

**CEPAS BACTERIANAS QUE TIENEN ACTIVIDAD FUNGICIDA, COMPOSICIONES
QUE LAS COMPRENDEN Y USO DE ESTAS**

Campo de la invención

5

La presente invención se relaciona con el campo del biocontrol de hongos patógenos de plantas, particularmente con cepas bacterianas efectivas en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades de las plantas asociadas con hongos y/u oomicetos
10 fitopatógenos; preparaciones, lisados y extractos de estos, composiciones que comprenden las mismas y su uso.

Antecedentes de la invención

15 Durante todas las etapas de desarrollo, las plantas están expuestas a una gama extremadamente amplia de condiciones de estrés biótico y abiótico que conducen a las enfermedades de las plantas. En la producción de plantas de cultivo, los daños causados por el estrés biótico, particularmente por agentes
20 patógenos, que pueden potenciarse aún más en condiciones de estrés abiótico, plantean un problema importante y afectan significativamente el rendimiento y la rentabilidad del cultivo.

Muchas enfermedades de las plantas son causadas por hongos y oomicetos patógenos de plantas, y los daños anuales en el rendimiento de las plantas de cultivo monocotiledóneas y dicotiledóneas ascienden a miles de millones de dólares solo en EE. UU. Por ejemplo, los síntomas de tizón de plántulas de *Fusarium* son causados por varias especies de *Fusarium*, particularmente *Fusarium oxysporum* y *Fusarium graminearum*, que causan la enfermedad en plántulas de tomate y maíz, respectivamente. *Fusarium verticillioides* causa la enfermedad de la pudrición de la espiga en el maíz, particularmente, cuando las plantas de maíz se exponen a clima seco cálido temprano en la temporada de crecimiento, seguido de clima húmedo durante el desarrollo de la mazorca. *Botrytis cinerea* causa la enfermedad del moho gris en las frutas de tomate, uvas y muchas otras frutas y bayas.

Pythium spp. (*P. aphanidermatum*, *P. irregulare*, *P. ultimum*, y otros) son oomicetos que pueden afectar a un amplio rango de plantas de cultivo, particularmente cultivos de invernadero, y causan secadera previa y posterior a la emergencia, así como podredumbre de la raíz. La secadera previa a la emergencia se produce cuando las semillas se infectan antes de la germinación. Esto puede dar como resultado poca o ninguna germinación, y se puede observar como coloración café o podredumbre de las semillas

y la raíz. La secadera posterior a la emergencia tiene lugar después de la germinación, y da como resultado un tallo que se afina y que está empapado en agua cerca del cuello de la planta, lo que eventualmente causa el colapso de la planta. Los síntomas
5 de la podredumbre de la raíz incluyen el crecimiento deficiente, las hojas cloróticas, la caída de hojas y el marchitado.

El mildiú vellosa es una de las enfermedades más graves de la vid (*Vitis vinifera*) en el mundo. Es causada por el oomiceto
10 biotrófico *Plasmopara viticola*, que puede atacar todas las partes verdes de la vid. Actualmente no se dispone de soluciones biológicas efectivas contra esta enfermedad, y los tratamientos químicos ofrecen solo una protección parcial.

15 Los patógenos de hongos y oomicetos se controlan generalmente mediante el uso de productos químicos sintéticos (por ejemplo, fungicidas). Sin embargo, aunque estos productos químicos pueden ser efectivos, los productos químicos sintéticos aumentan los costos de producción agrícola y, además, suelen ser tóxicos para
20 los animales y los seres humanos y tienen efectos nocivos para el medio ambiente. Además, la resistencia de los patógenos a tales productos químicos está aumentando como resultado del uso excesivo. En algunos países, ciertos fungicidas o productos químicos antioomicetos han sido restringidos o prohibidos por

estas y otras razones. Por lo tanto, existe un interés creciente en desarrollar métodos y composiciones de control que no dependan de fungicidas o compuestos antioomicetos químicos sintéticos tóxicos, o que reduzcan el uso de tales productos químicos.

5

Los agentes de biocontrol típicamente son microorganismos, tales como bacterias o uno o más productos de estas que se aplican a una planta o una parte de esta, o al hábitat de la planta, para controlar un patógeno. Los agentes de biocontrol son buenos
10 candidatos para reemplazar a los fungicidas/compuestos antioomicetos tóxicos. Por ejemplo, la publicación de solicitud de patente internacional (PCT) núm. WO 2014/173906 describe una cepa bacteriana novedosa, *Lysobacter capsici*, y los usos de esta para la protección de plantas, particularmente para proteger a
15 las plantas de hongos y/u oomicetos patógenos. La invención también se relaciona con el uso combinado de composiciones que comprenden cobre (tales como productos de protección de plantas que contienen cobre) y la bacteria *Lysobacter capsici* para tratar tales patógenos.

20

La publicación de solicitud de patente internacional (PCT) N.º WO 2016/156164 describe la cepa CECT8836 de *Bacillus amyloliquefaciens* y mutantes de esta, y el uso de dicha cepa, extractos de esta y composiciones que la comprenden como

plaguicida para el control de enfermedades de las plantas causadas por hongos y bacterias.

Sin embargo, existe una cantidad limitada de agentes de biocontrol disponibles en el comercio. Además, los agentes de biocontrol más conocidos están limitados al control de fitopatógenos únicos en su efecto conocido y/o su uso práctico. Por estas y otras razones, aún existe la necesidad de composiciones que contengan agentes de biocontrol para el control de un amplio espectro de hongos y/u oomicetos patógenos.

Breve descripción de la invención

La presente invención responde a la necesidad de agentes de biocontrol seguros que puedan proteger a las plantas, particularmente las plantas de cultivo, de enfermedades causadas por hongos y/u oomicetos patógenos. La presente invención proporciona cepas bacterianas que muestran una actividad inesperadamente efectiva en la lucha contra una amplia gama de hongos y/u oomicetos fitopatógenos y combinaciones de estos. En ciertos aspectos, la presente invención proporciona una cepa bacteriana modificada que tiene una actividad antifúngica/antioomiceto mejorada obtenida mediante la evolución dirigida. La presente invención proporciona además preparaciones

de las cepas bacterianas, lisados, extractos, caldos de células completas, composiciones que las comprenden y usos de estas. En ciertos aspectos, la presente invención proporciona métodos para conferir o mejorar la resistencia de las plantas a un amplio espectro de hongos y/u oomicetos patógenos, que comprenden poner en contacto las plantas, o el entorno inmediato de las plantas, con la cepa bacteriana o una combinación de cepas bacterianas.

De acuerdo con un aspecto, la presente invención proporciona una cepa bacteriana aislada o un homólogo funcional de esta, en donde la cepa bacteriana aislada se selecciona del grupo que consiste en:

- (1) cepa LAV58567, la cepa se selecciona del grupo que consiste en
 - a. una cepa depositada con el número de acceso 43954 en NCIMB;
 - b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 5;
 - c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 36-38;y cualquier combinación de estas;

(2) cepa LAV104662, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa depositada con el número de acceso 43955 en NCIMB;

5 b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 4;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 33-35;

y cualquier combinación de estas;

(3) cepa LAV104858, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

15 a. una cepa depositada con el número de acceso 43956 en NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 3;

20 c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 30-32;

y cualquier combinación de estas;

(4) cepa LAV104632, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa depositada con el número de acceso 43957 en NCIMB;

5 b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 2;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos
10 establecida en la sec. con núm. de ident.: 29;
y cualquier combinación de estas;

(5) cepa LAV104629, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa depositada con el número de acceso 43958 en
15 NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 1;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico
20 que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 27-28;
y cualquier combinación de estas;

(6) cepa LAV1000636, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa depositada con el número de acceso 43964 en NCIMB;

5 b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 6;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos
10 establecida en la sec. con núm. de ident.: 39;
y cualquier combinación de estas;

(7) cepa LAV1000506, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa depositada con el número de acceso 43965 en
15 NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 7;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico
20 que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 40-42;
y cualquier combinación de estas;

(8) cepa LAV1005101, la cepa se selecciona del grupo que consiste en:

a. una cepa depositada con el número de acceso 43959 en NCIMB;

5 b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 13;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 62-66;

y cualquier combinación de estas;

(9) cepa LAV1001107, la cepa se selecciona del grupo que consiste en:

15 a. una cepa depositada con el número de acceso 43960 en NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 12;

20 c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 57-61;

y cualquier combinación de estas;

(10) cepa LAV1001081, la cepa se selecciona del grupo que consiste en:

a. una cepa depositada con el número de acceso 43961 en NCIMB;

5 b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 11;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos
10 establecida en la sec. con núm. de ident.: 56;
y cualquier combinación de estas;

(11) cepa LAV1000847, la cepa se selecciona del grupo que consiste en:

a. una cepa depositada con el número de acceso 43962 en
15 NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 9;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico
20 que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 48-50;
y cualquier combinación de estas;

(12) cepa LAV1000965, la cepa se selecciona del grupo que consiste en:

a. una cepa depositada con el número de acceso 43963 en NCIMB;

5 b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 8;

10 c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 43-47;

y cualquier combinación de estas;

(13) cepa LAV1000933, la cepa se selecciona del grupo que consiste en:

15 a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 10;

20 b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 51-55;

y una combinación de estas;

(14) cepa LAV104661, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 14;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácido nucleico establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 67-68;
y una combinación de estas;

(15) cepa LAV104665, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 15;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 69-71;
y una combinación de estas;

(16) cepa LAV104794, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 16;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 72-74;

5 y una combinación de estas;

(17) cepa LAV104618, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida
10 en la sec. con núm. de ident.: 17;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 75-77;

15 y una combinación de estas;

(18) cepa LAV104692, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida
20 en la sec. con núm. de ident.: 18;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácido nucleico establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 78-80;

y una combinación de estas;

(19) cepa LAV104891, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que
5 comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida
en la sec. con núm. de ident.: 19;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico
que comprende la secuencia de ácido nucleico
establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de
10 ident.: 81-83;

y una combinación de estas;

(20) cepa LAV104630, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que
15 comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida
en la sec. con núm. de ident.: 20;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico
que comprende la secuencia de ácido nucleico
establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de
20 ident.: 84-85;

y una combinación de estas;

(21) cepa LAV104664, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 21;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácido nucleico establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 86-88;
y una combinación de estas;

(22) cepa LAV104922, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 22;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácido nucleico establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 89-91;
y una combinación de estas;

(23) cepa LAV59524, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 23;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 92-94;

5 y una combinación de estas;

(24) cepa LAV104961, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida
10 en la sec. con núm. de ident.: 25;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 95-97;

15 y una combinación de estas;

(25) cepa LAV104960, la cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 24; y

20 (26) cepa LAV104533, la cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 26.

Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV58567 es del
5 género *Lysobacter*.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV104662 es del género *Sphingobium*.

10 De acuerdo con determinadas modalidades, las cepas LAV104858, LAV1000636, LAV1001107, LAV1000847, LAV1000965, LAV104665, LAV104794, y LAV104664, cada una es del género *Pseudomonas*.

De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas LAV104632 y
15 LAV59524, cada una es del género *Bacillus*.

De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas LAV104629 y LAV104692, cada una es del género *Pantoea*.

20 De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV1000506 es del género *Gordonia*.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV1005101 es del género *Pseudoxanthomonas*.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV1001081 es del género *Rahnella*.

- 5 De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV1000933 es del género *Paenibacillus*.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV104661 es del género *Erwinia*.

10

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV104618 es del género *Ensifer*.

- De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas LAV104891 y
15 LAV104922, cada una es del género *Acinetobacter*.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV105630 es del género *Enterobacter*.

- 20 De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas LAV104960 y LAV104961, cada una es del género *Streptomyces*.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV104533 es del género *Actinokneospora*.

Debe entenderse explícitamente que la especie de una cepa bacteriana de la invención como se describe en la presente descripción se clasifica a las especies más conocidas de acuerdo con dicha caracterización de especies como se conoce en la técnica.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV58567 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 5; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 36-38 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

15

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104662 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 4; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 33-35 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

20

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104858 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97.9 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 3; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local
5 con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 30-32 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la
10 cepa bacteriana LAV104632 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 2; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 29 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de
15 estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104629 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 1; al menos un
20 marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 27-28 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV1000636 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 98.7 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 6; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 39 con más de 90 % de cobertura, o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV1000506 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 7; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 40-42 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV1005101 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 13; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 62-66 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV10011071 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 12; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local
5 con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 57-61 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la
10 cepa bacteriana LAV1001081 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 11; un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 56 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de
15 estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV1000847 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 99.5 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 9; al menos
20 un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 48-50 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV1000965 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97.6 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 8; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local
5 con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 43-47 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la
10 cepa bacteriana LAV1000933 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 10; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 51-55 con más de 90 % de
15 cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104661 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 14; al menos un
20 marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 67-68 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104665 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 15; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con
5 una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 69-71 más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la
10 cepa bacteriana LAV104794 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 16; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 72-74 con más de 90 % de
15 cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104618 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97.1 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 17; al menos
20 un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 75-77 con más de 90 % de cobertura.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104692 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 18; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con
5 una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 78-80 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la
10 cepa bacteriana LAV104891 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 19; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 81-83 con más de 90 % de
15 cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104630 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 20; al menos un
20 marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 84-85 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104664 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 21; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 86-88 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104922 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 22; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 89-91 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV59524 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 23; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 92-94 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104961 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 25; al menos un marcador genómico que tiene al menos 95 % de identidad local con una secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 95-97 con más de 90 % de cobertura; o una combinación de estos.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104960 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97.9 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 24.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional de la cepa bacteriana LAV104533 comprende una secuencia de 16S-rARN al menos 97 % idéntica a la sec. con núm. de ident.: 26.

De acuerdo con determinadas modalidades, un homólogo funcional de una cepa bacteriana de la invención se caracteriza por tener sustancialmente la misma orientación de secuencia codificante y/o no codificante que la de la cepa bacteriana de la invención.

Debe entenderse explícitamente que la presente invención abarca una bacteria de las cepas bacterianas o las cepas de homólogos

funcionales de estas, así como una bacteria derivable de las cepas bacterianas o las cepas de homólogos funcionales de estas.

De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas bacterianas, las
5 cepas de homólogos funcionales y la bacteria derivada de estas se caracterizan por una capacidad para inhibir el crecimiento y/o el desarrollo y/o la actividad de al menos un hongo y/u oomiceto patógeno de plantas.

10 De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, el homólogo funcional y la cepa de la invención pertenecen a la misma especie.

De acuerdo con determinadas modalidades ilustrativas, la cepa
15 aislada es LAV58567 o un homólogo funcional de esta, en donde cada uno de la cepa y el homólogo funcional de esta es efectiva para inhibir el crecimiento y/o el desarrollo y/o la actividad de al menos un hongo y/u oomiceto patógeno, y/o para proteger una planta de al menos un hongo y/u oomiceto patógeno.

20

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención proporciona una preparación bacteriana que comprende una pluralidad de bacterias de al menos una cepa bacteriana seleccionada del grupo que consiste en LAV58567, LAV104662, LAV104858, LAV104632,

LAV104629, LAV1000636, LAV1000506, LAV1005101, LAV1001107,
LAV1001081, LAV1000847, LAV1000965, LAV1000933, LAV104661,
LAV104665, LAV104794, LAV104618, LAV104692, LAV104891, LAV104630,
LAV104664, LAV104922, LAV59524, LAV104961, LAV104960, LAV104533,

5 y homólogos funcionales de estos, en donde la cepa bacteriana o
el homólogo funcional de esta es efectiva para inhibir el
crecimiento y/o el desarrollo y/o la actividad de al menos un
hongo y/u oomiceto patógeno, y/o para proteger una planta de al
menos un hongo y/u oomiceto patógeno. Cada posibilidad representa
10 una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional es un
homólogo de la cepa LAV58567, LAV104662, LAV104632, LAV104629,
LAV1000506, LAV1005101, LAV10011071, LAV1001081, LAV1000933,
15 LAV104661, LAV104665, LAV104794, LAV104692, LAV104891, LAV104630,
LAV104664, LAV104922, LAV59524, LAV104961, o LAV104533. Cada
posibilidad representa una modalidad particular de la presente
invención.

20 De acuerdo con ciertas modalidades, la preparación bacteriana
comprende un medio de cultivo. Los medios de cultivo adecuados
para el crecimiento de los diversos géneros y especies
bacterianos de acuerdo con las enseñanzas de la presente
invención son conocidos por una persona experta en la técnica. De

acuerdo con determinadas modalidades, la cepa bacteriana o el homólogo funcional de esta está presente en la preparación a una concentración que excede la encontrada en la naturaleza. De acuerdo con algunas modalidades, la preparación bacteriana
5 comprende cepas microbianas y/o cepas bacterianas adicionales que no son las cepas bacterianas de la invención.

De acuerdo con determinadas modalidades ilustrativas, la preparación bacteriana comprende una pluralidad de bacterias de
10 una única cepa bacteriana de la invención, en donde dicha preparación carece de otras cepas bacterianas y/o especies microbianas. De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas adicionales, la preparación comprende una pluralidad de cepas de la presente invención, en donde dicha preparación carece de otras
15 especies microbianas.

De acuerdo con ciertas modalidades, la preparación bacteriana comprende células bacterianas viables (capaces de replicarse). De acuerdo con algunas modalidades, las células viables están en una
20 forma latente. De acuerdo con otras modalidades, la preparación bacteriana comprende formas no viables de las cepas bacterianas de la invención.

De acuerdo con determinados aspectos adicionales, la presente invención proporciona un lisado de al menos una cepa bacteriana de la invención o los homólogos funcionales de esta. De acuerdo con ciertas modalidades, el lisado es de una única cepa. De acuerdo con algunas modalidades, el lisado comprende un lisado de células completas de las células bacterianas. De acuerdo con algunas modalidades, el lisado comprende una fracción soluble de las células bacterianas. De acuerdo con algunas modalidades, el lisado comprende cuerpos de inclusión de una preparación bacteriana.

De acuerdo con determinados aspectos adicionales, la presente invención proporciona un extracto celular de al menos una cepa bacteriana de la invención o los homólogos funcionales de esta.

De acuerdo con aun otro aspecto adicional, la presente invención proporciona un caldo de células completas recolectadas para la fermentación de al menos una cepa bacteriana de la invención o los homólogos funcionales de esta.

De acuerdo con ciertas modalidades, el lisado, el extracto o el caldo se obtiene de una pluralidad de las células bacterianas. De acuerdo con ciertas modalidades, el lisado, el extracto o el caldo es de células bacterianas de la misma especie y/o cepa

bacteriana. De acuerdo con ciertas modalidades, el lisado, el extracto o el caldo es de células bacterianas de especies y/o cepas diferentes.

- 5 La cepa bacteriana y los homólogos funcionales de esta son los descritos anteriormente en la presente.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención proporciona una composición agrícola que comprende una pluralidad de bacterias de al menos una cepa bacteriana seleccionada del grupo
10 que consiste en LAV58567, LAV104662, LAV104858, LAV104632, LAV104629, LAV1000636, LAV1000506, LAV1005101, LAV1001107, LAV1001081, LAV1000847, LAV1000965, LAV1000933, LAV104661, LAV104665, LAV104794, LAV104618, LAV104692, LAV104891, LAV104630,
15 LAV104664, LAV104922, LAV59524, LAV104961, LAV104960, LAV104533, y homólogos funcionales de estas; una preparación de estas, un lisado, un caldo o un extracto de estos. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención. De acuerdo con determinadas modalidades ilustrativas, la composición
20 agrícola comprende además un diluyente o portador aceptable desde el punto de vista agrícola.

De acuerdo con otros aspectos adicionales, la presente invención proporciona uso de una pluralidad de al menos una cepa bacteriana

seleccionada del grupo que consiste en LAV58567, LAV104662, LAV104858, LAV104632, LAV104629, LAV1000636, LAV1000506, LAV1005101, LAV1001107, LAV1001081, LAV1000847, LAV1000965, LAV1000933, LAV104661, LAV104665, LAV104794, LAV104618, 5 LAV104692, LAV104891, LAV104630, LAV104664, LAV104922, LAV59524, LAV104961, LAV104960, LAV104533, y homólogos funcionales de estas; una preparación de estas, un lisado, un caldo o un extracto de estas, para la producción de una composición agrícola. Cada posibilidad representa una modalidad particular de 10 la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional es un homólogo de la cepa LAV58567, LAV104662, LAV104632, LAV104629, LAV1000506, LAV1005101, LAV10011071, LAV1001081, LAV1000933, 15 LAV104661, LAV104665, LAV104794, LAV104692, LAV104891, LAV104630, LAV104664, LAV104922, LAV59524, LAV104961, o LAV104533. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

20 De acuerdo con determinadas modalidades, la composición agrícola comprende una combinación de al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco o más cepas bacterianas distintas y/u homólogos funcionales de estas. De acuerdo con algunas modalidades, la composición agrícola comprende un lisado, un

extracto o un caldo obtenido a partir de una combinación de al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco o más cepas bacterianas distintas y/u homólogos funcionales de estas.

- 5 De acuerdo con ciertas modalidades, la composición agrícola es un producto de protección de plantas efectiva para prevenir o tratar al menos una enfermedad de las plantas causada por un hongo patógeno y/u oomiceto.
- 10 De acuerdo con ciertas modalidades, la composición agrícola comprende además al menos un agente activo adicional seleccionado del grupo que consiste en un fertilizante, un acaricida, un bactericida, un fungicida adicional, un insecticida, un microbicida, un nematocida, un plaguicida, un regulador del
- 15 crecimiento vegetal, un rodenticida, un nutriente y cualquier combinación de estos. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención. De acuerdo con ciertas modalidades, el al menos un agente activo adicional es un agente sintético.

20

La composición agrícola puede formularse en cualquier forma adecuada para aplicar la composición a una planta o una parte de esta o al hábitat de la planta como se conoce en la técnica. De acuerdo con ciertas modalidades, la composición agrícola se

formula en una forma seleccionada del grupo que consiste en una emulsión, un coloide, un polvillo, un gránulo, un pélet, un polvo, un aerosol, una forma presurizada, una forma presurizable y una solución. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, la formulación comprende además al menos uno de un estabilizador, un agente de pegajosidad, un conservante, un portador, un tensioactivo y una combinación de estos. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, la formulación es sustancialmente estable durante al menos 30 días a un rango de temperatura de aproximadamente 4 °C a aproximadamente 37 °C. De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, la formulación es sustancialmente estable a un rango de temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 25 °C durante más de 30 días. De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas adicionales, la formulación es sustancialmente estable a un rango de temperatura de aproximadamente 2-8 °C, por lo general a 4 °C, durante al menos 30 días.

De acuerdo con algunas modalidades, la formulación está en una forma seleccionada del grupo que consiste en líquido, sólido, semisólido, gel o polvo. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

5

De acuerdo con ciertas modalidades, el portador es una semilla de planta. De acuerdo con estas modalidades, la presente invención proporciona una composición agrícola que comprende al menos una semilla de una planta y al menos una cepa bacteriana seleccionada
10 del grupo que consiste en LAV58567, LAV104662, LAV104858, LAV104632, LAV104629, LAV1000636, LAV1000506, LAV1005101, LAV1001107, LAV1001081, LAV1000847, LAV1000965, LAV1000933, LAV104661, LAV104665, LAV104794, LAV104618, LAV104692, LAV104891, LAV104630, LAV104664, LAV104922, LAV59524, LAV104961, LAV104960,
15 LAV104533, LAV100930 y homólogos funcionales de estas; una preparación de estas, un lisado, un caldo o un extracto de estos. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

20 De acuerdo con determinadas modalidades ilustrativas, la cepa es LAV58567 y/o un homólogo funcional de esta.

De acuerdo con ciertas modalidades actualmente ilustrativas, la composición agrícola está en forma de recubrimiento de semillas.

De acuerdo con estas modalidades, la formulación de recubrimiento de semillas comprende además al menos un agente seleccionado del grupo que consiste en un agente aglutinante y un agente humectante. De acuerdo con determinadas modalidades ilustrativas,
5 el agente de unión es carboximetilcelulosa (CMC).

De acuerdo con otros aspectos adicionales, la presente invención proporciona una semilla recubierta con una composición agrícola que comprende al menos una cepa bacteriana, un lisado, un
10 extracto o un caldo de estos como se describe en la presente descripción.

De acuerdo con ciertos aspectos, la presente invención proporciona un recipiente adaptado para un sistema de riego de un
15 campo de plantas, que comprende una composición agrícola que comprende al menos una cepa bacteriana, un lisado, un extracto o un caldo de este como se describe en la presente.

De acuerdo con ciertos aspectos, la presente invención
20 proporciona un kit que comprende (i) una composición agrícola que comprende al menos una cepa bacteriana, un lisado, un extracto o un caldo de este como se describe en la presente descripción, opcionalmente (ii) un sistema de administración para aplicar la composición agrícola a una planta o una parte de esta o al medio

de crecimiento vegetal y (iii) instrucciones para usar la composición agrícola.

De acuerdo con determinadas modalidades, las instrucciones para
5 usar la composición agrícola comprenden instrucciones para las cantidades y la frecuencia de aplicación de la composición agrícola para conferir o mejorar la resistencia de la planta hacia hongos y/u oomicetos patógenos o para proteger la planta de una enfermedad causada por los hongos y/u oomicetos patógenos.

10

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para mejorar y/o conferir resistencia de una planta o una parte de esta a al menos una enfermedad causada por un hongo y/u oomiceto fitopatógeno, que comprende poner en
15 contacto la planta, parte de esta o el hábitat de la planta con al menos una cepa bacteriana seleccionada del grupo que consiste en LAV58567, LAV104662, LAV104858, LAV104632, LAV104629, LAV1000636, LAV1000506, LAV1005101, LAV1001107, LAV1001081, LAV1000847, LAV1000965, LAV1000933, LAV104661, LAV104665,
20 LAV104794, LAV104618, LAV104692, LAV104891, LAV104630, LAV104664, LAV104922, LAV59524, LAV104961, LAV104960, LAV104533, y los homólogos funcionales de estas; una preparación de estas, un lisado de estas, un extracto de estas, un caldo obtenido de estas

o una composición que las comprende. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con determinadas modalidades ilustrativas, la cepa
5 bacteriana es LAV58567 y/o un homólogo funcional de esta.

De acuerdo con ciertas modalidades, la planta es susceptible a la al menos una enfermedad causada por el hongo fitopatógeno y/o el oomiceto. De acuerdo con algunas modalidades, el método comprende
10 además identificar una planta que sea susceptible a la al menos una enfermedad causada por el hongo fitopatógeno y/o el oomiceto antes de poner en contacto dicha planta, una parte de esta o el hábitat de la planta con la al menos una cepa bacteriana, un homólogo funcional de esta, una preparación de esta, un lisado de
15 esta o una composición que la comprende.

De acuerdo con aun un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para prevenir o tratar una enfermedad de las plantas causada por un hongo y/u oomiceto fitopatógeno, que
20 comprende poner en contacto una planta, una parte de esta o el hábitat de la planta con al menos una cepa bacteriana seleccionada del grupo que consiste en LAV58567, LAV104662, LAV104858, LAV104632, LAV104629, LAV1000636, LAV1000506, LAV1005101, LAV1001107, LAV1001081, LAV1000847, LAV1000965,

LAV1000933, LAV104661, LAV104665, LAV104794, LAV104618,
LAV104692, LAV104891, LAV104630, LAV104664, LAV104922, LAV59524,
LAV104961, LAV104960, LAV104533, y los homólogos funcionales de
estas, una preparación de estas, un lisado de estas, un extracto
5 de estas, un caldo obtenido de estas o una composición que las
comprende. Cada posibilidad representa una modalidad particular
de la presente invención.

De acuerdo con determinadas modalidades ilustrativas, la cepa
10 bacteriana es LAV58567 y/o un homólogo funcional de esta.

De acuerdo con ciertas modalidades, la planta se ve afectada por
la enfermedad causada por el hongo fitopatógeno y/o el oomiceto.
De acuerdo con algunas modalidades, el método comprende además
15 identificar los síntomas de la enfermedad dentro de la planta
antes de poner en contacto la planta, una parte de esta o el
hábitat de la planta con la al menos una cepa bacteriana, un
homólogo funcional de esta, una preparación de esta, un lisado o
extracto de esta, un caldo obtenido a partir de esta o una
20 composición que la comprende.

Las cepas bacterianas son las descritas anteriormente en la
presente descripción. De acuerdo con ciertas modalidades, los
métodos de la presente invención comprenden poner en contacto la

planta, una parte de esta, o el hábitat de la planta con al menos un homólogo funcional de las cepas LAV58567, LAV104662, LAV104858, LAV104632, LAV104629, LAV1000506, LAV1005101, LAV1001107, LAV1001081, LAV1000847, LAV1000933, LAV104661, 5 LAV104665, LAV104794, LAV104618, LAV104692, LAV104891, LAV104630, LAV104664, LAV104922, LAV59524, LAV104961, LAV104960, y LAV104533, como se describe en la presente descripción, preparaciones de estas, lisados de estas, extracto de estas, caldo obtenido de estas o una composición que las comprende.

10

De acuerdo con ciertas modalidades, la parte de la planta se selecciona del grupo que consiste en una semilla, una raíz, un brote, una hoja, una rama, una flor, un fruto y cualquier combinación de estos. Cada posibilidad representa una modalidad 15 particular de la presente invención.

20

Cualquier método como se conoce en la técnica para poner en contacto cepas bacterianas con una planta, parte de esta o el hábitat de la planta puede usarse de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención. Generalmente, la planta o parte de esta se pone en contacto con una composición que comprende las cepas bacterianas, los homólogos funcionales de estas o las preparaciones de estas. De acuerdo con algunas modalidades, la composición puede aplicarse al hábitat de la planta. De acuerdo

con determinadas modalidades, el hábitat de la planta es un medio de crecimiento, que puede ser un medio de crecimiento sólido o líquido. De acuerdo con determinadas modalidades ilustrativas, el medio de crecimiento sólido es suelo.

5

De acuerdo con ciertas modalidades, la composición se formula en forma líquida. De acuerdo con estas modalidades, la planta o parte de esta puede ponerse en contacto con la composición mediante un método seleccionado del grupo que consiste en
10 infiltración, inmersión/sumersión, incubación, pulverización y cualquier combinación de estos. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, la parte de la
15 planta es una semilla. De acuerdo con ciertas modalidades, la al menos una cepa bacteriana de acuerdo con las enseñanzas de la invención se aplica a la semilla mediante recubrimiento de semillas.

20 De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo adicionales o alternativas, la parte de la planta es una hoja. De acuerdo con algunas modalidades, la al menos una cepa bacteriana se aplica a la hoja al pulverizar o espolvorear una preparación bacteriana o

una composición que la comprende de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, la parte de la
5 planta es una raíz y la puesta en contacto se realiza mediante
sumersión o inmersión.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, la cepa
bacteriana se aplica a un rango de concentración de
10 aproximadamente de 10^2 CFU/ml a aproximadamente 10^{10} CFU/ml de la
preparación bacteriana o la composición agrícola. De acuerdo con
algunas modalidades ilustrativas, la cepa bacteriana se aplica a
las semillas a un rango de concentración de aproximadamente de
 10^2 CFU/semilla a aproximadamente 10^{10} CFU/semilla. De acuerdo con
15 ciertas modalidades de ejemplo, la cepa bacteriana se aplica a un
rango de concentración de aproximadamente 10^7 CFU/ml a
aproximadamente 10^8 CFU/ml de la preparación bacteriana o la
composición agrícola o de 10^7 CFU a aproximadamente 10^8 CFU por
semilla.

20

De acuerdo con ciertos aspectos, la presente invención
proporciona una cepa bacteriana modificada que tiene una
capacidad mejorada para conferir o mejorar la resistencia de una
planta hacia hongos y/u oomicetos patógenos, o para proteger la

planta de una enfermedad causada por los hongos y/u oomicetos patógenos en comparación con una cepa bacteriana no modificada correspondiente. De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas actualmente, la cepa bacteriana modificada es un organismo no modificado genéticamente (No-GMO). De acuerdo con determinadas modalidades ilustrativas, la cepa bacteriana modificada es LAV58567.

De acuerdo con ciertos aspectos adicionales, la presente invención proporciona un método para obtener una cepa bacteriana modificada que tiene una capacidad mejorada para conferir o mejorar la resistencia de una planta hacia hongos y/u oomicetos patógenos, o para proteger la planta de una enfermedad causada por los hongos y/u oomicetos patógenos en comparación con una cepa bacteriana no modificada parental, que comprende:

- (a) cultivar una cepa bacteriana parental que tiene una capacidad de conferir o mejorar la resistencia de una planta hacia hongos y/o oomicetos patógenos, o para proteger la planta de una enfermedad causada por los hongos y/u oomicetos patógenos en condiciones adecuadas para expandir una población de la cepa bacteriana y permitir el desarrollo de al menos un mutante bacteriano; y

(b) seleccionar el al menos un mutante bacteriano resultante de la etapa (a) para una capacidad mejorada para conferir o mejorar la resistencia de una planta hacia los hongos y/u oomicetos patógenos, o para proteger la planta de una enfermedad causada por dichos hongos y/u oomicetos patógenos,

y así obtener la cepa bacteriana modificada que tiene la capacidad mejorada para conferir o mejorar la resistencia de una planta hacia dichos hongos y/u oomicetos patógenos, o para proteger la planta de una enfermedad causada por dichos hongos y/u oomicetos patógenos en comparación con la cepa bacteriana parental no modificada.

De acuerdo con determinadas modalidades, la cepa bacteriana parental no modificada es una cepa de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, el hongo fitopatógeno es de un género seleccionado del grupo que consiste en *Fusarium*, *Botrytis*, *Erysiphe*, *Aspergillus*, y *Rhizopus*. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con determinadas modalidades, el hongo fitopatógeno es de una especie seleccionada del grupo que consiste en *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium oxysporum*,

Botrytis cinerea, *Erysiphe necator*, *Aspergillus niger*, y *Rhizopus stolonifera*. De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, el hongo fitopatógeno se selecciona del grupo que consiste en *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides*, y *Botrytis*
 5 *cinerea*. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, el oomiceto es de un género seleccionado del grupo que consiste en *Plasmopara*, *Pythium*,
 10 *Phytophthora*, y *Pseudoperonospora*. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, el oomiceto es de una especie seleccionada del grupo que consiste en *Plasmopara viticola*,
 15 *Pythium aphanidermatum* y *Pythium irregularidad*. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, el hongo patógeno es *Fusarium graminearum*, y la cepa bacteriana se selecciona del grupo que
 20 consiste en LAV104794, LAV104632, LAV104664, LAV104630, LAV104891, LAV104922, LAV59524, LAV58567, LAV1000965, LAV1000847, LAV1000933, LAV1001081, LAV1001107, LAV1005101, homólogos funcionales de estos y cualquier combinación de estos. Cada

posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, el hongo
5 patógeno es *Fusarium verticillioides*, y la cepa bacteriana se
selecciona del grupo que consiste en LAV104794, LAV104661,
LAV104662, LAV104629, LAV104665, LAV104664, LAV104692, LAV104630,
LAV104618, LAV104891, LAV104922, LAV59524, LAV104960, LAV104961
LAV58567, LAV1000965, LAV1000847, LAV1000933, LAV1001081,
10 LAV1001107, LAV1005101, homólogos funcionales de estas y
cualquier combinación de estas. Cada posibilidad representa una
modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, el hongo
15 patógeno es *Botrytis cinerea*, y la cepa bacteriana se selecciona
del grupo que consiste en LAV104794, LAV104661, LAV104662,
LAV104632, LAV104665, LAV104858, LAV104692 LAV104630, LAV104618,
LAV104891, LAV104922, LAV59524, LAV104960, LAV104961, LAV1000965,
LAV1000847, LAV1000933, LAV1001081, LAV1001107, LAV1005101,
20 homólogos funcionales de estas y cualquier combinación de estas.
Cada posibilidad representa una modalidad particular de la
presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, el oomiceto patógeno es *Pythium aphanidermatum*, y la cepa bacteriana se selecciona del grupo que consiste en LAV104794, LAV104629, LAV104665, LAV104858, LAV104664, LAV104692, LAV104630, LAV104891, LAV104922, LAV59524, LAV104961, LAV58567, LAV104661, LAV104662, LAV104632, LAV104618, LAV1000965, LAV1000847, LAV1000933, LAV1001081, LAV1001107, LAV1005101, homólogos funcionales de estas y cualquier combinación de estas. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

10

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, el oomiceto patógeno es *Pythium irregulare*, y la cepa bacteriana se selecciona del grupo que consiste en LAV104661, LAV104662, LAV104632, LAV104629, LAV104665, LAV104664, LAV104630, LAV104618, LAV1000506, LAV1000636, LAV1000847, LAV1000933, LAV1001081, LAV1001107, y LAV1005101, homólogos funcionales de estas y cualquier combinación de estas. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

20

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, el oomiceto patógeno es *Plasmopara viticola*, y la cepa bacteriana se selecciona del grupo que consiste en LAV59524, LAV104960, LAV104961, LAV104533, y LAV58567, homólogos funcionales y

cualquier combinación de estas. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, la planta es de una familia
 5 seleccionada del grupo que consiste en *Actinidiaceae*,
Amaranthaceae, *Anacardiaceae*, *Apiaceae*, *Apocynaceae*, *Araceae*,
Araliaceae, *Arecaceae*, *Asteraceae*, *Begoniaceae*, *Brassicaceae*,
Cactaceae, *Cannabaceae*, *Cannaceae*, *Caprifoliaceae*,
Caryophyllaceae, *Casuarinaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cucurbitaceae*,
 10 *Cyperaceae*, *Ericaceae*, *Euphorbiaceae*, *Fabaceae*, *Geraniaceae*,
Gesneriaceae, *Ginkgoaceae*, *Hydrangeaceae*, *Iridaceae*,
Juglandaceae, *Lamiaceae*, *Magnoliaceae*, *Malvaceae*, *Moraceae*,
Musaceae, *Myrtaceae*, *Oleaceae*, *Papaveraceae*, *Passifloraceae*,
Pedaliaceae, *Piperaceae*, *Platanaceae*, *Poaceae*, *Poaceae*,
 15 *Polygonaceae*, *Portulacaceae*, *Proteaceae*, *Punicaceae*,
Ranunculaceae, *Rosaceae*, *Rubiaceae*, *Rutaceae*, *Salicaceae*,
Scrophulariaceae, *Solanaceae*, *Sterculiaceae*, *Taxodiaceae*,
Theaceae, *Tiliaceae*, *Verbenaceae*, *Violaceae*, *Vitaceae*, y
Zingiberaceae.

20

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, la planta se
 selecciona de uva (*Vitis vinifera*), tomate (*Solanum
 lycopersicum*), trigo (*Triticum aestivum*), y maíz (*Zea mays*).

Debe entenderse que cualquier combinación de cada uno de los aspectos y las modalidades descritas en la presente descripción está explícitamente incluida en la descripción de la presente invención.

5

Otros objetos, características y ventajas de la presente invención quedarán claros a partir de la siguiente descripción.

Descripción detallada de la invención

10

La presente invención proporciona cepas microbianas aisladas, particularmente cepas bacterianas, no descritas hasta ahora, en donde las cepas bacterianas se caracterizan por una actividad antifúngica y/o antioomiceto efectiva y, por lo tanto, son útiles como agentes de biocontrol para proteger a las plantas de enfermedades causadas por los hongos y/o los oomicetos. La presente invención proporciona además cepas bacterianas seleccionadas por evolución directa para tener una actividad antifúngica/antioomiceto mejorada. La actividad antifúngica/antioomiceto abarca la inhibición de al menos uno de crecimiento, desarrollo y actividad fitopatógica de al menos uno de los hongos/oomicetos.

20

Definiciones

Los términos "comprende", "que comprende", "incluye", "que incluye", "que tiene" y sus conjugados significan "que incluye, entre otros".

5

El término "que consiste en" significa "que incluye y se limita a".

El término "que consiste esencialmente en" significa que la
10 composición, el método o la estructura puede incluir ingredientes, etapas y/o partes adicionales, pero solo si los ingredientes, las etapas y/o las partes adicionales no alteran materialmente las características básicas y novedosas de la composición, el método o la estructura reivindicadas.

15

Como se usa en la presente descripción, la forma singular "un", "una" y "el/la" incluye referencias en plural a menos que el contexto lo indique claramente de cualquier otra manera. Por ejemplo, el término "un compuesto" o "al menos un compuesto"
20 puede incluir una pluralidad de compuestos, lo que incluye mezclas de estos.

A lo largo de esta solicitud, pueden presentarse diversas modalidades de esta invención en un formato de rango. Debe

entenderse que la descripción en formato de rango es meramente por conveniencia y brevedad y no debe interpretarse como una limitación inflexible en el alcance de la invención. En consecuencia, se debe considerar que la descripción de un rango
5 ha descrito específicamente todos los subrangos posibles, así como los valores numéricos individuales dentro de ese rango. Por ejemplo, se debe considerar que la descripción de un rango tal como de 1 a 6 ha descrito específicamente subrangos tales como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6, etc.,
10 así como números individuales dentro de ese rango, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del rango.

Siempre que se indique un rango numérico en la presente
15 descripción, se pretende incluir cualquier número citado (fraccionario o integral) dentro del rango indicado. Las frases "que varía/varía entre" un primer número indicado y un segundo número indicado y "que varía/varía de" un primer número indicado "a" un segundo número indicado se usan en la presente descripción
20 indistintamente y pretenden incluir el primer y el segundo número indicado y todos los números fraccionarios e integrales entre estos.

Como se usa en la presente descripción, el término "método" se refiere a maneras, medios, técnicas y procedimientos para llevar a cabo una tarea determinada lo que incluye, pero no se limita a, esas maneras, medios, técnicas y procedimientos ya sea conocidos
5 o desarrollados fácilmente a partir de maneras, medios, técnicas y procedimientos conocidos por los profesionales de las técnicas agrícolas, químicas, farmacológicas, biológicas, bioquímicas y médicas.

10 Cuando se hace referencia a listados de secuencias particulares, debe entenderse que tal referencia también abarca secuencias que corresponden sustancialmente a su secuencia complementaria que incluye variaciones de secuencia menores, que son el resultado de, p. ej., errores de secuencia, errores de clonación u otras
15 alteraciones que dan como resultado la sustitución de bases, eliminación de bases o adición de bases, siempre que la frecuencia de tales variaciones sea menor de 1 en 50 nucleótidos, alternativamente, menor de 1 en 100 nucleótidos, alternativamente, menor de 1 en 200 nucleótidos,
20 alternativamente, menor de 1 en 500 nucleótidos, alternativamente, menor de 1 en 1000 nucleótidos, alternativamente, menor de 1 en 5000 nucleótidos, alternativamente, menor de 1 en 10,000 nucleótidos.

Como se usa en la presente descripción, los términos "identidad de secuencia" o "identidad" o equivalentes gramaticales, en el contexto de dos secuencias de ácidos nucleicos o polipéptidos, incluyen referencias a los residuos en las dos secuencias que son iguales cuando se alinean. Cuando se usa el porcentaje de identidad de secuencia en referencia a las proteínas, se reconoce que las posiciones de los residuos que no son idénticas a menudo difieren por sustituciones de aminoácidos conservadoras, donde los residuos de aminoácidos se sustituyen por otros residuos de aminoácidos con propiedades químicas similares (por ejemplo, carga o hidrofobicidad) y, por lo tanto, no cambian las propiedades funcionales de la molécula. Cuando las secuencias difieren en sustituciones conservativas, el porcentaje de identidad de secuencia puede ajustarse de manera ascendente para corregir la naturaleza conservativa de la sustitución. Se considera que las secuencias que difieren según tales sustituciones conservativas tienen "similitud de secuencia" o "similitud". Los medios para realizar este ajuste son bien conocidos por los expertos en la técnica. Típicamente, esto implica calificar una sustitución conservativa como un error de apareamiento parcial en lugar de un error de apareamiento completo, de esta manera aumenta el porcentaje de identidad de secuencia. Así, por ejemplo, cuando un aminoácido idéntico recibe una puntuación de 1 y una sustitución no conservativa recibe una

puntuación de cero, una sustitución conservativa recibe una puntuación entre cero y 1. La puntuación de las sustituciones conservadoras se calcula, por ejemplo, de acuerdo con el algoritmo de Henikoff S y Henikoff JG (Amino acid substitution matrices from protein blocks. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1992, 89(22): 10915-9).

La identidad se puede determinar mediante cualquier software de comparación de homología, que incluye, por ejemplo, el software BlastN del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI), tal como mediante el uso de parámetros predeterminados.

De acuerdo con algunas modalidades de la invención, la identidad es una identidad global, es decir, una identidad sobre las secuencias de aminoácidos o ácidos nucleicos completas de la invención y no sobre porciones de estas.

Como se usa en la presente descripción, la expresión "*consulta de cobertura*" se refiere a un porcentaje que describe la cantidad de secuencia de *consulta* que *está cubierta* por la secuencia diana.

Como se usa en la presente descripción, los términos "marcador", "marcador genómico" y "secuencia subgenómica" se usan en la presente descripción de manera intercambiable y se refieren a una

secuencia de ADN (ácido desoxirribonucleico) presente dentro del genoma de una cepa microbiana.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, la identidad de una secuencia de marcador genómico se define como al menos 90 % de cobertura de consulta con al menos 95 % de identidad, tal como se describe adicionalmente en la presente.

Las expresiones "cepas microbianas" y "cepas bacterianas" se usan en la presente descripción de manera intercambiable y se refieren a las cepas bacterianas de la invención como se define en la presente.

Los términos "homólogo funcional", "funcionalmente homólogo", "variante" y equivalentes gramaticales se usan en la presente descripción de manera intercambiable y se refieren a una modificación (es decir, mutante, al menos una mutación) de las cepas bacterianas de la invención que da como resultado una cepa microbiana que está dotada de sustancialmente el mismo conjunto de actividades biológicas, particularmente actividades antifúngica y/o antioomiceto (+/-10 %, 20 %, 40 %, 50 % o 60 % cuando se evalúan en las mismas condiciones) que las de la cepa de la invención y puede clasificarse a la misma especie o cepa en función de métodos de clasificación de especies/cepas conocidos y

como se describe en la presente. La modificación puede ser artificial o evolutiva, por ejemplo, durante la propagación con o sin selección.

5 Los términos "aislado" y "biólogicamente puro" con referencia a una cepa bacteriana de la invención se relaciona con una bacteria o con bacterias de las mismas especies al menos parcialmente separadas del entorno natural, por ejemplo, del hábitat de la cepa microbiana o de uno o más constituyentes de este, celular o
10 de cualquier otra manera, con los que puede asociarse si se encuentran en la naturaleza. De acuerdo con determinadas modalidades, las cepas bacterianas de la invención se aíslan de la planta (la cepa es parte del microbioma de la planta) o del hábitat de la planta (incluido el rizoplasma y la rizósfera de la
15 planta).

Como se usa en la presente descripción, el término "rizoplasma" se refiere a la superficie externa de las raíces junto con partículas de tierra y restos muy adheridos.

20

Como se usa en la presente descripción, el término "rizósfera" se refiere a la región del suelo en la cercanía de las raíces de las plantas, en la que la química y la microbiología del suelo están

influenciadas por el crecimiento de las raíces de las plantas, la respiración y el intercambio de nutrientes.

Como se usa en la presente descripción, el término "filósfera" se refiere a las porciones totales de una planta sobre el suelo, que son un hábitat para los microorganismos. La filósfera se puede subdividir en la caulósfera (tallos), el filoplano (hojas), la antósfera (flores) y la carpósfera (frutos).

Los términos "caldo de células completas" y "cultivo de células completas" se usan en la presente descripción indistintamente y se refieren a un cultivo líquido que contiene tanto células como un medio líquido. En modalidades particulares, los términos se relacionan con medio líquido que comprende al menos una cepa bacteriana de la invención y productos de fermentación de estos.

Las cepas seleccionadas se aislaron y se cribaron de acuerdo con su capacidad para inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos/oomicetos que causan enfermedades de las plantas con efectos negativos en la producción de cultivos. Las cepas bacterianas aisladas se describen en las Tablas 1-2 y 4-5, y las actividades inhibidoras de las cepas se describen en las Tablas 3 y 6-11 más adelante en la presente descripción. También se

contemplan homólogos funcionales de las cepas tal como se definen y se describen en la presente.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa bacteriana o el
5 homólogo funcional de esta que interactúa con la planta huésped
está presente en el hábitat de la planta, particularmente en la
rizosfera (suelo alrededor de la raíz). De acuerdo con ciertas
modalidades, la cepa bacteriana o el homólogo funcional de esta
que interactúa con la planta huésped está presente en o dentro de
10 un tejido vegetal, que incluye, entre otros, el rizoplaneo
(superficie de la raíz), la endósfera de la raíz (dentro de la
raíz), la endósfera del tallo (dentro del tallo), la endósfera de
la hoja (dentro de la hoja), la filósfera (en la superficie del
brote, el tallo y la hoja), la superficie de la semilla y la
15 endósfera de la semilla (dentro de la semilla). Cada posibilidad
representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertos aspectos, la presente invención
proporciona una cepa bacteriana aislada o un homólogo funcional
20 de esta, en donde la cepa bacteriana aislada se selecciona del
grupo que consiste en:

- (1) cepa LAV58567, la cepa se selecciona del grupo que
consiste en

a. una cepa depositada con el número de acceso 43954 en NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 5;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 36-38;

y cualquier combinación de estas;

(2) cepa LAV104661, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 14;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácido nucleico establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 67-68;

y una combinación de estas;

(3) cepa LAV104629, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa depositada con el número de acceso 43958 en NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 1;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 27-28;

y cualquier combinación de estas;

(4) cepa LAV104665, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 15;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 69-71;

y una combinación de estas;

(5) cepa LAV104794, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 16;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident. 72 -74;

5 y una combinación de estas;

(6) cepa LAV104618, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida
10 en la sec. con núm. de ident.: 17;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 75-77;

15 y una combinación de estas;

(7) cepa LAV104692, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida
20 en la sec. con núm. de ident.: 18;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácido nucleico establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 78-80;

y una combinación de estas;

(8) cepa LAV104632, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa depositada con el número de acceso 43957 en NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 2;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 29;

y cualquier combinación de estas;

(9) cepa LAV104891, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 19;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácido nucleico establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 81-83;

y una combinación de estas;

(10) cepa LAV104630, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 20;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácido nucleico establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 84-85;
y una combinación de estas;

(11) cepa LAV104664, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 21;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácido nucleico establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 86-88;
y una combinación de estas;

(12) cepa LAV104922, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 22;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácido nucleico establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 89-91;

5 y una combinación de estas;

(13) cepa LAV59524, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida
10 en la sec. con núm. de ident.: 23;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 92-94;

15 y una combinación de estas;

(14) cepa LAV104960, la cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 24;

(15) cepa LAV104858, la cepa se selecciona del grupo que
20 consiste en

a. una cepa depositada con el número de acceso 43956 en NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 3;

5 c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 30-32;
y cualquier combinación de estas;

10 (16) cepa LAV104662, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa depositada con el número de acceso 43955 en NCIMB;

15 b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 4;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 33-35;

20 y cualquier combinación de estas;

(17) cepa LAV104961, se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 25;

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 95-97;

5 y una combinación de estas;

(18) cepa LAV104533, la cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 26;

(19) cepa LAV1000636, la cepa se selecciona del grupo que
10 consiste en

a. una cepa depositada con el número de acceso 43964 en NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida
15 en la sec. con núm. de ident.: 6;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 39;
y cualquier combinación de estas;

20 (20) cepa LAV1000506, la cepa se selecciona del grupo que consiste en

a. una cepa depositada con el número de acceso 43965 en NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 7;

5 c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 40-42;
y cualquier combinación de estas;

10 (21) cepa LAV1005101, la cepa se selecciona del grupo que consiste en:

a. una cepa depositada con el número de acceso 43959 en NCIMB;

15 b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 13;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 62-66;

20 y cualquier combinación de estas;

(22) cepa LAV1001107, la cepa se selecciona del grupo que consiste en:

a. una cepa depositada con el número de acceso 43960 en NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 12;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 57-61;
y cualquier combinación de estas;

(23) cepa LAV1001081, la cepa se selecciona del grupo que consiste en:

a. una cepa depositada con el número de acceso 43961 en NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 11;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 56;
y cualquier combinación de estas;

(24) cepa LAV1000847, la cepa se selecciona del grupo que consiste en:

a. una cepa depositada con el número de acceso 43962 en NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 9;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 48-50;

y cualquier combinación de estas;

(25) cepa LAV1000965, la cepa se selecciona del grupo que consiste en:

a. una cepa depositada con el número de acceso 43963 en NCIMB;

b. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 8;

c. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 43-47;

y cualquier combinación de estas;

(26) cepa LAV1000933, la cepa se selecciona del grupo que consiste en:

a. una cepa que comprende una secuencia de 16S-rARN que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en la sec. con núm. de ident.: 10; y

b. una cepa que comprende al menos un marcador genómico que comprende la secuencia de ácidos nucleicos establecida en una cualquiera de las sec. con núms. de ident.: 51-55;

y una combinación de estas.

10 Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

Los criterios para identificar un homólogo funcional de una cepa de la invención incluyen criterios funcionales y/o genéticos como
15 los conoce la persona del oficio de nivel medio.

Las cepas bacterianas con números de acceso 43954, 43955, 43956, 43957, 43958, 43959 43960, 43961, 43962, 43963, 43964 se depositaron en NCIMB Ltd., Ferguson Building, Craibstone Estate,
20 Bucksburn, Aberdeen, AB21 9YA Escocia, Reino Unido, el 23 de marzo de 2022. Las cepas bacterianas con números de acceso 43965 se depositaron en NCIMB Ltd., Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, AB21 9YA Escocia, Reino Unido, el 30 de marzo de 2022.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa de la invención y el homólogo funcional pertenecen a las mismas unidades taxonómicas operativas (OTU).

5

Una "OTU" se refiere a una hoja terminal en un árbol filogenético y está definida por una secuencia de ácidos nucleicos, por ejemplo, el genoma completo o una secuencia genética específica, y todas las secuencias que comparten identidad de secuencia con
10 esta secuencia de ácidos nucleicos a nivel de especie. De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, la secuencia genética específica puede ser la secuencia de 16S-rARN o una porción de la secuencia de 16S-rARN (también denominada en la presente descripción "16S"), u otras secuencias conservadas funcionalmente
15 como se enumeran a continuación. De acuerdo con modalidades de ejemplo adicionales, se secuencian y se comparan los genomas completos de dos entidades. En otra modalidad, se pueden comparar genéticamente regiones seleccionadas tales como etiquetas de secuencia multilocus (MLST, MLSA), genes específicos o conjuntos
20 de genes. Para las secuencias 16S-rARN, las OTU que comparten al menos 97 % de identidad de nucleótidos promedio en toda la 16S o alguna región variable de la 16S se consideran la misma OTU (ver, p. ej., Claesson MJ, et al. 2010. Nucleic Acids Res 38:e200; Konstantinidis K T, et al. 2006. Philos Trans R Soc Lond B Biol

Sci 361: 1929-1940). En modalidades que involucran el genoma completo, MLST, genes específicos o conjuntos de genes, las OTU que comparten al menos 95 % de identidad de nucleótidos promedio se consideran la misma OTU (ver, p. ej., Achtman M y Wagner M. 2008. Nat. Rev. Microbiol. 6:431-440; Konstantinidis et al. 2006, *ibid*). Las OTU se definen frecuentemente al comparar secuencias entre organismos. Tal caracterización emplea, por ejemplo, datos de secuenciación del genoma completo (WGS).

De acuerdo con ciertas modalidades, el homólogo funcional comprende un gen conservado funcionalmente o un fragmento de este. De acuerdo con ciertas modalidades, el gen conservado funcionalmente es un gen de mantenimiento seleccionado del grupo que consiste en, entre otros, 16S-rARN, *recA*, *glnII*, *atpD*, *gap*, *glnA*, *gltA*, *gyrB*, *pnp*, *rpoB*, *thrC* y *dnaK*, que es al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 %, al menos aproximadamente 99,1 %, al menos aproximadamente 99,5 %, al menos aproximadamente 99,6 %, al menos aproximadamente 99,7 %, al menos aproximadamente 99,8 %, al menos aproximadamente 99,9 % o más, o completamente idéntico al de una cepa de la invención como se describe en la presente. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

Como se mencionó, y de acuerdo con una modalidad adicional o alternativa específica, un homólogo funcional también se puede determinar sobre la base de una determinación de análisis de secuencia multilocus (MLSA) de diversos genes conservados funcionalmente o fragmentos de estos, por ejemplo, al menos uno, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o más genes conservados funcionalmente o fragmentos de estos, tales como por ejemplo, 16S, recA, glnII, atpD, gap, glnA, gltA, gyrB, pnp, rpoB, thrC y dnaK.

10

De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, el gen de mantenimiento es ARN ribosomal 16S (16S-rARN).

15

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, la identidad de la secuencia 16S se define como al menos 100 % de cobertura de consulta con al menos 97 % de identidad, al menos 97.5 % de identidad, al menos 98 % de identidad, al menos 98.5 % de identidad, al menos 99 % de identidad, al menos 99.5 % de identidad o más.

20

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa bacteriana de homólogo funcional comprende una secuencia de 16S-rARN al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 97.1 %, al menos aproximadamente 97.2 %, al menos aproximadamente 97.3 %, al menos

aproximadamente 97.4 %, al menos aproximadamente 97.5 %, al menos
aproximadamente 97.6 %, al menos aproximadamente 97.7 %, al menos
aproximadamente 97.8 %, al menos aproximadamente 97.9 %, al menos
aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 98.1 %, al menos
5 aproximadamente 98.2 %, al menos aproximadamente 98.3 %, al menos
aproximadamente 98.4 %, al menos aproximadamente 98.5 %, al menos
aproximadamente 98.6 %, al menos aproximadamente 98.7 %, al menos
aproximadamente 98.8 %, al menos aproximadamente 98.9 %, al menos
aproximadamente 99 %, al menos aproximadamente 99.1 %, al menos
10 aproximadamente 99.2 %, al menos aproximadamente 99.3 %, al menos
aproximadamente 99.4 %, al menos aproximadamente 99.5 %, al menos
aproximadamente 99.6 %, al menos aproximadamente 99.7 %, al menos
aproximadamente 99.8 %, al menos aproximadamente 99.9 % o más
homóloga, o idéntica a la secuencia 16S-rARN de una cepa de la
15 invención, dicha secuencia 16S-rRNA de la cepa de la invención
que comprende una secuencia de ácido nucleico seleccionado del
grupo que consiste en las sec. con núms. de ident.: 1-4, 6-12,
15-18, 20, 23, 25-27. Cada posibilidad representa una modalidad
particular de la presente invención.

20

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa bacteriana del
homólogo funcional comprende una secuencia 16S-rARN al menos
aproximadamente 97.1 %, al menos aproximadamente 97.2 %, al menos
aproximadamente 97.3 %, al menos aproximadamente 97.4 %, al menos

aproximadamente 97.5 %, al menos aproximadamente 97.6 %, al menos
 aproximadamente 97.7 %, al menos aproximadamente 97.8 %, al menos
 aproximadamente 97.9 %, al menos aproximadamente 98 %, al menos
 aproximadamente 98.1 %, al menos aproximadamente 98.2 %, al menos
 5 aproximadamente 98.3 %, al menos aproximadamente 98.4 %, al menos
 aproximadamente 98.5 %, al menos aproximadamente 98.6 %, al menos
 aproximadamente 98.7 %, al menos aproximadamente 98.8 %, al menos
 aproximadamente 98.9 %, al menos aproximadamente 99 %, al menos
 aproximadamente 99.1 %, al menos aproximadamente 99.2 %, al menos
 10 aproximadamente 99.3 %, al menos aproximadamente 99.4 %, al menos
 aproximadamente 99.5 %, al menos aproximadamente 99.6 %, al menos
 aproximadamente 99.7 %, al menos aproximadamente 99.8 %, al menos
 aproximadamente 99.9 % o más homología, o identidad con la
 secuencia 16S-rARN de la cepa LAV104618, que tiene una sec. con
 15 núm. de ident.:17.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa bacteriana del
 homólogo funcional comprende una secuencia de 16S-rARN al menos
 aproximadamente 97.6 %, al menos aproximadamente 97.7 %, al menos
 20 aproximadamente 97.8 %, al menos aproximadamente 97.9 %, al menos
 aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 98.1 %, al menos
 aproximadamente 98.2 %, al menos aproximadamente 98.3 %, al menos
 aproximadamente 98.4 %, al menos aproximadamente 98.5 %, al menos
 aproximadamente 98.6 %, al menos aproximadamente 98.7 %, al menos

aproximadamente 98.8 %, al menos aproximadamente 98.9 %, al menos
aproximadamente 99 %, al menos aproximadamente 99.1 %, al menos
aproximadamente 99.2 %, al menos aproximadamente 99.3 %, al menos
aproximadamente 99.4 %, al menos aproximadamente 99.5 %, al menos
5 aproximadamente 99.6 %, al menos aproximadamente 99.7 %, al menos
aproximadamente 99.8 %, al menos aproximadamente 99.9 % o más
homología, o identidad con la secuencia 16S-rARN de la cepa
LAV1000965, que tiene la sec. con núm. de ident.:8.

10 De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa bacteriana del
homólogo funcional comprende una secuencia de 16S-rARN al menos
aproximadamente 97.9 %, al menos aproximadamente 98 %, al menos
aproximadamente 98.1 %, al menos aproximadamente 98.2 %, al menos
aproximadamente 98.3 %, al menos aproximadamente 98.4 %, al menos
15 aproximadamente 98.5 %, al menos aproximadamente 98.6 %, al menos
aproximadamente 98.7 %, al menos aproximadamente 98.8 %, al menos
aproximadamente 98.9 %, al menos aproximadamente 99 %, al menos
aproximadamente 99.1 %, al menos aproximadamente 99.2 %, al menos
aproximadamente 99.3 %, al menos aproximadamente 99.4 %, al menos
20 aproximadamente 99.5 %, al menos aproximadamente 99.6 %, al menos
aproximadamente 99.7 %, al menos aproximadamente 99.8 %, al menos
aproximadamente 99.9 % o más homología, o identidad con la
secuencia 16S-rARN de la cepa LAV104858, que tiene la sec. con
núm. de ident.:3.

De acuerdo con determinadas modalidades, la cepa bacteriana del homólogo funcional comprende una secuencia de 16S-rARN al menos aproximadamente 98.7 %, al menos aproximadamente 98.8 %, al menos
5 aproximadamente 98.9 %, al menos aproximadamente 99 %, al menos aproximadamente 99.1 %, al menos aproximadamente 99.2 %, al menos aproximadamente 99.3 %, al menos aproximadamente 99.4 %, al menos aproximadamente 99.5 %, al menos aproximadamente 99.6 %, al menos aproximadamente 99.7 %, al menos aproximadamente 99.8 %, al menos
10 aproximadamente 99.9 % o más homología, o identidad a la secuencia 16S-rRNA de la cepa LAV1000636, que tiene sec. con núm. de ident.:6.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa bacteriana del
15 homólogo funcional comprende una secuencia 16S-rARN al menos aproximadamente 99.5 %, al menos aproximadamente 99.6 %, al menos aproximadamente 99.7 %, al menos aproximadamente 99.8 %, al menos aproximadamente 99.9 % o más homología, o identidad a la secuencia 16S-rARN de la cepa LAV1000847, que tiene sec. con núm.
20 de ident.:9.

De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, la cepa bacteriana comprende más de un 16S-rARN.

De acuerdo con ciertas modalidades adicionales o alternativas, las secuencias de ácidos nucleicos genómicas de la cepa bacteriana y el homólogo funcional de esta comprenden al menos un marcador genómico específico de la cepa.

5

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa microbiana de la presente invención o el homólogo funcional de esta comprende al menos dos marcadores genómicos, al menos tres marcadores genómicos, al menos cuatro marcadores genómicos o al menos cinco
10 marcadores genómicos.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, el homólogo funcional de una cepa bacteriana de la invención comprende al menos un marcador genómico seleccionado del grupo que consiste en
15 un marcador que tiene una secuencia de ácido nucleico al menos aproximadamente 95 %, al menos aproximadamente 95.5 %, al menos aproximadamente 96 %, al menos aproximadamente 96.5 %, al menos aproximadamente 97 %, al menos aproximadamente 97.1 %, al menos aproximadamente 97.2 %, al menos aproximadamente 97.3 %, al menos
20 aproximadamente 97.4 %, al menos aproximadamente 97.5 %, al menos aproximadamente 97.6 %, al menos aproximadamente 97.7 %, al menos aproximadamente 97.8 %, al menos aproximadamente 97.9 %, al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 98.1 %, al menos aproximadamente 98.2 %, al menos aproximadamente 98.3 %, al menos

aproximadamente 98.4 %, al menos aproximadamente 98.5 %, al menos
aproximadamente 98.6 %, al menos aproximadamente 98.7 %, al menos
aproximadamente 98.8 %, al menos aproximadamente 98.9 %, al menos
aproximadamente 99 %, al menos aproximadamente 99.1 %, al menos
5 aproximadamente 99.2 %, al menos aproximadamente 99.3 %, al menos
aproximadamente 99.4 %, al menos aproximadamente 99.5 %, al menos
aproximadamente 99.6 %, al menos aproximadamente 99.7 %, al menos
aproximadamente 99.8 %, al menos aproximadamente 99.9 % o más
homóloga, o idéntica, a una cualquiera de las sec. con núms. de
10 ident.: 27-97.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV104794 y la cepa
LAV1000636 son homólogos funcionales, en donde 16S-rARN de
LAV104794 que tiene la secuencia de ácido nucleico expuesta en la
15 sec. con núm. de ident.16 y 16S-rARN de LAV1000636 que tiene la
secuencia de ácido nucleico expuesta en la sec. con núm. de
ident.6 comparten más de 97 % de identidad de secuencia.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV104891 y la cepa
20 LAV104922 son homólogos funcionales, en donde 16S-rARN de
LAV104891 que tiene la secuencia de ácido nucleico expuesta en la
sec. con núm. de ident.19 y 16S-rARN de LAV104922 que tiene la
secuencia de ácido nucleico expuesta en la sec. con núm. de
ident.22 comparten más de 97 % de identidad de secuencia.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa microbiana de la presente invención y el homólogo funcional de esta comparte al menos dos marcadores genómicos, al menos tres marcadores genómicos, al menos cuatro marcadores genómicos o al menos cinco marcadores genómicos.

De acuerdo con modalidades adicionales o alternativas, la cepa de la invención y el homólogo funcional se caracterizan por un perfil bioquímico sustancialmente igual (+/- aproximadamente 10 %, 20 %, 40 %, 50 %, 60 % cuando se evalúan en las mismas condiciones) (p. ej., huellas bioquímicas) mediante, por ejemplo, la química redox GEN III MicroPlate (BIOLOG Inc. 21124 Cabot Blvd. Hayward CA, EE. UU.), que puede analizar bacterias gramnegativas y grampositivas, por su capacidad para metabolizar todas las clases principales de productos bioquímicos, además de determinar otras propiedades fisiológicas importantes tales como el pH, la sal y la tolerancia al ácido láctico. Se pueden obtener más detalles sobre el perfil bioquímico en "Modern Phenotypic Microbial Identification", Bochner B.R., Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods, 2006, vol. 2, cap. 3, págs. 55-73.

Los datos genómicos pueden obtenerse mediante métodos que son bien conocidos en la técnica, por ejemplo, secuenciación de ADN,

bioinformática, electroforesis, ensayo de detección de errores de apareamiento basado en enzimas y un ensayo de hibridación; que incluyen, por ejemplo, PCR, RT-PCR, protección de RNasa, hibridación in situ, extensión de cebadores, transferencia de Southern, northern blot, análisis de transferencia de puntos y similares.

De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, el homólogo funcional y la cepa de la invención pertenecen al mismo género.

10 De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, el homólogo funcional y la cepa de la invención pertenecen a la misma subespecie.

De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas bacterianas de la presente invención de un género se seleccionan del grupo que

15 consiste en *Actinokineospora*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Ensifer*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Gordonia*, *Lysobacter*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Rahnella*, *Sphingobium* y *Streptomyces*.

20

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV104661 es del género *Erwinia*. De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas LAV104629 y LAV104692, cada una es del género *Pantoea*. De acuerdo con determinadas modalidades, las cepas LAV104665, LAV104794,

LAV104664, LAV104858, LAV1000636, LAV1001107, LAV1000847, y LAV1000965, cada una es del género *Pseudomonas*. De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV104618 es del género *Ensifer*. De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas LAV104632 y LAV59524, cada una es del género *Bacillus*. De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas LAV104891 y LAV104922, cada una es del género *Acinetobacter*. De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV105630 es del género *Enterobacter*. De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas LAV104960 y LAV104961, cada una es del género *Streptomyces*. De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV104662 es del género *Sphingobium*. De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV104533 es del género *Actinokneospora*. De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV58567 es del género *Lysobacter*. De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV1000506 es del género *Gordonia*. De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV1005101 es del género *Pseudoxanthomonas*. De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV1001081 es del género *Rahnella*. De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa LAV1000933 es del género *Paenibacillus*.

20

Como se usa en la presente descripción, el término "preparación" se refiere a un aislado de bacterias en el que la prevalencia (es decir, concentración y/o relación) de la cepa bacteriana o el homólogo funcional se enriquece sobre el (excede el) encontrado

en la naturaleza. En la naturaleza, la cepa bacteriana por lo general es parte del microbioma de la planta, que consiste en más de miles de especies microbianas, ya sea en la filósfera, que incluye endófitos, el rizoplaneo, la rizosfera o cualquier otro compartimento de la planta. De acuerdo con algunas modalidades de la invención, la preparación comprende menos de 50, 20, 10, 9, 8, 7, 6, 5 o 4 especies microbianas, por ejemplo, bacterias y hongos.

De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, las preparaciones microbianas comprenden 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 especies microbianas. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con otras modalidades de ejemplo, la preparación microbiana comprende una única especie microbiana, es decir, bacterias de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, la preparación comprende una única cepa de la presente invención, en donde dicha preparación carece de otras especies microbianas. De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo adicionales, la preparación comprende una pluralidad de cepas de la presente invención, en donde dicha preparación carece de otras especies microbianas.

De acuerdo con ciertas modalidades, la preparación comprende la cepa bacteriana de la invención a un nivel de pureza de al menos alrededor de 20 %, al menos alrededor de 30 %, al menos alrededor de 40 %, al menos alrededor de 50 %, al menos alrededor de 60 %, al menos alrededor de 70 %, al menos alrededor de 80 %, al menos alrededor de 85 %, al menos alrededor de 90 %, al menos alrededor de 91 %, al menos alrededor de 92 %, al menos alrededor de 93 %, al menos alrededor de 94 %, al menos alrededor de 95 % o más, por ejemplo, 100 % puro. Como se usa en la presente descripción, el término "puro" o "pureza" se refiere al porcentaje de la cepa bacteriana de la invención de la cantidad total de microorganismos en la preparación.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, la preparación comprende la cepa bacteriana de la invención a un nivel de pureza de al menos aproximadamente 99 %, al menos aproximadamente 99.1 %, al menos aproximadamente 99.2 %, al menos aproximadamente 99.3 %, al menos aproximadamente 99.4 %, al menos aproximadamente 99.5 %, al menos aproximadamente 99.6 %, al menos aproximadamente 99.7 %, al menos aproximadamente 99.8 %, al menos aproximadamente 99.9 %, al menos aproximadamente 99.95 %, al menos aproximadamente 99.99 %, al menos aproximadamente 99.999 % o más, es decir, 100 % pura.

Como se usa en la presente descripción, el término "enriquecido" se refiere a un enriquecimiento de $2-10 \times 10^6$ veces sobre el que se encuentra en la naturaleza en un aislado de microbiota obtenido
5 de una filósfera y/o rizosfera de plantas que comprende una cepa de la invención o un homólogo funcional de esta.

Una "espora" o "esporas" se refiere a estructuras microbianas que generalmente son viables, más resistentes a las influencias
10 ambientales tales como el calor y los agentes bactericidas que otras formas de la misma especie microbiana, y generalmente capaces de germinación y brote. Las bacterias que son "capaces de formar esporas" son aquellas bacterias que comprenden los genes y otras capacidades necesarias para producir esporas en condiciones
15 ambientales adecuadas.

Como se usa en la presente descripción, el término "cultivo" se refiere a un fluido, un pélet, un raspado, una muestra seca, un liofilizado o un soporte, un recipiente o un medio tal como una
20 placa, un papel, un filtro, una matriz, una estera, una pipeta o punta de pipeta, una fibra, una aguja, un gel, un hisopo, un tubo, un vial, una partícula, etc. que contiene la cepa o el homólogo funcional de esta en una cantidad que excede la encontrada en la naturaleza, como se describió anteriormente en

la presente. En la presente invención, un "cultivo aislado" de una cepa microbiana es un fluido de cultivo o un raspado, un pélet, una preparación seca, un liofilizado, o un soporte, un recipiente o un medio que contiene la cepa o el homólogo
5 funcional de esta, en ausencia de otros microorganismos.

Los cultivos de las cepas o los homólogos funcionales de estas pueden prepararse para su uso de acuerdo con las enseñanzas de la invención mediante técnicas de fermentación estándar conocidas en
10 la técnica. El crecimiento se realiza comúnmente en un biorreactor.

Un biorreactor se refiere a cualquier dispositivo o sistema que admita un entorno biológicamente activo. Como se describe en la
15 presente descripción, un biorreactor es un recipiente en el que pueden crecer microorganismos, incluido el microorganismo de la invención. Un biorreactor puede tener cualquier forma o tamaño adecuado para cultivar los microorganismos. Un biorreactor puede variar en tamaño y escala de 10 ml (por ejemplo, escala pequeña)
20 a litros a metros cúbicos (por ejemplo, escala grande) y puede estar hecho de acero inoxidable, material desechable (por ejemplo, nylon, bolsas de plástico) o cualquier otro material adecuado como se conoce y se usa en la técnica. El biorreactor puede ser un biorreactor de tipo por lotes, un biorreactor de

tipo alimentado por lotes o un biorreactor de tipo continuo (por ejemplo, un reactor agitado continuo). Por ejemplo, un biorreactor puede ser un quimiostato como se conoce y se usa en la técnica de la microbiología para el cultivo y la recolección de microorganismos. Se puede obtener un biorreactor de cualquier proveedor comercial (ver también Bioreactor System Design, Asenjo y Merchuk, CRC Press, 1995).

Para operaciones a pequeña escala, se puede usar un biorreactor por lotes, por ejemplo, para evaluar y desarrollar nuevos procesos, y para procesos que no se pueden convertir en operaciones continuas.

Los microorganismos que crecen en un biorreactor pueden suspenderse o inmovilizarse. El crecimiento en el biorreactor es generalmente en condiciones aeróbicas a temperaturas y pH adecuados para el crecimiento. Para los organismos de la invención, el crecimiento celular se puede lograr a temperaturas entre 5-37 °C, con un rango de temperatura de ejemplo seleccionado de 15 a 30 °C, 15 a 28 °C, 20 a 30 °C o 15 a 25 °C. El pH del medio de nutrientes puede variar entre 4,0 y 9,0. Por ejemplo, el rango operativo por lo general puede ser ligeramente ácido a neutro a pH 4,0 a 7,0, o 4,5 a 6,5, o pH 5,0 a 6,0.

Generalmente, el rendimiento celular máximo se obtiene en 20-72 horas después de la inoculación.

Las condiciones óptimas para el cultivo de los microorganismos de esta invención dependerán, por supuesto, de la cepa particular y la especie de cepa. Sin embargo, en virtud de las condiciones aplicadas en el proceso de selección y los requisitos generales de la mayoría de los microorganismos, una persona del oficio de nivel medio podría determinar los nutrientes y las condiciones esenciales. Los microorganismos por lo general se cultivarían en cultivos líquidos aeróbicos en medios que contienen fuentes de carbono, nitrógeno y sales inorgánicas que pueden ser asimiladas por el microorganismo y que contribuyen al crecimiento celular eficiente. Las fuentes de carbono de ejemplo son hexosas, tales como la glucosa, pero otras fuentes que se asimilan fácilmente, tales como los aminoácidos, pueden formar un sustituto. Muchos materiales inorgánicos y proteicos pueden usarse como fuentes de nitrógeno en el proceso de crecimiento. Las fuentes de nitrógeno de ejemplo son aminoácidos y urea, pero otros incluyen amoníaco gaseoso, sales inorgánicas de nitrato y amonio, vitaminas, purinas, pirimidinas, extracto de levadura, extracto de carne de res, proteosa peptona, harina de soja, hidrolizados de caseína, solubles de destilación y similares. Entre los minerales inorgánicos que se pueden incorporar al medio de nutrientes están

las sales habituales capaces de producir calcio, zinc, hierro, manganeso, magnesio, cobre, cobalto, potasio, sodio, molibdato, fosfato, sulfato, cloruro, borato e iones similares.

5 El cultivo puede ser un cultivo puro, mediante el cual se cultiva una única cepa microbiana, o un cultivo mixto. Se puede preparar un cultivo mixto a la espera de que las cepas microbianas cumplan y coexistan y proliferen en las mismas condiciones de cultivo. Cuando sea necesario, se puede emplear un antibiótico u otras
10 condiciones que restrinjan el crecimiento, por ejemplo, temperatura, nutrientes esenciales y similares durante el cultivo para restringir el crecimiento de otros microorganismos (contaminantes) no deseados en el cultivo/cocultivo.

15 De acuerdo con modalidades alternativas o adicionales, se produce una combinación de cepas deseada después del cultivo. Generalmente, se realiza una combinación de cepas después del cultivo cuando las cepas microbianas no comparten las mismas condiciones o condiciones óptimas de cultivo.

20

Cuando se va a usar una combinación de cepas, la relación de cada tipo de microorganismo en el producto final dependerá de los hongos/oomicetos diana a erradicar.

Debe entenderse explícitamente que la presente invención abarca cultivos completos que comprenden un medio de crecimiento y al menos una cepa bacteriana o un homólogo funcional de la invención, así como el medio de crecimiento obtenido después de
5 retirar las cepas bacterianas. De acuerdo con ciertas modalidades, el medio de crecimiento obtenido después de retirar la al menos una cepa bacteriana abarca productos de fermentación de dicha al menos una célula bacteriana.

10 De acuerdo con determinados aspectos adicionales, la presente invención proporciona un lisado de al menos una cepa bacteriana de la invención o los homólogos funcionales de esta. De acuerdo con ciertas modalidades, el lisado es de una única cepa. De acuerdo con algunas modalidades, el lisado comprende un lisado de
15 células completas de las células bacterianas. De acuerdo con algunas modalidades, el lisado comprende una fracción soluble de las células bacterianas. De acuerdo con algunas modalidades, el lisado comprende cuerpos de inclusión de una preparación bacteriana.

20

De acuerdo con determinados aspectos adicionales, la presente invención proporciona un extracto celular de al menos una cepa bacteriana de la invención o los homólogos funcionales de esta.

De acuerdo con aun otros aspectos adicionales, la presente invención proporciona un caldo de células completas recolectadas para la fermentación de al menos una cepa bacteriana de la invención.

5

De acuerdo con ciertas modalidades, el lisado, el extracto o el caldo se obtiene de una pluralidad de las células bacterianas. De acuerdo con ciertas modalidades, el lisado, el extracto o el caldo es de células bacterianas de la misma especie y/o cepa
10 bacteriana. De acuerdo con ciertas modalidades, el lisado, el extracto o el caldo es de células bacterianas de especies y/o cepas diferentes.

La cepa bacteriana y los homólogos funcionales de esta son los
15 descritos anteriormente en la presente.

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición que comprende la preparación bacteriana, el cultivo, el medio de cultivo, el lisado o el
20 extracto como se describe en la presente descripción, que comprende además portadores y/o diluyentes aceptables en la agricultura.

De acuerdo con ciertas modalidades, la composición comprende además una cantidad efectiva en la agricultura de un agente activo seleccionado del grupo que consiste en un fertilizante, un acaricida, un bactericida, un fungicida, un insecticida, un microbicida, un nematocida, un plaguicida, un regulador del crecimiento vegetal, un rodenticida, y un nutriente.

También se proporciona una formulación que comprende la preparación bacteriana o la composición que la comprende como se describe en la presente.

Cualquier portador adecuado para uso agrícola puede formar parte de las composiciones y/o formulaciones de la presente invención. El portador puede ser uno o más de varios portadores que confieren una variedad de propiedades, que incluyen una mayor estabilidad, humectabilidad, dispersabilidad, etc. Los agentes humectantes tales como tensioactivos naturales o sintéticos, que pueden ser tensioactivos no iónicos o iónicos, o una combinación de estos pueden incluirse en una composición de la invención. Las emulsiones de agua en aceite también se pueden usar para formular una composición que incluye al menos un microorganismo aislado de la presente invención (ver, por ejemplo, la patente estadounidense N.º 7.485.451). Las formulaciones adecuadas que pueden prepararse incluyen polvos humectables, gránulos, geles,

tiras o pélets de agar y similares, partículas microencapsuladas y similares, líquidos tales como fluidos acuosos, suspensiones acuosas, emulsiones de agua en aceite, etc. La formulación puede incluir productos de granos o legumbres (por ejemplo, granos o porotos molidos, caldo o harina derivados de granos o porotos), almidón, azúcar o aceite. El portador puede ser un portador agrícola. En ciertas modalidades preferidas, el portador es una semilla, y la composición puede aplicarse o recubrirse sobre la semilla o dejar que sature la semilla.

10

De acuerdo con algunas modalidades, el portador agrícola puede ser un medio de crecimiento de suelo o planta. Otros portadores agrícolas que pueden usarse incluyen agua, aceites de origen vegetal, humectantes o combinaciones de estos. Alternativamente, el portador agrícola puede ser un sólido, tal como tierra de diatomeas, marga, sílice, alginato, arcilla, bentonita, vermiculita, cápsulas, otros productos vegetales o animales, o combinaciones, que incluyen gránulos, pélets o suspensiones. Las mezclas de cualquiera de los ingredientes mencionados anteriormente también se contemplan como portadores, tales como, entre otros, pesta (harina y arcilla de caolín), pélets a base de agar o harina en marga, arena, arcilla, etc. Las formulaciones pueden incluir fuentes de alimentos para los organismos cultivados, tales como cebada, arroz u otros materiales

20

biológicos, tales como semillas, partes de plantas, bagazo de caña de azúcar, vainas o tallos del procesamiento de granos, material vegetal molido ("desechos de jardín") o madera de desechos de la construcción, aserrín o pequeñas fibras del reciclaje de papel, tela o madera. Las personas del oficio de nivel medio conocerán otras formulaciones adecuadas.

En forma líquida, por ejemplo, soluciones o suspensiones, la cepa microbiana se puede mezclar o suspender en agua o en soluciones acuosas. Los diluyentes o portadores líquidos adecuados incluyen agua, soluciones acuosas, destilados de petróleo u otros portadores líquidos.

Las composiciones sólidas pueden prepararse al dispersar la cepa microbiana en y sobre un portador sólido adecuadamente dividido, tal como turba, trigo, salvado, vermiculita, arcilla, talco, bentonita, tierra de diatomeas, tierra de Fuller, tierra pasteurizada y similares. Cuando tales formulaciones se usan como polvos humectables, se pueden usar agentes dispersantes biológicamente compatibles tales como agentes dispersantes y emulsionantes no iónicos, aniónicos, anfóteros o catiónicos.

De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas bacterianas de la presente invención se aplican dentro de un "microfermentador

deshidratado" como se describe en la solicitud internacional (PCT) N.º PCT/IL2019/050838. Como se usa en la presente descripción, este término se refiere a una composición deshidratada que comprende una partícula que encapsula uno o más microorganismos, en donde la partícula está compuesta por un núcleo interno que comprende el uno o más microorganismos rodeado por una capa de cubierta externa, en donde dicha capa de cubierta externa es selectivamente permeable a un fluido rehidratante, y en donde tras la absorción de fluido, dicha capa de cubierta externa se degrada a una velocidad predeterminada, lo que libera una pluralidad de microorganismos al entorno circundante de manera controlada. De acuerdo con ciertas modalidades, los microorganismos encapsulados, particularmente las cepas bacterianas y los homólogos funcionales de la invención, están presentes en la composición deshidratada a una concentración inicial de menos de alrededor de 1×10^3 CFU y, después de la absorción de fluido, la concentración de los microorganismos encapsulados aumenta al menos 10 veces antes de que los microorganismos se liberen al entorno circundante. De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, la concentración de los microorganismos liberados es al menos 10^5 CFU. En ciertas modalidades, la composición deshidratada comprende una pluralidad de partículas.

Se puede agregar cualquier fertilizante como se conoce en la técnica a las composiciones/formulaciones de la presente invención, siempre que el fertilizante no interfiera con el crecimiento y la actividad bacteriana. De acuerdo con ciertas modalidades, el fertilizante se selecciona del grupo que consiste en un fertilizante químico o biológico. La cantidad del al menos un fertilizante químico o biológico empleado puede variar según la formulación final, así como el tamaño de la planta y/o semilla a tratar.

10

Una variedad de plaguicidas químicos es evidente para una persona del oficio de nivel medio y puede usarse. Los plaguicidas químicos de ejemplo incluyen acilalaninas, butirolactonas, oxazolidinonas, hidroxí-(2-amino-)pirimidinas, isotiazolonas, isoxazoles, ácidos carboxílicos, bencimidazoles, tiofanatos, N-fenil carbamatos, toluamidas, etilamino-tiazol-carboxamida, fenilureas, piridinilmetil-benzamidas, aminocianoacrilatos, benzofenona, benzoilpiridina, pirazol-5-carboxamidas, pirimidinaminas, quinazolina, N-metoxi-(fenil-etil)-pirazol-carboxamidas, furan-carboxamidas, oxatiin-carboxamidas, fenil-benzamidas, fenil-oxo-etil tiofen amida, pirazol-4-carboxamidas, N-ciclopropil-N-bencil-pirazol-carboxamidas, piridin-carboxamidas, piridinil-etil-benzamidas, tiazol-carboxamidas, pirazin-carboxamidas, bencil-carbamatos, dihidro-dioxazinas,

20

imidazolinonas, metoxi-acetamida, metoxi-acrilatos, metoxi-carbamatos, oxazolidin-dionas, oximino-acetamidas, oximino-acetatos, tetrazolinonas, ciano-imidazol, sulfamoil-triazol, picolinamidas, dinitrofenilcrotonatos, 2,6-dinitro-anilinas,

5 compuestos de tri-fenil estaño, tiofen-carboxamidas, triazolo-pirimidilamina, anilino-pirimidinas, ácido enopiranurónico, hexopiranosilos, glucopiranosilos, tetraciclina, ariloxiquinolona, quinazolinona, fenilpirroles, dicarboximidas, ditiolanos, fósforo-tiolatos, hidrocarburos aromáticos, 1,2,4-

10 tiadiazoles, carbamatos, piperidinil-tiazol-isoxazolininas, imidazoles, piperazinas, piridinas, pirimidinas, triazoles, triazolinonas, morfolinas, piperidinas, espirocetal-aminas, amino-pirazolinona, hidroxianilidas, alilaminas, tiocarbamatos, nucleósido de peptidil pirimidina, amidas de ácido cinámico,

15 amidas de ácido mandélico, carbamatos de valinamida, isobenzofuranona, pirrolo-quinolinona, triazolobenzo-tiazol, carboxamida, ciclopropan-carboxamida, propionamida, trifluoroetil-carbamato, benzotiadiazol, tiadiazol-carboxamida, etil fosfonatos, oxima de cianoacetamida, ácidos ftalámicos, benzotriazinas, bencen-

20 sulfonamidas, piridazinonas, fenil-acetamida, guanidinas, ciano-metilen-tiazolidinas, hidrazonas de pirimidinona, 4-quinolil-acetatos, tetrazoliloximas, ditiocarbamatos, ftalimidas, cloronitrilos, sulfamidas, bis-guanidinas, triazinas, quinonas, quinoxalinas, maleimida y ftalonitrilos, así como fungicidas de

cobre (acipetacs-cobre, mezcla de Burdeos, mezcla de Borgoña, mezcla de Cheshunt, acetato de cobre, carbonato básico de cobre, hidróxido de cobre, naftenato de cobre, oleato de cobre, oxiclорuro de cobre, silicato de cobre, sulfato de cobre, sulfato de cobre básico, cromato de zinc y cobre, cufraneb, cuprobam, óxido cuproso, mancobre, oxina-cobre, saisentong, tiodiazol-cobre) y otros fungicidas, que incluyen dimetomorf, fosetil-Al, tetraconazol, azoxistrobina, propineb, piraclostrobina, fosfito de potasio, mefenoxam y folpet.

10

La formulación, como se usa en la presente descripción, también puede referirse a una formulación habitual en una cantidad efectiva a aplicar al suelo (es decir, en el surco), a una porción de la planta (es decir, pulverizar) o a la semilla antes de plantar (es decir, recubrimiento o revestimiento de semillas).

15

Las formulaciones habituales incluyen soluciones, concentrados emulsionables, polvos humectables, concentrados en suspensión, polvos solubles, gránulos, concentrados de emulsión en suspensión, materiales naturales y sintéticos impregnados con compuestos activos y cápsulas de liberación controlada muy finas en sustancias poliméricas. En ciertas modalidades de la presente invención, las cepas microbianas se formulan en polvos que están disponibles en una formulación lista para usar o de otra manera se mezclan en el momento del uso. En cualquiera de las

20

modalidades, el polvo puede mezclarse con el suelo antes o en el momento de la siembra.

Según la formulación final, también se pueden introducir uno o
5 más aditivos adecuados en las composiciones de la presente
invención. Los adhesivos tales como carboximetilcelulosa y
polímeros naturales y sintéticos en forma de polvos, gránulos o
látex, tales como goma arábiga, quitina, alcohol polivinílico y
acetato de polivinilo, así como fosfolípidos naturales, tales
10 como cefalinas y lecitinas, y fosfolípidos sintéticos, pueden
agregarse a las composiciones/formulación de la presente
invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas bacterianas se
15 formulan en una solución, emulsión o suspensión única y estable.
Para las soluciones, los compuestos químicos generalmente se
disuelven en solventes antes de agregar la cepa microbiana. Los
solventes líquidos adecuados incluyen aromáticos a base de
petróleo, tales como xileno, tolueno o alquilnaftalenos;
20 hidrocarburos alifáticos, tales como ciclohexano o parafinas, por
ejemplo, fracciones de petróleo; aceites minerales y vegetales;
alcoholes, tales como butanol o glicol, así como sus éteres y
ésteres; cetonas, tales como metiletilcetona, metilisobutilcetona
o ciclohexanona; y solventes fuertemente polares, tales como

dimetilformamida y dimetilsulfóxido. Para la emulsión o suspensión, el medio líquido es agua. En algunas modalidades, el agente químico y la cepa microbiana se suspenden en líquidos separados y se mezclan en el momento de la aplicación. En una
5 modalidad preferida de suspensión, el agente químico y la cepa microbiana se combinan en una formulación lista para usar que exhibe una vida útil razonablemente larga. En uso, el líquido se puede pulverizar o se puede aplicar al follaje de la planta como un aerosol atomizado o en el surco al momento de plantar el
10 cultivo. La composición líquida se puede introducir en una cantidad efectiva en la semilla (es decir, recubrimiento o revestimiento de semillas) o en el suelo (es decir, en el surco) antes de la germinación de la semilla o directamente al suelo en contacto con las raíces mediante una variedad de técnicas
15 conocidas en la técnica que incluyen, entre otras, riego por goteo, rociadores, inyección en suelo o remojo del suelo. Opcionalmente, se pueden agregar estabilizadores y amortiguadores, que incluyen sales de metales alcalinos y alcalinotérreos y ácidos orgánicos, tales como ácido cítrico y
20 ácido ascórbico, ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico o ácido sulfúrico. Los biocidas también se pueden agregar y pueden incluir formaldehídos o agentes liberadores de formaldehído y derivados de ácido benzoico, tal como ácido p-hidroxibenzoico.

La cantidad de la cepa bacteriana o el homólogo funcional dentro de la composición/formulación es suficiente para interactuar, colonizar y/o localizar en una planta cultivada tratada con esta.

5

De acuerdo con ciertas modalidades, las cepas bacterianas son de alrededor de 2 % p/p a alrededor de 80 % p/p de la formulación/composición completa. De acuerdo con otras modalidades, las cepas bacterianas empleadas en las composiciones son de alrededor de 5 % p/p a alrededor de 65 % p/p o de
10 alrededor de 10 % p/p a alrededor de 60 % p/p en peso de la formulación/composición completa.

De acuerdo con ciertas modalidades, la preparación/composición
15 proporcionada en la presente descripción está formulada para proporcionar estabilidad a la cepa bacteriana o al homólogo funcional. Opcionalmente, una formulación estable en almacenamiento está en forma seca, por ejemplo, una formulación en polvo o una formulación liofilizada. De acuerdo con ciertas
20 modalidades, la formulación es sustancialmente estable a temperaturas entre aproximadamente 4 °C y aproximadamente 37 °C durante al menos aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30 o más días. De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, la cepa microbiana o el homólogo funcional puede ser estable en

almacenamiento, en donde al menos 0.01 % de las CFU o esporas son viables después del almacenamiento en forma desecada (es decir, contenido de humedad de 30 % o menos) durante 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más de 10 semanas a 4 °C o a temperatura ambiente.

5

De acuerdo con ciertas modalidades, el portador es una semilla de planta. De acuerdo con estas modalidades, la presente invención proporciona una composición agrícola que comprende al menos una semilla de una planta y al menos una cepa bacteriana seleccionada del grupo que consiste en LAV104661, LAV104629, LAV104665, LAV104794, LAV104618, LAV104692, LAV104632, LAV104891, LAV104630, LAV104664, LAV104922, LAV59524, LAV104960, LAV104858, LAV104662, LAV104961, LAV104533, LAV58567, LAV1000636, LAV1000506, LAV1005101, LAV1001107, LAV1001081, LAV1000847, LAV1000965, LAV1000933, LAV100930 y homólogos funcionales de estas; una preparación de estas, un lisado, un caldo o un extracto de estos. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

20 De acuerdo con ciertas modalidades actualmente ilustrativas, la composición agrícola está en forma de recubrimiento de semillas. De acuerdo con estas modalidades, la formulación de recubrimiento de semillas comprende además al menos un agente seleccionado del grupo que consiste en un agente aglutinante y un agente

humectante. De acuerdo con determinadas modalidades ilustrativas, el agente de unión es carboximetilcelulosa (CMC).

De acuerdo con otros aspectos adicionales, la presente invención
5 proporciona una semilla recubierta con una composición agrícola que comprende al menos una cepa bacteriana, un lisado, un extracto o un caldo de estos como se describe en la presente descripción.

10 De acuerdo con ciertos aspectos, la presente invención proporciona un recipiente adaptado para un sistema de riego de un campo de plantas, que comprende una composición agrícola que comprende al menos una cepa bacteriana, un lisado, un extracto o un caldo de este como se describe en la presente.

15

De acuerdo con ciertos aspectos, la presente invención proporciona un kit que comprende (i) una composición agrícola que comprende al menos una cepa bacteriana, un lisado, un extracto o un caldo de este como se describe en la presente descripción,
20 opcionalmente (ii) un sistema de administración para aplicar la composición agrícola a una planta o una parte de esta o al medio de crecimiento vegetal y (iii) instrucciones para usar la composición agrícola.

De acuerdo con determinadas modalidades, las instrucciones para usar la composición agrícola comprenden instrucciones para las cantidades y la frecuencia de aplicación de la composición agrícola para conferir o mejorar la resistencia de la planta
5 hacia hongos y/u oomicetos patógenos.

Las cepas bacterianas de la presente invención y sus homólogos funcionales son efectivos para conferir resistencia contra hongos y/u oomicetos fitopatógenos a las plantas puestas en contacto con
10 las preparaciones de cepas o composiciones/formulaciones que las comprenden.

Como se usa en la presente descripción, las expresiones "resistencia conferida a un hongo patógeno y/u oomiceto" o
15 "resistencia mejorada a un hongo patógeno y/u oomiceto" se refieren a un fenotipo en el que una planta puesta en contacto con cepas de la presente invención tiene síntomas menos graves. y, opcionalmente, al menos uno de mayor salud, crecimiento, propagación, fertilidad, vigor, fuerza (por ejemplo, fuerza y
20 resistencia del tallo) y rendimiento, asociado con la infección del hongo patógeno u oomiceto durante o después de la infección por hongos u oomicetos que una planta que no fue puesta en contacto con la cepa. Una planta tratada con resistencia mejorada a un patógeno fúngico u oomiceto puede ser infectada por el

patógeno y exhibir uno o más síntomas de infección por el patógeno y aún así exhibir una reducción en el efecto de la infección o el síntoma de esta. Por ejemplo, una planta tratada puede infectarse por el patógeno y exhibir uno o más síntomas
5 seleccionados del grupo que consiste en marchitez de la hoja, decoloración de la hoja o vascular (por ejemplo, de color amarillento), blanqueamiento de espigas, etc., y aún así no exhiben una reducción en pérdida de rendimiento en comparación con una planta que no ha sido puesta en contacto con una cepa o
10 cepas de la invención.

Cuando se evalúa una cepa de la invención para determinar su capacidad para conferir resistencia a una planta o para mejorar la resistencia de una planta, los síntomas asociados con la
15 infección por hongos u oomicetos se comparan entre una planta o una parte de esta tratada al poner en contacto la planta o parte de esta con las cepas de la invención y una planta de control o parte de esta que no se puso en contacto con las cepas. La planta de control es generalmente, pero no necesariamente, de la misma
20 especie que la planta tratada. De acuerdo con algunas modalidades, la planta de control es de la misma especie y tiene el mismo contexto genético que la planta tratada. La mejora puede manifestarse como un aumento de 0.1 %, 0.2 %, 0.3 %, 0.5 %, 0.75 %, 1 %, 1.5 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 11 %, 12 %, 13 %, 14 %, 15 %, 16 %, 17 %, 18 %, 19 %, 20 %, 21 %, 22 %, 23 %, 24 %, 25 %, 26 %, 27 %, 28 %, 29 %, 30 %, 31 %, 32 %, 33 %, 34 %, 35 %, 36 %, 37 %, 38 %, 39 %, 40 %, 41 %, 42 %, 43 %, 44 %, 45 %, 46 %, 47 %, 48 %, 49 %, 50 %, 51 %, 52 %, 53 %, 54 %, 55 %, 56 %, 57 %, 58 %, 59 %, 60 %, 61 %, 62 %, 63 %, 64 %, 65 %, 66 %, 67 %, 68 %, 69 %, 70 %, 71 %, 72 %, 73 %, 74 %, 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 %, 100 %, o más.

12 %, 15 %, 17 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, o 100 % en salud, crecimiento multiplicación fertilidad, vigor, fuerza, o rendimiento, en comparación con una planta de control. La mejora puede ser una disminución de 0.1 %, 0.2 %, 0.3 %, 0.5 %, 0.75 %, 1 %, 1.5 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 %, 12 %, 15 %, 17 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 100 % en los síntomas asociados con el hongo patógeno y/o el oomiceto en comparación con la planta de control. De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, la planta tratada y la planta de control se cultivan en las mismas condiciones. De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, la planta tratada y la planta de control son de la misma especie.

Los síntomas asociados con enfermedades causadas por hongos patógenos u oomicetos son conocidos por una persona del oficio de nivel medio. Por lo general, se establece una escala de puntuación para una determinada enfermedad en función de la descripción y/o gravedad de los síntomas. Opcionalmente, se establece una escala de puntuación específica para una combinación de una determinada enfermedad y una especie de planta. El uso de escalas de puntuación simplifica la comparación de los síntomas de la enfermedad en plantas sometidas a diversos tratamientos.

De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para mejorar y/o conferir resistencia de una planta o una parte de esta a al menos una enfermedad causada por un hongo y/u oomiceto fitopatógeno, que comprende poner en contacto la planta, parte de esta o el hábitat de la planta con al menos una cepa bacteriana seleccionada del grupo que consiste en LAV104661, LAV104629, LAV104665, LAV104794, LAV104618, LAV104692, LAV104632, LAV104891, LAV104630, LAV104664, LAV104922, LAV59524, LAV104960, LAV104858, LAV104662, LAV104961, LAV104533, LAV58567, LAV1000636, LAV1000506, LAV1005101, LAV1001107, LAV1001081, LAV1000847, LAV1000965, LAV1000933, y los homólogos funcionales de estas; una preparación de estas, un lisado de estas, un extracto de estas, un caldo obtenido de estas o una composición que las comprende. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con aun un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para prevenir o tratar una enfermedad de las plantas causada por un hongo y/u oomiceto fitopatógeno, que comprende poner en contacto una planta, una parte de esta o el hábitat de la planta con al menos una cepa bacteriana seleccionada del grupo que consiste en LAV104661, LAV104629, LAV104665, LAV104794, LAV104618, LAV104692, LAV104632, LAV104891,

LAV104630, LAV104664, LAV104922, LAV59524, LAV104960, LAV104858, LAV104662, LAV104961, LAV104533, LAV58567, LAV1000636, LAV1000506, LAV1005101, LAV1001107, LAV1001081, LAV1000847, LAV1000965, LAV1000933, y los homólogos funcionales de estas, una
5 preparación de estas, un lisado de estas, un extracto de estas, un caldo obtenido de estas o una composición que las comprende. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

10 Cualquier método como se conoce en la técnica para poner en contacto cepas bacterianas con una planta, parte de esta o el hábitat de la planta puede usarse de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención. Generalmente, la planta o parte de esta se pone en contacto con una composición que comprende las cepas
15 bacterianas, los homólogos funcionales de estas o las preparaciones de estas. De acuerdo con algunas modalidades, la planta se puede poner en contacto directamente con la composición. De acuerdo con algunas modalidades, la composición puede aplicarse al hábitat de la planta. De acuerdo con
20 determinadas modalidades, el hábitat de la planta es un medio de crecimiento, que puede ser un medio de crecimiento sólido o líquido. De acuerdo con determinadas modalidades ilustrativas, el medio de crecimiento sólido es suelo. De acuerdo con ciertas modalidades, la composición se formula en forma líquida. De

acuerdo con estas modalidades, la planta o parte de esta puede ponerse en contacto con la composición mediante un método seleccionado del grupo que consiste en infiltración, inmersión/sumersión, incubación, pulverización y cualquier
5 combinación de estos. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, la parte de la planta es una semilla. De acuerdo con ciertas modalidades, la al
10 menos una cepa bacteriana de acuerdo con las enseñanzas de la invención se aplica a la semilla mediante recubrimiento de semillas.

De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo adicionales o
15 alternativas, la parte de la planta es una hoja. De acuerdo con algunas modalidades, la al menos una cepa bacteriana se aplica a la hoja al pulverizar o espolvorear una preparación bacteriana o una composición que la comprende de acuerdo con las enseñanzas de la presente invención.

20

De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, la parte de la planta es una raíz y la puesta en contacto se realiza mediante sumersión o inmersión.

De acuerdo con ciertas modalidades, la planta o parte de esta se esteriliza superficialmente antes de poner en contacto con la preparación/composición/formulación bacteriana, particularmente para aplicaciones de investigación.

5

En algunas modalidades, la preparación bacteriana, las composiciones y/o formulaciones que la comprenden pueden ponerse en contacto con la planta o parte de esta, por ejemplo, la semilla de la planta y/o las partes aéreas de la planta, y la colonización exitosa puede confirmarse al detectar la presencia de la cepa microbiana dentro de la planta. Por ejemplo, después de aplicar la composición/formulación/preparación a las semillas, se pueden detectar títulos altos de la cepa microbiana en las raíces y los brotes de las plantas que germinan de las semillas.

15 Además, se pueden detectar cantidades significativas de la cepa microbiana en la rizosfera de las plantas. Por lo tanto, en algunas modalidades, la cepa microbiana se aplica en una cantidad efectiva para colonizar la planta. La cepa microbiana puede colonizarse en la superficie de la planta o dentro de los tejidos

20 de las plantas como un endófito. En algunas modalidades, la colonización de la planta puede detectarse, por ejemplo, al detectar la presencia de la cepa microbiana dentro de la planta. Esto se puede lograr al medir la viabilidad de la cepa microbiana después de la esterilización superficial de la porción de la

planta: la colonización por cepa microbiana da como resultado una localización interna del microbio, lo que lo hace resistente a las condiciones de esterilización superficial. De acuerdo con algunas modalidades, la cepa microbiana se aplica en una cantidad efectiva para colonizar la rizosfera de la planta. La presencia y cantidad de la cepa microbiana también se puede establecer mediante otros medios conocidos en la técnica, por ejemplo, microscopía de inmunofluorescencia con anticuerpos específicos para microbios, o fluorescencia de hibridación *in situ*. Alternativamente, las sondas de ácidos nucleicos específicas que reconocen secuencias conservadas de la cepa bacteriana colonizada pueden emplearse para amplificar una región, por ejemplo mediante PCR cuantitativa, y correlacionarse con CFU por medio de una curva estándar.

De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, la cepa bacteriana puede ser detectable dentro de un tejido diana de la planta cultivada madura seleccionada de una fruta, una semilla, una hoja o una raíz, una porción de estas y una combinación de estas. Debe entenderse explícitamente que la cepa bacteriana o el homólogo funcional pueden colonizar una parte de la planta distinta de la parte de la planta con la que se puso en contacto dicha cepa bacteriana u homólogo funcional.

De acuerdo con ciertas modalidades, la cepa bacteriana puesta en contacto con la planta, parte de esta o la rizosfera de la planta no se detecta en dicha planta, parte de la planta de esta y la rizosfera antes de la aplicación de dicha cepa bacteriana. De
5 acuerdo con otras modalidades, la cepa bacteriana está presente naturalmente en la planta, parte de esta y/o la rizosfera de la planta. En cualquier caso, la cantidad de la cepa bacteriana en la planta, parte de esta o la rizosfera de la planta es mayor después de la puesta en contacto con la cepa en comparación con
10 su cantidad antes de la puesta en contacto (aplicación).

De acuerdo con otras modalidades, la cepa bacteriana se aplica (se pone en contacto), por ejemplo, en la superficie de al menos parte de una planta cultivada, en una cantidad efectiva para
15 conferir y/o mejorar la resistencia de la planta cultivada a al menos un hongo patógeno y/u oomiceto y/o tratar y/o prevenir una enfermedad causada por al menos un hongo patógeno y/u oomiceto.

Como se usa en la presente descripción, la frase "CFU" o
20 "unidades formadoras de colonias" se refiere a la cantidad de células microbianas en una muestra definida (p. ej., mililitro de líquido, centímetro cuadrado de superficie, una semilla de grano, etc.) que forman colonias y posteriormente se numeran, en un medio de crecimiento bacteriológico semisólido.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, la cepa bacteriana se aplica a un rango de concentración de aproximadamente de 10^2 CFU/ml a aproximadamente 10^{10} CFU/ml de la preparación bacteriana o la composición agrícola. De acuerdo con algunas modalidades ilustrativas, la cepa bacteriana se aplica a las semillas a un rango de concentración de aproximadamente de 10^2 CFU/semilla a aproximadamente 10^{10} CFU/semilla. De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, la cepa bacteriana se aplica a un rango de concentración de aproximadamente 10^7 CFU/ml a aproximadamente 10^8 CFU/ml de la preparación bacteriana o la composición agrícola, o de aproximadamente 10^7 CFR a aproximadamente 10^8 CFU por semilla.

De acuerdo con ciertos aspectos, la presente invención proporciona una cepa bacteriana modificada que tiene una capacidad mejorada para conferir o mejorar la resistencia de una planta hacia hongos y/u oomicetos patógenos, o para proteger la planta de una enfermedad causada por los hongos y/u oomicetos patógenos en comparación con una cepa bacteriana no modificada correspondiente. La modificación genética de secuencias de genes estructurales o las secuencias que regulan la expresión de dichos genes podrían dirigirse a los genes implicados o históricamente enlazados a actividad fungicida (algunos, pero no todos, se

describen en la presente descripción). Este enfoque podría usarse para mejorar el rendimiento de las cepas descritas en la presente invención.

- 5 De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas actualmente, la cepa bacteriana modificada es un organismo no modificado genéticamente (No-GMO). De acuerdo con determinadas modalidades ilustrativas, la cepa bacteriana modificada es LAV58567.
- 10 De acuerdo con ciertos aspectos adicionales, la presente invención proporciona un método para obtener una cepa bacteriana modificada que tiene una capacidad para conferir o mejorar la resistencia de una planta hacia hongos y/u oomicetos patógenos, o para proteger la planta de una enfermedad causada por los hongos
- 15 y/u oomicetos patógenos en comparación con una cepa bacteriana no modificada parental, que comprende:

- (a) cultivar una cepa bacteriana parental que tiene una capacidad de conferir o mejorar la resistencia de una planta hacia hongos
- 20 y/u oomicetos patógenos, o para proteger la planta de una enfermedad causada por los hongos y/u oomicetos patógenos en condiciones adecuadas para expandir una población de la cepa bacteriana y permitir el desarrollo de al menos un mutante bacteriano, y

(b) seleccionar al menos un mutante bacteriano resultante de la etapa (a) para una capacidad mejorada para conferir o mejorar la resistencia de una planta hacia los hongos y/u oomicetos patógenos, o para proteger la planta de una enfermedad causada por los hongos y/u oomicetos patógenos,

y así obtener la cepa bacteriana modificada que tiene la capacidad mejorada para conferir o mejorar la resistencia de una planta hacia dichos hongos y/u oomicetos patógenos, o para proteger la planta de una enfermedad causada por dichos hongos y/u oomicetos patógenos en comparación con la cepa bacteriana parental no modificada.

De acuerdo con ciertas modalidades, el hongo fitopatógeno es de un género seleccionado del grupo que consiste en *Fusarium*, *Botrytis*, *Erysiphe*, *Aspergillus*, and *Rhizopus*. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

Se sabe que los hongos patógenos u oomicetos específicos causan una pérdida dramática del cultivo debido a los síntomas de la enfermedad que afectan negativamente la calidad del cultivo. Por ejemplo, *Fusarium verticilloides* y *Fusarium graminearum* causan podredumbre en el maíz (específicamente podredumbre de tallo), el

trigo, el pimiento dulce y las berenjenas y la fusariosis de la espiga en el trigo. *Fusarium oxysporum* causa el síndrome de muerte súbita (SDS) en la soja, manchas amarillas en la remolacha azucarera, enfermedad de Panamá en la banana y marchitez en el

5 tomate, el pimiento dulce, las berenjenas, las papas y diversas plantas de la familia *Cucurbitaceae*. *Botrytis cinerea* causa moho gris en el tomate, el pimiento dulce, la berenjena, la papa, las uvas y muchos otros huéspedes. La presencia de *Aspergillus niger* en uvas causa moho negro y, junto con bacterias

10 *Acetobacter*, causan pudrición ácida de las uvas.

De acuerdo con determinadas modalidades, el hongo fitopatógeno se selecciona del grupo que consiste en *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides*, *Fusarium oxysporum*, *Botrytis*

15 *cinerea*, *Erysiphe necator*, *Aspergillus niger*, y *Rhizopus stolonifera*. De acuerdo con ciertas modalidades de ejemplo, el hongo fitopatógeno se selecciona del grupo que consiste en *Fusarium graminearum*, *Fusarium verticillioides*, and *Botrytis cinerea*. Cada posibilidad representa una modalidad particular de

20 la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, el oomiceto es de un género seleccionado del grupo que consiste en *Plasmopara*, *Pythium*,

Phytophthora, and *Pseudoperonospora*. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades, el hongo patógeno es *Fusarium*
5 *graminearum*, y la cepa bacteriana se selecciona del grupo que
consiste en LAV104794, LAV104632, LAV104664, LAV104630,
LAV104891, LAV58567, LAV104922, LAV59524, LAV1000965, LAV1000847,
LAV1000933, LAV1001081, LAV1001107, LAV1005101, homólogos
funcionales de estos y cualquier combinación de estos. Cada
10 posibilidad representa una modalidad particular de la presente
invención.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, el hongo
patógeno es *Fusarium verticillioides*, y la cepa bacteriana se
15 selecciona del grupo que consiste en LAV104794, LAV104662,
LAV104692, LAV104630, LAV104922, LAV58567, LAV104661, LAV104629,
LAV104665, LAV104664, LAV104618, LAV104891, LAV59524, LAV104960,
LAV104961, LAV1000965, LAV1000847, LAV1000933, LAV1001081,
LAV1001107, LAV1005101, homólogos funcionales y cualquier
20 combinación de estos. Cada posibilidad representa una modalidad
particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, el hongo
patógeno es *Botrytis cinerea*, y la cepa bacteriana se selecciona

del grupo que consiste en LAV104794, LAV104661, LAV104662, LAV104632, LAV104858, LAV104630, LAV59524, LAV104960, LAV104665, LAV104692, LAV104618, LAV104891, LAV104922, LAV104961, LAV1000965, LAV1000847, LAV1000933, LAV1001081, LAV1001107, 5 LAV1005101, homólogos funcionales de estas y cualquier combinación de estas. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, el oomiceto 10 patógeno es *Pythium aphanidermatum*, y la cepa bacteriana se selecciona del grupo que consiste en LAV104794, LAV104629, LAV104665, LAV104858, LAV104664, LAV104692, LAV104630, LAV104891, LAV104922, LAV59524, LAV58567, LAV104661, LAV104662, LAV104632, LAV104618, LAV104961, LAV1000965, LAV1000847, LAV1000933, 15 LAV1001081, LAV1001107, LAV1005101, homólogos funcionales de estas y cualquier combinación de estas. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, el oomiceto 20 patógeno es *Pythium irregulare*, y la cepa bacteriana se selecciona del grupo que consiste en LAV104661, LAV104662, LAV104629, LAV104665, LAV104664, LAV104630, LAV1000506, LAV1000636, LAV104632, LAV104618, LAV1000933, LAV1001081, LAV1001107, LAV1005101, homólogos funcionales de estas y

cualquier combinación de estas. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

De acuerdo con ciertas modalidades ilustrativas, el oomiceto patógeno es *Plasmopara viticola*, y la cepa bacteriana se selecciona del grupo que consiste en LAV59524, LAV104960, LAV104961, LAV104533, LAV58567, homólogos funcionales y cualquier combinación de estas. Cada posibilidad representa una modalidad particular de la presente invención.

10

El término "planta" como se usa en la presente descripción abarca una planta completa, una planta injertada, ancestros y progenie de las plantas y partes de la planta, que incluyen semillas, brotes, tallos, raíces (que incluyen tubérculos), portainjertos, púa y células, tejidos y órganos de las plantas. La planta o parte de esta puede estar en cualquier forma, que incluye cultivos en suspensión, embriones, regiones meristemáticas, tejido de callo, hojas, gametofitos, esporofitos, polen y microsporas. Las plantas a tratar de acuerdo con los métodos de la invención incluyen todas las plantas que pertenecen a la superfamilia *Viridiplante*, en particular plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas, que incluyen una legumbre o leguminosa de forraje, una planta ornamental, un cultivo alimenticio, un árbol o un arbusto.

20

De acuerdo con ciertas modalidades, la planta de la cual se mejora la resistencia/tolerancia hacia hongos y/u oomicetos patógenos, o que se está protegiendo de hongos y/u oomicetos patógenos, es de una familia seleccionada del grupo que consiste en *Actinidiaceae*, *Amaranthaceae*, *Anacardiaceae*, *Apiaceae*, *Apocynaceae*, *Araceae*, *Araliaceae*, *Arecaceae*, *Asteraceae*, *Begoniaceae*, *Brassicaceae*, *Cactaceae*, *Cannabaceae*, *Cannaceae*, *Caprifoliaceae*, *Caryophyllaceae*, *Casuarinaceae*, *Chenopodiaceae*, *Cucurbitaceae*, *Cyperaceae*, *Ericaceae*, *Euphorbiaceae*, *Fabaceae*, *Geraniaceae*, *Gesneriaceae*, *Ginkgoaceae*, *Hydrangeaceae*, *Iridaceae*, *Juglandaceae*, *Lamiaceae*, *Magnoliaceae*, *Malvaceae*, *Moraceae*, *Musaceae*, *Myrtaceae*, *Oleaceae*, *Papaveraceae*, *Passifloraceae*, *Pedaliaceae*, *Piperaceae*, *Platanaceae*, *Poaceae*, *Poaceae*, *Polygonaceae*, *Portulacaceae*, *Proteaceae*, *Punicaceae*, *Ranunculaceae*, *Rosaceae*, *Rubiaceae*, *Rutaceae*, *Salicaceae*, *Scrophulariaceae*, *Solanaceae*, *Sterculiaceae*, *Taxodiaceae*, *Theaceae*, *Tiliaceae*, *Verbenaceae*, *Violaceae*, *Vitaceae*, y *Zingiberaceae*.

20

Se aprecia que ciertas características de la invención, que se describen, por claridad, en el contexto de modalidades separadas, también pueden proporcionarse en combinación en una sola modalidad. Por el contrario, diversas características de la

invención, que se describen, por brevedad, en el contexto de una sola modalidad, también pueden proporcionarse por separado o en cualquier subcombinación adecuada o como sea adecuado en cualquier otra modalidad descrita de la invención. Ciertas

5 características descritas en el contexto de diversas modalidades no deben considerarse características esenciales de esas modalidades, a menos que la modalidad no funcione sin esos elementos.

10 Los siguientes ejemplos se presentan para ilustrar más completamente algunas modalidades de la invención. Sin embargo, de ninguna manera deben interpretarse como limitativos del amplio alcance de la invención. Un experto en la técnica puede idear fácilmente muchas variaciones y modificaciones de los principios

15 descritos en la presente descripción sin apartarse del alcance de la invención.

Ejemplos

20 Ejemplo 1: Abastecimiento de las cepas microbianas con potencial actividad biofungicida

Este ejemplo describe la fuente de la cual se aislaron las cepas microbianas antes del cribado para determinar la actividad

biofungicida. La Tabla 1 más adelante en la presente presenta las cepas microbianas descritas en esta invención y su origen.

Procedimientos experimentales

5

El muestreo se realizó durante los años 2018-2020. Las plantas fuente, las muestras de suelo o agua se tomaron de varios hábitats relevantes en Israel. Para el aislamiento del suelo, se agitaron aproximadamente 1 g de suelo en 20 ml de solución salina regulada con fosfato [PBS; por litro: 8 g de cloruro de sodio (NaCl), 0.2 g de cloruro de potasio (KCl), 1.42 g de fosfato disódico (Na_2HPO_4) y 0.24 g de fosfato de potasio (KH_2PO_4), pH7.4] durante 20 minutos a 120 rpm, y se tomó 1 ml para dilución en serie como se describe a continuación.

15

Para el aislamiento del tejido vegetal, se extrajeron órganos de plantas fuente (hojas, bayas, raíces). En el laboratorio, los órganos separados se sumergieron en PBS estéril y se agitaron durante 30 min a 200 revoluciones por minuto (RPM). Posteriormente, los órganos de las plantas se transfirieron cuidadosamente a un nuevo tubo Falcon de 50 ml.

20

Las muestras de agua y los microbios liberados en el medio de los órganos o suelo de la planta se diluyeron serialmente, y las

diluciones seleccionadas se colocaron sobre varios medios de crecimiento bacteriológicos que incluyen, pero no se limitan a, R2G [por litro: 0.5 g de proteosa peptona, 0.5 g de ácidos de casamino, 0.5 g de extracto de levadura, 0.5 g de dextrosa, 0.5 g de almidón soluble, 0.3 g de fosfato dipotásico (K_2HPO_4), 0.05 g de sulfato de magnesio ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), 0.3 g de piruvato de sodio y 8 g de gelrita como un agente gelificante, PDA (por litro: 4 g de extracto de patata, 20 g de dextrosa y 20 g de agar), NA (por litro: 5 g de peptona y 15 g de agar como agente gelificante), NYDA (por litro: 7 g de peptona, 5 g de extracto de levadura, 1 g de glucosa, 4 g de NaCl y 13 g de agar como agente gelificante), y agar de aislamiento de actinomicetos (por litro: 0.1 g de L-asparagina, 0.5 g de K_2HPO_4 , 0.001 g de $FeSO_4$ y 15 g de agar como agente gelificante).

15

Las colonias aisladas que aparecieron en placas después de 24-72 horas de crecimiento a 28 °C en la oscuridad se recogieron aun más y se volvieron a aislar en una nueva placa de R2A, antes del almacenamiento en un caldo de R2A [por litro; 0.5 g de proteosa peptona, 0.5 g de ácidos de casamino, 0.5 g de extracto de levadura, 0.5 g de dextrosa, 0.5 g de almidón soluble, 0.3 g de fosfato dipotásico (K_2HPO_4), 0.05 g de sulfato de magnesio ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$), 0.3 g de piruvato de sodio], complementado con 25 % de glicerol a menos -80 °C. Los aislados se identificaron al

nivel de cepa mediante secuenciación del genoma completo con una plataforma de secuenciación Illumina MiSeq, o al nivel de especie mediante secuenciación Sanger del gen 16S-rARN con los cebadores universales 16S_27F y 16S_1492R (sec. con núms. de ident.: 68-69: ver el Ejemplo 3 a continuación).

Tabla 1: Cepas microbianas descritas de acuerdo con algunas modalidades de la invención

Nombre de la cepa microbiana	Origen	Tipo de planta	Tejido de la planta
LAV104794	Agua natural	NR	NR
LAV104661	Uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Variedad comercial	Filósfera
LAV104662	Uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Variedad comercial	Filósfera
LAV104632	Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>)	Variedad comercial	Rizosfera
LAV104629	Agua natural	NR	NR
LAV104665	Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	Variedad comercial	Rizosfera
LAV104664	Uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Variedad comercial	Filósfera
LAV104692	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Variedad comercial	Endosfera de semilla
LAV104630	Agua natural	NR	NR
LAV104618	Suelo	NR	NR
LAV104891	Agua natural	NR	NR
LAV104922	Agua natural	NR	NR
LAV59524	Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	Variedad comercial	Rizosfera

Nombre de la cepa microbiana	Origen	Tipo de planta	Tejido de la planta
LAV104960	Suelo	NR	NR
LAV104961	Suelo	NR	NR
LAV104858	Maíz (<i>Zea mays</i>)	Variedad comercial	Rizosfera
LAV104533	Esponja marina (<i>Spheciospongia vagabunda</i>)	NR	NR
LAV1000506	suelo	NR	NR
LAV1000636	suelo	NR	NR
LAV1000965	Uva (<i>Vitis vinifera</i>)	Variedad comercial	Filósfera
LAV1000847	suelo	NR	NR
LAV1000933	suelo	NR	NR
LAV1001081	Vetchling similar a lenteja (<i>Lathyrus lentiformis</i>)	Planta silvestre	Endosfera de raíz
LAV1001107	Barón rojo (<i>Imperata cylindrica</i>)	Planta silvestre	Endosfera de raíz
LAV1005101	Trébol pata de pájaro (<i>Lotus peregrinus</i>)	Planta silvestre	Endosfera de raíz

Tabla 1. NR- no relevante

Ejemplo 2: Evolución dirigida para mejorar la supervivencia de la filósfera y la eficacia de biocontrol de una cepa con actividad

5 de biocontrol contra mildiú velloso en las uvas

La evolución dirigida imita la evolución natural a través de ciclos iterativos de generación de diversidad y selección funcional o cribado para aislar mutantes evolucionados con fenotipos deseables.

5

El aislamiento LAV55906 se aisló de un suelo agrícola en Israel y se identificó como *Lysobacter capsici*. La actividad de biocontrol se evaluó contra el patógeno de uva *Plasmopara viticola* y se descubrió que es similar al de *Lysobacter capsici* cepa AZ78, que
10 se puede combinar con cobre para controlar efectivamente *Plasmopara viticola* en la vid (Puopolo et al., Microbiol. Research 169, 2014). Sin embargo, se ha descubierto que la supervivencia de la cepa LAV55906 en las hojas de plantas está bastante limitada (hasta 5-6 días).

15

Se inició un proceso de evolución acelerada, dirigido a la selección de las colonias con supervivencia más larga en la filósfera de uva de la vid, seguida del enriquecimiento de la nueva población y la evaluación de la eficacia contra el patógeno
20 *Plasmopara viticola* que causa mildiú vellosa en las uvas.

En resumen, se seleccionó la colonia con supervivencia más larga, mediante el estampado de las hojas inoculadas con bacterias en placas de R2A de agar selectivas que contenían 50 µg/ml de

kanamicina, usando la resistencia natural a la kanamicina del aislado. El proceso se repitió cada día durante 16 días después de la inoculación, hasta que no aparecieron colonias. Después, se propagó la última colonia única y se probó la supervivencia más
5 larga, y después se incluyó en los ensayos de eficacia como se describe en los ejemplos 6 y 7 a continuación. El proceso se repitió varias veces, momento en el que se seleccionó el aislado de mejor rendimiento después de 16 días (LAV58567).

10 Las secuencias genómicas se extrajeron para el aislamiento novedoso LAV58567 y el aislado parental LAV55906. La comparación de secuencias reveló 1 inserción (en una región no codificante),
5 mutaciones intergénicas, 10 mutaciones sinónimas y 3 mutaciones contrasentido, como se detalla en la Tabla 2 a continuación.

15

La Tabla 3 a continuación muestra la comparación de la reducción de la gravedad de la enfermedad por la cepa parental LAV55906 y por la cepa evolucionada LAV58567 medida en un ensayo de planta completa (como se describe en el Ejemplo 7 a continuación)
20 mediante la aplicación del patógeno 6 días después de los tratamientos bacterianos.

Tabla 2: Comparación genómica de LAV55906 parental y LAV58567 evolucionado

Posición de mutación		Nucleótidos alterados		Aminoácidos alterados		Tipo de mutación
Supercóntigo núm.	Número de nucleótidos	Nucleótidos parentales	Nucleótidos 58567 evolucionados	Aminoácidos parentales	Aminoácidos 58567 evolucionados	
2	77322	T	C	R	R	sinónimo
2	77338	T	C	F	F->L	contrasentido
5	220867	A	G	R	R	sinónimo
5	220881	A	G	L	L	sinónimo
8	157672	GGG	AGT	NR	NR	intergénico
8	157789	A	G	NR	NR	intergénico
10	171579	GACA	AACG	VV	VV	sinónimo
11	98026	G	A	NR	NR	intergénico
11	98062	G	A	NR	NR	intergénico
15	129942	A	G	L	L	sinónimo
28	7486	G	C	G	G->R	contrasentido
29	20832	C	CTTCCCGA	NR	NR	inserción (no codificante)
40	24849	C	T	NR	NR	intergénico
41	1874	G	C	A	A->P	contrasentido
49	17742	C	T	E	E	sinónimo

Posición de mutación		Nucleótidos alterados		Aminoácidos alterados		Tipo de mutación
Supercóntigo núm.	Número de nucleótidos	Nucleótidos parentales	Nucleótidos 58567 evolucionados	Aminoácidos parentales	Aminoácidos 58567 evolucionados	
70	123	C	T	N	N	sinónimo
70	147	G	C	T	T	sinónimo
97	78	C	G	V	V	sinónimo
97	84	G	C	V	V	sinónimo

Tabla 2. Lista de mutaciones entre las cepas por el número de supercóntigo y la posición de nucleótidos dentro del supercóntigo; NR: no relevante

Tabla 3: Comparación de eficacia de la cepa parental LAV55906 y cepa LAV58567

Tratamiento	Gravedad de la enfermedad	Valor p
No tratado	9.5	
LAV55906	4.1	0.002*
LAV58567	2.6	0.0001* 0.1183**

5 Tabla 3. Eficacia del aislado evolucionado según lo medido por la gravedad de la enfermedad significativamente reducida. La enfermedad se estimó como se describió para el ensayo de hoja desprendida (Ejemplo 5 a continuación). El valor P se determinó mediante una prueba t bilateral de muestra emparejada. *- probado contra control no tratado; **- probado
10 contra LAV55906 parental.

Ejemplo 3: Caracterización de cepa microbiana por 16S-rARN

Las cepas microbianas de la presente invención se han
15 caracterizado además en función de su secuencia de 16S-rARN. Sin limitarse a ninguna teoría o mecanismo de acción, es probable que cualquier cepa con una secuencia de 16S-rARN significativamente homóloga exhiba las mismas propiedades funcionales y, por lo tanto, pueda usarse como fungicida como se describe en esta
20 invención.

Procedimientos experimentales

Las secuencias de 16S-rARN se obtuvieron mediante:

- 1) Reacción en cadena de la polimerasa (PCR; Mullis, K.B., et al. 1987. Process for amplifying, detecting, and/or-cloning nucleic acid sequences. patente de los EE. UU. 4,683,195) usando los cebadores universales 16S_27F (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG, sec. con núm. de ident.:68) y 16S_1492R (TACGGYTACCTTGTACGACTT, sec. con núm. de ident.:69) (Eden, P.A., et al. 1991. Análisis filogenético de *Aquaspirillum magnetotacticum* mediante ADN específico de 16S rARN amplificado por reacción en cadena de la polimerasa. Int. J. Syst. Bacteriol. 41: 324-325) seguido de secuenciación de Sanger (Sanger, F. y Coulson, A.R. 1975. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. J. Mol. Biol. 94:441-448) de los fragmentos amplificados usando los cebadores 16S_27F y 16S_1492R, y los cebadores adicionales 16S_5151F (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA, sec. con núm. de ident.:70) y 16S_970R (CCGTCAATTCMTTTRAGTTT, sec. con núm. de ident.:71).
- 2) Extracción de secuencias de 16S-rARN del ensamblaje de secuencias de genoma de cepas microbianas (canal patentado del solicitante) mediante la herramienta MOTHUR (una herramienta bioinformática para analizar secuencias de

genes de 16S-rARN; Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollisteret, E.B., al. 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. Appl. Environ. Microbiol. 75:7537-7541) y base de datos SILVA (y base de datos SILVA (a comprehensive on-line resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data; Pruesse, E., Quast, C., Knittel, K., Fuchs, B.M., Ludwig, W., Peplies, J., y Glöckner, F.O. 2007. SILVA: SILVA: a comprehensive online resource for quality checked and aligned ribosomal RNA sequence data compatible with ARB. Nucl. Acids Res. 35:7188-7196) como referencia.

Las secuencias de 16S-rARN obtenidas se agruparon en unidades taxonómicas operacionales (OTU) usando una herramienta de búsqueda de alineación local (BLASTN; Altschul, S., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W., y Lipman, D.J. 1990. Basic local alignment search tool. J. of Mol. Biol. 215:403-410).

Tabla 4: Organismo de cepa bacteriana y sec. con núms. de ident. de 16S rARN.

Número de ID del aislado	Organismo	Sec. con núms. de ident. de 16S rARN	Secuencias homólogas (más de 97 %)
LAV104661	<i>Erwinia sp.</i>	14	
LAV104629	<i>Pantoea sp.</i>	1	
LAV104665	<i>Pseudomonas sp.</i>	15	
LAV104794	<i>Pseudomonas sp.</i>	16	6
LAV104618	<i>Ensifer sp.</i>	17	
LAV104692	<i>Pantoea sp.</i>	18	
LAV104632	<i>Bacillus sp.</i>	2	
LAV104891	<i>Acinetobacter sp.</i>	19	22
LAV104630	<i>Enterobacter sp.</i>	20	
LAV104664	<i>Pseudomonas sp.</i>	21	
LAV104922	<i>Acinetobacter sp.</i>	22	19
LAV59524	<i>Bacillus sp.</i>	23	
LAV104960	<i>Streptomyces sp.</i>	24	
LAV104858	<i>Pseudomonas sp.</i>	3	
LAV104662	<i>Sphingobium sp.</i>	4	
LAV104961	<i>Streptomyces sp.</i>	25	
LAV104533	<i>Actinokineospora sp.</i>	26	
LAV58567	<i>Lysobacter sp.</i>	5	
LAV1000636	<i>Pseudomonas sp.</i>	6	16
LAV1000506	<i>Gordonia sp.</i>	7	
LAV1000965	<i>Pseudomonas sp.</i>	8	
LAV1000847	<i>Pseudomonas sp.</i>	9	
LAV1000933	<i>Paenibacillus sp.</i>	10	
LAV1001081	<i>Rahnella sp.</i>	11	
LAV1001107	<i>Pseudomonas sp.</i>	12	
LAV1005101	<i>Pseudoxanthomonas sp.</i>	13	

Tabla 4: Lista de cepas bacterianas de la invención, y sus respectivas secuencias de 16S-rARN como se describe en el Listado de secuencias en la presente descripción. Algunas secuencias de 16S-rARN mostraron una

homología mayor a 97 % de identidad global con secuencias de otras cepas de la invención, como se detalla en la columna más a la derecha.

Ejemplo 4: Agrupación de cepas microbianas usando marcadores

5 genómicos específicos de cepa

Procedimientos experimentales

Los fragmentos de ADN con longitudes que varían de 200 bp a
 10 1000 bp de genomas de las cepas microbianas de ciertas
 modalidades de esta invención se cribaron contra la base de datos
 de nucleótidos refseq del genoma de bacterias NCBI, mediante la
 herramienta de alineación local NCBI BLASTN (NCBI-blast-2.10.0+).
 Los criterios para declarar un marcador específico de cepa
 15 microbiana fueron encontrar secuencias refseq con al menos 90 %
 de cobertura y con al menos 95 % de identidad de secuencia local.
 Se seleccionaron hasta 3 marcadores genómicos específicos de cepa
 microbiana para cada cepa microbiana descrita en esta invención.

20 Tabla 5: Sec. con núms. de ident. de marcador genómico por cepa

Número de la cepa microbiana	Sec. con núms. de ident. de marcador genómico	Número de marcadores específicos de cepa microbiana	Longitud de las secuencias de marcadores genómicos (nucleótidos), concordante con sec. con núms. de ident. de marcador*
------------------------------	---	---	---

Número de la cepa microbiana	Sec. con núms. de ident. de marcador genómico	Número de marcadores específicos de cepa microbiana	Longitud de las secuencias de marcadores genómicos (nucleótidos), concordante con sec. con núms. de ident. de marcador*
LAV104533	NA		
LAV104618	75-77	3	921; 911; 863
LAV104629	27-28	2	927; 328
LAV104630	84-85	2	203; 200
LAV104632	29	1	233
LAV104661	67-68	2	827; 769
LAV104662	33-35	3	992; 932; 672
LAV104664	86-88	3	896; 766; 747
LAV104665	69-71	3	413; 389; 323
LAV104692	78-80	3	695; 516; 455
LAV104794	72-74	3	601; 450; 302
LAV104858	30-32	3	779; 666; 587
LAV104891	81-83	3	685; 362; 284
LAV104922	89-91	3	292; 286; 206
LAV104960	NA		
LAV104961	95-97	3	876; 767; 760
LAV58567	36-38	3	894; 784; 751
LAV59524	92-94	3	726; 670; 656
LAV1000506	40-42	3	551; 538; 538
LAV1000636	39	1	621
LAV1000965	43-47		
LAV1000847	48-50		
LAV1000933	51-55		
LAV1001081	56		
LAV1001107	57-61		
LAV1005101	62-66		

Tabla 5: *NA - no disponible (no se encontraron secuencias de marcadores genómicos que cumplan los criterios detallados anteriormente).

Ejemplo 5: Cribado y evaluación de la potencial actividad de

5 biocontrol fúngico de los aislados bacterianos

Las cepas microbianas obtenidas como se describieron anteriormente en los Ejemplos 1 y 2, se cribaron para determinar su capacidad para suprimir el crecimiento micelial de *Fusarium*
 10 *graminearum*, *Fusarium verticillioides*, *Botrytis cinerea* y *Pythium aphanidermatum* mediante ensayos de cultivo dual invitro en agar de dextrosa de papa (PDA).

Procedimientos experimentales

15

Los cultivos fúngicos se mantuvieron de manera rutinaria en placas de medio PDA. Las cepas microbianas aisladas se cultivaron en medio R2A (como se describió en el Ejemplo 1 anteriormente en la presente) a 28 °C durante 48 horas. Los pélets celulares se
 20 recolectaron después mediante centrifugación a 10,000 rpm a temperatura ambiente durante 5 minutos y se volvieron a suspender en 2 ml de PBS estéril (como se describió en el Ejemplo 1 anteriormente en la presente).

Se colocó un tapón de agar PDA de un cultivo fúngico en el centro de una placa de Petri PDA (de abajo hacia arriba) y se colocaron 5 microlitros de un cultivo de células bacterianas en la placa a una distancia de 2,5 cm del centro. Se incluyeron cuatro bacterias diferentes en cada placa. Cada combinación de hongos patógenos/bacterias se replicó 3 veces y las placas se colocaron de manera aleatoria en la oscuridad y se incubaron a 25 °C durante 5 días. Como controles negativos, se inocularon 3 placas de Petri solo con los cultivos fúngicos. Se midió el crecimiento radial de la colonia de micelio de hongos hacia una colonia bacteriana específica (mm) y se calculó la inhibición promedio con respecto al control negativo.

La Tabla 6 muestra los efectos de las cepas microbianas en el crecimiento de los patógenos fúngicos evaluados en los ensayos de cultivo dual invitro.

Tabla 6: Inhibición *in vitro* del crecimiento fúngico por parte de las cepas microbianas

20

Cepa microbiana	Especies fúngicas			
	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Pythium aphanidermatum</i>
LAV104794	5 (0.002)	2.75 (0.05)	8.5 (0.02)	8.25 (0.007)

Cepa microbiana	Especies fúngicas			
	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Pythium aphanidermatum</i>
LAV104661	0	0.5 (0.06)	0.75 (0.01)	0
LAV104662	0	0.75 (0.02)	0.8 (0.05)	0
LAV104632	1 (0.04)	0	1.25 (0.02)	0
LAV104629	0	0.75 (0.1)	0	1.25 (0.04)
LAV104665	0	0.75 (0.1)	7.25 (0.06)	8 (0.03)
LAV104858	0	0	0.75 (0.05)	4.5 (0.04)
LAV104664	0.75 (0.04)	1 (0.08)	0	23.75 (0.003)
LAV104692	0	1.25 (0.01)	1 (0.07)	3 (0.03)
LAV104630	1.3 (0.03)	1.25 (0.05)	4.25 (0.03)	9.25 (0.005)
LAV104618	0	0.25 (0.1)	1 (0.06)	0.5 (0.1)
LAV104891	0.3 (0.05)	1.25 (0.1)	4.25 (0.08)	9.75 (0.007)
LAV104922	0.75 (0.08)	1 (0.05)	4 (0.07)	8.25 (0.01)
LAV59524	0.75 (0.09)	1 (0.08)	3.5 (0.01)	7.75 (0.03)
LAV104960	0	0.25 (0.1)	9.75 (0.01)	0
LAV104961	0	0.4 (0.09)	0.25 (0.2)	1.75 (0.1)
LAV104533	NA	NA	NA	NA
LAV58567	6 (0.01)	5.5 (0.02)	0	3 (0.04)
LAV1000965	1 (0.05)	1.3 (0.006)	3.3 (0.005)	0.3 (0.2)
LAV1000847	1 (0.07)	1 (0.05)	1 (0.04)	3 (0.003)
LAV1000933	1 (0.1)	1 (0.04)	1 (0.1)	3 (0.003)
LAV1001081	3 (0.007)	1.5 (0.002)	0.16 (0.1)	0.5 (0.1)

Cepa microbiana	Especies fúngicas			
	<i>Fusarium graminearum</i>	<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Pythium aphanidermatum</i>
LAV1001107	0.67 (0.2)	1 (0.07)	0.33 (0.1)	1 (0.15)
LAV1005101	0.67 (0.1)	1 (0.05) (0.1)	0.33 (0.1)	0.5 (0.1)

Tabla 6: Se midió el crecimiento micelial radial de los hongos hacia las bacterias antagonistas (R_i) y el de una placa de control (R_c) y se calculó la inhibición del crecimiento micelial (mm) sobre la diferencia $R_c - R_i$; Los números entre paréntesis indican el valor p (prueba t, significativo en $P \leq 0,05$). NA - No disponible.

Ejemplo 6: Inhibición *in vivo* del desarrollo de la enfermedad de mildiú vellosa en hojas de vid desprendidas

10 Procedimientos experimentales

Las cepas microbianas aisladas se cultivaron en medio R2A (como se describió en el Ejemplo 1 anteriormente en la presente) a 28 °C durante 24 horas. Los pélets celulares se recolectaron después
15 mediante centrifugación a 10.000 rpm a temperatura ambiente durante 5 minutos y se volvieron a suspender en 10 ml de PBS estéril. Se determinó la densidad celular de cada suspensión microbiana (O.D. 600). La concentración celular se determinó al
20 colocar diluciones en serie (en PBS) en placas R2G, al contar y calcular las unidades formadoras de colonias (CFU) después de 2 días de crecimiento a 28 °C en la oscuridad.

La inhibición de la enfermedad de mildiú vellosa causada por *Plasmopara viticola* se evaluó mediante un ensayo de hojas desprendidas esencialmente según lo descrito por Prajongjai et al. (S. Afr. J. Enol. Vitic 35:43; 2014). Se tomaron hojas de edad
5 y área similares de plantas cultivadas en un invernadero en Evogene Farm (Israel) de dos variedades primarias de uva (*V. vinifera*): Cabernet y Merlot.

Las hojas se desinfectaron superficialmente con 0.09 % de
10 hipoclorito de sodio (p/v) y 0.01 % de Tween 20 (v/v), se enjuagaron con agua destilada estéril y se colocaron con la superficie abaxial hacia arriba sobre papel de filtro húmedo en una placa de Petri.

15 Las suspensiones bacterianas se pulverizaron sobre la superficie de la hoja hasta escorrentía: alrededor de 1 ml de suspensión/hoja correspondiente a una concentración bacteriana de 10^7 - 10^8 CFU/ml, (4 repeticiones de hoja por concentración), y se dejaron secar antes de la aplicación de patógenos.

20

Se recolectaron esporangios de *Plasmopara viticola* de hojas de *V. vinifera* infectadas con mildiú vellosa que se mantuvieron de manera rutinaria en una cámara de crecimiento controlado al inundar la superficie de la hoja con agua. La concentración de la

suspensión de esporangios se calculó con un hemocitómetro y se ajustó a 1×10^4 esporangios/ml.

Para examinar la actividad antifúngica de las cepas de bacterias,
5 las suspensiones de esporangios se pulverizaron sobre la superficie de la hoja abaxial de cada hoja desprendida descrita anteriormente hasta que se humedecieron uniformemente. Las hojas sin tratamiento bacteriano previo (solo hongos) sirvieron como control normal del desarrollo de la enfermedad para el
10 experimento. Las placas de Petri se incubaron a 24 °C, en un fotoperíodo de 16 h durante 7 días. Las hojas infectadas después se transfirieron a una incubadora a 19 °C con una humedad relativa (RH) de 100 % durante la noche para mejorar la esporulación para la estimación de la enfermedad. La gravedad de
15 la enfermedad del área de la hoja infectada se clasificó en 3 clases: 0 = sin esporulación detectada; 1 = 10-20 % de área de hoja infectada; 2 = 30-50 % de área de hoja infectada; 3 = >50 % de área de hoja infectada. El porcentaje de inhibición de la enfermedad que proporciona el tratamiento bacteriano se calculó
20 con respecto a la puntuación de las hojas no tratadas.

La Tabla 7 muestra las cepas microbianas que disminuyeron significativamente el desarrollo de mildiú vellosa en hojas de

vid desprendidas en comparación con el control no tratado (prueba exacta de Fisher, valor $p < 0.2$).

Tabla 7: Cepas microbianas que inhiben el desarrollo de mildiú

5 velloso en hojas de vid desprendidas

Número de la cepa microbiana	% de inhibición	Valor p
LAV59524	70	0.004
LAV104960	100	0.004
LAV104961	100	0.004
LAV104533	100	0.001
LAV58567	100	0.001

Tabla 7: Inhibición del desarrollo de mildiú velloso en hojas desprendidas calculada de acuerdo con la fórmula $(DS_c - DS_t)/DS_c \times 100$, en donde DS_c = puntuación de enfermedad en hojas no tratadas (control); DS_t = puntuación de enfermedad en hojas tratadas con la cepa microbiana indicada.

10

Ejemplo 7: Inhibición *in vivo* de la enfermedad de mildiú velloso en plantas de vid intactas

15 Las cepas bacterianas que pasaron exitosamente el ensayo de hoja desprendida descrito anteriormente en el Ejemplo 6 (Tabla 7) se evaluaron para determinar la actividad antifúngica en plantas de vid completas en un ambiente controlado por invernadero.

20 Se tomaron esquejes de vides que contenían cuatro o cinco nudos y cuatro o más entrenudos en cada sección. Se realizó un corte

limpio justo debajo de un nodo de hoja, y el extremo basal se plantó en tierra de jardinería. Se usaron plantas jóvenes con hasta dos brotes para los ensayos de plantas completas. Las hojas de edad similar se eligieron, y se marcaron y el lado abaxial de cada hoja se trató con una suspensión bacteriana seguido de la aplicación de patógenos como se describió en el Ejemplo 6 anteriormente en la presente.

En este experimento, el patógeno se aplicó 24 horas después de la aplicación de bacterias para todos los aislados excepto para aislar LAV58567. Para el último aislamiento, el patógeno se aplicó después de 6 días, ya que se demostró que la supervivencia de este aislado era más larga (Ejemplo 2 anterior).

El aislado se evaluó en 5 plantas. Se trataron dos hojas en cada planta, una con una suspensión bacteriana a 10^7 CFU/ml y la otra a 10^8 CFU/ml.

Después de la infección, las plantas se mantuvieron durante la noche en una cámara de niebla a 19 °C, 100 % de RH en la oscuridad y después se transfirieron al invernadero a 22-24 °C, 50-60 % de RH, 16 horas de luz.

Después de 7 días, las hojas tratadas se cortaron y se colocaron sobre papel de filtro húmedo en una placa de Petri y se transfirieron a una incubadora a 19 °C a 100 % de RH durante la noche para mejorar la esporulación. La enfermedad se estimó como se describió para el ensayo de hoja desprendida (Ejemplo 6 anteriormente en la presente). El porcentaje de inhibición de la enfermedad que proporciona el tratamiento bacteriano se calculó con respecto a la puntuación de las hojas no tratadas.

La Tabla 8 muestra un desarrollo significativamente menor de mildiú vellosa en hojas tratadas de plantas de vid intactas en comparación con el control no tratado (prueba exacta de Fisher, valor $p < 0.2$).

Tabla 8: Cepas microbianas que inhiben el desarrollo de la enfermedad de mildiú vellosa en hojas de plantas de vid intactas

Número de la cepa microbiana	% de inhibición	Valor p
LAV59524	80	0.0003
LAV104960	80	0.004
LAV104961	80	0.0003
LAV104533	85	0.002
LAV58567	95	0.001

Tabla 8: Inhibición del desarrollo de mildiú vellosa en hojas de plantas de vid intactas calculadas de acuerdo con la fórmula $(DS_c - DS_t) / DS_c \times 100$, en donde DS_c = puntuación de enfermedad en hojas no tratadas (control); DS_t

= puntuación de enfermedad en hojas tratadas con la cepa microbiana indicada. Los números entre paréntesis indican la concentración de la cepa bacteriana aplicada.

- 5 El aislado LAV58567 se probó además en un ensayo de planta de invernadero contra 3 aislados diferentes de *Plasmopara viticola* (cortesía del SAGEA Centro di Saggio s.r.l, Cuneo, Italia) con resistencia a compuestos fungicidas químicos prominentes (mefenoxam, cyazofamid y cymoxanil, respectivamente). El patógeno
- 10 se aplicó 1 día después de la aplicación de bacterias. Los efectos de LAV58567 en el desarrollo de la enfermedad se compararon con los efectos de los tres compuestos fungicidas descritos anteriormente después de 2 semanas.
- 15 La Tabla 9 compara la eficacia de los diferentes tratamientos sobre el desarrollo de mildiú veloso, calculado como el porcentaje de reducción de la gravedad de la enfermedad en los tratamientos en comparación con el control negativo.
- 20 Tabla 9: Inhibición del desarrollo de la enfermedad de mildiú veloso causado por aislados de *Plasmopara viticola* en hojas de plantas de vid intactas

Cepa patógena	Eficacia en la gravedad de la enfermedad			
	LAV58567	Ranman TOP	Twingo	Ridomil

Cepa patógena	Eficacia en la gravedad de la enfermedad			
		(AI- Cyazofamid 160 g/L)	(AI- Cymoxanil 4 %)	Gold (AI- Mefenoxam 40 %)
Resistente a cymoxanil	79 % ^b		2.6 % ^c	89 % ^a
Resistente a mefenoxam	75 % ^b	88 % ^a		34 % ^c
Resistente a la ciazofamida	76.2 % ^b	3.6 % ^c	91 % ^a	
Susceptible	68 % ^b		83.4 % ^a	89 % ^a

Tabla 9: La reducción de la gravedad de la enfermedad de mildiú vellosa se calculó de acuerdo con la fórmula de Abbott: $(X - Y) / X \times 100$ en donde X es gravedad de la enfermedad en el control, y Rodomiel es gravedad de la enfermedad en el tratamiento. Las letras siguientes a los valores indican agrupaciones estadísticamente significativas (P=0.05, Student-Newman-Keuls). AI - ingrediente activo en el producto.

Ejemplo 8: Ensayo de viñedo para la inhibición del desarrollo de mildiú vellosa

El aislado del candidato LAV58567 se probó durante dos años consecutivos en viñedos comerciales en el noreste y noroeste de Italia con infección por mildiú vellosa endémico. La cepa se probó como un cultivo seco redisuelto en agua a una concentración de 2 g/L. Se llevaron a cabo cuatro a seis aplicaciones consecutivas en intervalos de 7-10 días.

Las condiciones de cultivo de las plantas (tipo de suelo y fertilización) fueron uniformes para todas las parcelas y se

ajustaron a las prácticas vitivinícolas locales. El diseño y la configuración de los ensayos se realizaron de acuerdo con el estándar EPPO PP 1/181 (Conducta y reporte de ensayos de evaluación de eficacia).

5

Para probar el desarrollo de mildiú vellosa, se evaluaron la gravedad y la incidencia de la enfermedad a partir de 100 hojas o 50 agrupamientos de cada una de los 4 gráficos que se establecieron para cada tratamiento, una semana después de cada aplicación. La eficacia del tratamiento se comparó con un control positivo químico estándar, control positivo biológico y control negativo sin tratar. Se realizaron dos pruebas en cada uno de los dos años.

15 Tabla 10: LAV58567 inhibición del desarrollo de la enfermedad de mildiú vellosa en hojas y agrupamientos de plantas de vid en viñedos comerciales

	2020		2021	
Tratamiento	Eficacia en las hojas	Eficacia en los agrupamientos	Eficacia en las hojas	Eficacia en los agrupamientos
LAV58567	54.5 % ^c	72.5 % ^b	43 % ^c	44 % ^c
Control químico	93 % ^a	98 % ^a	97 % ^a	99 % ^a
Control	70 % ^b	81 % ^b	81 % ^b	63 % ^b

	2020		2021	
Tratamiento	Eficacia en las hojas	Eficacia en los agrupamientos	Eficacia en las hojas	Eficacia en los agrupamientos
orgánico				

Tabla 10: La reducción de la gravedad de la enfermedad de mildiú veloso se calculó de acuerdo con la fórmula de Abbott: $(X - Y) / X \times 100$ donde X es gravedad de la enfermedad en el control negativo no tratado, e Y es gravedad de la enfermedad en el tratamiento. Los valores son promedios de 2 ensayos/año. Las letras siguientes a los valores indican agrupaciones estadísticamente significativas (P=0.05, Student-Newman-Keuls).

Ejemplo 9: Inhibición del marchitamiento de plántulas de *Pythium* en ensayo de plántulas de maíz

Pythium aphanidermatum y *Pythium irregulare* se cultivaron en placas de PDA durante 48 h a 25 °C. Se cortaron discos de 1 cm de diámetro del borde del cultivo para inocular 100 g de semillas de mijo perla esterilizadas en autoclave con la adición de 30 ml de agua estéril. Las semillas inoculadas se incubaron a 25 °C durante 6 días y se molieron hasta obtener una mezcla fina. Se usó 1 g de la mezcla para inocular 200 g de mezcla de suelo de siembra [turba (Kekila) y perlita (1:2, v/v)]. Las semillas de maíz (Supersweet) después se plantaron en la mezcla en bandejas. Para un control positivo, se sembró un conjunto de semillas de maíz en una mezcla de suelo sin inocular. Cada uno de los dos experimentos repetidos incluyó 24 semillas por tratamiento. Se agregó 1 ml de solución de bacterias (10^8 CFU/ml) en el momento

de la siembra. Se agregó un ml de agua estéril a las semillas de maíz para el tratamiento simulado (control no tratado).

Después de 10 días desde la siembra, se registró la germinación de las plántulas y se calculó el porcentaje, y se comparó con el del control no tratado.

Tabla 11: Cepas microbianas que disminuyen significativamente el marchitamiento de plántulas de *Pythium* en maíz

10

	<i>Pythium aphanidermatum</i>		<i>Pythium irregulare</i>	
Número de la cepa microbiana	% de mejora de germinación	Valor p	% de mejora de germinación	Valor p
LAV104794	97	0.001	NA	NA
LAV104661	69	0.005	74	0.04
LAV104662	76	0.001	60	0.05
LAV104632	72	0.002	70	0.08
LAV104629	50	0.03	100	0.009
LAV104665	83	0.006	95	0.002
LAV104858	86	0.05	NA	NA
LAV104664	93	0.001	35	0.05
LAV104692	92	0.03	NA	NA
LAV104630	50	0.03	48	0.05
LAV104618	63	0.07	78	0.09
LAV104891	75	0.06	NA	NA
LAV104922	100	0.005	NA	NA
LAV1000506	NA	NA	55	0.05

	<i>Pythium aphanidermatum</i>		<i>Pythium irregulare</i>	
Número de la cepa microbiana	% de mejora de germinación	Valor p	% de mejora de germinación	Valor p
LAV1000636	NA	NA	47	0.04
LAV1000965	55	0.02	NA	NA
LAV1000847	NA	NA	75	0.001
LAV1000933	45	0.04	63	0.007
LAV1001081	NA	NA	42	0.04
LAV1001107	NA	NA	54	0.05
LAV1005101	NA	NA	39	0.07

Tabla 11: Inhibición del marchitamiento de plántulas de *Pythium* en plántulas de maíz. Se calculó la mejora de la germinación en comparación con el control sin tratar de acuerdo con la siguiente fórmula: % de mejora = (Germinación en el tratamiento - germinación en control negativo) / (Germinación en control positivo - germinación en control negativo) * 100, en donde "control positivo" son plántulas germinadas sin el patógeno y "control negativo" son plántulas germinadas en presencia del patógeno sin ningún tratamiento inhibidor. El valor p se calculó mediante la prueba de Fisher. NA: No disponible

Ejemplo 10: Agrupación basada en función de cepas microbianas

La reducción de los síntomas de la enfermedad de las plantas mediante la aplicación de una cepa microbiana de acuerdo con ciertas modalidades de la presente invención es indicativa de propiedades funcionales específicas de las cepas microbianas. Estas propiedades funcionales contribuyen a la tolerancia de la planta contra una enfermedad causada por un hongo o un oomiceto cuando las cepas microbianas están presentes en la planta. Se sabe que los microorganismos producen enzimas líticas, especialmente quitinasas, alfa y beta glucanasas y xilanasas

(CHI), que hidrolizan la quitina, un componente principal de las paredes celulares de los hongos, y/o la celulosa, el componente principal de las paredes celulares de los oomicetos. Las bacterias que producen enzimas líticas son, por lo tanto, una estrategia alternativa para controlar los fitopatógenos. Tales bacterias pueden agruparse de acuerdo con sus propiedades líticas.

Actividad xilanasa

Para detectar la capacidad de producción de xilanasa, se detectaron 10 microlitros de un cultivo durante la noche de cada una de las cepas microbianas se observan en 8 réplicas en 0.1 % de medio de agar xilano (Composición: extracto de levadura 3.0 g/L, peptona 1.5 g/L, NaCl 3.5 g/L, NaNO₃ 1.0 g/L, KH₂PO₄ 1.0 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.3 g/L, Agar 20 g/L, y 0.1 % de madera de haya xilano) (pH 5.5). Las placas se incuban a 28±2 °C durante 72 horas. Todas las placas se tiñen con 0.5 % de colorante rojo congo durante aproximadamente media hora y después se tiñen con solución de NaCl 1 M a temperatura ambiente. La actividad xilanasa se indica mediante zonas de aclaramiento calificadas mediante estimación visual. (Bushra K & Nazish MA 2016, Optimization of fermentation media and growth conditions for microbial xylanase production. 3 Biotech 6: 122).

Actividad celulolítica

Para el cribado de bacterias que producen enzimas celulolíticas, se inoculan colonias individuales en medio de Mandels y Reese (Mandels M, Reese ET. Induction of cellulase in *Trichoderma viride* as influenced by carbon sources and metals. *Journal of Bacteriology*. 1957;73 (2):269-278) que contienen sal sódica de carboximetilcelulosa [KH₂PO₄ 2.0 g/L; (NH₄)₂SO₄ 1.4 g/L; MgSO₄ ·7H₂O 0.3 g/L, CaCl₂ 0.3 g/L, extracto de levadura 0.4 g/L, FeSO₄ ·7H₂O 0.005 g/L; MnSO₄, 0.0016 g/L; ZnCl₂, 0.0017 g/L, CoCl₂ 0.002 g/L, carboximetilcelulosa sodio (CMC-Na) 5.0 g/L, y agar 15.0 g/L; pH 5.0]. Después de la incubación a 28 °C durante 48h, todas las placas se tiñen con 1 % (p/v) de solución de rojo congo durante 15 min y se decoloran con NaCl 1 M durante 15 min. Las zonas de degradación son visibles alrededor de las bacterias, lo que mostraba la hidrolización de CMC por parte de las cepas inoculadas.

20 Actividad quitinolítica

Para el cribado de bacterias productoras de quitinasa, se usa un medio solidificado con agar modificado con quitina coloidal [Na₂HPO₄ 6 g/L, KH₂PO₄ 3 g/L, NH₄Cl 1 g/L, NaCl 0.5 g/L, extracto

de levadura 0.05 g/L, agar 15 g/L y 1 % de quitina coloidal (p/v)]. Las colonias que muestran zonas de aclaramiento sobre un fondo de color crema se consideran bacterias que producen quitinasa.

5

La descripción anterior de las modalidades específicas revelará tan completamente la naturaleza general de la invención que otros pueden, al aplicar el conocimiento actual, modificarla y/o adaptarla fácilmente para diversas aplicaciones de tales
10 modalidades específicas sin experimentación indebida y sin apartarse del concepto genérico y, por lo tanto, tales adaptaciones y modificaciones deben ser y pretenden ser comprendidas dentro del significado e intervalo de equivalentes de las modalidades descritas. Debe entenderse que la fraseología
15 o terminología empleada en la presente descripción tiene el fin de describir y no de limitar. Los medios, los materiales y las etapas para llevar a cabo diversas funciones descritas pueden tomar una diversidad de formas alternativas sin apartarse de la invención.