas, dichos uno
 25 o más compuestos químicos y dicho uno o más agentes biológicos se seleccionan entre fungicidas, insecticidas, fertilizantes, bioestimulantes (por ejemplo, ácidos húmicos y fúlvicos, hidrolizados de proteínas, extractos de algas y plantas, quitosano y otros biopolímeros, compuestos inorgánicos, microbios beneficiosos) , macronutrientes (por ejemplo, nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K)), micronutrientes, inductores, fitorreguladores, agentes de biocontrol microbiano, reguladores del crecimiento de las plantas,
 30 nutrientes foliares, antibióticos, herbicidas, acaricidas, aditivos alimentarios (por ejemplo, todos los compuestos incluidos en las siguientes categorías: antioxidantes, colorantes, conservantes y agentes de tratamiento de harinas), adyuvantes (por ejemplo, emulsionantes, agentes humectantes, dispersantes, antiespumantes, agentes quelantes, neutralizadores, disolventes), microorganismos de interés agroalimentario.

35 Según la presente invención, los excipientes que se pueden utilizar en la composición son, por ejemplo, coformulantes a base de minerales (polvos minerales) u orgánicos (azúcares simples, complejos o cíclicos), dispersantes, emulsionantes, agentes humectantes, estabilizantes, sinergistas, corroborantes.

La composición antes mencionada, que además comprende uno o más compuestos químicos y/o uno o más agentes biológicos y/o uno o más coformulantes, puede ser una mezcla en tanque o una coformulación.

En particular:

- 5 dichos nutrientes foliares se pueden seleccionar entre nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, azufre, magnesio;
 dichos micronutrientes pueden seleccionarse entre hierro, boro, cloro, manganeso, zinc, cobre, molibdeno y níquel;
 dichos insecticidas se pueden seleccionar entre compuestos inorgánicos, aceites, extractos
- 10 botánicos, organoclorados, organofosforados, carbamatos, neonicotinoides, avermectinas, organosulfurados, organoestaños, piretroides sintéticos;
 dichos inductores pueden elegirse entre los inductores de síntesis química, tales como el ácido salicílico, el salicilato de metilo, el benzotiadiazol, el ácido benzoico y el quitosano, o entre los inductores de extractos vegetales, tales como los taninos, los aceites cítricos, los bioflavonoides, tales como la
- 15 dihidroquercetina, los polisacáricos, los arabinogalactanos, polisacáridos y otros extractos vegetales;
 dichos reguladores del crecimiento de las plantas pueden elegirse entre (nomenclatura internacional) auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno, ácido abscísico, ancimídol; clormecuat; cloro IPC; daminozida; flurprimídol; cianamida de hidrógeno, cianamida (H_2CN_2); mefluidida; cloro de mepiquat; paclobutrozol; proexadiona cálcica; ácido succínico (SADH), forclorfenurón.
- 20 Según una modalidad de la presente invención, dicha composición es una composición fungicida. Por ejemplo, la acción fungicida la lleva a cabo la cepa específica y/o mediante otros fungicidas añadidos a la composición.
 Según la presente invención, los fungicidas pueden pertenecer, por ejemplo, a estrobirulinas, bencimidazoles, inhibidores de esteroides, dicarboxamidas, ditiocarbamatos, fungicidas inorgánicos,
- 25 fenilpirroles o sus combinaciones, así como a otros grupos químicos.
 En particular, dichos fungicidas (químicos y/o biológicos) pueden seleccionarse entre (nomenclatura internacional) cloruro de 2-metoxietilmercurio, 2-fenilfenol, bromuro de 3-etoxipropilmercurio, sulfato de 8-hidroxiquinolina, 8-fenilmercurioxiquinolina, acibenzolar, acibenzolar-S-metilo, fungicidas de acilaminoácidos, acipetacs, Adavelt, *Agrobacterium radiobacter* K84, aldimorfo,
- 30 alcohol alílico, ametotradina, aminopirifeno, amisulbrom, ampropilfos, anilazina, aureofungina, azaconazol, azitiram, azoxistrobina, *Bacillus amyloliquefaciens* (anteriormente *subtilis*) cepa QST713, *Bacillus amyloliquefaciens* cepa AH2, cepa IT-45, cepa FZB24, cepa MBI600, cepa D747, aislado J de *Bacillus mycoides* cepa F727 de *Bacillus nakamurai*, cepa QST 2808 de *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens* cepa FZB24, *Bacillus subtilis* cepa AFS032321, cepa GB03, cepa IAB/BS03,
- 35 polisulfuro de bario, benalaxil-M (=kiralaxil), benodanil, benomil, benquinox, bentalurón, bentiavalicarb, bentiavalicarb-isopropilo, cloruro de benzalconio, benzamacril, fungicidas de benzamida, benzamorf, ácido benzohidroxámico, benzovindiflupir, betoxacina, binapacril, bifenilo, bitertanol, bitionol, bixafeno, blasticidina-S, mezcla de Burdeos, ácido bórico, boscalid, bromuconazol, bupirimato, mezcla de Borgoña, butiobato, polisulfuro de calcio, captafol, captan, carbamorfo, carbendazim, carboxina, carpropamida,

carvona, paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* cepa LAS117, mezcla de Cheshunt, chinometionato, clobentiazona, cloraniformentano, cloranilo, clorfenazol, clorodinitronaftaleno, cloroneb, cloropirina, clorotalonil, cloroquinox, clozolinato, ciclopirox, climbingazol, *Clonostachys rosea* cepa CR-7, *Coniothyrium minitans*, hidróxido de cobre, naftenato de cobre, oleato de cobre, oxiclورو de cobre, jabón

5 de cobre, sulfato de cobre, básico, cromato de zinc de cobre, acetato de cobre(II), carbonato de cobre(II), básico, sulfato de cobre(II), cumoxistrobina, cufraneb, cuprobam, óxido cuproso, ciazofamida, ciclafuramida, ciclobutrifluram, cicloheximida, ciflufenamida, cimoxanilo, cipendazol, ciproconazol, ciprodinilo, ciprofuram, dazomet, DBCP, debacarb, decafentina, ácido deshidroacético, diclobentiazox, diclofluanida, diclona, diclorofeno, diclorofenilo, diclozolina, diclobutrazol, diclocimet, diclomezina, diclorán,

10 dietofencarb, pirocarbonato de dietilo, difenoconazol, dilumetorim, dimetaclona, dimetirimol, dimetomorfo, dimoxistrobina, diniconazol, diniconazol-M, dinobuton, dinocap, dinocap-4, dinocap-6, dinoceton, dinopenton, dinosulfon, dinoterbon, difenilamina, dipymetitrona, dipiritiona, disulfiram, ditalimfos, ditianon, DNOC, dodemorfo, dodicina, dodina, donatodina, drazoxolona, edifenfos, enestrobina, enestroburina, enoxastrobina, epoxiconazol, etaconazol, etem, etaboxam, etirimol, etoxiquina, óxido de etileno,

15 etilmercurio 2,3-dihidroxiopropilmercaptopuro, acetato de etilmercurio, bromuro de etilmercurio, cloruro de etilmercurio, fosfato de etilmercurio, etridiazol, extracto de *Melaleuca alternifolia* (árbol del té), extracto de *Reynoutria sachalinensis* (nudo gigante), extracto de cotiledones de plántulas de lupino ("BLAD"), extracto de *Swinglea glutinosa*, F500, famoxadona, fenamidona, fenaminosulf, fenaministrobina, fenamistrobina, fenapanil, fenarimol, fenazaquin, fenbuconazol, fenfuram, fenhexamida, fenitropan, fenoxanil, fempiclonil,

20 fempicoxamida, fenpropidina, fenpropimorf, fenpirazamina, fentin, acetato de fentin, cloruro de fentin, hidróxido de fentin, ferbam, ferimzona, florilpicoxamida, fluazaína dolizina, fluazinam, fludioxonil, flufenoxistrobina, fluindapir, flumorf, fluopicolida, fluopimomida, fluopiram, fluorimida, fluotrimazol, fluoxapirolina, fluoxastrobina, fluquinconazol, flurozolamida, flusilazol, flusulfamida, flutianil, flutolanil, flutriafol, fluxapiroxad, folpet, fosetil, fosetil-Al, ftalida (ftalida), fuberidazol, furalaxil, furametpir, furcarbanil,

25 furfural, furmeciclox, furofanato, *Gliocladium catenulatum* J1446, *Gliocladium virens* GL-21, gliodina, griseofulvina, guazatina, halacrinato, hexaclorobenceno, hexaclorofeno, hexaconazol, hexiltiofos, himexazol, imazalil, imibenconazol, iminoctadina, Inatreq (fempicoxamida), aceites inorgánicos, inpirfluxam, yodocarb, ipconazol, ipflufeniquina, iprobenfos, iprodiona, iprovalicarb, isofetamid, isoflucipram, isopropanol azol, isoprotiolano, isopirazam, isotianil, isovalediona, Jun Si Qi, kasugamicina,

30 kresoxim-metilo, laminarina, azufre de cal (azufre de cal), mancobre, mancozeb, mandestrobina, mandipropamida, maneb, mebenil, mecarbinzid, mefenoxam, mefentrifluconazol, mepanipirim, mepronil, meptildinocap, metalaxil, metalaxil-M (=mefenoxam), metam, metazoxolona, metconazol, metasulfocarb, metfuroxam, bromuro de metilo, isotiocianato de metilo, benzoato de etilmercurio, diciandiamida de etilmercurio, pentaclorofenóxido de etilmercurio, metiram, metominostrobina, metrafenona,

35 metsulfovax, metiltetraprol, milneb, miclobutanil, miclozolina, N-(etilmercurio)-p-toluenosulfonanilida, nabam, naftifina, natamicina, aceite de neem, nitrotal-isopropilo, nuarimol, octilinona, ofurace, aceites orgánicos, ortofenilfenol, orisastrobina, oxadixilo, oxatiapirolina, oxazosulfilo, oxina de cobre, ácido oxolínico, oxpoconazol, oxicarboxina, oxtetraciclina, PCNB, pefurazoato, penconazol, pencicurón, penflufeno, pentaclorofenol, pentiopirad, fenamacril, fenilmercuriurea, acetato de fenilmercurio, cloruro de

fenilmercurio, nitrato de fenilmercurio, fosfifén, fosfito, ácido fosforoso y sus sales, ácido fosfórico, ftalida, picarbutrazox, picolinamidas, picoxistrobina, piperalina, aceites vegetales (mezclas): eugenol, geraniol, timol, polycarbamato, polioxina-D, azida potásica, bicarbonato potásico, polisulfuro potásico, tiocianato potásico, probenazol, procloraz, procimidona, propamocarb, propiconazol, propineb, proquinazida, 5 protiocarb, protioconazol, *Pseudomonas chlororaphis* cepa AFS009, *Pseudomonas syringae* ESC-10, pidiflumetofeno, piracarbolid, piraclostrobina, pirametostrobina, piraoxistrobina, pirapropoina, piraziflumid, pirazofos, piribencarb, piributicarb, piridaclometilo, piridinitrilo, pirifenox, pirimetanil, pirimorfo, pirifenona, pirisoxazol, piroquilon, piroxicloro, piroxifur, quinacetol, quinazamida, quinconazol, quinofumelina, quinometionato, quinoxifeno, quintoceno, rabenzazol, *Reynoutria sachalinensis*, salicilanilida, sec- 10 butilamina, sedaxano, aceite de sésamo, siltiofam, plata, simeconazol, SJC17, azida de sodio, bicarbonato de sodio, hipoclorito de sodio, ortofenilfenóxido de sodio, pentaclorofenóxido de sodio, polisulfuro de sodio, espiroxamina, *Streptomyces griseovirides* cepa K61, *Streptomyces lydicus* cepa WYEC108, estreptomycin, azufre, fluoruro de sulfurilo, sultropen, aceite de árbol de té, tebuconazol, tebufloquina, tecloftalam, tecnazeno, tecoram, tetraconazol, tiabendazol, tiadifluor, tiofeno, tifluzamida, tioclorfenfim, 15 tiofanato, tiofanato-metilo, tioquinox, tiram, THQ25, tiadinil, tioximid, tolclofos-metilo, tolfenpirad, tolprocarb, toliifluanida, acetato de tolilmercurio, triadimefón, triadimenol, triamifos, triarimol, triazbutilo, triazóxido, triclamida, *Trichoderma afroharzianum* (anteriormente *harzianum*) cepa T-22, *Trichoderma asperellum* (anteriormente *harzianum*) cepa ICC012, cepa T25, cepa TV1, *Trichoderma asperellum* cepa T34, *Trichoderma atroviride* (anteriormente *harzianum*) cepa ITEM908, *Trichoderma atroviride* 20 (anteriormente *harzianum*) cepa IMI206040, cepa T11, *Trichoderma atroviride* cepa I-1237, *Trichoderma atroviride* cepa LU132, *Trichoderma atroviride* cepa SC1, *Trichoderma gamsii* (anteriormente *viride*) cepa ICC080, triclopíricarb, triciclazol, tridemorfo, trifloxistrobina, triflumizol, triforina, triticonazol, UCQ09, *Ulocladium oudemansii* cepa U3, uniconazol-P, urea, validamicina, valifenalato, vinclozolina, voriconazol, WLR08, zarilamida, naftenato de zinc, tiazol de zinc, zineb, ziram, zoxamida, preferiblemente 25 azoxistrobina, trifloxistrobina, benomilo, carbendazim, tiabendazol, tebuconazol, imazalil, penconazol, procimidona, vinclozolina, mancozeb, ziram, oxícloruro de cobre, azufre, fludioxonil y/o iprovalicarb.

La composición fitosanitaria según la presente invención se puede preparar según diversos procesos conocidos por un experto en la técnica, por ejemplo, mediante un método elegido entre secado por aspersión, extrusión, granulación en lecho fluidizado con deshidratación, liofilización, proceso de 30 emulsión, suspensión en mezcla con uno o más compuestos químicos y/o agentes biológicos y/o con uno o más coformulantes, descritos anteriormente.

Un objeto adicional de la presente invención es un kit que comprende:

- a) la cepa de levadura PT22AV de la especie *Papiliotrema terrestris* como se define anteriormente, o una composición como se define anteriormente, y
- 35 b) uno o más compuestos químicos, por ejemplo, compuestos químicos sintéticos, y/o uno o más agentes biológicos, por ejemplo microorganismos tales como bacterias, levaduras, hongos, virus, algas o composiciones de los mismos. Tanto los compuestos químicos como los agentes biológicos pueden seleccionarse entre fungicidas, insecticidas, fertilizantes, bioestimulantes, macronutrientes, micronutrientes, inductores, fitoreguladores, agentes de control biológico microbiano, reguladores del

crecimiento de las plantas, nutrientes foliares, antibióticos, herbicidas, acaricidas, aditivos alimentarios, antioxidantes, adyuvantes, microorganismos de interés agroalimentario.

En particular:

dichos nutrientes foliares se pueden seleccionar entre nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, azufre, magnesio;

los micronutrientes mencionados anteriormente pueden seleccionarse entre hierro, boro, cloro, manganeso, zinc, cobre, molibdeno y níquel;

dichos insecticidas se pueden seleccionar entre compuestos inorgánicos, aceites, extractos botánicos, organoclorados, organofosforados, carbamatos, neonicotinoides, avermectinas, organosulfuros, organoestaños, piretroides sintéticos;

dichos inductores pueden elegirse entre inductores de síntesis química, tales como ácido salicílico, salicilato de metilo, benzotiadiazol, ácido benzoico y quitosano, o inductores constituidos por extractos vegetales, tales como taninos, aceites cítricos, bioflavonoides, tales como dihidroquercetina, arabinba galactano, polisacáridos y otros extractos vegetales;

dichos reguladores del crecimiento de las plantas pueden elegirse entre (nomenclatura internacional): auxinas, giberelinas, citoquininas, etileno, ácido abscísico, ancimidol; clormecuat; cloro IPC; daminozida; flurprimidol; cianamida de hidrógeno (H₂CN₂); mefluidida; cloro de mepiquat; paclobutrozol; proexadiona cálcica; ácido succínico (SADH), forclorfenurón.

Como se mencionó anteriormente, los fungicidas pueden pertenecer, por ejemplo, a estrobirulinas, bencimidazoles, inhibidores de esteroides, dicarboxamidas, ditiocarbamatos, fungicidas inorgánicos, fenilpirroles o sus combinaciones, así como a otros grupos químicos.

Según el kit de la presente invención, dichos fungicidas (químicos y/o biológicos) se pueden seleccionar entre (nomenclatura internacional) cloruro de 2-metoxietilmercurio, 2-fenilfenol, bromuro de 3-etoxipropilmercurio, sulfato de 8-hidroxiquinolina, 8-fenilmercurioxiquinolina, acibenzolar, acibenzolar-S-metilo, fungicidas de acilaminoácidos, acipetacs, Adavelt, *Agrobacterium radiobacter* K84, aldimorfo, alcohol alílico, ametotradina, aminopirifeno, amisulbrom, ampropilfos, anilazina, aureofungina, azaconazol, azitiram, azoxistrobina, *Bacillus amyloliquefaciens* (anteriormente *subtilis*) cepa QST713, *Bacillus amyloliquefaciens* cepa AH2, cepa IT-45, cepa FZB24, cepa MBI600, cepa D747, aislado J de *Bacillus mycoides*, cepa F727 de *Bacillus nakamurai*, cepa QST 2808 de *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens* cepa FZB24, *Bacillus subtilis* cepa AFS032321, cepa GB03, cepa IAB/BS03, polisulfuro de bario, benalaxil-M (=kiralaxil), benodanil, benomil, benquinox, bentalurón, bentiavalicarb, bentiavalicarb-isopropilo, cloruro de benzalconio, benzamacril, fungicidas de benzamida, benzamorf, ácido benzohidroxámico, benzovindiflupir, betoxacina, binapacril, bifenilo, bitertanol, bitionol, bixafeno, blasticidina-S, mezcla de Burdeos, ácido bórico, boscalid, bromuconazol, bupirimato, mezcla de Borgoña, butiobato, polisulfuro de calcio, captafol, captan, carbamorfo, carbendazim, carboxina, carpropamida, carvona, paredes celulares de *Saccharomyces cerevisiae* cepa LAS117, mezcla de Cheshunt, chinometionato, clobentiazona, cloraniformetano, cloranilo, clorfenazol, clorodinitronaftaleno, cloroneb, cloropicrina, clorotalonil, cloroquinox, clozolinato, ciclopirox, climbingazol, *Clonostachys rosea* cepa CR-7, *Coniothyrium minitans*, hidróxido de cobre, naftenato de cobre, oleato de cobre, oxiclururo de cobre, jabón

de cobre, sulfato de cobre, básico, cromato de zinc de cobre, acetato de cobre(II), carbonato de cobre(II), básico, sulfato de cobre(II), cumoxistrobina, cufraneb, cuprobam, óxido cuproso, ciazofamida, ciclafuramida, ciclobutrifluram, cicloheximida, ciflufenamida, cimoxanilo, cipendazol, ciproconazol, ciprodinilo, ciprofuram, dazomet, DBCP, debacarb, decafentina, ácido deshidroacético, diclobentiazox, 5 diclofluanida, diclona, diclorofeno, diclorofenilo, diclozolina, diclobutrazol, diclocimet, diclomezina, diclorán, dietofencarb, pirocarbonato de dietilo, difenoconazol, dilumetorim, dimetaclona, dimetirimol, dimetomorfo, dimoxistrobina, diniconazol, diniconazol-M, dinobuton, dinocap, dinocap-4, dinocap-6, dinoceton, dinopenton, dinosulfon, dinoterbon, difenilamina, dipymetitrona, dipiritiona, disulfiram, ditalimfos, ditianon, DNOC, dodemorfo, dodicina, dodina, donatodina, drazoxolona, edifenfos, enestrobina, enestroburina, 10 enoxastrobina, epoxiconazol, etaconazol, etem, etaboxam, etirimol, etoxiquina, óxido de etileno, etilmercurio 2,3-dihidroxipropilmercaptopuro, acetato de etilmercurio, bromuro de etilmercurio, cloruro de etilmercurio, fosfato de etilmercurio, etridiazol, extracto de *Melaleuca alternifolia* (árbol del té), extracto de *Reynoutria sachalinensis* (nudo gigante), extracto de cotiledones de plántulas de lupino ("BLAD"), extracto de *Swinglea glutinosa*, F500, famoxadona, fenamidona, fenaminosulf, fenaministrobina, fenamistrobina, 15 fenapanil, fenarimol, fenazaquin, fenbuconazol, fenfuram, fenhexamida, fenitropan, fenoxanil, fempiclonil, fempicoxamida, fenpropidina, fenpropimorf, fempirazamina, fentin, acetato de fentin, cloruro de fentin, hidróxido de fentin, ferbam, ferimzona, florilpicoxamida, fluazaína dolizina, fluazinam, fludioxonil, flufenoxistrobina, fluindapir, flumorfo, fluopicolida, fluopimomida, fluopiram, fluorimida, fluotrimazol, fluoxapiprolina, fluoxastrobina, fluquinconazol, flurozolamida, flusilazol, flusulfamida, flutianil, flutolanil, 20 flutriafol, fluxapiroxad, folpet, fosetil, fosetil-AI, ftalida (ftalida), fuberidazol, furalaxil, furametpir, furcarbanil, furfural, furmeciclo, furofanato, *Gliocladium catenulatum* J1446, *Gliocladium virens* GL-21, gliodina, griseofulvina, guazatina, halacrinato, hexaclorobenceno, hexaclorofeno, hexaconazol, hexiltiofos, himexazol, imazalil, imibenconazol, iminocadina, Inatreq (fempicoxamida), aceites inorgánicos, inpirfluxam, yodocarb, ipconazol, ipflufeniquina, iprobenfos, iprodiona, iprovalicarb, isofetamid, 25 isoflucipram, isopropanol azol, isoprotiolano, isopirazam, isotianil, isovallediona, Jun Si Qi, kasugamicina, kresoxim-metilo, laminarina, azufre de cal (azufre de cal), mancobre, mancozeb, mandestrobina, mandipropamida, maneb, mebenil, mecarbinzid, mefenoxam, mefentrifluconazol, mepanipirim, mepronil, meptildinocap, metalaxil, metalaxil-M (=mefenoxam), metam, metazoxolona, metconazol, metasulfocarb, metfuroxam, bromuro de metilo, isotiocianato de metilo, benzoato de metilmercurio, diciandiamida de 30 metilmercurio, pentaclorofenóxido de metilmercurio, metiram, metominostrobin, metrafenona, metsulfovax, metiltetraprol, milneb, miclobutanil, miclozolina, N-(etilmercurio)-p-toluenosulfonanilida, nabam, naftifina, natamicina, aceite de neem, nitroal-isopropilo, nuarimol, octilinona, ofurace, aceites orgánicos, ortofenilfenol, orisastrobina, oxadixilo, oxatiapiprolina, oxazosulfilo, oxina de cobre, ácido oxolínico, oxpoconazol, oxicarboxina, oxitetraciclina, PCNB, pefurazoato, penconazol, pencicurón, 35 penflufeno, pentaclorofenol, pentiopirad, fenamacril, fenilmercuriurea, acetato de fenilmercurio, cloruro de fenilmercurio, nitrato de fenilmercurio, fosfifén, fosfito, ácido fosforoso y sus sales, ácido fosfórico, ftalida, picarbutrazox, picolinamidas, picoxistrobina, piperalina, aceites vegetales (mezclas): eugenol, geraniol, timol, policarbamato, polioxina-D, azida potásica, bicarbonato potásico, polisulfuro potásico, tiocianato potásico, probenazol, procloraz, procimidona, propamocarb, propiconazol, propineb, proquinazida,

protiocarb, protioconazol, *Pseudomonas chlororaphis* cepa AFS009, *Pseudomonas syringae* ESC-10, pidiflumetofeno, piracarbolid, piraclostrobina, pirametostrobina, piraoxistrobina, pirapropoina, piraziflumid, pirazofos, piribencarb, piributicarb, piridaclometilo, piridinitrilo, pirifenox, pirimetanil, pirimorfo, pirifenona, pirisoxazol, piroquilon, piroxicloro, piroxifur, quinacetol, quinazamida, quinconazol, quinofumelina, quinometionato, quinoxifeno, quintoceno, rabenzazol, *Reynoutria sachalinensis*, salicilanilida, sec-butilamina, sedaxano, aceite de sésamo, siltiofam, plata, simeconazol, SJC17, azida de sodio, bicarbonato de sodio, hipoclorito de sodio, ortofenilfenóxido de sodio, pentaclorofenóxido de sodio, polisulfuro de sodio, espiroxamina, *Streptomyces griseovirides* cepa K61, *Streptomyces lydicus* cepa WYEC108, estreptomicina, azufre, fluoruro de sulfurilo, sultropen, aceite de árbol de té, tebuconazol, tebufloquina, tecloftalam, tecnazeno, tecoram, tetraconazol, tiabendazol, tiadifluor, tiofeno, tifluzamida, tioclorfenfim, tiofanato, tiofanato-metilo, tioquinox, tiram, THQ25, tiadinil, tioximid, tolclofos-metilo, tolfenpirad, tolprocarb, tolilfluanida, acetato de tolilmercurio, triadimefón, triadimenol, triamifos, triarimol, triazbutilo, triazóxido, triclámida, *Trichoderma afroharzianum* (anteriormente *harzianum*) cepa T-22, *Trichoderma asperellum* (anteriormente *harzianum*) cepa ICC012, cepa T25, cepa TV1, *Trichoderma asperellum* cepa T34, *Trichoderma atroviride* (anteriormente *harzianum*) cepa ITEM908, *Trichoderma atroviride* (anteriormente *harzianum*) cepa IMI206040, cepa T11, *Trichoderma atroviride* cepa I-1237, *Trichoderma atroviride* cepa LU132, *Trichoderma atroviride* cepa SC1, *Trichoderma gamsii* (anteriormente *viride*) cepa ICC080, triclopiricarb, tricloclazol, tridemorfo, trifloxistrobina, triflumizol, triforina, triticonazol, UCQ09, *Ulocladium oudemansii* cepa U3, uniconazol-P, urea, validamicina, valifenalato, vinclozolina, voriconazol, WLR08, zarilamida, naftenato de zinc, tiazol de zinc, zineb, ziram, zoxamida, preferiblemente azoxistrobina, trifloxistrobina, benomilo, carbendazim, tiabendazol, tebuconazol, imazalil, penconazol, procimidona, vinclozolina, mancozeb, ziram, oxiclóruo de cobre, azufre, fludioxonil y/o iprovalicarb.

La presente invención también se refiere al uso de la cepa de levadura PT22AV tal como se definió anteriormente, de las sustancias extracelulares secretadas por dicha cepa, de una composición o de un kit tal como se definió anteriormente contra fitopatógenos de una o más plantas o cultivos, por ejemplo, cultivos agrícolas, cultivos ornamentales, cultivos forestales, especies silvestres, cultivos industriales, plantas en parques y jardines. Según la presente invención, dicha cepa de levadura, sustancias extracelulares, composición o kit se pueden utilizar antes de la siembra, antes de la cosecha o después de la cosecha.

En particular, según la presente invención, la cepa de levadura PT22AV que pertenece a especies de *Papiliotrema terrestres* es eficaz en el control de fitopatógenos, ya que actúa controlando su desarrollo y limitando así el establecimiento de infecciones en la planta, sin matar directamente al fitopatógeno. Por lo tanto, el término “contra fitopatógenos” mencionado anteriormente se refiere al control de fitopatógenos.

Las sustancias extracelulares (o metabolitos secundarios) secretadas por la cepa de levadura PT22AV, perteneciente a la especie *Papiliotrema terrestres*, durante la fase de producción de biomasa, son esencialmente polímeros de naturaleza glucídica, cuyas unidades monoméricas más frecuentes son: manosa; xilosa; glucosa, galactosa, arabinosa. La estructura de estos polímeros está organizada en cadenas principales de monómeros unidas mediante enlaces lineales y ramificados. Por lo tanto, la presente invención incluye el uso de aguas residuales, (es decir, caldo de crecimiento cultural aplicado tal

cual (crudo) o concentrado, con alto contenido de compuestos EPS (polisacáridos extracelulares)) del proceso de producción de biomasa de *Papiliotrema terrestris* PT22AV contra fitopatógenos, es decir como agentes fitosanitarios o agentes de biocontrol contra patógenos de las plantas.

En particular, según la presente invención, la cepa de levadura se puede utilizar en el control directo e indirecto de todos los organismos nocivos para las plantas. Por ejemplo, la cepa se puede utilizar para la inducción de resistencia y bioestimulación de plantas, mejorando la tolerancia de las plantas a patógenos, incluidos virus, gracias a la producción de polisacáridos y otros metabolitos. Esta matriz altamente compleja protege la cepa de factores estresantes abióticos, mejora la adhesión a las superficies y desencadena una inducción de resistencia de las plantas, mejorando así la tolerancia a una amplia gama de patógenos, incluidos los virus.

Los preparados líquidos o deshidratados a base de polímeros extracelulares, de naturaleza proteica y carbohidrato, o metabolitos secundarios, que se acumulan durante la fermentación y posterior transformación industrial de la cepa PT22AV, pueden utilizarse como fitoestimulantes, inductores de resistencia frente a patógenos, calmantes del estrés abiótico (osmóticos), agua, térmica, UV, etc.), películas cicatrizantes, coadyuvantes en la distribución de aplicaciones foliares o recubrimiento de semillas, medio de crecimiento de microorganismos, incluido el bio embalaje (integración o sustitución de embalaje para conservación de productos alimenticios, etc.).

Según el uso de la presente invención, dichas una o más plantas o cultivos se pueden seleccionar entre cereales, tales como trigo, cebada, centeno, avena, arroz, maíz, sorgo; árboles frutales, tales como olivos, manzanos, perales, albaricoqueros, nashi, ciruelos, melocotoneros, almendros, cerezos, caquis, plátanos, vid, fresas, frambuesas y moras; frutas cítricas, tales como naranjas, limones, mandarinas, clementinas, toronjas; legumbres, como frijoles, guisantes, lentejas, soya; cultivos de hortalizas, tales como espinacas, lechugas, espárragos, alcachofas, coles, zanahorias, cebollas, ajos, tomates, patatas, berenjenas, pimientos, hinojo; cucurbitáceas, tales como calabazas, calabacines, sandías, melones; plantas oleaginosas, tales como soya, girasol, canola, cacahuete, ricino, coco; tabaco; café; árboles de té; cacao; betabel dulce; caña de azúcar; algodón.

Según la presente invención, dichos fitopatógenos pueden ser hongos, tales como por ejemplo Basidiomicetos, Ascomicetos, Deuteromicetos, Oomicetos, hongos con reproducción sexual o asexual, hongos con actividad biotrófica o necrotrófica, protistas o Chromista. Por ejemplo, la cepa puede usarse para el control de hongos micotoxigénicos que afectan la producción vegetal tanto en campo como en la etapa postcosecha, evitando la acumulación de micotoxinas en cualquier cultivo agrícola.

En particular, según la presente invención, dichos hongos pueden seleccionarse entre las especies de *Albugo* spp.; *Alternaria* spp.; *Anthraco* spp.; *Armillaria* spp.; *Ascochyta* spp.; *Aspergillus* spp.; *Blumeria graminis*; *Botrytis cinerea*; *Botrytis* spp.; *Bremia lactucae*; *Cercospora kikuchii*; *Cercospora soja*; *Cercospora* spp.; *Cercospora herpotrichoides*; *Cladosporium* spp.; *Claviceps purpurea*; *Colletotrichum* spp.; *Corynespora cassicola*; *Diaporthe* spp.; *Erysiphe* spp.; *Fusarium graminearum*; *Fusarium oxysporum*; *Fusarium* spp.; *Helminthosporium* spp.; *Leveillula Taurica*; *Macrophomina phaseolina*; *Magnaporthe oryzae*; *Magnaporthe* spp.; *Melampsora lini*; *Monilinia* spp.; *Mucor* spp.; *Mycosphaerella graminicola*; *Mycosphaerella* spp.; *Oidium* spp.; *Penicillium* spp.; *Peronospora manshurica*; *Peronospora*

spp.; *Phaeosphaeria* spp.; *Phakopsora pachyrhizi*; *Phakopsora* spp.; *Phoma* spp.; *Phytophthora* spp.; *Plasmopara viticola*; *Podosphaera* spp.; *Pseudoperonospora cubensis*; *Puccinia* spp.; *Pyrenochaeta lycopersici*; *Pyrenophora* spp.; *Pyricularia oryzae*; *Pythium* spp.; *Ramularia* spp.; *Rhizoctonia solani*; *Rhizoctonia* spp.; *Rhizopus* spp.; *Rhynchosporium* spp.; *Sclerotinia sclerotiorum*; *Sclerotinia* spp.;
 5 *Sclerotium cepivorum*; *Sclerotium rolfsii*; *Sclerotium* spp.; *Septoria glycines*; *Septoria* spp.; *Sphaerotheca* spp.; *Stemphylium* spp.; *Stenocarpella maydis*; *Thielaviopsis basicola*; *Thielaviopsis* spp.; *Tilletia* spp.; *Ucinula* spp.; *Uromyces* spp.; *Ustilago maydis*; *Ustilago* spp.; *Venturia* spp.; *Verticillium* spp.

Además, según el uso de la presente invención, dichos fitopatógenos pueden ser bacterias, virus o nematodos parásitos de los cultivos. En particular, las bacterias pueden seleccionarse entre las especies
 10 *Pseudomonas* spp., *Xanthomonas* spp., *Clavibacter* spp., *Ralstonia* spp., *Erwinia* spp, while nematodes can be chosen among the species *Meloidogyne* spp., *Heterodera* spp., *Globodera* spp., *Belonolaimus* spp., *Pratylenchus* spp., *Rotylenchulus* spp., *Trichodorus* spp., *Paratylenchus* spp. etc.

Según el uso de la presente invención, dicha cepa de levadura o dichas sustancias extracelulares o dicha composición o dicho kit se pueden aplicar sobre una o más partes, intactas o heridas, de la planta
 15 seleccionada entre semillas, partes aéreas, hojas, tallos, troncos, brotes, gemas, ramas, tallos, flores, frutos, raíces.

En particular, para tratamientos de campo en la parte aérea de las plantas, la cepa PT22AV, o las sustancias extracelulares, se pueden aplicar utilizando los equipos de distribución actualmente en uso o el sistema de riego aéreo, por ejemplo, mediante equipos de pulverización o sistemas de riego por
 20 aspersión. Los tratamientos sobre frutas, flores y productos recién cortados durante la etapa de postcosecha pueden aplicarse mediante equipos de distribución o agregarse al agua de lavado.

Según la presente invención, la cantidad de células vivas de dicha cepa de levadura distribuidas por unidad de superficie de cultivo puede oscilar entre 10^8 y 10^{15} UFC por hectárea.

Según la presente invención la dosificación de las composiciones a base de PT22AV puede variar
 25 según el tipo de formulado y el campo de aplicación, generalmente desde unos pocos gramos hasta decenas de kilos por hectárea. La dosis también puede depender del cultivo, el patógeno a contrarrestar, la presión de la enfermedad, el clima y otros factores agronómicos.

Según el uso de la presente invención, la cepa de levadura antes mencionada o sus sustancias extracelulares o la composición o el kit, como se describe anteriormente, se pueden aplicar a sustratos
 30 sólidos de crecimiento de plantas, tales como tierra, preferiblemente a una concentración de células vivas de la cepa de levadura oscilando entre 10^2 y 10^{12} UFC por gramo de sustrato sólido de crecimiento (suelo u otra matriz).

Según la presente invención, el tratamiento del suelo se puede llevar a cabo aplicando el formulado basado en la cepa PT22AV de *Papillotrema terrestris*, por dilución en el sustrato, pulverizado o distribuido
 35 con sistema de fertirrigación. El tratamiento del suelo puede estar dirigido a mejorar las características químico-físicas y microbiológicas del suelo y/o al control de nematodos fitopatógenos.

Además, según la presente invención, la cepa PT22AV también se puede utilizar para el tratamiento de un sistema de cultivo hidropónico o flotante, por ejemplo, contra patógenos y parásitos de las raíces; en este caso el producto se puede aplicar directamente en la solución nutritiva.

Además, dicha cepa de levadura o dicha composición se pueden utilizar como agentes de recubrimiento de semillas; en este caso la concentración de deformación puede oscilar entre 10^2 a 10^{10} UFC por gramo de semilla. Según la invención, la cepa PT22AV utilizada como tratamiento de semillas se puede aplicar en combinación con agentes formadores de película, tensioactivos o adherentes.

5 Además, dicha cepa de levadura o dicha composición se puede utilizar mediante insectos polinizadores para contrarrestar patógenos de las plantas capaces de penetrar en el huésped a través de la flor (*Erwinia* spp., *Pseudomonas syringae*, *Botrytis cinerea*, etc.).

10 Según el uso de la presente invención, dicho fitopatógeno se puede elegir entre *Botrytis cinerea* y *Plasmopara viticola* de viñedo; *Botrytis cinerea* de fresa, *Botrytis cinerea* y *Phytophthora infestans* de tomate, *Venturia inequalis* y *Stemphylium* spp. de árbol de manzana y/o pera, *Monilia* spp. de fruta de hueso fruit y/o *Phytophthora* spp de papa.

Según la presente invención, la cepa de levadura PT22AV, sus sustancias extracelulares, su composición o kit, como se describe anteriormente, también se pueden aplicar a la semilla y su uso puede tener lugar en invernadero, en el campo o en etapa post-cosecha, en régimen biológico o integrado.

15 Además, cuando se utiliza el kit definido anteriormente, dichos componentes a) y b) se pueden utilizar por separado o secuencialmente.

Se entiende por “uso separado” la aplicación simultánea de los componentes a) y b) del kit en formas distintas. Se entiende por “uso secuencial” la aplicación posterior, en cualquier orden, de los componentes a) y b) del kit, cada uno de ellos de forma distinta.

20 La presente invención también se refiere a un método para el control de fitopatógenos en cultivos agrícolas que comprende o consiste en aplicar una dosis eficaz de la cepa PT22AV, de las sustancias extracelulares secretadas por la misma, de una composición o un kit tal como se define anteriormente sobre dichos cultivos o en el suelo donde crece el cultivo, antes de la siembra, antes de la cosecha o después de la cosecha. Los fitopatógenos y los cultivos según el método de la presente invención pueden ser los descritos anteriormente.

25 Según el método de la presente invención, dicha aplicación puede tener lugar sobre una o más partes de la planta, intactas o heridas, seleccionadas entre semillas, partes aéreas, hojas, tallos, troncos, yemas, brotes, ramas, tallos, flores, frutos, raíces.

30 Además, según el método de la invención, la dosis de la composición antes mencionada varía de 10^8 UFC a 10^{15} UFC por hectárea.

Algunos ejemplos de protocolos de aplicación, con referencia a la dosis, el volumen de aplicación, el método de aplicación y el lugar de aplicación de *Papillotrema terrestris* PT22AV, en los principales cultivos de interés agrícola y contra los patógenos de los principales cultivos, se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2
Detalles de aplicación de la formulación basada en PT22AV

Cultivo	Plaga o grupo de plagas controladas	Etapas de crecimiento y temporada	Tasa de aplicación por tratamiento		Aplicación	
			Sustancia activa/ha, Kg, mL	Agua L/ha min/máx	Método	Sitio
Tomate	<i>Botrytis cinerea</i>	Till BBCH 63 cada 7-10 días dependiendo de la presión	0.5 - 1.5 x 10 ¹² por ha	500 - 1000 Considerando la vegetación	Rocío	Foliar
	<i>Phytophthora infestans</i>					
	Enfermedades del suelo y nematodos	Recubrimiento de semillas	0.5 - 1.5 x 10 ¹² por Kg de semilla	-	Rocío	Rec. semillas
		Plantación (aplicación de pre-transplante radical)	1 - 5 x 10 ⁷ por mL		Suspensión	Emp. de raíces
		Transplante (fertilización)	1 - 5 x 10 ⁶ por mL			Fertilización
		Fertilización (aplicaciones después de transplante)	1 - 5 x 10 ⁶ por mL			
Uva (de vino y de mesa)	<i>Botrytis cinerea</i> <i>Oidium tuckeri</i>	Till BBCH 67 cada 7-10 días dependiendo de la presión	0.5 - 1.5 x 10 ¹² por ha	500 - 800 Considerando la vegetación	Rocío	Foliar
Fresa	<i>Botrytis cinerea</i>	Till BBCH 65 cada 5-10 días dependiendo de la presión	0.5 - 1.5 x 10 ¹² por ha	400 - 600 Considerando la vegetación	Rocío	Foliar
Fruta de hueso	<i>Monilinia</i> spp.	Till BBCH 69 cada 10-15 días dependiendo de la presión	0.5 - 1.5 x 10 ¹² por ha	800 - 1000 Considerando la vegetación	Rocío	Foliar
Fruta de pepita	<i>Stemphylium</i> spp.	Till BBCH 79 cada 10-15 días dependiendo de la presión	0.5 - 1.5 x 10 ¹² por ha	800 - 1000 Considerando la vegetación	Rocío	Foliar
	Enfermedades post-cosecha	Post-cosecha	5 x 10 ⁶ - 5 x 10 ⁷ por mL	-	Suspensión en agua de lavado	Fruto
Trigo	<i>Blumeria graminis</i> <i>Septoria tritici</i> <i>Fusarium</i> spp. <i>Puccinia</i> spp.	Primera aplicación BBCH 39-42 Segunda aplicación BBCH 51-53	0.5 - 1.5 x 10 ¹² por ha	400 - 600 Considerando la vegetación	Rocío	Foliar
Papa	<i>Phytophthora infestans</i>	Till BBCH 66 cada 5-10 días dependiendo de la presión	0.5 - 1.5 x 10 ¹² por ha	500 - 800 Considerando la vegetación	Rocío	Foliar
Ornamentales	Patógenos foliares	Todas las etapas fenológicas con intervalos de 5-15 días dependiendo de la presión de la enfermedad	5 x 10 ⁶ - 5 x 10 ⁷ por mL	-	Rocío	Foliar
Pasto	Patógenos fúngicos	Todas las etapas fenológicas con intervalos de 5-15 días dependiendo de la presión de la enfermedad	0.5 - 1.5 x 10 ¹² por ha	500 - 1000 Considerando la vegetación	Rocío	Foliar
Bioestimulante vegetal	-	Aplicación al suelo/raíz durante todas las etapas fenológicas con intervalos de 5-10 días	0.5 - 1.5 x 10 ¹² por ha	En fertilización	Irrigación profunda	Foliar

Las dosis y volúmenes de distribución son ejemplares y pueden variar según la presión de la enfermedad y el tipo de vegetación.

5 La presente invención se describirá ahora, con fines ilustrativos, pero no limitativos, con referencia particular a los ejemplos y figuras adjuntas, en las que:

La **Figura 1** muestra la colonización de hifas de *P. expansum* por el agente de biocontrol PT22AV. Imagen de la interacción *in vivo* entre *P. expansum* y *P. terrestris* cepa PT22AV observada bajo un microscopio electrónico de barrido. La levadura coloniza las hifas fúngicas y se adhiere a ellas mediante una matriz extracelular de naturaleza polisacárida;

La **Figura 2** muestra colonización foliar por la cepa PT22AV 5 días después de la aplicación. La imagen muestra la interacción levadura-hoja 5 días después de la aplicación observada bajo un microscopio electrónico de barrido, en particular la levadura en la página superior e inferior de las hojas de tomate, donde también se muestra la colonización de un estoma, apertura natural;

15 La **Figura 3** muestra la levadura PT22AV cultivada en un medio de crecimiento agarizado después de 3 días de incubación a 28 °C;

La **Figura 4** muestra el árbol filogenético de la cepa PT22AV obtenido analizando la secuencia de nucleótidos del gen del ARN ribosómico de la subunidad grande y comparándola con la de otras especies relacionadas;

20 La **Figura 5** muestra el árbol filogenético generado al comparar el proteoma completo de la cepa PT22AV con el de otras especies de levaduras basidiomicetos.

EJEMPLO 1. Aislamiento y caracterización de la cepa PT22AV de *Papiliotrema terrestris*.

La cepa PT22AV se seleccionó de una colección de levaduras aisladas de la comunidad microbiana epífita de diversas frutas y verduras en el centro de Italia.

25 La cepa PT22AV fue identificada mediante la secuenciación del gen del ARN ribosómico de la subunidad grande, destacando claramente su pertenencia a la especie *Papiliotrema terrestris* (Figura 4).

En particular, la secuencia de nucleótidos de la región del gen del ARN ribosómico de la subunidad grande de la cepa PT22AV se muestra a continuación:

CCGGAAGAGCTCAAATTTGAAATCTGGCGTGCTCAGTGCGTCCGAGTTGTAATCTATAGAG
 30 GCGTTTTCCGTGCCGACTGTGTCTAAGTCCCTTGGAACAGGGTATCAAAGAGGGTGATAATCCCG
 CACTTGACACAATGACCGGTGCTCTGTGATACGTCTTCTACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCT
 CAAAATGGGTGGTGAGTTCCATCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACCGT
 GAGGGAAAGATGAAAAGCACTTTGGAAGAGAGTTAAACAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAACG
 ATTGAAGTCAGTCGTGACTGAGAGGCTCAGCCGGTTCTGCCGGTGTATTCCCTCAGTCGGGTCAAC
 35 ATCAGTTTTGTTCCGGTGGATAAGGGCAGCTGGAAGGTGGCACCTCCGGGTGTGTTATAGCCAGCTG
 TCGCATACATCGAATGAGACTGAGGAATGCAGCTCGCCTTTATGGCGGGGTGCGCCACGTGAG
 (SEQ ID NO:1).

El Solicitante obtuvo la secuencia genómica completa de la cepa PT22AV BCA mediante tecnología de secuenciación Nanopore. El análisis bioinformático de la secuencia de todo el genoma de

PT22AV permitió la predicción de todo el proteoma, utilizado también para el análisis taxonómico de la cepa, definiendo así con precisión las diferencias con otras cepas de especies relacionadas (Figura 5).

El genoma mitocondrial completo de la cepa PT22AV consiste en la siguiente secuencia:

```

CTATGAGTATAGCACTAGGAAGCTAACCATTAGGGCGAATAGCCCTGTAGCTTCGGCTAGAG
5 CGAATCCTAGAATAGCGTATGTGAATAGTTGTCCTCGAACAGCAGGGTTTCGAGCTGTACCAGCGAT
TAGAGCGCTGAATACTGTACCGATCCCAACACCGGCTCCTGAGAGACCGATAGCGGCTAGACCAGC
ACCAATGAACTTTGCAGCAGCCATTGTGTATTGTGATTGTCTGAACNNNNNNNNNNNTCAATGAATT
GAGCTTTAGCCTTTATAATCTAAAGGCTAGTGATGACATCCATGAACGGCTATCACCTGTATAAAGAC
AGTGATAGAATATATGTGATCATGGAGGGGACAGACGTGGATCTCTATTATGAACTCTATAGTGCGG
10 TAGCTGGATCTCAGACTATATTACCGTATCTACCCTTTTAGGACCTATAATCATGCTTATAATATCTAT
AGATGGTAGATTACCTAACACTCGGTGCTATAGTAGGTTATAGGAGTATTATACTCCTATAACCATAA
ACTATGAATGGCTACTATCAGCATGAGCAATGACTCTATTTACCGCTATAGTAATGGTGTACTCTACC
ATTTTTCTATAGGATCCTACCTATCCCTATAAGCTATAGGGTTTTCTATGAAAATGCTCTACAATACA
TGTATGCTAACGTGAGTCAATGAGTATAGCCTCGGAACTTTATTTATGCACTTCTGACGCCATGCTG
15 AATATAATAGCGCCACATGTATGCATAGCTTTTATCTCTCTCTATACAAGTTATTATTTATTAGTAAATT
TATTACTAAATTTATTTTAAATAAAATTATTATTATTATTATATTGGTATGGACGGACAGAGCAAGA
TTCGAACCTTGCGGTGGGCGGGACCCACTTTGAGGTTCAAGCTCAATGCCTTAGACCACTAGGCTATC
TGTCTGTTATCTCATCGACTCACCTGCTACCCTTAAAGAGGGGTAGGAAAAATGGTGAAATATAGTA
TATTGTCTATCTATAAACTTTTATAAGAATAGTTACGGTCATAGATTTTTATCGTCTCGTCTCTACACAA
20 TGGCTATAACCCCTTACTATTAAGGCCAGCCTATATTTTTTGCTGCTATAGGTGACACAGAATATTTAT
GTTAAAGAACATAAGGGGGGCTAGTATAAAGTCCAAGCATAATAGCTTTGTAACGTATACACGGCTCA
CAATCAGTTGAAGGATCGGAGGTAGTACGAACACTGATACAACGTATACCAGTGCAGCCAGAGTAAG
GAGAACGAATGCTCCTTGGTTAAGGAAGTAAATGGGAGAGCTTGAGGCATAGGCTGATATGCAACA
GGCAATGTGATAGGTGTTTCCATCATCACTATGAATACTATAATTATGAGTGACTATATAGCATGCTC
25 ATAATAACAATAGACTCTTACATACTTTCTTTNNNNNNNNNNNCTTCTGACGCCATGCTGAATATAAT
AGCGCCACATGTATGCATAGCTTTTATCTCTCTCTATACAAGTTATTATTTATTAGTAAATTTATTACTA
AATTTATTTTAAATAAAATTATTATTATTATTATATTGGTATGGACGGACAGAGCAAGATTTCGAAC
TGCGGTGGGCGGGACCCACTTTGAGGTTCAAGCTCAATGCCTTAGACCACTAGGCTATCTGTCCTG
TTATCTCATCGACTCACCTGCTACCCTTAAAGAGGGGTAGGAAAAATGGTGAAATATAGTATATTGTC
30 TATCTATAAACTTTTATAAGAATAGTTACGGTCATAGATTTTTATCGTCTCGTCTCTACACAATGGCTA
TAACCCCTTACTATTAAGGCCAGCCTATATTTTTGCTGCTATAGGTGACACAGAATATTTATGTTAAAG
AACATAAGGGGGGCTAGTATAAAGTCCAAGCATAATAGCTTTGTAACGTATACACGGCTCACAATCAGT
TGAAGGATCGGAGGTAGTACGAACACTGATACAACGTATACCAGTGCAGCCAGAGTAAGGAGAACG
AATGCTCCTTGGTTAAGGAAGTAAATGGGAGAGCTTGAGGCATAGGCTGATATGCAACAGGCAATG
35 TGATAGGTGTTTCCATCATCACTATGAATACTATAATTATGAGTGACTATATAGCATGCTCATAATAAC
AATAGACTCTTACATACTTTCTTTCTATGAGAGGTTGGTTAGTTAGCAAGGGCAGAAGGGGACTATA
GTTATTGGTAACCATATAAGGTCGTTATAACGTTTCAACAAGCCTATGATTGGATAGGTAGCATGTGCG
AATGCGTGGTGTGGAGTAGGTGATGGTAGTACCCACTCGATTGTGTAGGCGAACCGTGTGCTTCGT
TCGTACGTTAGGTTGTCCGTGAAGTATAGCGGTTCTCCCATGGGTTGTCACCAACGTA CTGTCGT

```

TAGTGAACATGTCGTAAACAGTGTACAGGAACAGAAGAGTAGCAGAGACGCTAACGAATGAACCCCA
 TGATGAGATTAGGTTCCATCCCGCGTAAGCGTCAGGGTAGTCAGCGAATCGTCGTGGCATTCTTGT
 AGTCCTAGGAAGTGTGTGGCATAAATGTCATGTTAACACCGATGAAGAATGTCCAGAAGTGCCTT
 GAGCTAGGTGTTCTTCGTACATCTTACCGAACATCTTTGGAGCCCAGTAGTAGAACCCGGCAAAGAT
 5 ACTGAATACGGCACCCATTGAAAGCACGTAGTGGAAGTGAGCCACAACGTAGTATGTGTCATGCATC
 GCTACGTCAACGCTCGCGTTCGCTAGAACTACACCTGTCAGTCCACCAATAGTGAACAGACCGACG
 AATCCTAGAGCGAATAGCATAGGTGCTAGCAGTCGGATAGAACCACCGTAAGCAGTCGCTAGCCAA
 CTGAAGACCTTGATACCTGTAGGTACCGCAATAATCATAGATGCAGCTGTGAAGTAAGCTCGTGTGT
 CTACGTCCATCCCTACGGCGTACATGTGGTGGCTCCATACAATGAATCCAAGCACACCGATAGAGG
 10 CAATGGCGTACACCATAACCAAGGTAACCGAAAAACAGGCTTCCACTGAATGTTGAAACAACGTGGCT
 AACCATAACCAATCCAGGGATAATCATTAGGTATACTTCAGGGTGTCCGAAGAACCAGAATAGGTGT
 TGGTATAGGACAGGGTCCCCTCCTCCAGCAGGGTCAAGAATGATGTGTTGAAGTTACGGTCAGTA
 AGGATCATAGTAAGAGCTCCGGCTAGAACTGGAATACATAGAATAATAAATACTGACTGTGATAGCAT
 CGCCCATACGAATAGAGGTGCCTTGTGTAGGCGTAGCCCTGGAGCTCGCATGTTAAGGATTGTAGT
 15 GATAATGTTAATGGCACCAAGTAGAGATGAAATCCCTGAGAGGTGCAGGCTGAATACAGCTAGATCA
 ACTGATCCACCACTGTGTGATTGTACACCTGTTAGAGGCATGTACATAGTCCAACCGCTACCCATAC
 CTTGTTCCACGAAGACGCTTGAAAGGATAAGAACGATTGCAGGAGGTAGTAGCCAGAAGCTGATGTT
 GTTCAGCCGTGGGAACGCCATGTCCGGCGCACCGATAAGAACGGGAGCCATGTAGTTAGCGAACC
 CAGCCATAGCAGGTACCACCATGAAGTAAATCATCATGATACCGTGAGTTGTAGCAATTACGTTGTA
 20 GAGGTGGTGGTTACCAGAAAGGAACTGGTTACCAGGAGCTGATAGCTCCATCCGATAAGTACACT
 GAACGCAGTACCCAGAAGACCGGTAAAGACAGCAAAAAGGATATAAAGGGTACCAATATCCTTGGC
 GTTTGTAGAGAAGAGCCATCGGCTAGCCATGTTAATAAGAGGGTTATGCTGTTATGGGGAGGGGTA
 GGTAGGTTGACAGCTGCTGGTGAGAGTAACTATAGTGCATAGCAATATTCATGGTAGAGTATTCTAT
 CACTATAGGCTCTAGTTATCTACCATAAAAATGGACATAGCGGATAGCCATGAGAACTAAAACAGTAG
 25 AAAGTATAGATGCCTTAATAGGCAGAAAGTGTACAAATGTGAGGTCTTTAATCCACAACCTAAGACT
 TAGAGTAAATAGAAGGGAGGAGGTTACCGGTATTAGTAAATCATAGAGGAGAGAGAGATGCATCA
 CTAGTAACCCATAGGGTACACAGCAGTGCTAGTAGCAAGTCTTTAATAATCATATGTGATAGATGGC
 GGAATAGCCTAATCTACACACTATTAGATGTAGGTACTTTAGATATGATATAATTTAAACATTTATAG
 CTGTAATTATAAAAACCTCGCTATAGGCTTATAATATTATAATATGACCATATATTTTATATAAAGCATAA
 30 CAACTATGTATGGCAATATAAGTCCTATAGCCATCTAGCACTACAATGCAGAGTGTCTAGGTATGACA
 GTTTAAGTAACAGCCTATATACATAACAATAAACCTTATAACTGTACAGGGTCTTAGTCCACCACAT
 GTCACACACGAGTATGGACTTCTGCTTAGGCAAAGCCCCCTTTATACTAACCTTCCCATCAGAAACCTT
 TATACTCAACCAAAGGGTTAATGTTAGGTTTATAGGGTAGTTGTTATTTAAAAAATAAGGAGGGGTTA
 TGGAGGCATGCTTTGCGAGTATACCATAAAAACAAATAACATATAAATATGACTGCACAACAACGATC
 35 ATTTGTGCGAGGCGCTACTACGTCTACGGCCGCTATTCCAATCACACCCTCACCACCTTACTCTGGAA
 TCACCATGGCCAATCCTTACAAGTGGAGCTGTGCTAGCTATGCTTTCAAGCGCTGCCCTTTGGTTCA
 ACGGTCTACAATACTCAGGTACATTCCTTATCCTTGGGATGCTTAGCACACTAACAGCTATGATCCTA
 TGGTGGGCTGACTGTGTTAAGGAAGGTACATACCTTGGACACCACACTAAGGTAGTTCAACAAAACC
 TTGCTATGGGTGTTGCGCTTTTCATTGTAACAGAAGCCGCACTATTTGTGAGCATCTTCTGGGCCTAC

TTCCA CT CAT CACTAG CACCTACAGTGGAACTAGGTACTCAATGGCCACCCGCTGGTATCACAGCCC
 TATCACCTATGGCTATCCCCCTACTCAATACCGTTCTACTACTTAGCAGCGGTGCTACAGTTACATGG
 GGTCACCACGCATTCTTCTGCCGAAACCGATCAGCTGCTCTTCAAGGACTTATNNNNNNNNNNCAAG
 GACTTATGTTTACAGTAGCTCTAGCTATTATCTTCACTGCCCTACAAGGTGTTGAATACAACATGGCT
 5 GGATTTACTATTGCTGACGGTGCTTACGGTAGCTGTTTCTATATGGCCACAGGTGCTCACGGACTAC
 ACGTGCTGGTAGGTACACTAGCTATCACTGTTGGTCTTGACGACTTATTA ACTACCAACTTACATCA
 ACTCACCACATTGGTCTAGAAGGAGCAATCCTATACTGGCACTTTGTGGACGTCGTTTGGGTCATCC
 TATACGTTACAGTTTACTGGTGGGGAGCTCCATTATCCCTATCTAAATTAGTCCCCTATTTATATATTT
 TCCCCTTCCAGAATACTACTTACCTTGTTATACTTAACCTTTTAATTATAAGTTAATTGGCTGAGTAGA
 10 ATAGGGTTACAATAGAGGTAGATGAGGAACAAGAACTATAGTATGCTTAGTTACCATAGAAAAATTT
 AAATTTTTATAAGCTATGAAGTGACTATTTCTTAAATGGCTATCAGTTATTTAAGACA ACTTGTTAGAA
 GTCAATAGTCATAATATCTAATAGCATGGCTCATTTTTATATTA AAAATATTAACAGTATTTAAAATTTAA
 AGTCATTTAATGGTATACTGCGTTTAGTATAAAAATAGAGGATTATATTGACACGTTTACCAGCCGAAT
 TAATACAATTACTAAATTTAGAGTGAGTCTAATTCAGGTGGGCTGGGCTCGAACCAGCGGCCTCATG
 15 CTCCCAAAGCATACGTCTTAACCAA CTGACTACCACCTGTGTACTCTTAGCTACCGGCCCCATAC
 AAACCATCATTAAGTTGATAATTATTGATACTATTAACCTATTGTAGTATCTTTAATGAGGGGTCTAA
 ACTGGTACAACGTCAAACGCAACAAGTACGCTTGGTACCAGTAGAAGTAGAGCGATAGCTGGTGGT
 AGCATTCCAGTCCAACAGAAAGAAAGTAGTTGATCGTACCGAAGTCGTGGTAGTGTAGCCCGGAAC
 CACACAAAACCAAACAACCGGCACAAGTCTTAAGCGCCAGCACTAGTGATGATAGTGACAGTGGTG
 20 TACCATTGGCAATAACTTCAGGGAATCCCCATCCACCTAGGAATAGTGTAGCTGATAGCGTGCTCAT
 GAGAACGATAGAACAGTATTCTCCTAGGAAGAAGAGTACGAAAGGCATAGCACTGTGCTCTGT CATG
 AACCAGCAACAAGTTCTGATT CAGCTTCAGGAAGGTCAAAGGGTGTT CGGTTTGTTCGGCTAGTA
 CAGATACAATGAATAGCATGAATAGAGGCGCTAGAGGAACACAGTACCAGATAGGTGCTTGTGATTC
 TACAATAGCCGTGTGGTTAAGGCTACCGGCCATGATCAGGACTGCTAGAACAGCAGAACCTAGGAT
 25 CAGTTCATAGCTAATCATTTGAGCTGTTGATCGTAGCCCAACAAGAGCGTATGATTCGTTGGCA
 GACCATCCAGCTAGTAGTACCCCATAAACACCAACACTAGAAACAGCTAGAGAGTATAGAACCCCTA
 GTTCTAGGTCAGCAATAGCGGCACCAGGACCGAATGGCATAACAGCCCAACCAAGAAGGGCGAACA
 CCAGTGTAATAACAGGTGCTAGGTAGAAGATGACGGTGTTAGAGGCCCCCGGAACAACAGTTTCCTT
 TACCACCAGCTTCAGGGCGTCAGCGAACGGTTGTAGTACTCCATAGACACCTACTGCGTTAGGCCC
 30 TACTCGTCGTTGCATTGCAGCCAGAACCTTACGTTGATAATGGTCATGAACGCAACAGCTAGAAGA
 ATAGGTACCAGTACAGCTAGCACAGACAGAATGGAGAAGAGAGTAGAAAGCATATTACGTAGTTTGT
 AGACATAAAACCCGTGATACTTAAAAGACTAAGACCAGTCGGGAGGTATGGGAGAGGTACACTATAA
 ATAATAATAATGAATGAATATATATAGACAGACAGTACATAACTGTGCCGTATGGTTATATTTATCAAT
 CTTACCTAATTGTTAAAACATGGTTATAATAACCACCCTTATAAGTATAACTAAGGTAGTCTATAATGG
 35 TTATAGGAACCAGAATAGTCATGAATATAAGAGCACAATGGCTCCTAGCGATACGTTAAGATAAATAG
 TGTGGTGATAGTTAAATAAAGGGGTCTATAGCAATGGCAGAAATAACCATAGTCAATAAGACCTAGG
 CTTGTGACTTTAGCCATGCTAGGTATTCTGGCAGGCTAACCGCTTCAATACAAATAGGCATGAAGGC
 GTGGTAAGCTCCACAAAGTTCGCTACATTGTCCGTAGTA AACACCTTGTCGTTGGATCAGAGTAGAT
 ACTTGGTTTAGTCGACCTGGACAAGCATCGACCTTGATACCTAGTGAAGGAATAGCCCAGTCATGCA

GAACGTCAGTAGCTGTTACGATGGCTCGGATGTGCGTGTCAACTGGAAGAACTAGCCGGTTGTCCA
 CTTCTAGTAGTCGTAGTTGCCAGCTTCTAGTTCGTGAGCAGGAACCATGTATGAATCAAATGCAACT
 GTTTCGTTGTCGTACCAAGCAAAAGTCTGATAGTTTCGTATGACCACTACCATTTGGTGTCCAATAACCTT
 AACAGTCATAGCTGGGTTAACCACCTCCATGTGGTTCCTTGTAAACCTATAGAAAAGGAATAGGG
 5 TTAGATTATGGACTATGCCTTGCTTCCCACCACGATAGTTCATAACTATGTTAACAATCCTGAAAGGAC
 TTACCCCGACCCTCCTAACACCTAGTCTTTTTTATTACCCTACCCCCCAAGGGGGGGTTAAAAGGT
 GGGTTAGGGCGTAAGGAGGGAAGTAGGGGGTTAATGTGGGATTATAGCACCGTTGTAGTCTCTGAG
 GCCTACGGCCTACCTGTACGGGATATAACCCAGCCAGGTATACAGTGGTAAATGCATGGACGAGAG
 TAACTGTGTTGATTTTTCCAATTTTTTTACCTATACTGAGCCTAGTATAGGGGAGGTTTAATTAAAT
 10 ATCAAACACAGCTCATAGCTATGATTTCTATGTCCTATAGGGAGTCCATGAGGTATAGCAGCTTGAAT
 GAAGGGAAGGCAATAGCCACAAGGATAAGTGCTGGCACAACAGTCCATACAACCTTCAATAAGAGTAC
 CGTGGTTGTTGTACCGGTGAGCGATAGGCGCTTGTGTGTCCTTGAAAGAGATAACGATAGATCCGA
 GCATCCATCCTACTGCCACACCAATAACGATGAGGTAGAAGAAGATAGTGTGCTGTAGTTCAGTGAT
 CCCCTCGAATGATGGAGAAGCACCGTCTTGAATCCTAGAAGCCAAGGTTCTGGAGCGTCACAAGT
 15 AGCTGTGAATAGTGATGTAAATAGTGAAAGCATGCTATATAATGAATATTAAATATAAACTAGTCGTGT
 CAATCGCTACCAATGATAAAACACTGATAGTGGTACTAGACCAATGTGACGTCATAGTCACTTTATTA
 ATCGCATAATACAACCTTGTGAGAGGTGAAAATGAGATAATAGGTNNNNNNNNNNNGCGGACGTGTC
 AGGTAGTAAGGGGTACTGATAACCATAAATGGTTACTAGCTAATAACGGTTAGCTGAATCGAACAGC
 CTTTACTAATGAGATCAACCCATTCTTTAGTAATCCAATACCGTGTATATTAATAAAAGTCAGTCTAAA
 20 TAAAAGATATTGTATTGTTAATAGACAACTCTATTATAACTATTTGGTAGGTAAGAAGAGAAATATATTA
 CACACCATAGCTATAGGTCTCTCTAAGTACAATGAGAGTGGTAAATAACCTATATCTATTAGGGGAAT
 ATTAGTCCTTATGACCTAACAGCCCCAACCAATAACTAATGGGTATGTAAGAAGGTAAATAAGAGGT
 TGGTAGAATTTCTCTATTGCTACTAGTGTATAGGCCTATACTTATAACTATAGGTCTCTACTTATATAT
 ATATATCAGTTAGGTGTACTTATAACCTATTACTAGTAGTGTATTATTAATACCAAAAGGTGAGTAGGG
 25 GGCTAATTTACCATTATCTATCAGCCGCAGGTTCCCCTACGGCTACCATGGTTGACTTCAGACCA
 GTCAGCTGGCCAGGCTCTGTAGCAAGCTCCGCCATTATTACTGTCTTCCAGCACCCATTGATATCAA
 TGGGAGGTCTCTCCATCATTATGACTATAGGTTGATGTATAATTATAATGTGGATATATATGAGACTAT
 AGTTAAATACAAGCAGCGCTCACCCACGTTACCCTACCAGCATACTAGCCCGTGACGAGCGGTTAGT
 ACCCCAGAGAGATTAACTTCACCGCTCCATACTTATGAGCGATTACTCGGGACTCCAGCTTCACGC
 30 GAACGAGTATCAGCTCGCGATCTGTATGCTTGTGGTAGTTTTGGATGCTTTCCATTTTATAAGGCTA
 GCTCTCATCTGACACACACACTTGTGGCACGCCTGTAGCCCTTCCATAAGGGCCATGACGGCCTG
 ACATAGGCCCGTACTCGTATCCCTTATAAGGCTACTACTGCCTATACCTAATCAAATTAATTAGCAT
 CATAGACAGACGGGTCTGCGTTTCGTTTATTGGACTCAACCGTAGGGCTCACGACCACGAAGTACG
 ACGGCCATGCAACGCCTGTAAATTACCAGACTCGCTCTAAATTAATAAACTATTAAATAATGAGCGAG
 35 CCAACAGTAAATATGCAAGGGAAGGTAAAGGTTTTAAGCGTATCGTCTGATTAAACAGCATGCCCGG
 CGCCCGTGTGCTCTCCGGCGGTCTCATCGTTAGTGTGTGCGTCTTGCGACTATACCCTACAGGCCGA
 GTTGCTCAGGCGTTAGCCTTCCAGGGGTTAAATTTGTGACTATGCTTGACGTCAAGTATTACACTCTA
 TATTCAAGTCGCACTCCCCACTGCGGCAACTATGGTTCACTGCTGGGGCTAAACAGGCTCTACTCTG
 TGTCGGTATCCCAGCCTTCGTACCTTACCGTCAGTCTGTACCAGCACCAATTGCATTGCCACCCC

TAGGGATCATAGGATCTCAGCCCTCCCCCAGTGTTGGTGGTACCAAATGTAGACTCGTATCCTATT
 AGAGATGGCTGCGTACCCTATACGCCCATTCAACACCATAAGAGCTGACCCGTCTGTGTTACCGCGA
 CTGCTGGCACAGATGGTTGGACGGGTCTTGTACATAATAAGCATCAATATGACTTATTATATCTGGAT
 ATTAAGATATCCAATCTAGGTCACCTGGTCACACCTTTTCCCTAACCCCCCTACGGGGGGTTAGGGA
 5 CGCGGTGCATTGCCAAGGATTCTTCACTGCTGCGCACATGGGTGCTCTGGCTGGCCAGTGTCGGAT
 GCATAGCTATCACTATCCCCTTCCCGTCATAGCCTAAGTAACCTCATAGCTGGTAGGGGCTGAATCT
 ACGACAATATGGTGGATTACCTTTGCACCATGTATAAGCATTAACTGATATCACACAACTCTTAAAAA
 AATAAAAGTAGTGATCAATTTAGAATACTATTTCATGATGATTATCCCTGCGCTATAGGGGCCATTGCG
 TATGATTCCAGCACTGCTGACCATTGGCTCCTATTCACCATAATGAATCGGAAAACCTTGCATGTGTT
 10 ATACGCCTAGATACCCCTCATGGCTCGCCACGATGAAACGATCGCGATTATCCCTTCTATCAATACCT
 ATATTATTACTTATTATCATCAATATAGGTACTACGCCCCACTAACCCCTTACTAACCCTTACCCCTCC
 AATGGAGAGGTTAAAAGGTGGGTAAGGGCTTGGGCGGAAAGGGTCTAGATCATCCCAGTTACCACA
 TTCAATNNNNNNNNNNATTGTGACTATGCTTGACGTCAAGTATTACACTCTATATTCAAGTCGCACTC
 CCCACTGCGGCAACTATGGTTCCTGCTGGGGCTAAACAGGCTCTACTCTGTGTGGTATCCCAGC
 15 CTTCGTACCTTACCGTCAGTCTGTCACCAGCACCAATTGCATTGCCACCCCTAGGGATCATAGGAT
 CTCAGCCCTCCCCCAGTGTTGGTGGTACCAAATGTAGACTCGTATCCTATTAGAGATGGCTGCGTA
 CCCTATACGCCCATTCAACACCATAAGAGCTGACCCGTCTGTGTTACCGCGACTGCTGGCACAGATG
 GTTGGACGGGTCTTGTACATAATAAGCATCAATATGACTTATTATATCTGGATATTAAGATATCCAATC
 TAGGTCACCTGGTCACACCTTTTCCCTAACCCCCCTACGGGGGGTTAGGGACGCGGTGCATTGCCA
 20 AGGATTCTTCACTGCTGCGCACATGGGTGCTCTGGCTGGCCAGTGTCGGATGCATAGCTATCACTAT
 CCCCTTCCCGTCATAGCCTAAGTAACCTCATAGCTGGTAGGGGCTGAATCTACGACAATATGGTGA
 TTACCTTTGCACCATGTATAAGCATTAACTGATATCACACAACTCTTAAAAAATAAAGTAGTGATCA
 ATTTAGAATACTATTTCATGATGATTATCCCTGCGCTATAGGGGCCATTGCGTATGATTCCAGCACTGC
 TGACCATTTGGCTCCTATTCACCATAATGAATCGGAAAACCTTGCATGTGTTATACGCCTAGATACCCCT
 25 TCATGGCTCGCCACGATGAAACGATCGCGATTATCCCTTCTATCAATACCTATATTATTACTTATTATC
 ATCAATATAGGTACTACGCCCCACTAACCCCTTACTAACCCTTACCCCTCCAATGGAGAGGTTAAAAG
 GTGGGTAAGGGCTTGGGCGGAAAGGGTCTAGATCATCCANNNNNNNNNNNATCATCACAGTTACCA
 CCTTCAATAAACTTATTGGTAGGTTGAAGGCTATAGTCTGGATCTAATGATCGTCTTATGCGTAATTAA
 ACGCGGTTCTGTGTTGTACTATTAGGTAAAAATTTGTAGCTAAACGCTCTAAGTTGATATAGCTATGA
 30 TAAGAGCGATGAATTTATTGACCAACTTCTGAGTCGTCAATGGGGACGAATACTTTACCTAATCTGTA
 TGATACACCATTTCATAGGCATAGGGTAAATTAGAATCTATATTACTAGCAAAATTACCCCTATCAAAGT
 ATAATCTTTCGTACTAGGTAATAACATGGTGGTACTCTTCACTAAGTTTTACCATTTATCAACTCTAGA
 AGAGGGTGTAGTAGGAGGGGTGCGAAACCATAAGGACCACAGTGACATTATTGATAGTTGGTGGG
 AATAATTAGTCATCATCATCATAACAATAGGCCATGATAAACAGGGTATTTTTTGTAAATCAATAAT
 35 TATAAATATAACTATTACCAGTAGTGATGAGTTTATAATTATGCCCTATAACTGTCTATGTTTTCCATT
 CTATGGTGATTATAAGGGGTCTATGCTATGATGATAGGTTGTGTAATGCTTATCGTGATAGCTTTGAT
 GGAGCGTTGTCAACAGGTAGTAGTGAAACAGGTGTAATCGCTGAACGTTGGTCTGTGATGGCCAGA
 ACTCCAGAGGCTACTTCTACTACGAATCCTAGTGTCAGTACTAGGAAGAAGATAACGGCAACCCAGA
 AACCGTATAGACCAACGTGTCCAAGGCTAGGAGCAAGAGGGATCAGTGTAGCCACTTCTAGGTCAA

AGGCTAGGAATAGCACAGCAACAAGGTAGAAAGCTGATACTGAATGGAGCTCGTGTTTGTCCGCGAG
 AGGCGTCATAGCCACATTTCGTAAGTAGTGACCTTTTCAGTGTCAGGACGAGCTACAGAAAGTAGTG
 GTTTACAAGCAGTAGAATCACGGCCAGTACAGGCACAATGATAACAAGGCTGTATAGAGTAGTACTC
 ATAGTCATGGTTATACGCTAAATAGTGAAAGAGCCAGGAGACGAGCGCTATCTAGTAGTAGTGATGG
 5 TGATGCCATGTAGAAGACTAGGATGGCAGTAAGTAGAGAAATAGTGTATGATTGTACAGCTGTAATG
 TCTACAGGCTTTTCTGAGTTACGCATAACAGCCCAGTAATAGTCCCATCGAGAGTTAGCAAAGTGGT
 CATGAGGGAATGTTTGTGGGCTGACTGGTGCTGATGGGTCAAACCAGGCTACTCGAATAACGTAA
 GG TAGTATGATGCACTGATAACGCTAGAGAGGATAGCAACTAGTGATACGAAGTAGTACCCACCACT
 GATAGCGCTGTAAAGCACTTCTAGCTTACCGAAGAACCCTAGTAGTGGTGGAACACCAGCTAGTGAG
 10 AATAGTAGTACTAGTAGGCTAAAGGCTAGAGGTAGGTTTCGTACACGTAGACCAGCTAGTTGTGAGA
 TCAGTGTTACGTCATGGGTAACGTCACCTCCACGAGATGAGCTATGGCTAATAGCTCCTAGCAGGCT
 GAATGATAGGATAGCTGTGAGTGTGTATTGTACTAGGTAGAACACAAAAGCGCTAGTAGCTTCAGGG
 CTGTTTACACTCATAGCTAGTAGCATGAACCCTACGTGTGAGACTGTAGAGTATGCTAGTAGTCGCTT
 GATACGTCGTTGTGCTAGACCAACTACAGCACCTACAACAAGAGACAGTGTGCTACTCATAAGTAGT
 15 AGTAGTGCCCATACGTCGTAAGAGGCTGTATCAACAACAACAAGCATAGCACTGATAAGACCACTGC
 TTAGGGTGTATAGTAGTGTGCTAGGCTGATCTTAGGTAGAACTGCAATCCATGTAGTCACAATTGTT
 GGTACCCCGTCATAAACGTCAGGACCCCGAGTTGTGGAAAGGAGCAGCTGTAACCTTAAATAGAAGA
 CCAGTCATAACAGCTGTAAAGCCAAGAGCAAGAGCCCGAGTTGATGCTGATAGAGTCTGATCCACCAA
 CACTCAGAAAGTGTGACTAGAGATTCAAGGTTAGTAATACCTGTTTGGTTGTAACTACGGCAAAACCT
 20 AGTAGGATAAGACATGATGATAGACCACCTAGTAGGAAGTATAGTAGACCACTATGAGTAGCAGACT
 CTGAATCACGGTAAAGAGCTGCTAGTACATATACAGCAAATGACTGTAGTTCTAGAGCCAGGTATAG
 AGTAACCATGTCACCGCTAGCGACAAGGAGACATCCACCCATGCTAGAAAGAAGTGCAAATAGAGG
 ATAAGTGGCAATACGAGGAGTAGCCATAGGTGATAGATGAGCGTGAGGAGCCCATTTGGACTAGAGC
 AATAGCACCTACAGAAAGTAGGAATACTTGTGCAGCTAGTGAAAGACCAGTCAGATCAATAAGTCCA
 25 CTGTATAGACCAAGACCTGATCCTACCCCTCCCAGCTATAGGCATTGGCGGCCAGTGCAGCAGCT
 GAAAGGAATGTGAGGACTGTAACCTCGTGTGAGTAGAGCTGGCGTAGCATAGACCGAAGGAAGCGCA
 ACGGCTGTCAGTAGAATAAATAGAGCTAGTGTAAGCATTACTGTTGGCGGTAATAATAATAGTTGTTA
 TCTCAATAATCATAAAGAGCTATAGTACTATACCTACTCCCTATTATAGACCCTATTCATGCCTAATAA
 CTATAATATCCAAGAAATCTTTGATTACTAAATAACAACCTCTATCATTATATATGCCTATATTTTCTGGG
 30 TATATTAATTAGACGACAATCCATAGATATGAATAATACATATGGCTTATACCTACCTATAGGCTTTAA
 GAATTAGATCCTAATACCACCCCTCAGTGTTAGGCATGCCATGTCTTTAATAACATTACTATTCTCTAT
 CCCTGTGAATCTCGTAATACAATAAAAAGTATGTTAAGAGTATGTTTGTGTTTAAATTTAAATCTACTCA
 CTAACCCTATGGCCATAGGACTCAAGCTGTACCGTTAATTAGCATTAACTATAATGATACAAATTAG
 AAATCATATCCTAAGGAATATCTGTCGTATAGGTTTTAATACAAGTACCGTGATTTGCACACGGACCA
 35 TCTGCTTGGAAGGCAGAGACGCTACTCTTACGCCATACTTGTGAGGGAAAGGGTCATTTAATCTATT
 GTGATAAGTATATTTACCATTATCGGTTGGGCTACTTCACTGTACTATTTAAATGGTGAGTCTTGTACT
 ATTAGAAGAATAAATCAGATATTCTTAGTAACACTTCGCTTGAATAGGATTAGGTATAGTAAACAGTG
 GTACTACTTCTTGTTATACCCTCTACCACCCCTACTAACCACCAAAGGTGTGTTAGTAGGCAGGTAA
 AGTGGGTAGAGGGAAGGAAGAGAAGGGTTAGTATCGGAGGGATAATCTTAATGATTGTAGACGTATT

ATTACTTATACCTCATAGGTGGTGTATAGAGTTTATAATTTTGATCCTTTAAAGAGGCTATATAAATGG
 AGTGACACGGACTCGAACCGTGCTCTCAGCGATGCAAACGCAGTATACTACCAACTGTACTATCACC
 CCTCCNNNNNNNNNNNCACCCCTCCCTTAGCACTAGTTATTTAAGTTTTTCTATTCTAAGGGGTCTA
 TAGATAATATCTATTGTCGTGCTCGTAGACATAGAGCAATAGGACCCAGCATCGCTAGTAGCAGTAC
 5 GAAACTGATAAGAACGAGCCAGAGGAATCCATAGGTGTAAAGGCTAAGACCAAGAGCTTGCACTTGT
 GATAGGTATGCGTATGAGGCATCAGCTGCTTGTGAACCGTGACAACGAATACATCAGTCATTGATG
 ATGTAATAACTGGTGCTCCATCACCAAGAAGCAGAGTGTTAAGGCTGTATAGTGCTCCAGTGATAGC
 GCTGACGGTTGTTGATGTTACGCTAGGCATTACGCTAAAGGCTTCCAGTAGGAATACTCCAGCAATG
 ATGAAAAC TAGTGGTAGTCCTTGAGTAAATTCTTGCCCGCTAGCAGTAATTT CAGAGAGACGTACGTT
 10 AAGCATCATCACCACGAATAGGAATAGCACAGCAACAGCTCCCACGTATACGACTAGGTATGTGAGA
 CCTACGTACGTGATACCTAGACATACTAGGTAACAAGCAGCTAGGACGAATACACCAATTAGATATA
 GGATAGCTACAATAGGGGCTGCTAGCTGTGATCGTCATTACAGCGCTTACAACAGTGGCTAGTGCCAG
 TAGTTCTAGTACAAAGCTAGTCANNNNNNNNNNGTGACAGTCATGCTGATACTAAGCGATAAAGTAA
 AAAGCATTTATTCACTGTCATAGCATCCAGGTCGAGCTTGCTGCCATAGATGTCCCACTGGGAATAC
 15 ACATCGTCACCACTGTGGATCGAACACAGGTCGGAGCATTAAACAGTGCCCTGCTCTACCACTGAGCT
 ATGGTAACCATCGTCTATCACCCTCTTATAGACCTAACTATATGCTTGCTTATTAATAATGGTAAAT
 ACTATCACTAGTTACACACTTAACCATTTATTAACCCCTCTACCCCTTTAGTTACACTCTTATACCCTC
 TCCCCTGCCTATCCTCTTACCCCCCCCCCTTGGGGGGTTAAAAGGTGGGTAAAAGGGGATAGGGGG
 TCAAGATGTGATCCCATTAATTTCAATTTATTTAAATTAATTTAACTAGTGAAGTTCAATAGCGTCCT
 20 TCAGGTATGAACATGTTAGAACACAGAATACGTATGCTTGAATCAGAGATACAGCTAGTTCTAGACCA
 ATAAGAGCTACAAACACAGCAAAATGGAATTAGTGTGATAACTGCTACAATAACTCCTGCGCTGAATAG
 CTTAGCTAGGAAAGTAGCAAGAATCTTCAGTAGTGTGTGACCAGCAGTCATGTTACTGAATAGCCGA
 ACACCTAGGCTAGCAGCTCGTGCAAGGTATGAACTGTTTCGATCAGTACCAGCATAGGAACCAGAG
 CTAGAGGAGTACCGCTTGGTACGAAGTATGAGAAGAAGTGTA CTCCGTGTAGACGTAGTCCTAGGAT
 25 AGTTACAGCAAGGAATACAAATACTGATAGTCCAAGAGCAGCAATACCGCTAGTAGTTACTGTGTATC
 CGTATGGAATGTTACCGTTTAGGTTAGCTACAAGAATAAACATGAATAGCGCGTAGATGAACGGTGT
 GTAGATTTTCGTGACGGCTACCTACTTGGTCTCGAACCATACTGCAAGTGTTGCGTAGGCAGCTTCT
 AGGGCTAGACTCCATCGACTTGGTACTAGGCTGTACCCGTTGTTAGCTACAACGTGAAGTGATACTA
 GAAGTCCTACAGTAAGGAGTGTGTAAAGACCTAGGTTAGTAAGAGCTAGAACAAAATCACCAACCAC
 30 AGGTACGTGGAGGCTAATGAGAGGAACAACCTCAAATTGTTCAAGAGGAGAAAGGATTACTGCTTGT
 GTTGTCATTTATTGAGTTTTAAGATTAATTAACAGATGTTAAGAGGTGTTGACAACAATTATTAGCAGT
 TTTTAATAGGCATAATAATATATTA AACCTAAAAGAATTTAATAGTT CGAAAAAGGCTTAATAAGCAA
 GAAAAAGGAGGCAGGTTTAAGACCCCTAATAGGTTTGGTTAATAGTTGTTAGAAAAGAGCTTAATAA
 GTAACTGTTTAAAACATTA AAAAGGTTGTTATTACTACTCTTACTGAAGATTTATTAATCTAGGCTAGG
 35 GAGCTTCCTAGCCTCTTATTTTCAAACAAGGAAACAAGAAAGNNNNNNNNNNNATAGTTTGTAATGAT
 GAGCTTGTGAGCGGCCTCACGCGTGGACTGCAACTCTGTGCGAAGGGGTTCAACTCCCCTCAAGCT
 CTATTCCTTGCTTGGCCTAGCCATAACTATTATGATAGTTATGTCTCATAGCTATTTAATGAAAAAC
 CATTCAAAGCTATTGATTATAGCCTACTTATAGTTATTAATAATAAATCCCCTCTAGACCCTTTTAGCA
 ATAGGGATGGTAATAGTGGGTTGTAGGCGTACAGTGCTGAACGGTATCGCACGCCTTTTTATTTTTTA

TTAaaaaaaaaaATCAGACCGTAGGAAGCTCAGAGAGCCATATATAGTATGCCTTGCCTTATAAGCTAC
 TCACTATACAAATCCTTCACTAACATTATCATTCCCTTACTAACCCATATATATATATATATATATTTTAA
 TTGAGAATGAGGGGAAAGTGTTAGTAACATGTGAGGCAGTTATTACATGATAAGGATAGCACAAAGCT
 ATGGCAATAGGCATAGAAACCTATGGTTATTACTATCTGGGATTTACCCATAACTAGTGATTATCCAT
 5 GAGAAGAGCCACCCATACTAGGCCCATGTATATAGACCATATCAGCATCAACAGGACTCTGGCTATG
 AATGTCTATAGCCCCCTCCTCCCCACCATTTCTAACGCTACAACCTTAATTTGTGTACTCTCCTAAGCA
 TAAAGATAATCTTATTAGCATAAAAAAGTAACCAACCTAATAGTATAGGTCTAGTATAGATATTTGTATTT
 ATCACTATAAGTATGGTTAATGTATCACTTTTATTAATAATTAATAAGGGGTCTATTTATCCACTAATA
 GTCGGTGTGTAAGCATAACCTTGACTGTATACACGTTCTTCTTGTTGATGGCTGTGGTAGAGGCTGT
 10 GTCTAGCACTTGTTGGTCGTTAGCCGTTAGTGAACCTACAACGATTGTTGTTCTGTCATACGTGGTC
 GTGCTGGTTCGGCAGATAGACGACCATGAACTGATACTTGTACCCCTACCAGACTAGCTGGTAGTTG
 TACTCCATTGACACTAGGGTAGGTAGTGATAGGGGTAGCATTAGATACTGTACCAATAGTACCAAGC
 ATACGGTTGATAACCCGCCCAAACCTTCTTAGTCTTAAGTTCCCGTGCTAGGTAGTGACCAAGAACGG
 TAGCGTCCATATATGGGCCTGATAGTCGTGTAACGATTAGCATTACTGGTCGTTGGCATACTTCGGA
 15 CAGTGCCGTTGCTAGTTGCATAATAGTTAGTGACGATAGGGCATGGTTTGATGGTGCGTAGTAACCG
 ACCTTCACAGTAATACCTCCTACAGGAAGTCCAGCTGCAGGACGTGTAATGATTGTAGGTGTCCTCCC
 AGGCGACTTGATGTCCAGCCTCAAAATGGTTGAATACCTTTAGGGTATTGTTGATGGTGTGTAGTAC
 ACGTTCGTCTACGTAAGAGTCTGATACGTATGTGTGTAGTGACCTGGTGCTAGTTGTAGATGTGCC
 ATATTAATAATGATGAAAAAAGTGTGCGACCAATGGATAATGATCATAAGGATGTATTGAGATGGAAC
 20 AGTTAATTGCTATCGAGCATATATTATCATTCACTGATTCCCGAGAGGAAGGATTGAACTTCCGTA
 TTATCGTTATGAGTGATACGCTCTAACCAACTGAGCTATCTCGAGTATTACTCTCTGTTACTAATTTTA
 TCTATATAGTTAGGAACTAATAATCGTAAACTTTTTTAGGTAGGTATCTAAACCATGCACTGATAGGTT
 CTATAGGACGTATTGGTCATAACTATGATCATTTATAAGCAGTACGAGATTCGAACTCATGACACACT
 GGTTAAGAGCCAGGCGCTCTACCGCTGAGCTAACCGCTTAACACCGTACTTTTATTAGGATAGGGTC
 25 CTATAGGAATGTTATCCATCTCATGCTGACCAACTACGAGTCGAACGTAGACAGACTCCACCAAAAA
 AGAGCAGGGCTACCATACCCCATTTGGTCATACACTGTGCACCATTACCTACCTCCTCTACCCATC
 TTTTCTACCCTTTACTCCCCCCCCCTTTTTAAGGGGGTTAGTAANNNNNNNNNNGACAGAGGTAACAA
 GATGAAATACTGCTTATAGTGATGGACAGCTGACAGGAGCACGACTCGAACGTGCAGTGGACAATA
 GCCCGACTGGTTTACAGCCAGCTCCCTTACCAATTAGGGGTACCCTGCCTTTGTTTATACGATACTG
 30 CCCCACGTGGAGTCGAACCACGGCCTGCTGAACCTCACTCAGCTGCTCTGACCAACTAAGCCATC
 GGGGCTATCAATGCTCTATTAGAGATTGCAGATATCTATAACGACAGGTGAAAAGCAAATGCTGATA
 GTTAATAGGCAATGAACTTGCTAGGCACAGAATGATAGAAAAATATTGTTACAAAAATGGTAAGAGAT
 AATAATACATTGTAAGGAGGCATAGTACAATCCTACTCTGTGCCTAAACACCTAGAACGATTGCAACG
 TCCATCTGTCTGGGCCGAAACCGAAGGCTCTACCATTGAGCTATAGGTGCAGGTTCTAGCTATCGAC
 35 TATGAAAACCTTTCTCGATTAGGGGCATTGACTAGCACTATCATCAAGCATAGGAATATATAGCCTGAT
 GGGGTAATTACTGTGGTAATACATATTTTCTATAGTATTTAGGTAAACACGCAGCCTTATATAGTATTT
 ATACGTTTGATAGGACTCGAACCTACACANNNNNNNNNNGCTACACATCTCTCGATACACGCTCCTA
 AGGCGCGCCTGGCTACCAATTACAGCACAAACGTCATAGTGTTCTATACACTATTAGGGCATAGAAT
 ACCTAGAATAAAATAGTAGATGCATTGCTTATTACCACAACCTATGTTACTATTCATAATACTATCACCA

TGCCTATTAATTATGGAACCACTATGATGAGTTCTATTATCTATACTCTAATGAATGAAAGGGGTCTAT
 AGTATATCTGTTAGCTATGATTGTAGTGATGGGGCTGTAGCAGCTGGAACATCAGCAGCTGGCACGT
 CCAGGTCAGATAGTGTGTTTTCCACAATACCAACTACAGGTACAATAACAAGGTACCATCCGAAGTA
 GAAGATACTTGCAATAGCACCGATAGTAATGAACGGTTCCTCAGCGTGTTGGCTACCAAGCCATCCT
 5 AGTAGTACTAGGTCAACAGCTAGGAACCAGAACGCTACTCGCCATAGTGGTCGGAATTGTCCACCAC
 GTACACGGCTAGTGTCCAGAATAGGCATAGCTAGCAGGATAAGTAGTGATCCAAGCATGGCTACCA
 CACCTAGCAGCTTGTTAGGTACGGCCCGTAGGATAGCGTAGTAAGGAAGTAGGTACCACTCAGGCA
 CGATTGAGGCCGGTGTACTCATAGGGTTGGCTGGGATGTAGTTGTCGCTGTGACCTAGCAGGTTAG
 GTGCGTAGCACACAATACCTGTGATGGCAGCAAGGAATACCCACATAGTCACCAGGTCCTTGAATAG
 10 ATAGTATGGAGCCATTGGCAGCTTATCGCTGTTAGATGAGAGTCCAAGAGGGTTGCTTGACCCGTGT
 GTGTGCAGCGTCATCATGTGCACTAGAGCTAGTGCAGATAGAACGAATGGTAGCACAAAGTGAAGA
 GAGAAGAATCGGTTAAGCGTAGCGTTGTTTACACTAAATCCACCCCAAACAAATTGTACGAAGTCTTG
 TCCGATCCATGGAATAGCTGAAAGCATGTTTGTAAATCACAGTAGCTCCCCATAGTGACATTTGACCGT
 ATGGTAGAACGTATCCAAGGAAAGCAATAGCCATCATAAGGACTAGGATAATTACACCTACTGACCA
 15 TGGCATTACCCGTGGTGCCTTGTATGAAGAGTAGTAAAGACCACGTCCGATGTGGGCGTATACTAG
 GATGAAGAAGAATGAGGCACCGTTAGCGTGTAGGTACCGTAGTAGCCAACCGTAGTTAACGTCACG
 CATGATATGCTCAACACTCACAAAAGCCAGGTCTACGTTAGGTGTGTAGTGCATCGCTAGAATGACA
 CCAGTCACAATTTGTAGACCTAGACATGTGGCTAGTAGTGATCCAAAGTTCCACATGTATGATAGGTT
 CGCAGGTTGTGGACTGTGACGACGTAAGAGTTTACTAGTCGTAGTAGTGGGTACTGCTTTAGCAGA
 20 CGCATAGTACACTAGTAATGTCCACCACATGGATTACAATGAAGCATGATGGACAGGTATCCCCGCA
 GGGACATTAAGAAGAGAGATGTCATGTTAATAGTGATAAATCTAACATGTTGTTAATGATAGTGAGGT
 TATTTAGCAGACTATTTTCAGTATGATACGTTACCAACGCTAGACGTATGAGGAGTCGAACCTCAATCA
 CCACTATGAGTGGTGGACTACCAGCCTAATCTGATACACATCTTGTACAGTTTTAGACGTAATTAGAT
 ATCCATCACCTTTTTAACTTTTCGTATACCTCCAGAGACTCATGTATAATATAAGAACAGTGATACGACT
 25 CTATAGTCATAAGTACAGGAATCCCACCCCTTGCTATAAAAAGATATAATATTACCACATTCACACAG
 ACGTTATCAGTTTTATCATGTTAAGAATATCCTTTACCCGGATCATACTTAAGAGCATTATAATTTAG
 ATGTGTTGAGGGGCTAGGTCCACGTAGGGGGAGTGTAGTGCATCGCCAGAATCACTCCTGTAACGA
 TTTGTAGACCTAGGCATGTAGTAGTGACCCAAAGTTCCACATGTATGATAAGTTTCGCAGGTTGTGGA
 CTGTGACGACGTAAGAGTTTACCAGTCGTAGTAGTGGGTACTGCTTTAGCAGACGCATCGTTCCTA
 30 CTTACCCCCCTGTAAGGGGGGGTAAGGTGGCCATAGAATGGATTACATTAATGTCCATGACCGGG
 TACCCTATAGGGGCCTTACCTTAAAAAATAAACTTCCAGAATAGGCATGGTGCTCTGATTAGAGGGT
 GAGAAAAGAAAAATATAATTTCAATAAATAGGGCTATTACAAGCTTTAAAGCCTTAACGTTGCCATCG
 CTAATAGACATACGAGGAGTCGAACCTCGCCGCGCTACATCAAAGCGGTGCACTAACCAGATAT
 GCTATACGTCTTGTCTTGTCTGTTATGCTTAGTTAGTTAATTATAACGTTTCAGTATTCAATGTTATTA
 35 ATGCCTGTAATTTATTACGGTTAACTATGCTTATGAGCAGGAATATAATGAATATATTTATTAAGGC
 TGGCTACCTTATCCATATTAGAGCAAGTTGGCTACTTTTATGGATATTTAGAAAAAGGGTCTATAGTG
 ATGGTACAACATATGCTAATACACTATGACTTGCTACCTTGGCTTACTGATGGTAGTAGCCCTAGCCC
 TGCTACGATTAGTAGCACTAGAGACACGTCAGTAACACTGGCCGATGGTACCCAGGTAGTACTAGA
 GGAGCGATCACCATAAGGGCAAGTGATAGGAAGCCTAGAACAAATGTAAAGGGCGTAGTTCGTTACG

ACTGATGTGTCGTAAGAAGCAATAGTACGTCCCATGTTAGGCAGTACTGTTGATAGTCCATAAGGAC
 CAACAGTTTTGATCAGACCACGGTCAAGAACCTTAGATGCAACGTATCCCAGGTTTCATGAGAGGCGT
 GATTACTAGACCTGTTACAGCAGCGTTCCATCGCCATTGTCCGTTGATGAACCCGTATAGGGCTCGT
 GCTAGGGCACTGTTCGGTTAGGCTTACAGCCAGACGCATACCAGGACCGTATAGGAATACAGCTCCC
 5 ATTGCTCCGAGTAGTGTCATAACCAGTGGCAGTTGCTTGTATAGTACTGGTAGGGCAAATTCAGCTT
 CTACCAGTGATACGTGAGAAGGGTGTGGGGCAGTACCGCGCTGAGGTAGTCAGTACCCATTCTTA
 GCCATAGGTCCTTAGCCATGTATCCAAACAGTACTGAAAGCACTGCTAGGAATACAAGTGGAGCACC
 TAGTAGTACTGGAGCTTCGTGCACGTTGTCGTAAGCTTGTCTGTTCCATTGACAGTACCAAAGAAC
 GTTAGGGCGATCAGACGGATGCTATAGAACGCTGTAAGACCAGCAGCCAGTGTACCGGCCCAGTAG
 10 ATTACTGTTCCGTTAAGGCTGTATGTTCCCATAGCTAGTTCTAGTAGATGGTCCTTACTGTAGTACCC
 TGTCACTCCTGGCAGGGCCATAAGTGACAGTGAACCAATCAGCATAGCCGCGTATGTGAACGGTAG
 TAGTGGAGCTAGTCCACCTAGTCGTCGTAGGTCTTGTTGGTCAGCCATAGCGTGGATAACACTACCA
 GCAGCCATAAACAGTAGAGCCTTGAAACAGGCGTGTGTAACAAGGTGGAAAAGCCCTACGCTGAAT
 TGTGATAGCCCTACAGCCATCATCATGTATCCCAGCTGTGAACATGTAGAGAAAGCGATCACTCGCT
 15 TTAGGTCGTTCACTAGTAGACCACATGTAGCAGCGTAAGTAGCTGTTGCCGCACCGAGCCAAGCAG
 TTAGTACAAGGGCGGTAGGACCGTACTCTAGTAGTGGTGATGTACGAAGCATAAGGTATACCCCAGC
 AGTACCAGCGTAGCAGCGTGAATTAGAGCAGACACAGGAGTTGGACCCTCCATGGCCAATAATTG
 TTAGTAGCAATGACAATCCCTTTTCAAGATTGAGCAGGCCATGTCAACCATCAGGAAGTACTTATATGC
 AAAAAATATCTTGAATCATGTTTAAGCATAACAACCTATGGGTACTAGTATGGTCTTTGGGCATGAAT
 20 CACAAGTAGTGATTCTATGCTGCCAGTATTGAATAGTTACAAATACTGGCAAATCATAGTACAGCAGA
 CGCTTTAAACCAAGACAGAAAAAGGGGACTATCGTACAAGATGCCGAGCCCATACGGGTAGTTGA
 GCACCAATAAGCTCGTCTAGTACATGAAGGTGTTTCAGTAGGTACCCAAACGTAGTAGAGAGTGGTAC
 GTCGACCATGTGGGGCTGGGCGTTGGGAAGACAGGGCTGGTACACCTAGGGATCGTAGTCGTGCA
 GCGAATAGGTCGTATTTCGTAATCTTCAGCACCACTCCAAAGGGGTAGTACCAGTCCGCCTGCTGGTT
 25 GTGAGAAGTACTCACGCCAAGTGTCTCGATAAGCGCTCAGAATAATATGAACAACAAGAGAATGAAG
 ATGTAGCAACCCAGTGCTTGGGCTGTTAGACGTCGTACACCAGGGCCTGCAGGCGTCAGGTAGAA
 GAGTGAATACAGAGGCCATAGTGCTGGTAGTGTACTTGTGAGCATCAGAGTGAAGCTGACCGGTGG
 GAGGTGAGGACGACGGTTATCTGTCACCTCAGTAGTAACAGGCTTATTGACCATAAACATGGTCATT
 AGTGATTGAACATATTCCCACTCAGTTTGGCTCCACATAGAAGAAATACGCTTGATTGATAGCCGTGC
 30 TGTGGGTAGACCACTAGTCAGGTACTTGCTGAACATTTGGAATGGCCCCGCCACGAGCATAGCTAC
 GAAAGCTGCAAGTTGATCAGGGCTCATAGAGGTGGGCATATCCTTCTTAGCACTAGCACCTTGTTA
 CCATACGAACCAGGATTAGTACCAGGACCTGTCTTTTACCTGAACTTGATGGAGTAGTACCCGTAC
 CCACCTTTGTGGGATCTGTCCCGGTAATAAGATTTAGTTCATCAGCTAGCCACGTATGTAGTGGTAG
 TTGAGCACTCTTACTCATAGCCCCACCTAGGAAGAGTAGACCAATAACAGTTAGTACTGTTTCGTTTA
 35 GAAGAGGTGCTGTGCTCAGAATAGTTGCGTAGTCCAGGCTACCAAAGACAGCGAGAGCCAGGAAGA
 AACCAATGCTGAGTGAGGTGTCACCAACACGGTTAACCATCATGGCCTTGTTAGCGGCCTTAGACGC
 TTGTACCCGTGTGAGCCAGAACCAATAAGGAGGAACGATGCCACCCCAATAAGTTCCCAACCAATG
 AACATCAGTGGGTATGAATCCGCTGTTACCAGCAGAGCCATGCTCCCAGTGAACAGCGAAAGATAG
 CTGAAGAATCGTGGTGTGTGTGGGTCTTCAGCCATGTATGACATGCTATAGACGTGTACAGCGCTAG

ATACGCATAGGACAGGTAGAAAGCATCGCAACTGTAAGGTCATCGAAGCTAAATGCCCATTGAGCTTG
 TAGCACACCAACGGTAAGCCAGTCACCTACAACGATAGTAACAGGTGAACGGCAAAGAGCTACTTC
 GTAGAAGGCTACTAGTGATAGACATGCCGATAGTACTAGGCATACAGTGGCAACTAGTTGTGAACCT
 GTGCTACCAAGTGCTCGCCCTCGTAGACCAGCGGCTGCTGAACCTAGGAAGGGTAGAAGAATAAGA
 5 GCTAGGTACATAGACTATAGTCGTGGAGATGATAGGCTCAGTGTCCCCCGTAGGCGGTAATAGGCA
 ACTAGTACTCCAAGACCAATAGCGCTTTTACGCTCCCGCCGTAGCGATGATAATGATACTGAATGTCA
 TTCCAGCAGCATCGCTATAGCTGTTAGCTGTTGTGAGAACGAGTAGTGTACCCGCGAGCAGCATCA
 GTTCAATGCTCACAAGTAGCATGAGGAGGCTACGCCGGTTAAGGCTAAACCCCAGCACACCAACAA
 GGAACAGTACGAGTGATAGAGTCATGGGACAGTCATTCGTGATAGGCGGAAGGCCATGTTTAAAC
 10 ATCGTACAGTAGGAGTACTTGGCATCCATGATAGTGACCATATCACTCACTTCCCCCCCCGAAAGGGG
 GTAGTGGTAAGTAGCAGACTGTTGCCAAACAGACTACCTATATCAGTAGTATAGTATCAGTACGTGG
 ACCAGCAACATTGAGTTACGGGCGACCCACTAACTCTCTCCACCCTTTACCCCCCTATGAGGGGGG
 GTTGAAGGGATAGGTAAAGGATTTAGTAAGAAGGGATGTTTAAAGATGGGTAAATATATTATTATA
 AGGTAGGGTTTAGATTATGTGGGAGATTATTATAAGAATCCCGCGGCAGATGGGACTCGAACCACACA
 15 CTCACAACGTTGACAACGTTGGACACTGCCATTATGCTACTACCGCTAGGCACTGTCCTATTACTCTA
 ATTACTATCTTTGTGATAATACAGTTGTATTAGTATAGTAACAATAAAAGGTATCATCTGACNNNNNNN
 NNNCCTTTTGGTGAAAGGAGAGAAAAGAAAAATCTATACCGCTGGTACGTTGTAGAGCAGTGCAGAAGC
 TTCAACTTCTAGACCAGACAGTAGTACGCCAGGGATCACACCAAGGAATAGAGTCATGACGATCAGA
 GGTAGAACTGTCATAGCTTCTGTTCGTGTCAGGTCACCTGCGATTGTTAGGTATGGACTTAGAGTTC
 20 CTGCGCTGATACGGGCCCCATAGCCATGTAGAGTAGCAAGCGCTAAGCACGATACCTGTAGCTCCAA
 GAGCACAAGCTAGGAATGATTGTTCCATCACCTGCTAGAGCCATGAATTCACCCACCCAGTTGACT
 GAGAGAGGAACACCCATGTTAGCACAGATAGCAAAGAAGAACACTACTGTGAATACTGGCATAACGC
 TAGCCATACCTCGGTAGTAGCTGATAGACCGTGTGTGGTATCGGTTGTATAGAACACCACCCACCAT
 CACGAATAGCGCTGGTGAGATTAGACCGTGCGCTAGTGATAGTAGTAGAGCACCCTGATACCAATT
 25 ACGCTGTTACTGAAGAGCCCTAGGACGACCACAGCCATGTGCCCTACTGATGAGTATGCAATAAGCT
 GCTTAGTGTCTACTGACCGTAGTGTGGCTAGACTAGAGTAGATCAGACTTACAACAGCAAGTGTTTG
 TACTAGAGGTGCGTAATAGTCGCAAGCATCAGGTAGTACTGGTAGTACTAGTCGGTATACTCCATAC
 GTGGCAAGCTTCAGCACTGTACCAGCTAGAAGCATAGATCCAGGCAGTGAGCGTCAGCGTGAGCA
 CGAGGTAGCCAGATATGGAAAGGCACGATTGGAGTCTTTACCATAAGGGGCTAGACCAAAGCACACA
 30 AACAGGTATCGTTGTACAGCAGGGTCTAGTGATACGTGTTGTAGCACTGTCATGTCTGTTGTACCTG
 TGTGGCTATATAGACCTAGAAATACCTAGTAGCATGAATAGAGATCCTGCTAGTGTATATAGGAATAGA
 AGTAGGGCTGACCGTACTCGTGTTGGTGAGCCACCATAGAGACCAACCATCACGTAAAGAGGCATC
 AGTACAGCTTCGAATGCTACGTAGAAGACGATGTAGTCAGTAGTAGTGAATGCAGCGTTAATAAGAG
 CTGTAGCAAGGAACACAAGAGCCAGTTGGGCCTTTTGTGAAGCGTGAGGAGTGTGAGCTAGAGCTA
 35 GGACCATAGGTTCTACTAGGAAGCATGAAAGTGTTACTAGTAGCATGCTAGTGTAGTCCACACCAAA
 GAGAAGAGGAGACCAATACCAATAAATTCGTGGTATTCCATAGCTCCCCAGGGGTCAGTAGCCAGT
 AGCATCAGACAGACCATGTAACGAAGTGTTTGTGACGACGCCATGGCCACAGTCATAGTAACGCCA
 CCTGGTTGTTCTGGATTAGCTCCACCTTCAGTAGGTTGCCATGCCAGGTAGATGGCGGTGATAATAG
 GATATGCAATTAGATATGTAATCATAGATTTTATTAGGGGGGTAGTAGCCTTAGTAGAATGGCCATTT

GTCCCTCTACCCTGTTAGTTAATAAATAAAGCTCTGCTTGAATATTATAGAAGTACTTATTATTATGAT
 GATAGAACCGTTTTATGGCGATAAACCTATATTATACGTATAGCAGTAGAGTTCTACTAAACCTTTAAC
 GATAGAGCACAAATTTATTTATACCTATAACCATAGGGCCCATGTTTATGAAGATAGGTTCTTGTATTAT
 GTTTATGGTGATAGAACCTATATATATATATATACGGTACTCACCATTGTTTATAAGAGGTAGCCG
 5 GATCGAACGGCTGCTAGCGCTGTGTAAGAGCGCTGACCTAACCACTAGTCGAACCTCCTTGTACTGT
 TAACATTATCTGAGCCTATTAATGATTAGAAAATATACTATTTAGTACCATTAGCATAGCTAGGAGAAT
 ACAGGGATACATGGGATCGAACCACGCCTAAGAGCTTTGGAGACTCTTGTACTACCACTATACGATA
 TCCCTATCAGGCTTAGGACCGGACATAATATCTATCATCTTAATAGATAGGGGGGCTATCATGCCTAT
 TCACAACAGATCATGATAGTATGATAAGCTATGGGTCAAGCCGCGGGCTCGAACC GCGCACCTCTC
 10 CGACCACAACGGAACGCTCTGCCAAATGAGCTAGAATGACCTGTGTTATGGTCATACCAATACACCA
 GAGGAATAATAATGCTTAGAGGCAATAATATATTATTCAATACTAATAGTTTCCTCTGTTTGCCTCCGC
 GTGGGATCGAACCACGATTTTAGGTTTACAAGACCCACGTTGCACCATTCAACTACAGAGGCTCATA
 GTGATCGATAAAGACCCCATATCTATGACCATTGTAACGCTACTGGGACTTGAACCCAGTCTACCTG
 TGTGAAGGACAGGTGTGCTACCCCTACCCATAGCGTCTACTACTGTTATATATGACATACTATGTTT
 15 ATGAGCACGCGCACATAAAAAATATCCCTAATAATATAACACTTGAGCTATGGTAAATAGTGGGGGTCT
 ATTATTATGCTACCCATTACTACCCTTTTTAGGTTAGTTAAGGAAAAGTAAAGCGGANNNNNNNNNNT
 AGCTAGGAGAATACAGGGATACATGGGATCGAACCACGCCTAAGAGCTTTGGAGACTCTTGTACTAC
 CACTATACGATATCCCTATCAGGCTTAGGACCGGACATAATATCTATCATCTTAATAGATAGGGGGGC
 TATCATGCCTATTCACAACAGATCATGATAGTATGATAAGCTATGGGTCAAGCCGCGGGCTCGAACC
 20 GCGCACCTCTCCGACCACAACGGAACGCTCTGCCAAATGAGCTAGAATGACCTGTGTTATGGTCATA
 CCAATACACCAGAGGAATAATAATGCTTAGAGGCAATAATATATTATTCAATACTAATAGTTTCCTCTG
 TTTGCCTCCGCGTGGGATCGAACCACGATTTTAGGTTTACAAGACCCACGTTGCACCATTCAACTAC
 AGAGGCTCATAGTGATCGATAAAGACCCCATATCTATGACCATTGTAACGCTACTGGGACTTGAACC
 CAGTCTACCTGTGTGAAGGACAGGTGTGCTACCCCTACCCATAGCGTCTACTACTGTTATATATGA
 25 CATACTATGTTTCATGAGCACGCGCACATAAAAAATATCCCTAATAATATAACACTTGAGCTATGGTAAAT
 AGTGGGGGTCTATTATTATGCTACCCATTACTACCCTTTTTAGGTTAGTTAAGGAAAAGTAAAGCGGA
 NNNNNNNNNNGTAAAGCGGAGCCAGGACTCGAACCATGGACCTACAGCTCATGAGGCTGCAATGCT
 GCCAAATTACACTACCCCGCGATTGATTATGACCATATTATATATAAAGACAGGTTTATCTCCGTA
 CCGACGCGATAGGAGTCGAACCTACAACCTGGTCATCCAGATACAGCTAGCAACCGTATACACCTC
 30 ACCAATAGTTGTGCACGTCCCGTCCTGTTACACATAGGTGAGTAAGCCTATAATAATGGGTCATACTA
 TTAACGATAGGTTAAATTAATCCTATAACAACGGGACATGTTATTAGCGATGTTGTTGTTTTCTTGTT
 ATTCATGATTAGGTTTGCCAACAATAGTGTGTGGTAAAAAGGGTGAGGGGTCAATTAGGTAGTTGGTA
 TGGGTATTGGACTTATGGGTGTGACTACGCTCTGGACGCATGCCATTACACGTGTCACCCCTTTAC
 TATCTTTGATAGTTAATCTTGCGCAGTAGTCTACTGCGTGTCCATAGCGTTTGAACATCGTTATTAGC
 35 AATGTTCAAACGCGTTGATGCATGTCCATAGCTGGATTGCGGCTTTATATGCTGGCAGCCCTTATCC
 ATTGGGTGCTTAGCTGCCCTGCGGTGGCTCATTAAATAGGCACAACAGGTACACCAGAGGTACCCTG
 AACTGGTCCTTTTCGTACTAGGTGCCATCCTCGAACATGCTAATAAAGCACAGCGGGTATAAGCTAT
 ACTGCTTCACAGCGTATTGACAATAGTGTTATTCATAATAAAACAGTGGCTTTACCACTGGTCAGAC
 TCTATCATAGGCAGCAAGCTTGCTACCGTGCAGGATAGTTATAGGCTCTGAGCCTTATAGTCGTTGG

ACGTGATACTTTAGAATAATTCACGCTCCTAGTTGTAAGGTATATACTTCCAGGATGGTTTCTGCTTTT
 GGTGATCAATCACCGTTGGGCTCAATTTACATTATTCTCAACAAAACCTATGACTTAAAACAAAGGGGT
 CTAGTTTAGGTCAACTCGAGGACCTAGGCGGTACAGCATAGATTCATGCATATGAGGTGTAAGCATG
 GCTTGTAGTGCCTTGTGATGGGCCTTTGTAATCGCAAGCTTGTATTGCTTTTGTCCATCCTTTCCATA
 5 ACGGTCAGCACGGACAGTAGTGGGGATACCCATGGCAGTAATGGCCGCTGCTAGGCGTACGCAAT
 CTGCATGAGTATAGCTATTTACGTAGATGAATACGGTACTGTTTGCGATGTCATATGAGCCGTCACCT
 ATGATGAGATGGGCCAGTACAACAGGCGTCACAAGATCCTTAATCATAGCCGGAACCTACCTTGATCC
 ACTACCAGCAGCCCCCATCACATAAAACATATTGTGATATTGGTTGAAAACGCCGAGAGAAAGAGT
 CTTACAGCCGGAATTGTCCAGAGGGTAGTGTAGTAACCCCCGTTTGGCAGAACTGGCTAAATAGTCCA
 10 TATACCCAATAGGCATAATCACGATAAGGGGCCCAAAGACCATTCCAGGCGTGTATTAGATGTAG
 CACTTGAACGCGATGCATGGCTATCGCCCAGAAGTTGTCCAATAACCACTTGGTGTAGGTAATATGG
 GAGCATTACAATGGATCGTAGACCCCGAATAATTTGCTTGTAAAGCGTTGAAGAAGTTGTAGTGTT
 GATGTCATAGTTGTTTTTTGTTGATTGAATTAAATATATGTCGCTTAAGCGAACCCAACTCACGTAGCT
 CCTTAGACTGCGAACAGCAGTACCCTTCCAAGCTTGTGCACCTGGAGGATGAGCTGAGTCGACATC
 15 GAGGTCGCAAACAGCACGGGCGATATGAACTCTCGCGTGCTATAACGCTGTTATCCCTAGCGTAGC
 GTTAATCGCCTAGCCCAGAGTGTACCCTGACACGTCTGGGGTTCACTTGGCCATGCTTGCGCACTTT
 AAGCACTGCTCAGTGCTATCAATCAGGCACCCATTTCATGTCCATGAACGATAGTAGCCCTACATGG
 GCAATACCTTAAAAAAGGCTATTCGGGTTTTCCATCCCGGGCAAGGGTGCCATACGTGGAGGCCTCC
 GGTACTGTATAGGAGGCGACCGTCCCAGTCAAACCTAGCTGATGACCTATCCTAGCCCATTGCCCGTA
 20 AGAGCGGGGCTTCACTACCACGAATCCTCATGGCGGTGTAATAGTCGAACGACATACTTCCCCAGAT
 TCATGTGGCGACCGGCCATCACTAGTAAAGCTGCATAGGGTCTTCTTGCCCTGCTGTGCTAAAACCG
 CATCTTACGGCTTATTCAGTTTTGCTGAGGGGGCCCCCGGAGACAGCGGGTGCGTCGTGACCCTCT
 TCATGCGGGACCATAATTAGTGGCCAAGGAATTTGCTACCTTAGCACCCCTTATGGTTAAGGCGGTC
 GTTTACCTGAGTTAGGTACACGTTGAAGCCCTTAAGCTCTACGCAGTACATTCACTCTAGGCACCGG
 25 ACAAGGGACGGCCCCCTATACGAGCCACAGCTGGTGCTGGGCATAGCAGGGACCTGTGTTCTTGGT
 GCACAGTCGCACACCCCGTTCCACTGCGTCCAGCCAGGATGTTTAATTTCTAAGTTAAACCTAAGCT
 TAAAAAATAAACTATCCCCATAAGCTGGACACCCTTATAGTAGGACGTACGGGTTTTCTGTTGCCGAGT
 TCCTTTGGGAGCCCTATCTCTCACTCTGGTGTACTCCACCACGGGACCTGTGTGCGGTATAGGCAC
 GGTAACGCACGCAGCTTCAAGGCATATTTATTATATAGTATGCTCAGCTTGTGTTAACTCATCGCTT
 30 TATACTTAGAGACCGGTTTAACTCAGGATGACTGCCATTGTCTATCTGAGACCCACCCCGTTCAAGT
 GCAAGGTGTCTAGACCTTGTATCGCTACTCGTGTGCCATGCTCTATCCACGTTGTCCAGACAATGC
 TACACTGCCCTTCTTTCAACATGGGTGCTCATCTACCCTATAATCTTACTACATCATTATTATTATAGC
 CCGCACCCGCCCATGTTACAAACCCCTTTGGGGGTAAAGAGCAGGTGAGGCATGTGAACCTTAGACA
 TAAATACCCCTATCTTTCATGAAAAAGATAGGTAAATAATATTATATGTTTACAGTTTTAGTAAGTATTT
 35 ATAGGCGTTGTGTGGGACGATAGCTGAGACCCGTTTATCTTCGGCGCACTGGTACTCGGCCACTGG
 GTTGTTACACCATCGTTAACAGGTGGCTACCTCCAGGCACACTGCATGACTGTCATTGTAGCAGCAC
 CTCCTTACGTGTCATTTAGCTATATCTGTTTGGGTCCTCGCTCAACGCTCATGACTGTCTTCATCTAG
 GCTGCTGACCTTATCGCCTACAGCCTGTGTACAGGACGTAGTAGTCCCCCTTCCATGGTAAGCTACC
 CCTGATAGAGCACGGATGCCCCCAGAACTGCACTCATTTTCTATAAAACCTCCTAGATGGTGATCT

TATATTAAATAAATACATGGCGGCCTGAACAGTACAGGGTCCTACCACTCGATGCCTGTCTGACGCC
 TTAACGTCTTTTCGATGAGAGCCGGCTAGCTCGCTGTTAGATAGGCCTATCACCCCTAGCCTGAGCTC
 GTCAGAGTACAATACAACGGACACCTGTTCCGGCCTCTGTCATGGCCATCACACGTCAATCAAGTACT
 TAAAATACTTGGACGTAAGAGGACACAACAGGCCTGGCCCAAGCTAGATCACAGCGGTTTCAGGTCT
 5 GGGCAGGAGGACTAATTCCCCTATTGCACCATAATAAGCACCAATATAGCCTATTGACTATAACTGAC
 ACATATCACATCATTACCTTTATCAATCATTTCTATTGTAATGATCCATACCTGATTTACCAATTTATA
 GTGTAGCTATATCTGACGGTTTATCTGATATAACAACAACTAAACTGATGGTCAATGGCTTATATTG
 GTAGGAGATGTATGGATAGCAATGGGCGATTTTGTCTGTCGTTTAGGCTATTGGCCTCGCCCTCCTT
 CCCAACTCGGCGACCCATTATGCAAAAGGTACGCTGTCGGGCGTTACTATGGCGATCCTAGAAACC
 10 CGACCATAGCATTGCAGCCCTTCAGCTGCTTATGGACCATAGCTGCTTCAGGCTCTATTTCACTGCG
 GTACAACCGCTCTCTTTCATCGTTCACTCGCGTTACTATTTTCTATCACTCGGACCACCTATTAGCCG
 TTGGGAGAGATCCCAATCACTCTACAAAATGCAGAATGCTCTTTAACACATCAGCAGTCACACGGGA
 CTTTTACCCTCTATGGTTATCTGGCGTTCCATCCAGTTCAAACGTGTCGATGACATGTTACAGCTACAC
 CTACTTTTCGCTCGCCGCTACTAAGGAGGTACGGTTGGTTGCCTGTAGGCCCTACTATGATGATTCA
 15 CTTTGGGCCATGGCTATCATTGATTTACCGTGAGGTTGTCATTAATTGACCTTTGGACTAGGGCINN
 NNNNNNNCAACAAAAGATAGTGTGTTTCCTACTACTCATTACTAACCCTTCTAATTAGAATTACCCTA
 ACCCCACCAAAGGGGGGTAAGTGGTGGGTTAAAAGGTAGGTAAAAGTAATAGTTACTCCACTAGTCA
 TAATGGTTATAGGTGTAGGTACTCACTCATGAAATTATGACCATGAGTGTTCAATAAATACTATGACC
 ATGAGTATAACTAGTAGTATTGGTGGTTAAAAGTTTAATGGTAATAGAATATGGCTTATGCTTATGAT
 20 GGGTGGGGTCTATAATACATGAATGTACTATGGACACCCGGGTTTGGTGGTCATAAT (SEQ ID NO:2).

La región codificante completa de los genes ribosómicos de la cepa PT22AV consiste en la siguiente secuencia:

ACCTGGTTGATCCTGCCAGTAGTCATATGCTTGTCTCAAAGATTAAGCCATGCATGTCTAAGT
 ATAAACAAATTCATACTGTGAACTGCGAATGGCTCATTAAATCAGTTATAGTTTATTTGATGGTATCT
 25 TGCTACATGGATAACTGTGGTAATTCTAGAGCTAATACATGCTGAAAAGCCCCGACTTCTGGAAGGG
 GTGTATTTATTAGATAAAAAACCAATGGGTGCAAGCCCTCTATGGTGATTCAATAAATTCTCGAAT
 CGCATGGCCTTGCGCCGGCGATGCTTCATTCAAATATCTGCCCTATCAACTTTTCGATGGTAGGATAG
 GGGCCTACCATGGTATCAACGGGTAACGGGGGAATTAGGGTTCGATTCCGGAGAGGGAGCCTGAG
 AAACGGCTACCACATCCAAGGAAGGCAGCAGNNNNNNNNNATCCCGACACGGGGAGGTAGTGA
 30 CAATAAATAACAATATAGGGCCCTATTGGGTCTTATAATTGGAATGAGTACAATTTAAATCCCTTAACG
 AGGAACAACCTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCGGTAATTCCAGCTCCAGTAGCGTATATT
 AAAGTTGTTGCAGTTAAAAAGCTCGTAGTCGAACCTTCGGGCCTGGCTGGGCGGTCCGCCTTACGGT
 GTGTACTGTCCGGCCGGGCCTTACCTCATGGTGAGCCCGTATGCCCTTTACTGGGTGTGCGGTGGA
 ACCATGAATTTTACCTTGAGAAAATTAGAGTGTTCAAAGCAGGCATAAGCCCGAATACATTAGCATGG
 35 AATAATAGAATAGGACGTGCGGTTCTATTTTGTGTTTCTAGGATCGCCGTAATGATTAATAGGGAC
 GGTCGGGGGCATTAGTATTCAGTTGCTAGAGGTGAAATTCTAGATTTACTGAAGACTAACTTCTGC
 GAAAGCATTTGCCAAGGACGTTTTTCATTGATCAAGAACGAAGGTTAGGGGATCAAAAACGATTAGAT
 ACCGTTGTAGTCTTAACAGTAACTATGCCGACTAGGGATCGGGCCACGTTAATTTCTGACTGGCTC
 GGCACCTTACGAGNNNNNNNNNTTCTGGGGGGAGTATGGTCGCAAGGCTGAACTTAAAGGAATT

GACGGAAGGGCACCACCAGGTGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAAACTCACCA
 GGTCCAGACATAGTAAGGATTGACAGATTGATAGCTCTTTCTTGATTCTATGGGTGGTGGTGCATGG
 CCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGGTTAATTCCGATAACGAACGAGACCTTAACCTGCTAAA
 TAGTCAGGCCGGCTTCGGCTGGTCGTCGACTTCTTAGAGGGACTGTCGGCGTTTAGCCGACGGAAG
 5 TTTGAGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGATGTTCTGGGCCGCACGCGCTACACTGACTGAG
 CCAGCGAGTTTATCACCTTAGCCGAGAGGCTTGGGTAATCTTGTGAAACTCAGTCGTGCTGGGGATA
 GAGCATTGCAATTATTGCTCTTCAACGAGGAATACCTAGTAAGCGTAAGTCATCAACTTGCGTTGATT
 ACGTCCCTGCCCTTTGTACACACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGGCTTGGTGAGATTTCCGG
 ATTGGCGTTGGGGAGCCGGCAACGGCACCCCTTGGCTGAGAAGCTACTCAAACCTGGTCATTTAGAG
 10 GAAGTAAAAGTCGTAACAAGGTTTCCGTAGGTGAACCTGCGGAAGGATCATTATTGATTGGTCGAAA
 GACCTTATCAGATTCTACCACCTCTGTGAACCGTTGACCTCCGGGTTAATAATCAAACATCAGTGTA
 CGAACGTAAGAGTATCTTAACGAAACAAAACCTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGATGAA
 GAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGC
 ACCTTGCGCCTTTTGGTATTCCGAAAGGCATGCCTGTTTCAGTGTCATGAAATCTCAATCTAATATGT
 15 TTTCTGAACATGTTAGACTTGGACTTGGGCGTCTGCCAGTGATGGCTCGCCTCAAATGACTTAGTGG
 AACATCCCACATCAGTGTTAGACGTAATAAGTTTCGTCTCTCCTTGTGGTGATGACTGCTCAGAACCT
 GCCATCGCGCACTTTTGACTTTGACCTGAAATCAGGTAGGGCTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAA
 TAAGCGGAGGAAAAGAACTAACAAGGATTCCCTAGTAACGGCGAGTGAACCGGGAAGAGCTCAAA
 TTTGAAATCTGGCGTGCTCAGTGCGTCCGAGTTGTAATCTATAGAGGCGTTTTCCGTGCCGGACTGT
 20 GTCTAAGTCCCTTGGAACAGGGTATCAAAGAGGGTGATAATCCCGCACTTGACACAATGACCGGTG
 CTCTGTGATACGTCTTCTACGAGTCGAGTTGTTTGGGAATGCAGCTCAAAATGGGTGGTGAGTTCCA
 TCTAAAGCTAAATATTGGCGAGAGACCGATAGCGAACAAGTACCGTGAGGGAAAGATGAAAAGCACT
 TTGGAAAGAGAGTTAAACAGTACGTGAAATTGTTGAAAGGGAAACGATTGAAGTCAGTCGTGACTGA
 GAGGCTCAGCCGGTTCTGCCGGTGATTCCCTCAGTCGGGTCAACATCAGTTTTGTTCCGTGGATAA
 25 GGGCAGCTGGAAGGTGGCACCTCCGGGTGTGTTATAGCCAGCTGTCGCATACATCGAATGAGACTG
 AGGAATGCAGCTCGCCTTTATGGCGGGGTTCCGCCACGTCCGAGCTTAGGATGTTGACATAATGGC
 TTTAAACGACCCGTCTTGAAACACGGACCAAGGAGTCTAACATATCTGCGAGTGTTTGGGTGTCAA
 CCCAAGCGCGTAATGAAAGTAAACGTAGGAGGGATCCGCAAGGAGCACCTTCGACCGATCTGGATC
 TTCTGTGATGGATTTGAGTAAGAGCATATATGCTGGGACCCGAAAGATGGTGAACATATGCCTGAATA
 30 GGGCGAAGCCAGGGAACTCTGGTGGAGGCTCGTAGCGATTCTGACGTGCAAATCGATCGTCAAAT
 TTGGGTATAGGGGCGAAAGACTAATCGAACCATCTAGTAGCTGGTTCCTGCCGAAGTTTCCTCAGGA
 TAGCAGAACTCGCATCAGTTTTATGAGGTAAAGCGAATGATTAGAGGAATTGGGGACGAAACGTCC
 TTAACCTATTCTCAAACCTTTAAATGTGTAAGAAGGACTTGTCACTTAATTGGACGAGTCCATGCGAAT
 GAGAGTTTCTAGTGGGCCATTTTTGGTAAGCAGAACTGGCGATGCGGGATGAACCGATCGTGAGGT
 35 TAAGGTGCCGGAATACACGCTCATCAGACACCACAAAGGTGTTAGTTCATCTAGACAGCAGGACGGT
 GGCCATGGAAGTCGGAATCCGCTAAGGAGTGTGTAACAACCTCACCTGCCGAATGAACTAGCCCTGA
 AAATGGATGGCGCTCAAGCGTGTTACCCATACCTCACCGTCGGCGTTGAAGTGACGCGCCGACGAG
 TAGGCAGGCGTGAGGTTTGTGAAGAAGCCTTGGCAGTGATGCTGGGTGAAACAGCCTCTNNNNNN
 NNNNAGATAGGGAAGCTCCGTTTCAAAGTGCACGCTTATCCGTGCCGCCTATCGAAAGGGAATCCG

GTTAAGATTCCGGAACCAGGATGTGGATCATTGACGGCAACGTAAATGAAGTTGGAGACGCTGGCA
 AGGGCCCCGGGAAGAGTTCTCTTTTCTCCTTGACCGCTTACGACCTCGAAATCGGATTATCCGGAGA
 TGAGGTTATATGGCGGGCAGAGCACGACACCTCTGTCTGTCCGGTGCGTCCTTGACAGTCCTTGA
 AAATCCGACGGAACGTATAAGTCTCACGCCTGGTCGTA CTACTCATAACCGCAGCAGGTCTCCAAGGTG
 5 AACAGCCTCTAGTTGATAGAACAAATGTAGATAAGGGAAGTCGGCAAAATAGATCCGTAACCTTCGGGA
 AAAGGATTGGCTCTAAGGGTTGGGTACGTCGGGCCATTGGCGGAACAGAGCTGGACCAGGTCCGA
 CTTGCTGGGGCAACCCGGCTGGACTGGCTCGGACCGGCGATGGGATGNNNNNNNNNNNAACTATGA
 CTCTCTTAAGGTAGCCAAATGCCTCGTCATCTAATTAGTGACGCGCATGAATGGATTAACGAGATTCC
 CACTGTCCCTATCTACTATCTAGCGAAACCACAGCCAAGGGAACGGGCTTGGCAGAATCAGCGGGG
 10 AAAGAAGACCCTGTTGAGCTTGACTCTAGTTTGACATTGTGAAAAGACATGGAGGGTGTAGAATAAG
 TGGGAGCTTCGGCGCCGGTGAAATACCACTACCTCCATCGTTTTTTTTACTTATTCAATGAGGCGGAG
 CTGGGATTAACGTCCCACCTTTTTGTCTTAAGGTCCTTTACGGGCTGATCCGGGTTGAAGACATTGT
 CAGGTGGGGAGTTTGGCTGGGGCGGCACATCTGTTAAAAGATAACGCAGGTGTCCTAAGGGGGACT
 CATGGAGAACAGAAATCTCCAGTAGAACAAAAGGGTAAAAGTCCCCTTGATTTTGATTTTCAGTGTGA
 15 ATACAAACCATGAAAGTGTGGCCTATCGATCCTTTAGTCCCTCGGAACTCGAGGCTAGAGGTGCCAG
 AAAAGTTACCACAGGGATAACTGGCTTGTGGCAGCCAAGCGTTCATAGCGACGTTGCTTTTTGATCC
 TTCGATGTCGGCTCTTCCTNNNNNNNNNNNGGAGTAACTATGACTCTCTTAAGGTAGCCAAATGCCTC
 GTCATCTAATTAGTGACGCGCATGAATGGATTAACGAGATTCCCACTGTCCCTATCTACTATCTAGCG
 AAACCACAGCCAAGGGAACGGGCTTGGCAGAATCAGCGGGGAAAGAAGACCCTGTTGAGCTTGACT
 20 CTAGTTTGACATTGTGAAAAGACATGGAGGGTGTAGAATAAGTGGGAGCTTCGGCGCCGGTGAAAT
 ACCACTACCTCCATCGTTTTTTTTACTTATTCAATGAGGCGGAGCTGGGATTAACGTCCCACCTTTT
 TGTCTTAAGGTCCTTTACGGGCTGATCCGGGTTGAAGACATTGTCAGGTGGGGAGTTTGGCTGGGG
 CGGCACATCTGTTAAAAGATAACGCAGGTGTCCTAAGGGGGACTCATGGAGAACAGAAATCTCCAGT
 AGAACAAAAGGGTAAAAGTCCCCTTGATTTTGATTTTCAGTGTGAATACAAACCATGAAAGTGTGGCC
 25 TATCGATCCTTTAGTCCCTCGGAACTCGAGGCTAGAGGTGCCAGAAAAGTTACCACAGGGATAACTG
 GCTTGTGGCAGCCAAGCGTTCATAGCGACGTTGCTTTTTGATCCTTCGATGTCGGCTCTTCCTGTCTN
 NNNNNNNNNAGAATTTCGGTAAGCGTTGGATTGTTACCCACTAATAGGGAACGTGAGCTGGGTTTA
 GACCGTCGTGAGACAGGTTAGTTTTACCCTACTGATGGAGGGTTATCGTAACAGTAATTGAGGGTAG
 TACGAGAGGAACTGCTCATTACAGATAATTGGTATTTGCGCCTGTCCGATCGGGCAATGGCGCGAAG
 30 CTATCATCTGCTAGATTATGGCTGAACGCCTCTAAGTCAGAATCTGTA CTGTAACGATGATGTTGGT
 CCCGCATGTGTTAGTTGTGTCAAATAGGCTTCGGCTGTGAACCATATCTGGGCTGGGTTGTTTGA
 CGGAAAGGTCCTTGCAGCTTGCTCTTGATTGAAATGGAATATACGCGGGGGGTGAATCCTTTGCAGA
 CGACTTGAATTGGAACNNNNNNNNNNNTAGTAGAGTAGCCTTGTTGCTACGATCTACTGAGGCTAAGC
 CTTGT (SEQ ID NO:3).

35 El gen COI1 de la cepa PT22AV consiste en la siguiente secuencia de nucleótidos:

ATGGCTAGCCGATGGCTCTTCTCTACAAACGCCAAGGATATTGGTACCCTTTATATCCTTTTT
 GCTGTCTTTACCGGTCTTCTGGGTA CTGCGTTCACTGTA CTGTA CTGTA CTGTA CTGTA CTGTA
 GTAACCAAGTTCCTTTCTGGTAACCACTCTACAACTGTAATTGCTACA ACTCACGGTATCATGATG
 ATTTACTTCATGGTGGTACCTGCTATGGCTGGGTTGCTAACTACATGGCTCCCGTTCTTATCGGTG

CGCCGGACATGGCGTTCCACGGCTGAACAACATCAGCTTCTGGCTACTACCTCCTGCAATCGTTCT
TATCCTTTCAAGCGTCTTCGTGGAACAAGGTATGGGTAGCGTTGGACTATGTACATGCCTCTAACA
GGTGTACAATCACACAGTGGTGGATCAGTTGATCTAGCTGTATTACGCCTGCACCTCTCAGGGATTT
CATCTCTACTTGGTGCCATTAACATTATCACTACAATCCTTAACATGCGAGCTCCAGGGCTACGCCTA
5 CACAAGGCACCTCTATTTCGTATGGGCGATGCTATCACAGTCAGTTATTATTATTCTATGTATTCCAGT
TCTAGCCGGAGCTCTTACTATGATCCTTACTGACCGTAACCTTCAACACATCATTCTTCGACCCTGCTG
GAGGAGGGGACCCTGTCCTATACCAACACCTATTCTGGTTCTTCGGACACCCTGAAGTATACCTAAT
GATTATCCCTGGATTTGGTATGGTTAGCCACGTTGTTTCAACATTACAGTGGAAAGCCTGTTTTCGGTT
ACCTTGGTATGGTGTACGCCATTGCCTCTATCGGTGTGCTTGGATTATTGTATGGAGCCACCACAT
10 GTACGCCGTAGGGATGGACGTAGACACACGAGCTTACTTCACAGCTGCATCTATGATTATTGCGGTA
CCTACAGGTATCAAGGTCTTCAGTTGGCTAGCGACTGCTTACGGTGGTTCTATCCGACTGCTAGCAC
CTATGCTATTTCGCTCTAGGATTTCGTCGGTCTGTTCACTATTGGTGGACTGACAGGTGTAGTTCTAGC
GAACGCGAGCGTTGACGTAGCGATGCATGACACATACTACGTTGTGGCTCACTTCCACTACGTGCTT
TCAATGGGTGCCGTATTCAGTATCTTTGCCGGGTTCTACTACTGGGCTCCAAAGATGTTTCGGTAAGA
15 TGTACGAAGAACACCTAGCTCAAGCGCACTTCTGGACATTCTTCATCGGTGTTAACATGACATTTATG
CCACAACACTTCCTAGGACTACAAGGAATGCCACGACGATTTCGCTGACTACCCTGACGCTTACGCG
GGATGGAACCTAATCTCATCATGGGGTTCATTTCGTTAGCGTCTCTGCTACTCTTCTGTTTCCTGTACAC
TGTTTACGACATGTTCACTAACGACAAGTACGTTGGTGACAACCCATGGGGAGAACCGCTATACTTC
ACGGACAACCTAACGTACGAACGAAGCACACGGTTTCGCTACACAATCGAGTGGGTACTACCATCA
20 CCTACTCCACACCACGCATTTCGACATGCTACCTATCCAATCATAG (SEQ ID NO:4).

La clasificación taxonómica de la cepa PT22AV de *Papiliotrema terrestris* se muestra en la Tabla 1.

EJEMPLO 2. Análisis de la capacidad antagonista y mecanismos de acción de *Papiliotrema terrestris* PT22AV.

25 La cepa PT22AV se caracterizó por primera vez *in vitro* analizando su capacidad antagónica y mecanismos de acción. El ensayo consistió en un cultivo puro en el que se evaluó el crecimiento radial de hongos patógenos en un medio de crecimiento de agar y se comparó con el crecimiento de los mismos patógenos de las plantas en cultivo dual con *Papiliotrema terrestris* PT22AV como agente de biocontrol. Al evaluar las diferencias en el crecimiento radial de los hongos patógenos en las diferentes condiciones,
30 fue posible cuantificar el efecto antifúngico producido por la levadura antagonista. La inhibición promedio producida por la cepa PT22AV contra los diversos patógenos fúngicos probados es aproximadamente del 18%, específicamente: *Penicillium expansum* 25%; *Monilinia fructigena* y *M. laxa* 20%; *Botrytis cinerea* 15%; *Fusarium spp.* 10%; *Rhizoctonia solani* 20%; *Alternaria solani* 15%; *Aspergillus spp.* 25%; *Colletotrichum spp.* 20%.

35 **EJEMPLO 3.** Evidencia de eficacia de *Papiliotrema terrestris* PT22AV en comparación con productos conocidos.

La cepa PT22AV de la especie *Papiliotrema terrestris* fue probada en el contexto de ensayos de eficacia con certificación GAP, de acuerdo con los lineamientos: PP 1/135(4) Evaluación de fitotoxicidad, PP 1/152(4) Diseño y análisis de ensayos de evaluación de eficacia y PP 1/181(5) , Modalidad y

presentación de informes de ensayos de evaluación de la eficacia, incluidas buenas prácticas experimentales. En particular, 32 pruebas de eficacia y selectividad realizadas durante un período de 3 años (2018-2019-2020) en 4 países de la UE, en 6 cultivos, contra una amplia gama de hongos patógenos biotróficos y necrotróficos, en el campo y en la post- cosecha.

5 Las Tablas 3a y 3b muestran la eficacia de *Papiliotrema terrestres* PT22AV aplicada en campo o postcosecha contra hongos patógenos de la parte areal (Cuadro 3a), y como inoculante de suelo y/o en fertirrigación contra hongos patógenos transmitidos por el suelo (Tabla 3b), en diferentes formulaciones (WG: gránulo humectable - WP: polvo humectable - SC: suspensión concentrada) y en diferentes dosis.

10 Las formulaciones WG y WP tienen la siguiente composición: células de levadura deshidratadas, crioprotectores (mono y disacáridos), sustancias inertes de naturaleza mineral u orgánica, disgregantes. Las proporciones cuantitativas de los diferentes componentes que componen el formulado varían según la concentración microbiana del formulado. La fórmula SC tiene la siguiente composición: células de levadura, agua, estabilizadores.

15 La eficacia de la cepa PT22AV se comparó con la de sus competidores biológicos y químicos mediante la siguiente fórmula:

$$\{[(\text{Eficacia del competidor} \times 100) / \text{Eficacia de PT22AV}] - 100\} \times -1.$$

20 En esta fórmula, la eficacia de PT22AV se considera del 100% y el porcentaje de eficacia del competidor del fungicida se calcula en el primer paso. Posteriormente se calcula la diferencia porcentual entre los dos tratamientos (-100). Finalmente, multiplicando por -1 el resultado adquirirá un signo positivo en las comparaciones que muestran que PT22AV tiene una mayor eficacia y uno negativo en las comparaciones donde PT22AV muestra una menor eficacia.

Tabla 3a

Comparación de eficacia entre formulaciones de PT22AV y competidores fungicidas (patógenos fúngicos de la parte aérea)

Planta huésped	Plaga	Enfermedad	Formulación	Tratamiento (UFC por ha)	Eficacia (%)	Eficacia comparada con los productos competidores conocidos (%)			
Vid	<i>Erysiphe necator</i>	Mildiu polvoso	WG	2.0×10^{12}	80	<i>Bacillus subtilis</i>	+12	Azufre	+18
			WP	2.5×10^{12}	90		+22		+27
			WP	1.2×10^{12}	88		+20		+26
			WP	2.0×10^{12}	95		+26		+31
	<i>Botrytis cinerea</i>	Moho gris (en campo)	WG	2.0×10^{12}	82		+14		-3
			WP	2.5×10^{12}	88		+20		+3
			WP	1.2×10^{12}	75		+7		-13
			WP	2.0×10^{12}	92		+13		+7
			WP	9.0×10^{11}	40		-30	Ciprodinil	-112
			SC	2.0×10^{12}	87		+20		+2
		Moho gris (post-cosecha)	WG	2.0×10^{12}	33		+40	Fludioxonil	+15
			WP	2.5×10^{12}	25		+20		-12
			WP	1.2×10^{12}	22		+10		-27,
			WP	2.0×10^{12}	70		+71		+60

5

10

15

20

25

30

35

			WP	9.0 x10 ¹¹	20		+8		-40
			SC	2.0 x 10 ¹²	81		+13		+65
Fresa	<i>Botrytis cinerea</i>	Moho gris (en campo)	WP	2.5 x 10 ¹²	55	<i>Bacillus subtilis</i>	+18	Ciprodinil Fludioxonil	-29
			WG	2.0 x 10 ¹²	68		+33		-4
			WG	2.0 x 10 ¹²	58		+22		-22
			WP	2.5 x 10 ¹²	78		+42		+8
			WP	1.2 x 10 ¹²	57		+21		-24
			WP	2.0 x 10 ¹²	85		+47		+16
			WP	9.0 x10 ¹¹	42		-7		-69
			SC	2.0 x 10 ¹²	88		+48		+19
		Moho gris (post-cosecha)	WP	2.5 x 10 ¹²	47		+14		-42
			WG	2.0 x 10 ¹²	56		+28		-19
			WG	2.0 x 10 ¹²	49		+22		-36
			WP	2.5 x 10 ¹²	80		+50		+16
			WP	1.2 x 10 ¹²	61		+34		-9
			WP	2.0 x 10 ¹²	88		+54		+23
			WP	9.0 x10 ¹¹	45		+11		-48
			SC	2.0 x 10 ¹²	78		+48		+14
Papa	<i>Phytophthora infestans</i>	Plaga de papa	WP	2.5 x 10 ¹²	45	Oxicloruro de cobre	+51		
			WG	2.0 x 10 ¹²	61		+63		
Manzano			WG	2.0 x 10 ¹²	46		+52		
			WP	2.5 x 10 ¹²	76		+71		
			WP	1.2 x 10 ¹²	43		+48		
			WP	2.0 x 10 ¹²	80		+72		
	<i>Stemphylium sp.</i>	Mancha marrón	WG	2.0 x 10 ¹²	87		+64	Fludioxonil	+25
			WG	2.0 x 10 ¹²	80		+70		+18
			WG	3.0 x 10 ¹²	88		+63		+26
			WP	2.5 x 10 ¹²	80		+70		+18
			WP	1.2 x 10 ¹²	77		+72		+15
			WP	3.0 x 10 ¹²	90		+62		+27
			WP	9.0 x10 ¹¹	68		+54		+5
			SC	2.0 x 10 ¹²	79		+60		+17
	<i>Hongo necrotrófico</i>	Putrefacción post-cosecha (tratamiento en campo)	WG	2.0 x 10 ¹²	79		+36	Fludioxonil	+25
			WG	2.0 x 10 ¹²	54		-1		-9
			WG	3.0 x 10 ¹²	87		+36		+32
			WP	2.5 x 10 ¹²	72		+23		+18
			WP	1.2 x 10 ¹²	67		+17		+12
			WP	2.0 x 10 ¹²	96		+42		+40
	<i>Hongo necrotrófico</i>	Putrefacción post-cosecha	WG	100gr/100l	75	<i>Aerobasidium pullulans</i>	+66	Fludioxonil	+17
			WP	50gr/100l	80		+68		+22

		(tratamiento en campo)							
Peral	<i>Monilia spp.</i>	Putrefacción marrón	WG	2.0 x 10 ¹²	82	<i>Bacillus subtilis</i>	+18	Ciprodinil Fludioxonil	-8
			WG	2.0 x 10 ¹²	70		+5		-27
			WG	3.0 x 10 ¹²	91		+26		+3
			WP	2.5 x 10 ¹²	86		+22		-2
			WP	1.2 x 10 ¹²	73		+9		-21
			WP	2.0 x 10 ¹²	88		+23		0
			WP	9.0 x10 ¹¹	60		-11		-46
			SC	4.0 x 10 ¹²	85		+21		-3
Tomate	<i>Botrytis cinerea</i>	Moho gris	WP	2.5 x 10 ¹²	40	<i>Bacillus subtilis</i>	-10	Ciprodinil Fludioxonil	-37
			WG	2.0 x 10 ¹²	62		+30		+11
			WG	2.0 x 10 ¹²	57		+22		+3
			WP	2.5 x 10 ¹²	79		+44		+30
			WP	1.2 x 10 ¹²	63		+30		+12
			WP	2.0 x 10 ¹²	82		+46		+32
			WP	9.0 x10 ¹¹	51		+13		-7
			SC	2.0 x 10 ¹²	88		+50		+37

Tabla 3b

Comparación de eficacia entre formulaciones de PT22AV y competidores de fungicidas (patógenos transmitidos por el suelo).

Aplicación única al suelo				
Cultivo huésped	Plaga	Tasa de aplicación PT22AV (UFC/g suelo)	Eficacia PT22AV (%)	Eficacia comparada con <i>Trichoderma viride</i> (%)
Tomate	<i>Rhizoctonia solani</i>	1×10^7	78	+17
	<i>Fusarium oxysporum</i>	1×10^7	74	-5
	<i>Pythium ultimum</i>	1×10^8	75	+7
Lechuga	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	1×10^7	71	-13
	<i>Fusarium oxysporum</i>	1×10^7	73	+4
	<i>Pythium ultimum</i>	1×10^8	79	+6
Melón	<i>Fusarium oxysporum</i>	1×10^7	87	+16
	<i>Pythium ultimum</i>	1×10^8	81	-4
	<i>Rhizoctonia solani</i>	1×10^8	82	+10
Berenjena	<i>Phytophthora capsici</i>	1×10^7	72	+13
	<i>Rhizoctonia solani</i>	1×10^8	85	+18
	<i>Pythium ultimum</i>	1×10^8	78	+6
Aplicación al suelo+ Riego				
Cultivo huésped	Plaga	Tasa de aplicación PT22AV (UFC/ml)	Eficacia PT22AV (%)	Eficacia comparada con <i>Trichoderma viride</i> (%)
Tomate	<i>Rhizoctonia solani</i>	5×10^6 CFU	84	+23
	<i>Fusarium oxysporum</i>		87	+10
	<i>Pythium ultimum</i>		88	+20
Lechuga	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>		91	+12
	<i>Fusarium oxysporum</i>		85	+18
	<i>Pythium ultimum</i>		85	+13
Melón	<i>Fusarium oxysporum</i>		92	+21
	<i>Pythium ultimum</i>		93	+10
	<i>Rhizoctonia solani</i>		90	+18
Berenjena	<i>Phytophthora capsici</i>		82	+23
	<i>Rhizoctonia solani</i>		88	+20
	<i>Pythium ultimum</i>		87	+16

EJEMPLO 4. Compatibilidad de *Papiliotrema terrestris* PT22AV con fungicidas y eficacia en protocolos de manejo integrado de enfermedades.

Las fórmulas microbianas basadas en *Papiliotrema terrestris* cepa PT22AV se pueden aplicar eficazmente en el manejo integrado de plagas (MIP) en combinación con ingredientes químicos activos

sintéticos. Esta posibilidad surge de la capacidad de la levadura PT22AV de tolerar los principios activos con acción fungicida, permitiendo utilizar las dos formulaciones simultáneamente o sucesivas en el tiempo (Tabla 4).

La resistencia o tolerancia de la levadura objeto de la presente invención se estableció siguiendo dos enfoques principales:

i) Los principios activos químicos sintéticos se incorporaron, en concentraciones crecientes, en un medio de crecimiento agarizado (NYDA: Caldo Nutriente 8 gr l⁻¹; Extracto de levadura 5 gr l⁻¹; Glucosa 10 gr l⁻¹; Agar 20 gr l⁻¹). Se distribuyeron suspensiones celulares de la cepa PT22AV, adecuadamente diluidas, sobre los platos de Petri que contenían el medio de crecimiento con las moléculas antifúngicas, de manera que se comparó el crecimiento del microorganismo en presencia de fungicidas con el del control negativo (NYDA sin fungicidas).

ii) Los ingredientes activos probados se disolvieron en agua destilada estéril en las concentraciones sugeridas por el fabricante. Los formulados a base de levadura PT22AV se suspendieron en estas soluciones y se incubaron a 20°C con agitación a 150 rpm durante 1 hora. Como control negativo se utilizó la suspensión de levadura en agua destilada. Las suspensiones celulares adecuadamente diluidas se inocularon en medio de agar de crecimiento (NYDA) para verificar su viabilidad.

El primer método de prueba destacó un buen nivel de resistencia de la levadura PT22AV a la mayoría de los fungicidas probados, aunque con diferentes niveles de tolerancia entre los distintos ingredientes activos probados (Tabla 4).

El segundo método de prueba permitió establecer la tolerancia a ingredientes químicos activos sintéticos en condiciones de mezcla en tanque, suponiendo un tiempo de residencia en los tanques de las máquinas pulverizadoras de una hora. En este caso, ningún fungicida probado provocó una reducción en la viabilidad de la levadura PT22AV en comparación con el control negativo. El amplio espectro de resistencia que surgió se debe a que la levadura se coloca en un estado de quiescencia determinado por el proceso de formulación y el tiempo de activación celular, luego de la rehidratación, es de aproximadamente 2 horas. En este período de tiempo, las células de levadura resisten mejor al estrés abiótico que las que están en crecimiento activo; esto permite el uso simultáneo de la levadura con todos los principios activos antifúngicos.

Tabla 4

Concentración mínima inhibidora de diferentes fungicidas contra PT22AV.

Ingrediente activo (IA)	Concentración de IA en la formulación comercial	Concentración mínima inhibitoria (mg/l)	Nivel de resistencia
Estrobilurinas			
Azoxistrobina	22.9%	1000	Resistente
Trifloxistrobina	50%	1000	Resistente
Bencimidazoles			
Benomilo	50%	1000	Resistente
Carbendazima	41.7%	1000	Resistente
Tiabendazol	41.8%	1000	Resistente
Inhibidores de esteroides			
Tebuconazol	25%	100	Sensible
Imazalil	10%	300	Sensible
Penconazol	10.2%	200	Sensible
Dicarboximida			
Procimidona	50%	1000	Resistente
Vinclozolina	50%	1000	Resistente
Ditiocarbamatos			
Mancozeb	50%	300	Sensible
Ziram	81%	500	Resistente
Fungicidas inorgánicos			
Oxicloruro de cobre	40%	500	Resistente
Azufre	80%	2000	Resistente
Fenilpirrol			
Fludioxonilo	50%	1000	Resistente
Fungicidas ensamblados			
Iprovalicarb + Oxicloruro de cobre	4.2% + 35.6%	500	Resistente

EJEMPLO 5. Actividad bioestimulante de la especie de levadura *P. terrestris*, en particular la cepa PT22AV, en plantas de cultivo.

Según la presente invención, por primera vez se demuestra la actividad bioestimulante de las especies de levadura *P. terrestris*, en particular la cepa PT22AV, en plantas de cultivo.

La cepa PT22AV se aplicó mediante aplicación radicular en cultivos de melón, fresa y lechuga como se indica en la Tabla 2 y se evaluó la actividad bioestimulante de la cepa.

Los resultados, reportados en la Tabla 5, muestran que la aplicación radical de formulaciones microbianas basadas en *P. terrestris* cepa PT22AV aumenta la biomasa de los tres cultivos ensayados (melón, fresa y lechuga), en comparación con el testigo no tratado. La estimulación producida por la aplicación radicular de la levadura PT22AV también es evidente en términos de superficie foliar y número de hojas/flores.

Tabla 5

Cultivo: MELÓN						
Tratamientos		Superficie de la hoja (cm ²)	Número de hojas	Número de flores	Peso seco del sistema radicular (gr)	Peso seco de la parte aérea (gr)
1	Control no tratado	179 (a)	8.25 (a)	4.5 (a)	2.9 (a)	1.5 (a)
2	PT22AV WP	451.75 (c)	14 (b)	7.25 (b)	4.45 (b)	2.3 (b)
3	PT22AV GT	421.75 (c)	14 (b)	7.30 (b)	4.2 (b)	2.35 (b)
4	Radifarm	299.75 (b)	12.75 (b)	7.75 (b)	3.77 (ab)	2.12 (b)
Cultivo: FRESA						
Tratamientos		Superficie de la hoja (cm ²)	Número de hojas	Número de flores	Peso seco del sistema radicular (gr)	Peso seco de la parte aérea (gr)
1	Control no tratado	344 (a)	9 (a)	2.25 (a)	2.42 (a)	-
2	PT22AV WP	868 (c)	17.75 (c)	7.75 (c)	4.3 (b)	-
3	PT22AV GT	811.75 (c)	17.25 (c)	7.5 (c)	4.17 (b)	-
4	Radifarm	508.5 (b)	14 (b)	4.75 (b)	3.85 (b)	-
Cultivo: LECHUGA						
Tratamientos		Superficie de la hoja (cm ²)	Número de hojas	Número de flores	Peso seco del sistema radicular (gr)	Peso seco de la parte aérea (gr)
1	Control no tratado	-	12.6 (a)	-	3.32 (a)	1.47 (a)
2	PT22AV WP	-	18.75 (b)	-	4.45 (b)	2.25 (b)
3	PT22AV GT	-	19.7 (b)	-	4.62 (b)	2.2 (b)
4	Radifarm	-	17.72 (b)	-	4.2 (b)	2.07 (b)

WP = Polvo humectable, WG = Gránulos dispersables en agua

Los valores marcados con las mismas letras no son estadísticamente diferentes (a P< 0.05) según la prueba de Tuckey.

EJEMPLO 6. Comparación de eficacia entre los aislados PT22AV y LS28 en tres cultivos representativos.

La eficacia de las cepas PT22AV y LS28 se comparó en ensayos de campo y postcosecha que se llevaron a cabo durante un período de 5 años (de 2016 a 2020) en Italia, en la Universidad de Molise (laboratorio de Fitopatología, Departamento de Agricultura, Medio Ambiente y Ciencias de los Alimentos), en 7 cultivos en ensayos de campo y en 4 cultivos en ensayos postcosecha, contra una amplia gama de hongos patógenos biotróficos y necrotróficos.

PT22AV y LS28 se aplicaron siguiendo el protocolo descrito en la Tabla 2. Para los ensayos de campo la eficacia se evaluó en la cosecha, mientras que en la postcosecha las mediciones se realizaron cuando en el control no tratado se obtuvo al menos un 10% de infección. Al mismo nivel de UFC (Unidades Formadoras de Colonias) por hectárea, se observó una eficacia significativamente mayor de la cepa PT22AV que de la cepa LS28. La comparación de los protocolos de aplicación entre las cepas PT22AV y LS28, con referencia a dosis, plantas de cultivo y patógenos de las plantas relevantes se muestran en la Tabla 6.

Tabla 6

Comparación de eficacia entre los aislados de PT22AV y LS28 en tres cultivos representativos

Pruebas de campo				
Cultivo	Enfermedad	Patógeno	UFC por ha	Eficacia PT22AV vs LS28 (%)
Fruta de piedra	podredumbre parda	<i>Monilia</i> spp.	1x10 ¹²	+17%
	Moho gris	<i>Botrytis cinerea</i>		+22%
Uva	mildiú polvoriento	<i>Erysiphe necator</i>	2x10 ¹²	+29%
	Moho gris	<i>Botrytis cinerea</i>	1x10 ¹²	+32%
	mildiú piloso	<i>Plasmopara viticola</i>	2x10 ¹²	+41%
	podredumbre del racimo	<i>Aspergillus</i> spp.		+17%
	Podredumbre ácida	Levaduras y bacterias		+15%
Fresa	Moho gris	<i>Botrytis cinerea</i>	1x10 ¹²	19%
Ensayos postcosecha				
Cultivo	Enfermedad	Patógeno	UFC por ha	Eficacia PT22AV vs LS28 (%)
Fruta de piedra	podredumbre parda	<i>Monilia</i> spp	5x10 ⁷	+18%
	Moho gris	<i>Botrytis cinerea</i>		+10%
Uva	Moho gris	<i>Botrytis cinerea</i>		+32
	podredumbre del racimo	<i>Aspergillus</i> spp.		+12%
	Podredumbre ácida	Levaduras y bacterias		+45%
Fresa	Moho gris	<i>Botrytis cinerea</i>		+31%

Las comparaciones análogas del solicitante han demostrado una capacidad significativamente mayor para resistir una amplia gama de estreses abióticos por parte de PT22AV en comparación con LS28 (Tabla 7). Esta mayor resistencia a factores estresantes se asocia con una mayor adaptabilidad, supervivencia y viabilidad en el medio ambiente, y con la colonización de los tejidos vegetales; estos rasgos, a su vez, están vinculados intuitivamente con la actividad de biocontrol contra patógenos de las plantas. Además, una mayor resistencia a estresores se asocia con una mayor resistencia y supervivencia durante la etapa de producción de biomasa de levadura y a los estreses por métodos de deshidratación y liofilización, pasos comunes del proceso de formulación, asegurando así la producción de una mayor cantidad de biomasa vital y de levadura activa para biocontrol. En particular, el proceso de producción de biomasa da como resultado una concentración de UFC de la cepa PT22AV que es, en promedio, un 70% mayor que la de la cepa LS28. Además, el paso de formulación sucesivo reduce aún más la concentración de UFC de LS28 de aproximadamente el 40% con respecto a la cepa PT22AV con proceso de liofilización y más del 90% con formulación de lecho fluido.

Tabla 7

Efecto del estrés sobre el crecimiento de PT22AV y LS28 en medios agarizados.

Tipo de estrés	Compuesto	Nivel de tolerancia	
		PT22AV	LS28
Oxidativo	H ₂ O ₂	+++	+
	Menadiona	++	-
	Patulina	+++	+
	Hipoclorito de sodio	+++	++
	Hidroperóxido de cumeno	+	-
Genotóxico	Radiación UV	+++	++
	Hidroxiurea	+	-
Estrés de la pared celular	Congo rojo	+++	++
	SDS	+++	+++
	Blanco calcoflúor	++	-
	Cafeína	++	+
Estrés osmótico	NaCl	+++	++
	KCl	+++	+
	Clorito de litio	+++	++

El símbolo (+++) significa altamente tolerante, (++) moderadamente tolerante, (+) poco tolerante y (-) sensible.

EJEMPLO 7. Eficacia de PT22AV contra nematodos (*Meloidogyne spp.*) en plantas de tomate.

La cepa PT22AV se ha aplicado en plantas de tomate como se describe en la Tabla 2 y se evaluó la eficacia de la cepa contra nematodos de *Meloidogyne spp.* Los resultados, presentados en la Tabla 8, muestran que cuando la cepa PT22AV se aplica como tratamiento de raíces, si bien reduce parcialmente la proliferación de nematodos, también es especialmente eficaz para limitar sus efectos nocivos, como se muestra midiendo la altura de las plantas.

Tabla 8

Eficacia de PT22AV contra nematodos (*Meloidogyne spp.*) en plantas de tomate

Momento de la aplicación		A: empapar antes del trasplante; BCD: mediante riego, con intervalo de tiempo de 7 días entre sí		
Tratamiento	Substancia activa	Rango de aplicación (g o ml/ha)	% de eficacia (transformación Abbot)	Altura promedio ©
Control no tratado	-	-	0.00b	70,68ab
PT22AV	<i>Papiliotrema terrestris</i> 3.5x10 ⁹ CFU/g	A:1000 g/100 L	14.89 b	76.10 a
		BCD: 1000 g/ha		
PT22AV	<i>Papiliotrema terrestris</i> 3.5x10 ⁹ CFU/g	A: 500 g/100 L	10.11 b	74.60 ab
		BCD: 500 g/ha		
AV-YD-20-01	Derivados de levadura 20%	10 l/ha	1.18 b	67.30 ab
BIOACT	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	A: 750 ml/ha	3.81 b	65.08 ab
		BCD: 750 ml/ha		
ERGOFERT NEMACONTROL	Extracto de fluido de levadura 42.29 %	A: 6000 ml/ha	3.72 b	63.83 b
		BCD: 3000 ml/ha		
VELUM PRIME	Fluopiram 400 g/L	625 ml/ha	47.06 a	74.45 ab

Los valores marcados con las mismas letras no son estadísticamente diferentes (a $P < 0.05$) según la prueba de Tuckey.

La presente invención ha sido descrita con fines ilustrativos, pero no limitativos, de acuerdo con sus modalidades preferidas, pero debe entenderse que los expertos en la técnica pueden realizar variaciones y/o modificaciones sin por ello apartarse del alcance relativo de protección, tal como se define de las reivindicaciones adjuntas.