

COMPOSICIONES Y MÉTODOS DE BIOCONTROL

LISTA DE SECUENCIAS

[0001] La presente solicitud contiene un Listado de Secuencias que ha sido presentado electrónicamente en formato XML y que se incorpora por referencia en su totalidad. Dicha copia XML, creada el 18 de julio de 2024, se denomina 18984-017WO1 Sequence Listing y tiene un tamaño de 4,2 kilobytes.

ANTECEDENTES

[0002] Algunos patógenos de las plantas pueden ser un problema. Por ejemplo, pueden causar enfermedades u otros problemas en las propias plantas o en los productos. En consecuencia, existe la necesidad de métodos y composiciones mejorados para combatir los patógenos de las plantas.

RESUMEN

[0003] Este resumen tiene por objeto presentar una selección de conceptos que se describen más adelante en la descripción detallada. Este resumen no pretende identificar características clave o esenciales de la materia reivindicada, ni pretende utilizarse como medio para limitar el alcance de la materia reivindicada.

[0004] Un aspecto de la presente divulgación es un método que comprende poner en contacto una planta, una semilla, o el suelo que comprende una planta, con una formulación que incluye (i) un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1, y/o (ii) con una o más moléculas sintetizadas por dicho *Bacillus amyloliquefaciens*. La formulación puede tener un pH en el rango de aproximadamente 6 a aproximadamente 11. En este aspecto, el contacto reduce el crecimiento de, o mata, uno o más organismos patógenos

presentes sobre o dentro de la planta, la semilla, o el suelo que comprende la planta, donde el uno o más organismos patógenos se selecciona del grupo que consiste en un hongo, una bacteria, y un nematodo.

[0005] Otro aspecto de la presente divulgación es una formulación que comprende una espora de *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1, en la que la formulación tiene un pH en el rango de aproximadamente 6 a aproximadamente 11 y comprende *Bacillus amyloliquefaciens* viable después del almacenamiento a una temperatura de aproximadamente 18°C a aproximadamente 25°C o a una temperatura de hasta aproximadamente 50°C durante al menos 14 días.

[0006] Un aspecto adicional de la presente divulgación es un método para tratar una enfermedad en una planta, una semilla o un suelo que comprende una planta. El método comprende los pasos de: obtener una planta, una semilla, o un suelo que comprende una planta que tiene una enfermedad; y contactar la planta, la semilla, o el suelo que comprende la planta, con una formulación que incluya (i) un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1, y/o (ii) con una o más moléculas sintetizadas por dicho *Bacillus amyloliquefaciens*. La formulación puede tener un pH en el rango de aproximadamente 6 a aproximadamente 11. En este aspecto, el contacto reduce el crecimiento de, o mata, uno o más organismos patógenos presentes sobre o dentro de la planta, la semilla o el suelo que comprende la planta, responsables de la enfermedad; y la enfermedad es la roya asiática de la soja, el añublo del arroz, la mancha parda, la mancha parda estrecha, la podredumbre de la corona, la podredumbre amarga (cítricos, postcosecha), el síndrome de declive rápido del olivo, la enfermedad de Pierce (uvas), la hoja quemada (almendras, café), la clorosis variegada de los cítricos, la podredumbre negra, los quistes de la soja o los meloidogyne.

[0007] Otro aspecto de la presente divulgación es un método para prevenir o reducir la gravedad de una enfermedad en una planta, una semilla o un suelo que comprende una planta. El método comprende los pasos de: obtener una planta, una semilla, o un suelo que comprende una planta en riesgo de contraer una enfermedad y contactar la planta, la

semilla, o el suelo que comprende la planta, con una formulación que incluya (i) un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1, y/o (ii) con una o más moléculas sintetizadas por dicho *Bacillus amyloliquefaciens*. La formulación puede tener un pH en el rango de aproximadamente 6 a aproximadamente 11. En este aspecto, el contacto reduce el crecimiento de, o mata, uno o más organismos patógenos presentes sobre o dentro de la planta, la semilla o el suelo que comprende la planta y responsables de la enfermedad; y la enfermedad es la roya asiática de la soja, el añublo del arroz, la mancha parda, la mancha parda estrecha, la podredumbre de la corona, la podredumbre amarga (cítricos, postcosecha), el síndrome de declive rápido del olivo, la enfermedad de Pierce (uvas), la hoja quemada (almendras, café), la clorosis variegada de los cítricos, la podredumbre negra, los quistes de la soja o los meloidogyne.

[0008] Cualquier aspecto o forma de realización descritos en el presente documento pueden combinarse con cualquier otro aspecto o forma de realización descritos en el presente documento. Otros aspectos y ventajas de la materia reivindicada se desprenderán de la siguiente descripción y de las reivindicaciones adjuntas.

INCORPORACIÓN POR REFERENCIA

[0009] Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patentes mencionadas en esta especificación se incorporan aquí por referencia en la misma medida que si se indicara específica e individualmente que cada publicación, patente o solicitud de patente se incorpora por referencia.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0010] Las características novedosas de la divulgación se exponen con particularidad en las reivindicaciones adjuntas. Una mejor comprensión de las características y ventajas de la presente divulgación se obtendrá por referencia a la siguiente descripción detallada que expone realizaciones ilustrativas, en las que se utilizan los principios de la divulgación, y los dibujos que la acompañan:

- [0011] La FIG. 1 muestra los resultados de los alineamientos de secuencias de grupos de genes en el genoma BC17B en comparación con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus* de acuerdo con una o más realizaciones.
- [0012] La FIG. 2 muestra imágenes digitales de la inhibición de *Xanthomonas campestris* en medio R2A por BC17B en comparación con las células de control.
- [0013] Las FIG. 3A y FIG. 3B muestran las puntuaciones medias tabuladas de la gravedad de la enfermedad *relacionada con Xanthomonas campestris* para el disco 1 y el disco 2, respectivamente.
- [0014] La FIG. 4A muestra el grado de control de la mancha negra para las tres condiciones experimentales a los 25 días postratamiento.
- [0015] La FIG. 4B muestra imágenes digitales que comparan el aspecto de la lechuga tratada con PBS y la lechuga tratada con BC17B.
- [0016] La FIG. 5 es un gráfico que muestra el grado de inhibición del tamaño y peso de la herida conseguido por BC17B en melocotones con heridas infectadas por *Botrytis cinerea*.
- [0017] La FIG. 6 es un gráfico que muestra la incidencia del tizón de la flor en arándanos tratados con BC17B.
- [0018] La FIG. 7A es un gráfico que muestra la incidencia de *Botrytis* en racimos de uva tratados con BC17B.
- [0019] FIG. 7B es un gráfico que muestra la severidad de *Botrytis* en racimos de uva tratados con BC17B.
- [0020] La FIG. 7C es un gráfico que muestra el índice de enfermedad de *Botrytis* en racimos de uva tratados con BC17B.
- [0021] FIG. 8A es un gráfico que muestra la incidencia del Mildiú en hojas de uva tratadas con BC17B.
- [0022] FIG. 8B es un gráfico que muestra la severidad del Mildiú en hojas de uva tratadas con BC17B.

- [0023] FIG. 8C es un gráfico que muestra el índice de enfermedad del Mildiú para hojas de uva tratadas con BC17B.
- [0024] La FIG. 9A es un gráfico que muestra la incidencia de Oídio en racimos de uva tratados con BC17B.
- [0025] La FIG. 9B es un gráfico que muestra la severidad del Oídio en racimos de uva tratados con BC17B.
- [0026] La FIG. 9C es un gráfico que muestra el índice de enfermedad de Oídio para racimos de uva tratados con BC17B.
- [0027] La FIG. 10A es un gráfico que muestra la incidencia del Oídio en hojas de uva tratadas con BC17B.
- [0028] FIG. 10B es un gráfico que muestra la severidad del Oídio en hojas de uva tratadas con BC17B.
- [0029] La FIG. 10C es un gráfico que muestra el índice de la enfermedad del Oídio en hojas de uva tratadas con BC17B.
- [0030] La FIG. 11 es un gráfico que muestra el porcentaje (%) de reducción de la enfermedad en pepinos inoculados con esporas de mildiúy tratados con BC17B.
- [0031] La FIG. 12 muestra imágenes digitales de la inhibición de *Monilinia fructicola* por BC17B.
- [0032] FIG. 13A es una gráfica que muestra la inhibición de la enfermedad de Panamá del pseudotallo marchitado, causada por *Fusarium oxysporum* para bananos Cavendish tratados con *Bacillus amyloliquefaciens* cepa BC17B o Propiconazole fungicida químico.
- [0033] La FIG. 13B incluye imágenes digitales de plantas enteras y pseudotallos de bananos Cavendish tratadas con *Bacillus amyloliquefaciens* cepa BC17B y cultivadas en suelo infestado con *Fusarium oxysporum*.
- [0034] La FIG. 14A incluye datos gráficos que muestran la colonización de BC17B en plantas de banano.

- [0035] La FIG. 14B incluye imágenes digitales de la raíz, el tallo y las hojas del plátano, y las placas a partir de las cuales se generaron los datos.
- [0036] La FIG. 15 es un gráfico que muestra que la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* protege las plantas de arándano contra el patógeno bacteriano endófito *Xylella fastidiosa*, donde la enfermedad se clasificó en base al porcentaje de hojas sintomáticas y asintomáticas por planta.
- [0037] La FIG. 16 muestra la severidad de la enfermedad de Pierce semanal en vides de uva garnacha tratadas con *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B.
- [0038] La FIG. 17A es un gráfico que muestra la incidencia de la hoja quemada en hojas de almendro, *Xylella fastidiosa* (Xfa): infectadas (con adyuvante Breakthru®, Xfa, Brk); infectadas y tratadas (Xfa, BC17B, Brk), no infectadas pero tratadas con adyuvante como control (Brk) o no infectadas, no tratadas. BC17B y Breakthru® se aplicaron mediante pulverización foliar.
- [0039] La FIG. 17B es un gráfico que muestra la incidencia de la hoja quemada en hojas de almendro, *Xylella fastidiosa subsp. multiplex* (Xfa mpx): infectadas (con adyuvante Breakthru®, Xfa mpx, Brk); infectadas y tratadas (Xfa mpx, BC17B, Brk), no infectadas pero tratadas con adyuvante como control (Brk) o no infectadas, no tratadas. BC17B y Breakthru® se aplicaron mediante pulverización foliar.
- [0040] La FIG. 17C es un gráfico que muestra la gravedad de la hoja quemada en hojas de almendro, *Xylella fastidiosa* (Xfa): infectadas (con Breakthru®adyuvante, Xfa, Brk); infectadas y tratadas (Xfa, BC17B, Brk), no infectadas pero tratadas con adyuvante como control (Brk) o no infectadas, no tratadas. BC17B y Breakthru® se aplicaron mediante pulverización foliar.
- [0041] La FIG. 17D es un gráfico que muestra la gravedad de la hoja quemada en hojas de almendro, *Xylella fastidiosa subsp. multiplex* (Xfa mpx): infectadas (con adyuvante Breakthru®, Xfa mpx, Brk); infectadas y tratadas (Xfa mpx, BC17B, Brk), no infectadas pero tratadas con adyuvante como control (Brk) o no infectadas, no tratadas. BC17B y Breakthru® se aplicaron mediante pulverización foliar.

- [0042] La FIG. 17E es un gráfico que muestra la incidencia de la hoja quemada en hojas de almendro, *Xylella fastidiosa* (Xfa): infectadas (Xfa); infectadas y tratadas (Xfa, BC17B), o no infectadas, no tratadas. BC17B se aplicó mediante inyección.
- [0043] La FIG. 17F es un gráfico que muestra la incidencia de la hoja quemada en hojas de almendro, *Xylella fastidiosa subsp. multiplex* (Xfa mpx): infectadas (Xfa mpx); infectadas y tratadas (Xfa mpx, BC17B), o no infectadas, no tratadas. BC17B se aplicó mediante inyección.
- [0044] La FIG. 17G es un gráfico que muestra la severidad de la hoja quemada en hojas de almendro, *Xylella fastidiosa* (Xfa): infectada (Xfa); infectada y tratada (Xfa, BC17B), o no infectada, no tratada. BC17B se aplicó mediante inyección.
- [0045] La FIG. 17H es un gráfico que muestra la gravedad de la hoja quemada en hojas de almendro, *Xylella fastidiosa subsp. multiplex* (Xfa mpx): infectadas (Xfa mpx); infectadas y tratadas (Xfa mpx, BC17B), o no infectadas, no tratadas. BC17B se aplicó mediante inyección.
- [0046] La FIG. 18A es un gráfico que muestra el número de unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B que persistieron epifíticamente en el tejido del tallo de los almendros tres meses después del contacto.
- [0047] La FIG. 18B es un gráfico que muestra el número de UFC/g de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B que persistieron endofíticamente en el tejido del tallo de los almendros tres meses después del contacto.
- [0048] FIG. 19 es un gráfico que muestra la reducción de la carga de nematodos en el suelo tratado con *Bacillus amyloliquefaciens* cepa BC17B.
- [0049] La FIG. 20 es un gráfico que muestra la protección duradera de las raíces frente a los nematodos del nudo radicular en plantas de pepino tratadas con la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens*.
- [0050] FIG. 21 es un gráfico que muestra el índice de la enfermedad del añublo del arroz para el arroz tratado con *Bacillus amyloliquefaciens* cepa BC17B.

- [0051] La FIG. 22 es un gráfico que muestra el índice de enfermedad de la mancha marrón angosta del arroz tratado con la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens*.
- [0052] La FIG. 23 es un gráfico que muestra el índice de enfermedad de la mancha parda del arroz tratado con la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens*.
- [0053] La FIG. 24 es un gráfico que muestra el índice de enfermedad del tizón de la vaina del arroz tratado con la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens*.
- [0054] La FIG. 25A incluye gráficos que muestran el diámetro de la masa micelial y el recuento de esporas de *Mycosphaerella* en plantas de plátano tratadas con *Bacillus amyloliquefaciens* cepa BC17B, o un control PBS.
- [0055] La FIG. 25B es un gráfico que muestra el porcentaje de *Mycosphaerella* en plantas tratadas con BC17B en relación con un control tratado con PBS.
- [0056] La FIG. 26A muestra la eficacia de diferentes tratamientos: BC17B; Serenade®, un producto de control biológico; y Tilt®, un producto de control químico, en el control de la Sigatoka negra en plátanos de invernadero.
- [0057] FIG. 26B muestra el área estándar bajo la curva de progresión de la enfermedad para diferentes tratamientos: BC17B; Serenade®, un producto de control biológico; y Tilt®, un producto de control químico, en el control de sigatoka negra en plátanos en invernaderos.
- [0058] La FIG. 27A es un gráfico que muestra la gravedad de la enfermedad en la infección por *Xylella fastidiosa* en olivos tratados con BC17B y surfactante Breakthru®.
- [0059] La FIG. 27B es un gráfico que muestra la incidencia de la enfermedad en la infección por *Xylella fastidiosa* en olivos tratados con *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B y tensioactivo Breakthru®.
- [0060] FIG. 28A muestra las puntuaciones medias de severidad para la evaluación de los síntomas internos del marchitamiento de Panamá causado por *Fusarium oxysporum*.
- [0061] La FIG. 28B muestra imágenes representativas de cortes transversales de plantas de plátano tratadas con *Bacillus amyloliquefaciens* BC 17B (izquierda) o agua (derecha).

- [0062] La FIG. 29 muestra imágenes digitales de la inhibición de *Penicillium digitatum*, el agente causante de la putrefacción verde de los cítricos, por *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B.
- [0063] La FIG. 30 es un gráfico que muestra el índice de enfermedad de plantas de soja infectadas con roya asiática de la soja, sin tratar y tratadas con prolina o BC17B.
- [0064] La FIG. 31A es un gráfico que muestra la estabilidad de las esporas BC17B durante un periodo de incubación de dos semanas a 54°C.
- [0065] La FIG. 31B es una imagen digital de la eficacia retenida del BC17B en la inhibición de *Botrytis cinerea* en un ensayo estándar de confrontación *in vitro* después de dos semanas de incubación a 54°C.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

- [0066] Numerosos organismos pueden infectar plantas de importancia agrícola, provocando la putrefacción y el deterioro de los alimentos mientras las plantas están en el campo o después de ser cosechadas. Por ejemplo, el hongo patógeno *Botrytis cinerea*, puede encontrarse a menudo en frutas, tanto en el campo como en el supermercado. Por lo tanto, mitigar la pérdida de plantas cosechadas o alimentos causada por patógenos es muy deseable para los implicados en la producción y el consumo de alimentos. Anteriormente se han desarrollado estrategias de control químicas y biológicas; sin embargo, aunque estas estrategias pueden ser eficaces, el uso de estos fungicidas químicos y biológicos en cultivos alimentarios puede tener efectos secundarios no deseados, como una mayor toxicidad, además de ser indeseables para los consumidores. Además, es posible que las composiciones comerciales de biocontrol disponibles en la actualidad no proporcionen la especificidad o eficacia deseada para el patógeno o la planta. Por último, el registro y la notificación de las aplicaciones de plaguicidas químicos sintéticos puede suponer una carga importante para los agricultores y cultivadores.
- [0067] Una o más realizaciones del presente documento se refieren a composiciones y métodos para reducir el crecimiento o matar organismos patógenos. Por ejemplo, las composiciones, formulaciones y métodos aquí descritos son capaces de reducir el

crecimiento o matar organismos patógenos que afectan a plantas de importancia agrícola. Las composiciones y métodos aquí descritos pueden formularse o ajustarse para su uso en diversos puntos del proceso de producción. Por ejemplo, las composiciones pueden formularse para su uso antes de la cosecha, por ejemplo incorporando la composición a una línea de riego o administración en combinación con un fertilizante. Las composiciones también pueden formularse para su uso después de la cosecha y/o durante el procesado, envasado, transporte, almacenamiento y exposición comercial del producto. Las composiciones para después de la cosecha pueden pulverizarse sobre el producto cosechado o utilizarse aplicando la composición a un material de envasado que se utilice para almacenar o enviar el producto. Además, estas composiciones pueden ser más eficaces que las composiciones comerciales de biocontrol.

[0068] MICROBIO DE BIOCONTROL

[0069] En un aspecto, las realizaciones aquí divulgadas se refieren a un microbio de biocontrol (o "microbio") capaz de tratar, reducir o eliminar uno o más patógenos vegetales. Un microbio de la divulgación, por ejemplo, un *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B, puede ser un microbio de ingeniería o recombinante. El microbio puede comprender secuencias de ácidos nucleicos adicionales, mutaciones u otras desviaciones de secuencias de un microbio encontrado en la naturaleza. El microbio puede incluir una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B que tenga un genoma de acuerdo con el Número de Depósito PTA-127137 en el Depósito de Patentes ATCC®.

[0070]

[0071] El microbio de una o más realizaciones puede incluir un microbio *Bacillus amyloliquefaciens*. El *Bacillus amyloliquefaciens* puede ser una cepa *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B (también denominada en el presente documento "BC17"). La cepa *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B incluye una secuencia de ARN ribosómico 16S (ARNr) de SEQ ID NO: 1. El microbio *Bacillus amyloliquefaciens* puede incluir un ARNr 16S que incluye una secuencia de acuerdo con SEQ ID NO: 1. El *Bacillus amyloliquefaciens* puede incluir una secuencia de ARNr 16S al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, al menos 96%, al menos 97%,

al menos 98%, o al menos 99%, idéntica a SEQ ID NO: 1. El *Bacillus amyloliquefaciens* puede incluir una secuencia de ARNr 16S al menos 99,1%, 99,2%, 99,3%, 99,4%, 99,5%, 99,6%, 99,7%, 99,8%, o 99,9%, idéntica a la SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, el *Bacillus amyloliquefaciens* incluye un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos un 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1. En algunas realizaciones, la secuencia del ácido nucleico es 100% idéntica a SEQ ID NO: 1.

[0072] Tabla 1. Secuencias de SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2 Secuencias de SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 2.

SEQ ID NO:	Descripción	Secuencia (5' a 3')
1	BC17B 16S rRNA secuencia	TCGAGCGGACAGATGGGAGCTTGCTCCCTGATGTT AGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCT GCCTGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGG GCTAATACCGGATGGTTGTCTGAACCGCATGGTTC AGACATAAAAGGTGGCTTCGGCTACCACTTACAG ATGGACCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGT AACGGCTCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACC TGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACA CGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGA ATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAA CGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAA AGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCCGTTCA AATAGGGCGGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAA AGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTA ATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG GGCGTAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCT GATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTC ATTGGAACTGGGGAAGTTGAGTGCAGAAGAGGA GAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTA GAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACT CTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGAGCGAAAGC GTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGT CCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGG GGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTA AGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTG AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGC GGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGA

		AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAATC CTAGAGATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCAGAGTG ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGC
2	BC17B 16S rRNA secuencia	ACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTGGGCGG TAAAGGGCTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGT GAAAGCCCCGGCCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGA AACTGGGGAACTTGGTGAGTGCAGAAGGAGGAGT GAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCTAGGTAGG TAGTAGATGTGTGGAACCAGTGGCGAAGGCGTGA CTCTCTGCTGTGCTGTGGAAAGCGTGGGGAGCGA ACAG

[0073] En algunas realizaciones, el microbio tiene uno o más grupos de genes relacionados con la biosíntesis de uno o más compuestos. En una o más realizaciones, los grupos de genes son responsables de la biosíntesis de compuestos antibióticos conocidos y se identificaron otras actividades. En algunas realizaciones, el microbio puede tener una pluralidad de similitudes porcentuales de clústeres de genes con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*, como se describe en la FIG. 1, que muestra ejemplos de compuestos y clústeres de genes relacionados con la síntesis de estos compuestos encontrados en los microbios de la divulgación. El microbio puede incluir grupos de genes que tienen dentro de un cierto porcentaje conocido a las secuencias del genoma de *Bacillus*. Por ejemplo, el microbio de una o más realizaciones puede tener un clúster génico para la producción de fengicina que tenga una similitud de clúster génico en un intervalo que tenga un límite inferior de cualquiera de 75%, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85 y 86% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus* y un límite superior de cualquiera de 86%, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 y 100% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. En algunas realizaciones, el microbio incluye un grupo de genes para la producción de fengicina que tiene una similitud de al menos el 75%, al menos el 80%, o al menos el 85% con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*.

[0074] El microbio de una o más realizaciones puede tener un grupo de genes para la producción de plipastatina que tenga una similitud de grupo de genes en un intervalo que tenga un límite inferior de cualquiera de 15%, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 y 26% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus* y un límite superior de cualquiera de 26%, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, y 35% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. En algunas realizaciones, el microbio incluye un grupo de genes para la producción de plipastatina que tiene una similitud de al menos 15%, al menos 20%, al menos 25%, al menos 30%, al menos 35%, al menos 40%, al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, y al menos 90% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*.

[0075] El microbio de una o más realizaciones puede tener un grupo de genes para la producción de butirosina A y/o butirosina B que tiene una similitud de grupo de genes en un intervalo que tiene un límite inferior de cualquiera de 0%, 1, 2, 3, 4, 5, 6, y 7% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus* y un límite superior de cualquiera de 7%, 7, 5, 8, 9, 10, 12, 15 y 20% o más de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. 5, 8, 9, 10, 12, 15 y 20% o más de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. En algunas realizaciones, el microbio incluye un grupo de genes para la producción de butirosina A y/o butirosina B que tiene una similitud de al menos 1%, al menos 5%, al menos 7%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, y al menos 25% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*.

[0076] El microbio de una o más realizaciones puede tener un clúster génico para la producción de rizotocina A que tiene una similitud de clúster génico en un intervalo que tiene un límite inferior de cualquiera de 0%, 1, 2, 3, 4, 5, 5.5, y 6% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus* y un límite superior de cualquiera de 6,5%, 7, 7,5, 8, 9, 10, 12, 15, y 20% o más de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior

matemáticamente compatible. En algunas realizaciones, el microbio incluye un grupo de genes para la producción de rizotocina A que tiene una similitud de al menos 1%, al menos 5%, al menos 7%, al menos 10%, al menos 15%, al menos 20%, y al menos 25% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*.

[0077] El microbio de una o más realizaciones puede tener un clúster génico para la producción de macrolactina H que tenga una similitud de clúster génico en un intervalo que tenga un límite inferior de cualquiera de 80%, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89 y 90% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus* y un límite superior de cualquiera de 90%, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 y 100% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. En algunas realizaciones, el microbio incluye un grupo de genes para la producción de Macrolactina H que tiene una similitud de al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95%, o al menos el 99% con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*.

[0078] El microbio de una o más realizaciones puede tener un clúster génico para la producción de difcidina que tenga una similitud de clúster génico en un intervalo que tenga un límite inferior de cualquiera de 35%, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53 y 55% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus* y un límite superior de 45%, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 y 100% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. En algunas realizaciones, el microbio incluye un grupo de genes para la producción de difcidina que tiene una similitud de al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 52%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*.

[0079] El microbio de una o más realizaciones puede tener un clúster génico para la producción de bacilsina que tiene una similitud de clúster génico en un intervalo que tiene

un límite inferior de cualquiera de 35%, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, y 55% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus* y un límite superior de 45%, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 y 100% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. En algunas realizaciones, el microbio incluye un grupo de genes para la producción de bacilsina que tiene una similitud de al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 52%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*.

[0080] El microbio de una o más realizaciones puede tener un grupo de genes para la producción de bacillibactina que tiene una similitud de grupo de genes en un intervalo que tiene un límite inferior de cualquiera de 35%, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, y 55% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus* y un límite superior de 45%, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 y 100% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. En algunas realizaciones, el microbio incluye un grupo de genes para la producción de bacillibactina que tiene una similitud de al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 52%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*.

[0081] El microbio de una o más realizaciones puede tener un clúster génico para la producción de surfactina que tenga una similitud de clúster génico en un intervalo que tenga un límite inferior de cualquiera de 35%, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53 y 55% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus* y un límite superior de 45%, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 y 100% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*,

donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. En algunas realizaciones, el microbio incluye un grupo de genes para la producción de surfactina con una similitud de al menos el 35%, al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 52%, al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95% o al menos el 99% con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*.

[0082] El microbio de una o más realizaciones puede tener un clúster génico para la producción de bacillaeno que tiene una similitud de clúster génico en un intervalo que tiene un límite inferior de cualquiera de 35%, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53 y 55% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus* y un límite superior de 45%, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 y 100% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. En algunas realizaciones, el microbio incluye un grupo de genes para la producción de bacileno que tiene una similitud de al menos 35%, al menos 40%, al menos 45%, al menos 50%, al menos 52%, al menos 55%, al menos 60%, al menos 65%, al menos 70%, al menos 75%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 95%, o al menos 99% de similitud con secuencias genómicas conocidas de *Bacillus*.

[0083] Un microbio o una formulación que incluya un microbio de una o más realizaciones, por ejemplo, una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens BC17B*, puede ser capaz de reducir la enfermedad protegiendo una planta contra un hongo, una bacteria, un nematodo o un insecto. Por ejemplo, un microbio de la divulgación (por *ejemplo*, una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens BC17B*) puede reducir la enfermedad protegiendo una planta contra un hongo infeccioso. Un microbio de una o más realizaciones, por ejemplo, una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens BC17B*, puede reducir la enfermedad protegiendo ampliamente una planta contra un hongo, bacterias, nematodos o insectos. Un microbio de una o más realizaciones, por ejemplo, una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens BC17B*,

puede reducir la enfermedad y actuar como fungicida, bactericida, nematocida o insecticida de amplio espectro.

[0084] Un microbio o una formulación que incluye un microbio de una o más realizaciones, por ejemplo, una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B, puede reducir la enfermedad protegiendo una planta contra uno o más organismos patógenos pertenecientes al género de *Phakopsora*, *Magnaporthe*, *Cochliobolus*, *Sphaerulina*, *Geotrichum*, *Microsphaera*, *Blumeria*, *Podosphaera*, *Peronospora*, *Pseudoperonospora*, *Xanthomonas*, *Xylella*, *Heterodera*, *Colletotrichum*, o *Meloidogyne*. Uno o más organismos patógenos pueden ser *Phakopsora pachyrhizi*, *Magnaporthe grisea*, *Cochliobolus miyabeanus*, *Sphaerulina oryzina*, *Geotrichum spp*, *Microsphaera diffusa*, *Blumeria graminis*, *Podosphaera leucotricha*, *Peronospora manshurica*, *Peronospora effusa*, *Peronospora belbahrii*, *Colletotrichum musae*, *Pseudoperonospora cubensis*, *Xylella fastidiosa*, *Xanthomonas campestris*, *Heterodera glycines*, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne incognita* o *Meloidogyne enterolobii*.

[0085] Un microbio o una formulación que incluya un microbio de acuerdo con la presente divulgación, por ejemplo, una formulación que incluya una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B, puede ser capaz de reducir la roya asiática de la soja, el añublo del arroz, la mancha parda, la mancha parda estrecha, la podredumbre agria (cítricos, postcosecha), el síndrome de decadencia rápida del olivo, la enfermedad de Pierce (uvas), la quemadura de la hoja (almendras, café), la podredumbre negra, los quistes de la soja o los nudos de la raíz. Un microbio o una formulación que incluya un microbio de la divulgación (p. ej, una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B) puede reducir la roya asiática de la soja, el añublo del arroz, la mancha parda, la mancha parda estrecha, la podredumbre agria (cítricos, postcosecha), el síndrome de decadencia rápida del olivo, la enfermedad de Pierce (uvas), la quemadura de la hoja (almendras, café), la podredumbre negra, los quistes de la soja o los nudos de la raíz en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos en un 50%, al menos en un 60%, al menos en un 70%, al menos en un 80%, al menos en un 90%, al menos en un 91%, al menos en un 92%, al menos en un 93%, al menos en un 94%, al menos en un 95%, al menos en un 96%, al menos en un 97%, al menos en un 98%, o al menos en un 99% , en

relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0086] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación, puede ser capaz de reducir la enfermedad de la roya asiática de la soja causada por una *Phakopsora*, *por ejemplo, Phakopsora pachyrhizi*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos alrededor del 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0087] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir la enfermedad del añublo del arroz causada por *Magnaporthe*, *por ejemplo, Magnaporthe grisea*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos un 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0088] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir una enfermedad de mancha marrón causada por un *Cochliobolus*, *por ejemplo, Cochliobolus miyabeanus*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos alrededor del 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos

alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0089] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir la enfermedad de la mancha marrón estrecha causada por una Sphaerulina, *por ejemplo*, *Sphaerulina oryzina*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos alrededor del 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0090] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir una enfermedad de podredumbre agria (cítricos, postcosecha) causada por un Geotrichum, *por ejemplo*, *Geotrichum spp*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos un 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0091] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir el síndrome de decadencia rápida del olivo, la enfermedad de Pierce (uvas), la clorosis variegada de los cítricos, o la quemadura de la hoja (almendras, café) causada por una Xylella, *por ejemplo*, *Xylella fastidiosa*, en al menos alrededor del 5%, al menos alrededor del 10%, al menos alrededor del 20%, al menos alrededor del 30%, al menos alrededor del 40%, al menos

alrededor del 50%, al menos alrededor del 60%, al menos alrededor del 70%, al menos alrededor del 80%, al menos alrededor del 90%, al menos alrededor del 91%, al menos alrededor del 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0092] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir la enfermedad de la podredumbre negra causada por un Xanthomonas, por ejemplo, *Xanthomonas campestris*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos alrededor del 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0093] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir la enfermedad del quiste de la soja causada por una Heterodera, por ejemplo, *Heterodera glycines*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos alrededor del 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0094] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir la enfermedad del nudo radicular causada por un Meloidogyne, por ejemplo, *Meloidogyne hapla*, *Meloidogyne*

incognita, o *Meloidogyne enterolobii*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos alrededor del 91%, al menos alrededor del 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0095] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir la enfermedad del oídio causada por una *Microsphaera*, por ejemplo, *Microsphaera diffusa*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos alrededor del 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0096] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir la enfermedad del oídio causada por una *Blumeria*, por ejemplo, *Blumeria graminis*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos un 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con la formulación o el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0097] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir la enfermedad del oídio

causada por una *Podosphaera*, por ejemplo, *Podosphaera leucotricha*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos alrededor del 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0098] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir la enfermedad de mildiú causada por una *Peronospora*, por ejemplo, *Podosphaera leucotricha*, *Peronospora manshurica*, *Peronospora effusa*, o *Peronospora belbahrii*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos alrededor del 91%, al menos alrededor del 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[0099] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir la enfermedad de mildiú causada por una *Pseudoperonospora*, por ejemplo, *Pseudoperonospora cubensis*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos alrededor del 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[00100] Una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B o una formulación que incluya la cepa BC17B de la presente divulgación puede ser capaz de reducir la podredumbre de la corona causada por un *Colletotrichum*, por ejemplo, *Colletotrichum musae*, en al menos un 5%, al menos un 10%, al menos un 20%, al menos un 30%, al menos un 40%, al menos un 50%, al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos alrededor del 92%, al menos alrededor del 93%, al menos alrededor del 94%, al menos alrededor del 95%, al menos alrededor del 96%, al menos alrededor del 97%, al menos alrededor del 98%, o al menos alrededor del 99%, en relación con una planta de control que tenga una enfermedad y no haya entrado en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[00101] MÉTODO DE CULTIVO DE UN MICROBIO DE BIOCONTROL

[00102] En otro aspecto, las realizaciones del presente documento se refieren al cultivo de un microbio de biocontrol. El microbio de biocontrol puede ser como se ha descrito anteriormente. El microbio de una o más realizaciones puede crecer en un cultivo. El microbio puede aislarse y purificarse a partir del cultivo. El microbio purificado del cultivo puede incluir una célula vegetativa, una espora del microbio o cualquier combinación de las mismas. El cultivo utilizado para cultivar el microbio puede incluir un medio sólido o un medio semisólido. El cultivo utilizado para cultivar el microbio puede incluir un medio líquido. El cultivo puede incluir un biorreactor. Puede utilizarse cualquier biorreactor adecuado para cultivar el microbio. Algunos ejemplos de biorreactores son, entre otros, un matraz, un biorreactor de tanque de agitación continua (CSTR), un biorreactor sin burbujas, un reactor de aerotransporte y un biorreactor de membrana.

[00103] En algunas realizaciones, puede recogerse un sobrenadante del cultivo. El sobrenadante puede incluir una o más moléculas sintetizadas por el microbio. La una o más moléculas sintetizadas por el microbio pueden aislarse o purificarse a partir del sobrenadante, o enriquecerse de otro modo para generar una solución que incluya la una o más moléculas. El sobrenadante, la molécula o moléculas aisladas, la molécula o moléculas purificadas, la solución enriquecida que incluye una o más moléculas, o

cualquier combinación de las mismas puede añadirse a una formulación para producir una composición de biocontrol de acuerdo con una o más realizaciones. Por ejemplo, la una o más moléculas pueden aislarse y/o purificarse a partir del sobrenadante y las moléculas purificadas y/o aisladas pueden aplicarse a una planta, por *ejemplo*, como una fracción aislada o purificada a partir del líquido y que incluye la una o más moléculas. La una o más moléculas pueden enriquecerse, purificarse o aislarse de manera que pueda aumentarse la concentración de la una o más moléculas. La una o más moléculas pueden enriquecerse, purificarse o aislarse de forma que se reduzca el número de moléculas diferentes en una solución. En algunos casos, el sobrenadante puede aplicarse como la formulación descrita en el presente documento.

[00104] La una o más moléculas pueden incluir una molécula seleccionada del grupo que consiste en lipopéptidos, policétidos, péptidos, dipéptidos, polipéptidos, polipéptidos cíclicos, polienos, aminoglucósidos, tensioactivos, sideróforos y combinaciones de los mismos. Los lipopéptidos pueden incluir uno o más seleccionados del grupo que consiste en fengicina, plipastatina y surfacticina. Los policétidos pueden incluir uno o más seleccionados entre macrolactina H y difficidina. Los compuestos peptídicos pueden incluir uno o más seleccionados entre bacilisina y rizocticina A. Los compuestos aminoglucósidos pueden incluir uno o más seleccionados entre butirosina A y butirosina B. En una o más realizaciones, el compuesto surfactante incluye surfactina. El sideróforo puede ser un compuesto de bacillibactina. La una o más moléculas (por ejemplo, una o más moléculas pequeñas) sintetizadas por el microbio pueden tener propiedades antibióticas, antifúngicas, antinematodales o antiinsectos. Por ejemplo, la una o más moléculas pueden incluir una molécula con propiedades antibacterianas previamente identificadas.

[00105] COMPOSICIÓN DEL BIOCONTROL

[00106] En un aspecto, las realizaciones aquí divulgadas se refieren a una composición (o "formulación") de biocontrol. La composición de una o más realizaciones puede incluir un microbio *Bacillus amyloliquefaciens*, una o más moléculas sintetizadas por el microbio *Bacillus amyloliquefaciens*, o cualquier combinación de las mismas. El microbio *Bacillus*

amyloliquefaciens y la una o más moléculas sintetizadas por el *Bacillus amyloliquefaciens* pueden ser como se ha descrito anteriormente. Una realización adicional de la presente divulgación es una formulación que incluye una espora de *Bacillus amyloliquefaciens* que incluye un ácido nucleico que comprende una secuencia que es un cierto porcentaje (por ejemplo, al menos 99,8%) idéntica a SEQ ID NO: 1. La formulación puede incluir *Bacillus amyloliquefaciens* viable y una o más moléculas sintetizadas por *Bacillus amyloliquefaciens*. La formulación puede incluir *Bacillus amyloliquefaciens* viable después del almacenamiento a una temperatura en un intervalo particular y un número particular de días, tal como de aproximadamente 18°C a aproximadamente 25°C o a una temperatura de hasta aproximadamente 50°C durante al menos 14 días, la formulación estable comprende *Bacillus amyloliquefaciens* viable después del almacenamiento a una temperatura de hasta aproximadamente 50°C durante 14 días.

[00107] En una o más realizaciones, el microbio está presente como parte de una formulación. El microbio puede incluirse en una composición de biocontrol que sea una formulación estable, como una formulación líquida o una formulación seca. La formulación líquida puede ser una suspensión fluida o acuosa. La formulación líquida puede incluir el microbio, un metabolito secundario del mismo, o ambos suspendidos en agua, aceite o una combinación de los mismos (por ejemplo, en una emulsión). Una formulación seca puede incluir un polvo mojado, un copo seco, un polvo o un gránulo. Un polvo humectable puede aplicarse a la planta, a la semilla, a la flor o a su producto en forma de suspensión. Un polvo puede aplicarse a la planta, la semilla o su producto en seco, por ejemplo a las semillas o al follaje. Un gránulo puede aplicarse en seco o mezclarse con un fluido acuoso (por ejemplo, agua) para crear una suspensión o disolverse en el fluido acuoso para formar una solución. El microbio, un metabolito secundario del mismo, o cualquier combinación de los mismos puede formularse como una microencapsulación. El microbio, un metabolito secundario del mismo, o cualquier combinación del mismo tiene una capa protectora inerte. La capa protectora inerte puede comprender cualquier polímero adecuado.

[00108] En una o más realizaciones, la formulación incluye esporas. Por ejemplo, la formulación puede incluir esporas de *Bacillus amyloliquefaciens*. Las composiciones que

contienen esporas pueden aplicarse para tratar un patógeno vegetal mediante uno o más métodos descritos en el presente documento. Las composiciones que contienen esporas según una o más realizaciones del presente documento pueden prolongar la vida útil de la formulación.

[00109] En una o más realizaciones, la formulación incluye células vegetativas. La formulación puede incluir células vegetativas de *Bacillus amyloliquefaciens*. Las composiciones que contienen células vegetativas pueden aplicarse para tratar un patógeno vegetal mediante los métodos aquí descritos. Las células vegetativas pueden proliferar y aumentar la eficacia de la composición de biocontrol de acuerdo con una o más realizaciones. Por ejemplo, las células vegetativas de la formulación pueden ser capaces de proliferar tras la aplicación del tratamiento, aumentando la superficie de la planta expuesta a la formulación. En otro ejemplo, las células vegetativas en la formulación pueden ser capaces de proliferar después de la aplicación, aumentando así la cantidad del tiempo de supervivencia de la formulación, y por lo tanto, extendiendo el tiempo que la formulación tiene eficacia. En una o más realizaciones, las células vegetativas pueden proliferar y competir por los nutrientes con un patógeno. Las células vegetativas de una o más realizaciones pueden ser capaces de producir activamente uno o más metabolitos secundarios con propiedades antipatógenas. En algunas realizaciones, las células vegetativas de una formulación pueden convertirse en esporas, lo que les permite cualquier ventaja de las esporas.

[00110] La formulación puede incluir un compuesto adicional. El compuesto adicional puede incluir uno o más seleccionados del grupo que consiste en una sal tampón, un portador, un tensioactivo, un agente humectante, un penetrante, un emulsionante, un esparcidor, un adhesivo, un estabilizador, un nutriente, un aglutinante, un desecante, un espesante, un dispersante, un protector UV y combinaciones de los mismos. El portador puede ser un portador líquido, un portador mineral o un portador orgánico. El compuesto adicional puede incluir un tensioactivo que sea un coadyuvante agrícola. El tensioactivo puede incluir un siloxano organomodificado. En algunas realizaciones, el tensioactivo puede incluir tensioactivos no iónicos. El tensioactivo puede estar disponible comercialmente, como el tensioactivo Breakthru® de Evonik. En algunas realizaciones, el

tensioactivo se incluye en la formulación en una cantidad en un intervalo que tiene un límite inferior de cualquiera de una cantidad distinta de cero, 0,01 wt%, 0,02 wt%, 0,05 wt%, 0,075 wt%, 0,1 wt%, 0,15 wt%, 0,18 wt%, y 0,2 % en peso y un límite superior de 0,2 % en peso, 0,22 % en peso, 0,25 % en peso, 0,27 % en peso, 0,3 % en peso, 0,5 % en peso, 1 % en peso, 5 % en peso, 10 % en peso, 15 % en peso, 20 % en peso y 25 % en peso, donde cualquier límite inferior puede ir acompañado de cualquier límite superior matemáticamente compatible. La formulación puede formularse o incluirse en una solución. Por ejemplo, la formulación puede disolverse en agua. En una o más realizaciones, la composición puede incluir una solución acuosa que incluya una o más de al menos una sal tampón, un microbio *Bacillus amyloliquefaciens*, y una o más moléculas sintetizadas por el microbio *Bacillus amyloliquefaciens*.

[00111] En algunas realizaciones, la formulación puede estar tamponada para mantener un pH o una osmolaridad. La formulación puede tener un pH o una osmolaridad adecuados para su absorción *por una* planta. La formulación puede tener un pH o una osmolaridad adecuados para su absorción *por una* planta sin cambiar el pH o la osmolaridad de las células de la planta. Por ejemplo, la formulación puede tener un pH de al menos 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o más. Por ejemplo, la formulación puede tener un pH no superior a 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 o inferior. En algunas realizaciones, la formulación tiene un pH en un intervalo que tiene un límite inferior de cualquiera de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 12 y un límite superior de cualquiera de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 y 14, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. Por ejemplo, la formulación puede tener un pH de 3 a 8 aproximadamente. La formulación puede tener un pH de 5 a 8 aproximadamente. La formulación puede tener un pH de 3 a 8 aproximadamente. La formulación puede tener un pH de 6 a 9 aproximadamente. La formulación puede tener un pH de 3 a 8 aproximadamente. La formulación puede tener un pH de 6 a 11 aproximadamente. Por ejemplo, la formulación puede tener un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 8. En una o más realizaciones particulares, por ejemplo, la formulación puede tener un pH biológico de aproximadamente 7,4, tal como en un intervalo de pH de aproximadamente 7 a aproximadamente 7,5.

[00112] La formulación puede ser estable y tener una concentración osmótica comprendida entre 0,05 mM y 1,5 M de soluto. Por ejemplo, la formulación puede tener una concentración osmótica en un intervalo que tenga un límite inferior de uno cualquiera de 0,05 mM, 0,075 mM, 0,8 mM, 0,9 mM, 0,1 mM, 0,25 mM, 0,5 mM, 0,75 mM, 1,0 mM 5. La formulación puede tener una concentración osmótica en un intervalo de 0,05 mM a 1,5 mM de soluto. 0 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 75 mM, 100 mM, 250 mM y 500 mM, y un límite superior de 1,0 mM, 2,5 mM, 5,0 mM, 10 mM, 25 mM, 50 mM, 75 mM, 100 mM, 250 mM, 500 mM, 1M y 1,5 M de soluto, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible.

[00113] La formulación puede ser estable de modo que sea capaz de mantener la eficacia o la viabilidad tras el almacenamiento. La formulación puede ser estable tras un periodo de tiempo comprendido entre 1 día y 12 años o más. En algunas realizaciones, la formulación es estable después de un periodo de tiempo con un límite inferior de 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días, 14 días, 15 días, 16 días, 17 días, 18 días, 19 días, 20 días, 21 días, 22, días, 23 días, 24 días, 25 días, 26 días, 27 días, 28 días, 29 días, 30 días, 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses y 12 meses o más y un límite superior de 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, 12 meses, 2 años, 3 años, 4 años, 5 años, 6 años, 7 años, 8 años, 9 años, 10 años, 11 años, 12 años o más, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible.

[00114] Como ejemplo no limitativo, la formulación puede ser estable tras el almacenamiento después de 1 día. Por ejemplo, la formulación puede ser estable tras el almacenamiento después de 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12 días, 13 días, 14 días, 15 días, 16 días, 17 días, 18 días, 19 días, 20 días, 21 días, 22 días, 23 días, 24 días, 25 días, 26 días, 27 días, 28 días, 29 días, 30 días, o más. Por ejemplo, la formulación puede ser estable tras el almacenamiento después de 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, 12 meses o más. Por ejemplo, la formulación puede ser estable tras el almacenamiento

después de 1 año, 2 años, 3 años, 4 años, 5 años, 6 años, 7 años, 8 años, 9 años, 10 años, 11 años, 12 años, o más.

[00115] La formulación puede ser estable tras el almacenamiento durante el período de tiempo descrito anteriormente y a una temperatura de almacenamiento. La temperatura de almacenamiento puede ser una temperatura en un intervalo que tenga un límite inferior de al menos 4°C, 5°C, 6°C, 7°C, 8°C, 9°C, 10°C, 11°C, 12°C, 13°C, 14°C, 15°C, 16°C, 17°C, 18°C, 19°C, 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C, 30°C, 31°C, 32°C, 33°C, 34°C, 35°C, 36°C, 37°C, 38°C, 39°C, 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, y 60°C con un límite superior de uno cualquiera de 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C, 30°C, 31°C, 32°C, 33°C, 34°C, 35°C, 36°C, 37°C, 38°C, 39°C, 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, y 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, y 70°C o más, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible.

[00116] Por ejemplo, la formulación puede ser estable después del almacenamiento a una temperatura de al menos 4°C, 5°C, 6°C, 7°C, 8°C, 9°C, 10°C, 11°C, 12°C, 13°C, 14°C, 15°C, 16°C, 17°C, 18°C, 19°C, 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C, 30°C, 31°C, 32°C, 33°C, 34°C, 35°C, 36°C, 37°C, 38°C, 39°C, 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, 70°C, o más. Por ejemplo, la formulación puede ser estable tras un almacenamiento de al menos 1 día, 2, días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12, días, 13 días, 14 días, 15 días, 16 días, 17 días, 18 días, 19 días, 20 días, o más, a una temperatura de almacenamiento como la descrita anteriormente. En una o más realizaciones, la formulación es estable después de un almacenamiento de al menos 1 día, 2, días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días, 7 días, 8 días, 9 días, 10 días, 11 días, 12, días, 13 días, 14 días, 15 días, 16 días, 17 días, 18 días, 19 días, 20 días, o más, a una temperatura de al menos 4°C, 5°C, 6°C, 7°C, 8°C, 9°C, 10°C, 11°C, 12°C, 13°C, 14°C, 15°C, 16°C, 17°C, 18°C, 19°C, 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C, 30°C, 31°C, 32°C, 33°C, 34°C,

35°C, 36°C, 37°C, 38°C, 39°C, 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, 70°C, o más.

[00117] Por ejemplo, la formulación puede ser estable después del almacenamiento después de 1 mes, 2 meses, 3 meses, 4 meses, 5 meses, 6 meses, 7 meses, 8 meses, 9 meses, 10 meses, 11 meses, 12, meses, o más, al menos 4°C, 5°C, 6°C, 7°C, 8°C, 9°C, 10°C, 11°C, 12°C, 13°C, 14°C, 15°C, 16°C, 17°C, 18°C, 19°C, 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C, 30°C, 31°C, 32°C, 33°C, 34°C, 35°C, 36°C, 37°C, 38°C, 39°C, 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, 70°C, o más. Por ejemplo, la formulación puede ser estable tras el almacenamiento después de 1 año, 2 años, 3 años, 4 años, 5 años, 6 años, 7 años, 8 años, 9 años, 10 años, 11 años, 12, años, o más, a por lo menos 4°C, 5°C, 6°C, 7°C, 8°C, 9°C, 10°C, 11°C, 12°C, 13°C, 14°C, 15°C, 16°C, 17°C, 18°C, 19°C, 20°C, 21°C, 22°C, 23°C, 24°C, 25°C, 26°C, 27°C, 28°C, 29°C, 30°C, 31°C, 32°C, 33°C, 34°C, 35°C, 36°C, 37°C, 38°C, 39°C, 40°C, 41°C, 42°C, 43°C, 44°C, 45°C, 46°C, 47°C, 48°C, 49°C, 50°C, 51°C, 52°C, 53°C, 54°C, 55°C, 56°C, 57°C, 58°C, 59°C, 60°C, 61°C, 62°C, 63°C, 64°C, 65°C, 66°C, 67°C, 68°C, 69°C, 70°C, o más.

[00118] La formulación después del almacenamiento, como en cualquiera de las condiciones de almacenamiento descritas en una o más realizaciones de la presente divulgación, puede incluir *Bacillus amyloliquefaciens* viables. La formulación después del almacenamiento puede comprender una reducción del número de *Bacillus amyloliquefaciens* viables de no más del 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, o menos. En algunas realizaciones, la formulación después del almacenamiento incluye una reducción del número de *Bacillus amyloliquefaciens* viables en un intervalo de 0% a 90%. En una o más realizaciones, la formulación después del almacenamiento puede incluir una reducción del número de *Bacillus amyloliquefaciens* viables en un intervalo que tiene un límite inferior de uno cualquiera de 0%, 2,5%, 5%, 7.5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60% y 70% y un límite superior de 10%, 15%, 20%, 25%,

30%, 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85% y 90%, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible.

[00119] La reducción de la viabilidad puede determinarse mediante comparación o métrica de la viabilidad, por ejemplo, unidades formadoras de colonias por volumen o densidad óptica de una solución. Por ejemplo, la reducción de la viabilidad puede comprender la comparación de las UFC/ml de una formulación recién hecha frente a las UFC/ml de una formulación que se almacenó durante un período de tiempo más largo.

[00120] El almacenamiento de la formulación, por ejemplo, en cualquiera de las condiciones de almacenamiento descritas en la presente divulgación, puede mantener al menos una parte de la eficacia de la formulación antes del almacenamiento. Por ejemplo, la formulación después del almacenamiento puede comprender una reducción de la eficacia contra un hongo, bacteria, nematodo o insecto de no más del 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o menos. En algunas realizaciones, la formulación después del almacenamiento puede incluir una reducción de la eficacia contra un hongo, bacteria, nematodo o insecto de entre el 0% y el 90%. En una o más realizaciones, la formulación después del almacenamiento incluye una reducción de la eficacia contra un hongo, bacteria, nematodo o insecto de en un intervalo que tiene un límite inferior de cualquiera de 0%, 2,5%, 5%, 7.5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60% y 70% y un límite superior de 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85% y 90%, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible.

[00121] La reducción de la eficacia puede determinarse mediante la comparación o el cálculo del índice de gravedad de la enfermedad, la gravedad de la enfermedad, la gravedad media de la enfermedad, el porcentaje de gravedad media de la enfermedad, el índice de la enfermedad, el índice medio de la enfermedad, el porcentaje de índice de la enfermedad u otra métrica de la enfermedad agrícola. Por ejemplo, la determinación de la reducción de la eficacia puede incluir la comparación de la reducción de la gravedad de la enfermedad de una planta a la que se aplicó una formulación recién hecha frente a la reducción de la

gravedad de la enfermedad de una planta a la que se aplicó una formulación que estuvo almacenada durante un período de tiempo más largo.

[00122] En una o más realizaciones, la formulación puede formularse de manera que los microbios puedan replicarse una vez aplicados o suministrados al hábitat objetivo. Por ejemplo, la formulación puede ser capaz de replicarse una vez aplicada a uno o más de los suelos próximos a la planta, la planta, una semilla y un producto vegetal (es decir, un producto) que crezca o se coseche a partir de la planta.

[00123] La formulación puede tener actividad antipatógena, como la prevención del crecimiento de un patógeno o la reducción del crecimiento de un patógeno en una planta, una semilla o un producto de la misma. La formulación puede ser capaz de prevenir el crecimiento de un patógeno en la planta, semilla o producto durante al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4 o al menos 5 días, o durante más tiempo. La formulación puede prevenir el crecimiento de un patógeno en la planta, semilla o producto durante al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5 días, al menos 6 días, al menos 7 días, al menos 8 días, al menos 9 días o al menos 10 días o más. La formulación puede ser capaz de prevenir el crecimiento de un patógeno en la planta, semilla o producto de la misma durante más de 10 días.

[00124] La formulación puede ser capaz de reducir el crecimiento del patógeno en la planta, semilla o producto en relación con el crecimiento del patógeno en un control que sea una planta, semilla, flor o producto no expuesto a la formulación. El control puede ser una planta, una semilla o un producto del mismo al que no se haya aplicado ningún agente antipatógeno o puede ser una planta, una semilla, una flor o un producto del mismo al que se haya aplicado un agente antipatógeno disponible en el mercado. El control disponible comercialmente puede incluir un producto Serenade® (por ejemplo, Serenade® Aso y/o Serenade® Opti) que se puede obtener de Bayer Crop Sciences (EE.UU.), y que incluye un ingrediente activo de una cepa QST713 de *Bacillus subtilis*.

[00125] En algunas realizaciones, la formulación puede reducir el crecimiento de un patógeno en la planta, semilla o producto durante al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4 o al menos 5 días. La formulación puede ser capaz de reducir el crecimiento de

un patógeno en la planta, semilla o producto durante al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5 días, al menos 6 días, al menos 7 días, al menos 8 días, al menos 9 días o al menos 10 días. La formulación puede ser capaz de reducir el crecimiento de un patógeno en la planta, semilla o producto durante más de 10 días. La formulación puede ser capaz de reducir el crecimiento del patógeno en al menos un 25% en relación con el crecimiento del patógeno en un control. La formulación puede ser capaz de reducir el crecimiento del patógeno en al menos un 60% en relación con el crecimiento del patógeno en el control. La formulación puede ser capaz de reducir el crecimiento del patógeno en al menos un 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% o más en relación con el crecimiento del patógeno en el control.

[00126] MÉTODO DE UTILIZACIÓN DE UNA COMPOSICIÓN DE BIOCONTROL

[00127] En otro aspecto, las realizaciones divulgadas en el presente documento se refieren a métodos para utilizar una composición de biocontrol. La composición de biocontrol puede ser como se ha descrito anteriormente. Por ejemplo, la composición de biocontrol puede ser el microbio *Bacillus amyloliquefaciens* que incluye un ácido nucleico una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1, y/o una o más moléculas sintetizadas por dicho *Bacillus amyloliquefaciens*. En algunas realizaciones, la composición de biocontrol incluye una formulación que contiene *Bacillus amyloliquefaciens* incluye un ácido nucleico que incluye una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1, y/o una o más moléculas sintetizadas por dicho *Bacillus amyloliquefaciens*. En algunas realizaciones, *Bacillus amyloliquefaciens* incluye un ácido nucleico que incluye una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1, y/o una o más moléculas sintetizadas por dicho *Bacillus amyloliquefaciens* pueden proporcionarse en una formulación estable como se describe en el presente documento. Los métodos para usar la composición de biocontrol pueden incluir un método de tratamiento de una planta, semilla, suelo que incluye la planta, o cualquier combinación de los mismos con una composición de biocontrol de una o más realizaciones. En una o más realizaciones, un método para usar una composición de biocontrol está dirigido a un método de tratamiento de plantas y/o productos.

[00128] Un aspecto adicional de la presente divulgación es un método para tratar una enfermedad en una planta, una semilla o un suelo que comprende una planta. El método de una o más realizaciones puede incluir la obtención de una planta, una semilla, y/o el suelo que comprende una planta que tiene una enfermedad. El método puede incluir poner en contacto la planta, la semilla, o el suelo que comprende la planta, (i) con un *Bacillus amyloliquefaciens* que incluye un ácido nucleico que comprende una secuencia que es un cierto porcentaje (por ejemplo, al menos 99,8%) idéntica a SEQ ID NO: 1, y/o (ii) con una o más moléculas sintetizadas por dicho *Bacillus amyloliquefaciens*. El *Bacillus amyloliquefaciens* puede formularse en una composición de biocontrol de acuerdo con una o más realizaciones. En este aspecto, el contacto reduce el crecimiento de, o mata, uno o más organismos patógenos presentes en o dentro de la planta, la semilla, y/o el suelo que incluye la planta, donde el organismo patógeno es responsable de la enfermedad.

[00129] Otro aspecto de la presente divulgación es un método para prevenir o reducir la gravedad de una enfermedad en una planta, una semilla o un suelo que comprende una planta. El método comprende los pasos de: obtener una planta, una semilla, o el suelo que comprende una planta en riesgo de contraer una enfermedad y contactar la planta, la semilla, o el suelo que comprende la planta, (i) con un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es un cierto porcentaje (por ejemplo, al menos 99,8%) idéntica a SEQ ID NO: 1, y/o (ii) con una o más moléculas sintetizadas por dicho *Bacillus amyloliquefaciens*. El *Bacillus amyloliquefaciens* puede formularse en una composición de biocontrol de acuerdo con una o más realizaciones. En este aspecto, el contacto reduce el crecimiento de, o mata, uno o más organismos patógenos presentes en o dentro de la planta, la semilla, y/o el suelo que comprende la planta, donde el organismo patógeno es responsable de la enfermedad.

[00130] El método de tratamiento de plantas puede utilizarse para tratar uno o más patógenos de plantas y/o una o más enfermedades de plantas. El uno o más patógenos vegetales pueden incluir al menos un patógeno vegetal descrito en el presente documento. La enfermedad puede incluir, entre otras, roya asiática de la soja, añublo del arroz, mancha marrón, mancha marrón estrecha, podredumbre de la corona, podredumbre amarga (cítricos, postcosecha), síndrome de declive rápido del olivo, enfermedad de Pierce (uvas),

hoja quemada (almendras, café), clorosis variegada de los cítricos, podredumbre negra, quistes de la soja o nudos radiculares. En este aspecto, el contacto reduce el crecimiento o mata uno o más organismos patógenos presentes en o dentro de la planta, la semilla y/o el suelo que incluye la planta, donde el organismo patógeno es responsable de la enfermedad. En algunas realizaciones, una o más moléculas son secretadas por el *Bacillus amyloliquefaciens* en un líquido que incluye el *Bacillus amyloliquefaciens* de tal manera que el contacto incluye el contacto del líquido con una o más de la planta, la semilla, o el suelo que incluye la planta y/o el contacto de una fracción aislada o purificada del líquido y la una o más moléculas con una o más de la planta, la semilla, o el suelo que incluye la planta. En algunas realizaciones, la una o más moléculas secretadas a partir de *Bacillus amyloliquefaciens* se purifica antes de la etapa de contacto.

[00131] Uno o más métodos de la presente divulgación es un método que incluye el contacto de una o más de una planta, una semilla o un suelo que incluye una planta con una composición de biocontrol (por ejemplo, un microbio de biocontrol y/o una formulación de acuerdo con una o más realizaciones). La etapa de contacto puede incluir espolvorear, sumergir, enrollar, inyectar, frotar, pulverizar y/o cepillar una o más de las plantas, semillas o suelos que incluyen la planta. En algunas realizaciones, el contacto incluye el contacto de una hoja, raíz, fruto, semilla, flor o tallo de la planta con el microbio de biocontrol y/o la composición de biocontrol. En una o más realizaciones, el contacto reduce el crecimiento de, o mata, uno o más organismos patógenos presentes en o dentro de la planta, la semilla, el suelo que comprende la planta, o cualquier combinación de los mismos. Como ejemplo no limitativo, el contacto puede matar, reducir el crecimiento, reducir la reproducción o cualquier combinación de los mismos de un hongo infeccioso o un endófito causante de enfermedad. El contacto puede prevenir una enfermedad o reducir la incidencia y/o gravedad de una enfermedad de la planta. El contacto puede prevenir una enfermedad o reducir la incidencia y/o gravedad de una enfermedad de la planta.

[00132] En algunas realizaciones, una o más moléculas sintetizadas por dicho *Bacillus amyloliquefaciens* mata, daña, ralentiza el crecimiento de, reduce la reproducción del hongo, bacteria o nematodo, o cualquier combinación de los mismos mediante cualquiera de los siguientes modos de acción: daño de la membrana celular; desintegración de la

membrana celular o desequilibrio de la presión osmótica; cambios en la permeabilidad de la membrana celular; formación de poros en la membrana celular; formación de estructuras de conglobación; reducción de las concentraciones o la disponibilidad de polisacáridos u otros componentes de la formación de biopelículas, o mediante la regulación a la baja de los genes necesarios para la formación de dichos compuestos; inducción de respuestas inmunitarias de la planta; regulación a la baja de los genes necesarios para la síntesis de la pared celular, la producción de proteínas o la replicación del ADN; inhibición de la glucosamina sintasa; inhibición de la síntesis de proteínas; quelación del hierro, o quelación de otras sustancias químicas clave que impiden el acceso del patógeno; inhibición de la formación de biopelículas o de la motilidad en enjambre.

[00133] Por ejemplo, los lipopéptidos pueden dañar la membrana celular; desintegrar la membrana celular o crear un desequilibrio de la presión osmótica, cambiar la permeabilidad de la membrana celular, formar poros en la membrana celular; formar estructuras de conglobación, reducir las concentraciones o la disponibilidad de polisacáridos u otros componentes de la formación de biopelículas o regular a la baja los genes necesarios para la formación de dichos compuestos, y/o inducir respuestas inmunitarias vegetales. Cuando los lipopéptidos incluyen fengicina, plipastatina, surfacticina o compuestos relacionados, la fengicina puede dañar la membrana celular; la plipastatina puede cambiar la permeabilidad de la membrana celular, formar poros en la membrana celular y/o formar estructuras de conglobación; y la surfacticina puede desintegrar la membrana celular o crear un desequilibrio de la presión osmótica, reducir las concentraciones o la disponibilidad de polisacáridos u otros componentes de la formación de biopelículas o regular a la baja los genes necesarios para la formación de dichos compuestos, y/o inducir respuestas inmunitarias de las plantas. El compuesto relacionado de un compuesto de esta patente puede incluir una materia prima, un precursor o un metabolito de dicho compuesto. En algunas realizaciones, el compuesto relacionado de un compuesto incluye un catalizador, una enzima, una coenzima u otro componente de una enzima que se incorpora en una reacción química para generar dicho compuesto o un precursor del mismo.

[00134] En algunas realizaciones, los policétidos (por ejemplo, macrolactina H, difficidina o compuestos relacionados) regulan a la baja los genes necesarios para la síntesis de la pared celular, la producción de proteínas o la replicación del ADN, o inhiben la formación de biopelículas o la motilidad en enjambre. La difficidina o los compuestos relacionados pueden regular a la baja los genes necesarios para la síntesis de la pared celular, la producción de proteínas o la replicación del ADN, o inhibir la formación de biopelículas o la motilidad en enjambre. En algunas realizaciones, los péptidos (por ejemplo, bacilisina, rizotocina A o compuestos relacionados) inhiben la glucosamina sintasa. En algunas realizaciones, los aminoglucósidos (por ejemplo, butirosina A, o butirosina B o compuestos relacionados) inhiben la síntesis de proteínas. En algunas realizaciones, los sideróforos (por ejemplo, bacillibactina o un compuesto relacionado) modifican la quelación del hierro, o la quelación de otras sustancias químicas clave que impiden el acceso del patógeno.

[00135] Uno o más organismos patógenos pueden seleccionarse del grupo formado por un hongo, una bacteria y un nematodo. En algunas realizaciones, el contacto con la composición de biocontrol reduce el crecimiento de uno o más organismos patógenos presentes en la planta, la semilla o el suelo que contiene la planta, o los mata. El organismo patógeno puede seleccionarse del grupo formado por un hongo, una bacteria y un nematodo. El organismo patógeno puede ser como se describe en el presente documento. Uno o más organismos patógenos pueden infectar las hojas, los frutos, las flores, los tallos, las semillas o las raíces de la planta. Uno o más organismos patógenos pueden causar una infección en el interior de la planta. Uno o más organismos patógenos causan una infección en el interior de la planta a través del xilema, el floema o un elemento estructural interno o externo. El elemento estructural puede incluir un tallo, tronco, cormo, pseudotallo o bulbo. En algunas realizaciones, uno o más organismos patógenos causan una infección en la planta entrando en las raíces de la planta o en los estomas de las hojas de la planta. El uno o más organismos patógenos pueden incluir un hongo infeccioso o un endófito causante de enfermedades.

[00136] En algunas realizaciones, el método incluye preparar y/o formar la composición de biocontrol. La preparación y/o formación de la composición de biocontrol puede incluir una o más de las operaciones de cultivo, síntesis o cultivo de uno o más componentes de la

composición de biocontrol. La preparación y/o formación de la composición de biocontrol puede incluir la adición de un microbio *Bacillus amyloliquefaciens* y/o una o más moléculas sintetizadas por dicho microbio *Bacillus amyloliquefaciens* a una solución acuosa. El método puede incluir la incorporación de una cantidad del microbio *Bacillus amyloliquefaciens* y/o una o más moléculas sintetizadas por el microbio *Bacillus amyloliquefaciens* a una solución acuosa en una cantidad en un intervalo de 1×10^2 UFC/mL (unidades formadoras de colonias por mililitro) a 1×10^{20} UFC/mL o más. Por ejemplo, el microbio *Bacillus amyloliquefaciens* puede añadirse a una solución acuosa en una cantidad comprendida entre 1×10^2 UFC/mL, $2,5 \times 10^2$ UFC/mL, 5×10^2 UFC/mL, 1×10^{223} UFC/mL, $2,5 \times 10^3$ UFC/mL, 5×10^3 UFC/mL, 1×10^4 UFC/mL, $2,5 \times 10^4$ UFC/mL, 5×10^4 UFC/mL, 1×10^5 UFC/mL, $2,5 \times 10^5$ UFC/mL, 5×10^5 UFC/mL, 1×10^{556} UFC/mL, $2,5 \times 10^6$ UFC/mL, 5×10^6 UFC/mL, 1×10^7 UFC/mL, $2,5 \times 10^7$ UFC/mL, 5×10^7 UFC/mL, 1×10^8 UFC/mL, $2,5 \times 10^8$ UFC/mL, 5×10^8 UFC/mL, 1×10^9 UFC/mL, $2,5 \times 10^9$ UFC/mL, 5×10^9 UFC/mL, $7,5 \times 10^9$ UFC/mL, 9×10^9 UFC/mL, $9,5 \times 10^{10}$ UFC/mL, y 1×10^{10} UFC/mL y un límite superior de cualquiera de 1×10^{10} UFC/mL, $2,5 \times 10^{10}$ UFC/mL, 5×10^{1010} UFC/mL, 1×10^{11} UFC/mL, $2,5 \times 10^{11}$ UFC/mL, 5×10^{11} UFC/mL, 1×10^{12} UFC/mL, $2,5 \times 10^{12}$ UFC/mL, 5×10^{12} UFC/mL, 1×10^{13} UFC/mL, $2,5 \times 10^{13}$ UFC/mL, 5×10^{1313} UFC/mL, 1×10^{14} UFC/mL, $2,5 \times 10^{14}$ UFC/mL, 5×10^{14} UFC/mL, 1×10^{15} UFC/mL, $2,5 \times 10^{15}$ UFC/mL, 5×10^{15} UFC/mL, 1×10^{16} UFC/mL, $2,5 \times 10^{16}$ UFC/mL, 5×10^{16} UFC/mL, 1×10^{161617} UFC/mL, $2,5 \times 10^{17}$ UFC/mL, 5×10^{17} UFC/mL, 1×10^{18} UFC/mL, $2,5 \times 10^{18}$ UFC/mL, 5×10^{18} UFC/mL, 1×10^{19} UFC/mL, $2,5 \times 10^{19}$ UFC/mL, 5×10^{1919} UFC/mL, y 1×10^{20} UFC/mL o más, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. Por ejemplo, la cantidad de (i) el *Bacillus amyloliquefaciens*, y/o (ii) la una o más moléculas sintetizadas por el *Bacillus amyloliquefaciens* en la formulación es 1×10^2 UFC/mL o mayor, 1×10^5 UFC/mL o mayor, o 1×10^{10} UFC/mL o mayor.

[00137] El método puede incluir la adición de una o más sales seleccionadas del grupo que consiste en cloruro de sodio, fosfato de potasio dibásico, fosfato de potasio monobásico y combinaciones de los mismos a la solución acuosa. En algunas realizaciones, el método incluye la adición de al menos una sal tampón a la solución acuosa en una cantidad distinta de cero hasta aproximadamente 25 % en peso. Por ejemplo, puede añadirse al menos una

sal tampón a la solución acuosa en un intervalo de una cantidad distinta a cero, 0,05 % en peso, 0,1 % en peso, 1 % en peso, 5 % en peso, 7,5 % en peso, 10 % en peso, 12,5 % en peso y 15 % en peso y un límite superior de cualquiera de 12,5 % en peso, 15 % en peso, 17,5 % en peso, 20 % en peso y 25 % en peso, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible. El método puede incluir ajustar el pH de la solución a un valor en un intervalo que tenga un límite inferior de 3, 4, 5, 6, 6,25, 6,5, 6,75, 7,0, 7,2 y 7,4 y un límite superior de 7,4, 7,5, 7,7, 7,9, 8, 8,5, 9, 9,5, 10, 10,5 y 11, donde cualquier límite inferior puede emparejarse con cualquier límite superior matemáticamente compatible.

[00138] Cualquier aspecto o realización aquí divulgado puede incluir la cosecha de un cultivo de la planta, y el contacto del cultivo cosechado con el *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es un cierto porcentaje (por ejemplo, al menos 99,8%) idéntica a SEQ ID NO: 1. En algunos casos, el cultivo cosechado es una fruta, nuez, hoja, verdura y/o raíz. En algunos casos, el cultivo cosechado es una fruta, nuez, hoja, verdura y/o raíz.

[00139] El método de una o más realizaciones puede incluir la obtención de una o más de una planta, una semilla o un suelo que incluya la planta que tenga una enfermedad, la obtención de una planta, una semilla o un suelo que incluya la planta en riesgo de contraer una enfermedad, o combinaciones de los mismos. El tratamiento de la planta puede incluir la inoculación de una planta, semilla o suelo que incluya la planta con una composición que incluya un microbio *Bacillus amyloliquefaciens* de tal manera que la composición entre en contacto con una o más porciones de la planta, semilla, suelo que incluya la planta, o cualquier combinación de las mismas. Por ejemplo, un método de tratamiento de plantas puede incluir el contacto de una hoja, raíz o tallo de la planta con el *Bacillus amyloliquefaciens* o una formulación que incluya el microbio *Bacillus amyloliquefaciens*. En algunas realizaciones, el *Bacillus amyloliquefaciens* incluye un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos un 99,8% idéntica a la SEQ ID NO: 1.

[00140] En algunas realizaciones, la inoculación de una o más de las plantas, semillas o suelo que comprende la planta reduce el crecimiento de un hongo *Fusarium*, un hongo

Mycosphaerella o ambos en la planta. En algunas realizaciones, la inoculación reduce la enfermedad de Panamá, la enfermedad de la mancha foliar o ambas en la planta. En algunas realizaciones, la enfermedad de Panamá incluye una enfermedad del pseudotallo. El método de una o más realizaciones puede reducir la enfermedad del pseudotallo en al menos un 1%, al menos un 5%, al menos un 7%, al menos un 10%, al menos un 25% o al menos un 50%. En algunas realizaciones, el método reduce la enfermedad de pseudotallo que se reduce en una cantidad en un rango de 15% a al menos 85%, en relación con una planta de control que tiene la enfermedad de pseudotallo y no en contacto con el *Bacillus amyloliquefaciens*. Por ejemplo, el método reduce la enfermedad del pseudotallo en un intervalo que tiene un límite inferior de uno cualquiera de 15%, 20%, 25% y 30%, y un límite superior de uno cualquiera de aproximadamente 70%, 75%, 80% y 85% o más, en relación con una planta de control que tiene la enfermedad del pseudotallo y no ha sido contactada con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[00141] El hongo *Fusarium* tratado por un método de una o más realizaciones puede incluir *Fusarium oxysporum*. En algunas realizaciones, el hongo *Mycosphaerella* comprende *Mycosphaerella fijiensis* o *Mycosphaerella musicola*. La planta puede ser una planta frutal, como un platanero. La enfermedad de la mancha foliar puede incluir la sigatoka negra. Como un experto puede apreciar, la interrupción de la fotosíntesis puede reducir el rendimiento de la fruta hasta en un 50%. La infección con Sigatoka negra puede interrumpir la maduración, causando que la fruta madure prematura y desigualmente, y como resultado se vuelva inadecuada para la exportación. Así pues, un tratamiento que reduzca la sigatoka negra puede ser beneficioso para las plantas.

[00142] En algunas realizaciones, un método de tratamiento de plantas incluye inocular una planta, semilla, o suelo que comprende la planta con un *Bacillus amyloliquefaciens* para tratar un patógeno *Xanthomonas*. La inoculación incluye poner en contacto el microbio con una o más de las semillas de la planta, o el suelo que comprende la planta con *Bacillus amyloliquefaciens*. En una o más realizaciones, el contacto reduce el crecimiento del patógeno *Xanthomonas* incluyendo, pero no limitado a, *Xanthomonas campestris* en la planta. En algunas realizaciones, el contacto reduce el desarrollo de manchas negras en la planta. En algunas realizaciones, el desarrollo de la mancha negra se reduce en

aproximadamente un 50-85%, en relación con una planta de control con mancha negra y no contactada con el *Bacillus amyloliquefaciens*. En algunas realizaciones, el desarrollo de la mancha negra se reduce al menos en un 10%.

[00143] En una o más realizaciones, un método de tratamiento puede incluir el contacto de un nematodo con un *Bacillus amyloliquefaciens* o una formulación que incluya el *Bacillus amyloliquefaciens*. La etapa de contacto con el nematodo puede incluir la inoculación de una planta que incluya el nematodo con el *Bacillus amyloliquefaciens* o una formulación que incluya el *Bacillus amyloliquefaciens*. El método o la etapa de contacto con el nematodo puede incluir la inhibición de una enfermedad de la planta mediada por el nematodo. En algunas realizaciones, el contacto puede matar al nematodo, reducir el crecimiento del nematodo, inhibir o reducir la reproducción del nematodo, o cualquier combinación de los mismos. En algunas realizaciones, el nematodo es un nematodo del nudo radicular o un nematodo del quiste de la soja.

[00144] Un método de tratamiento de una o más realizaciones puede estar dirigido a un método de tratamiento para reducir el crecimiento de una bacteria *Xylella* (por ejemplo, *Xylella fastidiosa*), *Phakopsora pachyrhizi*, o reducir el desarrollo de la roya de la soja en la planta. El método puede incluir el contacto de una planta, semilla o suelo que comprende la planta con un *Bacillus amyloliquefaciens* o una formulación que incluye el *Bacillus amyloliquefaciens*. El contacto puede incluir, por ejemplo, la inoculación. En algunas realizaciones, el contacto reduce el crecimiento de una bacteria *Xylella* en la planta, reduce el desarrollo de la enfermedad vascular en la planta (por ejemplo, hoja quemada), o ambos. En una o más realizaciones particulares, la planta incluye un árbol de frutos secos, como un almendro. En una o más realizaciones particulares, la planta incluye una planta frutal, como un olivo, una planta de bayas (por ejemplo, una planta de arándanos), una vid, o cualquier combinación de las mismas. En algunas realizaciones, la etapa de contacto incluye el contacto de una hoja, raíz o tallo de la planta con el *Bacillus amyloliquefaciens* o una formulación que incluye el *Bacillus amyloliquefaciens*. Por ejemplo, el contacto puede incluir la pulverización.

[00145] En una o más realizaciones, un método de tratamiento está dirigido a reducir el desarrollo de una enfermedad del arroz, como en una planta de arroz. El método puede incluir el contacto, tal como la inoculación, de una planta, semilla, un suelo que comprende la planta, o cualquier combinación de los mismos con un *Bacillus amyloliquefaciens* o una formulación que incluya el *Bacillus amyloliquefaciens*. En algunas realizaciones, el contacto incluye el contacto de una hoja, raíz o tallo de la planta con el *Bacillus amyloliquefaciens* o una formulación que incluya el *Bacillus amyloliquefaciens*. La enfermedad del arroz puede incluir añublo del arroz, mancha marrón estrecha, mancha marrón o tizón de la vaina. En algunas realizaciones, la enfermedad del arroz en la planta se reduce en al menos un 10%, en relación con la enfermedad del arroz en una planta sin el contacto.

[00146] En algunas realizaciones, un método de tratamiento está dirigido a un método de protección post-cosecha. El método de producción post-cosecha puede incluir un paso de contacto (por ejemplo, un paso de inoculación) de un cultivo cosechado con una composición de biocontrol de acuerdo con una o más realizaciones. En algunas realizaciones, el contacto previene una enfermedad, reduce la incidencia y/o severidad de una enfermedad, o combinaciones de las mismas. La cosecha puede incluir una fruta, incluyendo, pero sin limitarse a una fruta cítrica (por ejemplo, una naranja). En algunas realizaciones, la naranja está infectada o bajo amenaza de infección por un patógeno vegetal, como al menos uno de *Fusarium spp.*, *Botrytis spp.*, *Penicillium spp.*, *Geotrichum spp.* y *Rhizoctonia spp.* En una o más realizaciones particulares, la naranja está infectada o bajo amenaza de infección por *Penicillium digitatum*. En algunas realizaciones, se previene la infección o se reduce la gravedad de la enfermedad.

[00147] En el presente documento se describen métodos de tratamiento para reducir el crecimiento o eliminar uno o más organismos patógenos presentes en una planta. El método puede incluir el contacto de una planta, semilla o producto de la misma, o suelo que comprende la planta con un microbio, tal como un *Bacillus amyloliquefaciens*. El *Bacillus amyloliquefaciens* puede incluir un ácido nucleico que comprenda una secuencia que sea al menos un 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1. El contacto puede matar, impedir el crecimiento o reducir el crecimiento de un patógeno como un hongo, una bacteria, un

nematodo o un insecto sobre o dentro de la planta, la semilla o su producto, o el suelo. El contacto puede prevenir, revertir o reducir el desarrollo de una enfermedad relacionada con el patógeno en la planta.

[00148] La aplicación del microbio o la formulación a la planta puede consistir en espolvorear, sumergir, enrollar, inyectar, frotar, rociar o cepillar la planta con el microbio o la formulación. La composición de biocontrol puede aplicarse al producto inmediatamente antes de la cosecha o inmediatamente después de la cosecha o en el plazo de 1 día, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 6 días o 1 semana tras la cosecha. En algunos casos, la composición de biocontrol es aplicada por la entidad que realiza la recolección, en un proceso que trata el producto inmediatamente antes de la recolección o después de la recolección, por la entidad que envasa el producto, por la entidad que transporta el producto, o por la entidad que expone comercialmente el producto para su venta, o un consumidor.

[00149] La formulación puede reducir el crecimiento del patógeno en la planta, semilla o producto en relación con el crecimiento del patógeno en un control que sea una planta, semilla, flor o producto no expuesto a la formulación. El control puede ser una planta, una semilla o un producto del mismo al que no se haya aplicado ningún agente antipatógeno o puede ser una planta, una semilla, una flor o un producto del mismo al que se haya aplicado un agente antipatógeno disponible en el mercado. El control disponible comercialmente puede incluir un producto Serenade® (como Serenade® Opti y/o Serenade® Aso obtenible de Bayer Crop Science US), que incluye un ingrediente activo de una cepa QST 713 de *Bacillus subtilis*. La formulación puede reducir el crecimiento de un patógeno en la planta, semilla o producto durante al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4 o al menos 5 días. La formulación puede reducir el crecimiento de un patógeno en la planta, semilla o producto durante al menos 1, al menos 2, al menos 3, al menos 4, al menos 5 días, al menos 6 días, al menos 7 días, al menos 8 días, al menos 9 días o al menos 10 días. La formulación puede reducir el crecimiento de un patógeno en la planta, semilla o producto de la misma durante más de 10 días. La formulación puede reducir el crecimiento del patógeno en al menos un 25% en relación con el crecimiento del patógeno en el control. La formulación puede reducir el crecimiento del patógeno en al menos un 60% en relación con el

crecimiento del patógeno en el control. La formulación puede reducir el crecimiento del patógeno en al menos un 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% o más en relación con el crecimiento del patógeno en el control.

[00150] La planta puede incluir una flor, semilla y/o producto de la misma. La planta, flor, semilla o producto de la misma puede incluir una almendra, albaricoque, manzana, alcachofa, plátano, cebada, remolacha, zarzamora, arándano, brécol, col de Bruselas, col, cannabis, pimiento, zanahoria, apio, acelga, cereza, cítrico, maíz, cucurbitácea, pepino, dátil, higo, ajo, uva, hierba, especia, col rizada, lechuga, mandarina, palma aceitera, aceituna, cebolla, naranja, guisante, pera, melocotón, cacahuete, papaya, chirivía, pacana, caqui, ciruela, granada, patata, membrillo, rábano, frambuesa, rosa, arroz, endrina, sorgo, soja, espinaca, fresa, batata, tabaco, tomate, nabo, nuez o trigo.

[00151] La planta, semilla, flor y/o producto de la misma puede pertenecer a un género de *Prunus*, *Malus*, *Cynara*, *Musa*, *Hordeum*, *Beta*, *Rubus*, *Vaccinium*, *Brassica*, *Cannabis*, *Capsicum*, *Daucus*, *Apium*, *Citrus*, *Zea*, *Cucumis*, *Curcubita*, *Phoenix*, *Ficus*, *Allium*, *Vitis*, *Elaeis*, *Olea*, *Pisum*, *Pyrus*, *Arachis*, *Carica*, *Carya*, *Pastinaca*, *Diospyros*, *Punica*, *Solanum*, *Cydonia*, *Raphanus*, *Rubus*, *Rosa*, *Oryza*, *Sorghum*, *Glycine*, *Spinacia*, *Fragaria*, *Ipomoea*, *Nicotiana*, *Juglans*, o *Triticum*. La planta, semilla, flor o producto de la misma puede incluir una planta o producto de la misma puede ser de la familia *Rosaceae*. La planta, flor, semilla o producto de la misma de la familia *Rosaceae* puede ser del género *Rubus*, como la frambuesa o la zarzamora, *Fragaria*, como la fresa, *Pyrus*, como la pera, *Cydonia*, como el membrillo, *Prunus*, como la almendra, el melocotón, la ciruela, el albaricoque, la cereza o la endrina, *Rosa*, como la rosa, o *Malus*, como la manzana. La planta, semilla, flor o producto puede ser una planta o producto de la familia *Ericaceae*. La planta, semilla, flor o producto de la familia *Ericaceae* puede pertenecer al género *Vaccinium*, como el arándano. La planta, semilla, flor o producto puede ser una planta o producto de la familia *Ericaceae*. La planta, semilla, flor o producto de la familia *Ericaceae* puede pertenecer al género *Vaccinium*, como el arándano. La planta, semilla, flor o producto de la misma puede ser una planta o producto de la misma de la familia *Vitaceae*. La planta, semilla, flor o producto de la familia *Vitaceae* puede pertenecer al género *Vitis*, como la uva.

[00152] En una o más realizaciones, la planta es un almendro, un albaricoquero, un manzano, una planta de alcachofa, un platanero, una cebada, una remolacha, una planta de zarzamora, un arbusto de arándanos, una planta de brócoli, una planta brásica, una planta de coles de Bruselas, una planta de repollo, planta de cannabis, planta capsicum, planta de zanahoria, planta de apio, planta de acelga, cerezo, árbol de cítricos, tallo de maíz, planta de cucurbitáceas, planta de pepino, palmera datilera, higuera, planta de ajo, vid de uva, planta de hierbas, planta de especias, planta de col rizada, limonero, lechuga, tilo, mandarino, palmera aceitera, olivo, cebolla, naranjo, guisante, peral, melocotonero, cacahuete, papayo, chirivía, pacana, palosanto, ciruelo, granado, patata, membrillo, rábano, frambuesa, rosa, arroz, endrino, sorgo, soja, espinaca, fresa, boniato, tabaco, tomate, nabo, nogal o trigo.

[00153] En varios aspectos, el microbio puede colonizar, o crecer, en una parte de la planta. Por ejemplo, la inoculación de la planta puede producir un endófito. El microbio puede colonizar un rizoma de la planta. El microbio puede colonizar un chupón de la planta. El microbio puede estar asociado con la planta a lo largo de una cosecha de porciones de la planta. Por ejemplo, el microbio puede colonizar un chupón de la cosecha de un año posterior de la planta. Por ejemplo, el microbio puede colonizar un rizoma de la planta entre cosechas. El microbio puede mantener sus propiedades entre cosechas o crecimientos de nuevas partes de la planta.

[00154] MÉTODO DE PRODUCCIÓN DE UN ENDÓFITO

[00155] En otro aspecto, las realizaciones del presente documento se refieren a un método para producir un endófito (por ejemplo, un endosimbionte). En algunas realizaciones, el método para producir un endófito incluye uno o más pasos para usar una composición de biocontrol como se describe en el presente documento. Por ejemplo, el método para producir un endófito puede incluir el contacto de una o más hojas, raíces o tallos de una planta con *Bacillus amyloliquefaciens* o una formulación que incluya el *Bacillus amyloliquefaciens*. En tales realizaciones, el contacto produce un endófito dentro de la planta o semilla. El endófito producido puede proteger a la planta o semilla frente a un patógeno. En algunas realizaciones, el contacto se produce antes de que uno o más

organismos patógenos estén presentes en o dentro de la planta, la semilla o el suelo que contiene la planta.

[00156] En algunas realizaciones, el *Bacillus amyloliquefaciens* es capaz de colonizar un rizoma de la planta entre cosechas, una yema de un cultivo vegetal de un año posterior, o ambos. El *Bacillus amyloliquefaciens* puede colonizar un rizoma de la planta entre cosechas. El *Bacillus amyloliquefaciens* puede colonizar una yema de un cultivo de la planta del año siguiente. En algunas realizaciones, el endófito se transmite a la progenie de la planta y la protege contra un hongo, una bacteria o un nematodo. El endófito puede transmitirse mediante la germinación de semillas o mediante esquejes o trasplantes.

[00157] El método para producir un endófito puede incluir la inoculación de una planta con un microbio *Bacillus amyloliquefaciens* o una formulación que incluya el microbio *Bacillus amyloliquefaciens*. En algunas realizaciones, inocular la planta con un microbio *Bacillus amyloliquefaciens* o una formulación que incluya el microbio *Bacillus amyloliquefaciens* permite la producción de un endófito que comprende el *Bacillus amyloliquefaciens*. En algunas realizaciones, la planta incluye una planta de plátano, una Brassica, una lechuga, una planta de arándano, un almendro, un olivo, una vid, o cualquier combinación de las mismas.

[00158] El microbio puede transmitirse verticalmente de una planta a su descendencia. La progenie de la planta puede recibir los beneficios del microbio. Por ejemplo, el endófito puede transmitirse a la progenie de la planta y puede proteger a la progenie de la planta contra un hongo, una bacteria, un nematodo o un insecto. La transmisión a una progenie, o generación de progenie, puede comprender la germinación de semillas, el crecimiento a partir de esquejes o mediante trasplante.

[00159] En algunas realizaciones, el método de producción de un endófito en una planta permite la protección de la planta contra un patógeno, como un hongo, una bacteria o un nematodo. En algunas realizaciones, el hongo incluye *Fusarium*, tal como *Fusarium oxysporum*. En algunas realizaciones, la bacteria incluye una *Xanthomonas*, como *Xanthomonas campestris*, una *Xylella* (por ejemplo, *Xylella fastidiosa*), o combinaciones

de las mismas. En algunas realizaciones, el nematodo incluye un nematodo del nudo radicular o un nematodo del quiste de la soja.

[00160] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "índice de gravedad de la enfermedad" se refiere generalmente a una puntuación que representa el grado de síntomas de la enfermedad visibles en la planta. Por ejemplo, un determinado índice de gravedad de la enfermedad puede tener un número particular (o rango de números) de manchas en las hojas indicativas de una enfermedad. Por ejemplo, una planta que tiene más síntomas de la enfermedad tiene un índice de gravedad de la enfermedad más alto que una planta que tiene un índice de gravedad de la enfermedad más bajo. Las distintas especies de plantas pueden tener asociado un índice de gravedad de la enfermedad diferente.

[00161] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "gravedad de la enfermedad" o "gravedad media de la enfermedad" o "porcentaje de gravedad media de la enfermedad" se refiere generalmente al grado de síntomas de la enfermedad que es visible en una planta o población de plantas. La gravedad de la enfermedad puede calcularse mediante el porcentaje de la planta cubierto por síntomas de la enfermedad. El porcentaje de gravedad media de la enfermedad puede calcularse para una población mediante la evaluación de la gravedad de la enfermedad de cada planta y la media de la gravedad de la enfermedad de cada planta.

[00162] Tal como se utiliza en el presente documento, el término "índice de enfermedad", "índice medio de enfermedad" o "índice medio porcentual de enfermedad" se refiere generalmente a una puntuación para una población de plantas que representa el grado de síntomas de enfermedad visibles en una población de plantas. El índice de enfermedad puede calcularse como la incidencia de la enfermedad multiplicada por la gravedad de la enfermedad. El índice medio de la enfermedad puede calcularse basándose en un índice o puntuación de la gravedad de la enfermedad para una planta individual, el número de plantas con ese índice de gravedad de la enfermedad, el número total de plantas, el índice máximo de la enfermedad y el porcentaje de incidencia de la enfermedad con el fin de crear una media ponderada que represente la gravedad media de la enfermedad. En un ejemplo no limitativo, un cálculo general del índice medio porcentual de la enfermedad puede

realizarse como [suma (número de plantas en una puntuación dada multiplicado por la puntuación)]/ [(número total de plantas multiplicado por la puntuación máxima)] multiplicado por 100.

[00163] REALIZACIONES ADICIONALES

[00164] Realización 1. Un método de tratamiento, que comprende:

[00165] inocular una planta, semilla, o suelo que comprende la planta con un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1; en el que el contacto reduce el crecimiento de un hongo *Fusarium* en la planta, o reduce el desarrollo de la enfermedad de Panamá en la planta.

[00166] Realización 2. El método de la realización 1, en el que la planta comprende una planta frutal.

[00167] Realización 3. El método de la realización 1, en el que la planta frutal comprende un platanero.

[00168] Realización 4. El método de la realización 1, en el que la enfermedad de Panamá comprende la enfermedad del pseudotallo.

[00169] Realización 5. El método de la realización 4, en el que la enfermedad del pseudotallo se reduce al menos un 10%.

[00170] Realización 6. El método de la realización 4, en el que la enfermedad del pseudotallo se reduce en aproximadamente un 25-75%, en relación con una planta de control que tiene la enfermedad del pseudotallo y no ha sido contactada con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[00171] Realización 7. El método de la realización 1, en el que el contacto comprende poner en contacto una hoja, raíz o tallo de la planta con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

[00172] Realización 8. El método de la realización 1, en el que el hongo *Fusarium* comprende *Fusarium oxysporum*.

- [00173] Realización 9. El método de la realización 1, en el que el ácido nucleico comprende una secuencia que es 100% idéntica a SEQ ID NO: 1.
- [00174] Realización 10. Un método de producción de un endófito, que comprende:
- [00175] inocular una planta con un *Bacillus amyloliquefaciens*, produciendo así el endófito que comprende el *Bacillus amyloliquefaciens*, donde la planta comprende una planta de plátano, una Brassica, una lechuga, una planta de arándanos, un almendro, un olivo o una vid.
- [00176] Realización 11. El método de la realización 10, en el que el *Bacillus amyloliquefaciens* comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1.
- [00177] Realización 12. El método de la realización 11, en el que la secuencia del ácido nucleico es 100% idéntica a SEQ ID NO: 1.
- [00178] Realización 13. El método de la realización 10, en el que el contacto comprende poner en contacto una hoja, raíz o tallo de la planta con el *Bacillus amyloliquefaciens*.
- [00179] Realización 14. El método de la realización 10, en el que el *Bacillus amyloliquefaciens* coloniza un rizoma de la planta entre cosechas.
- [00180] Realización 15. El método de la realización 10, en el que el *Bacillus amyloliquefaciens* coloniza un brote de la cosecha de un año posterior de la planta.
- [00181] Realización 16. El método de la realización 10, en el que el endófito protege a la planta contra un patógeno.
- [00182] Realización 17. El método de la realización 16, en el que el patógeno comprende un hongo, una bacteria o un nematodo.
- [00183] Realización 18. El método de la realización 17, en el que el hongo comprende un *Fusarium*.
- [00184] Realización 19. El método de la realización 18, en el que el *Fusarium* comprende *Fusarium oxysporum*.

- [00185] Realización 20. El método de la realización 17, en el que la bacteria comprende una *Xanthomonas*.
- [00186] Realización 21. El método de la realización 20, en el que *las Xanthomonas* comprenden *Xanthomonas campestris*.
- [00187] Realización 22. El método de la realización 17, en el que la bacteria comprende una *Xylella*.
- [00188] Realización 23. El método de la realización 22, en el que la *Xylella* comprende *Xylella fastidiosa*.
- [00189] Realización 24. El método de la realización 17, en el que el nematodo comprende un nematodo del nudo radicular o un nematodo del quiste de la soja.
- [00190] Realización 25. Un método de tratamiento, que comprende:
- [00191] inocular una planta, semilla o suelo que comprenda la planta con un *Bacillus amyloliquefaciens*;
- [00192] en el que el contacto reduce el crecimiento de *Xanthomonas campestris* en la planta, o reduce el desarrollo de manchas negras en la planta.
- [00193] Realización 26. El método de la realización 25, en el que el *Bacillus amyloliquefaciens* comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1.
- [00194] Realización 27. El método de la realización 25, en el que la planta comprende una Brassica o lechuga.
- [00195] Realización 28. El método de la realización 25, en el que el desarrollo de la mancha negra se reduce en aproximadamente un 50-85%, en relación con una planta de control con mancha negra y no contactada con el *Bacillus amyloliquefaciens*.
- [00196] Realización 29. El método de la realización 26, en el que la secuencia del ácido nucleico es 100% idéntica a SEQ ID NO: 1.
- [00197] Realización 30. Un método de tratamiento, que comprende:

- [00198]** inocular una planta, semilla, o suelo que comprende la planta con un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1; en el que el contacto reduce el crecimiento de una bacteria *Xanthomonas* en la planta, o reduce el desarrollo de la mancha negra en la planta.
- [00199]** Realización 31. El método de la realización 30, en el que la bacteria *Xanthomonas* comprende *Xanthomonas campestris*.
- [00200]** Realización 32. El método de la realización 30, en el que la planta comprende una lechuga o Brassica.
- [00201]** Realización 33. El método de la realización 30, en el que el desarrollo de la mancha negra se reduce al menos en un 10%.
- [00202]** Realización 34. El método de la realización 30, en el que el desarrollo de la mancha negra se reduce en aproximadamente un 50-85%, en relación con una planta de control con mancha negra y no contactada con el *Bacillus amyloliquefaciens*.
- [00203]** Realización 35. El método de la realización 30, en el que la secuencia del ácido nucleico es 100% idéntica a SEQ ID NO: 1.
- [00204]** Realización 36. Un método, que comprende: poner en contacto un nematodo con un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1.
- [00205]** Realización 37. El método de la realización 36, en el que el contacto mata o reduce el crecimiento o la reproducción del nematodo.
- [00206]** Realización 38. El método de la realización 36, en el que el nematodo comprende un nematodo del nudo radicular o un nematodo del quiste de la soja.
- [00207]** Realización 39. El método de la realización 36, en el que el contacto del nematodo con el *Bacillus amyloliquefaciens* comprende inocular una planta que comprende el nematodo con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

- [00208] Realización 40. El método de la realización 36, en el que el contacto inhibe una enfermedad de las plantas mediada por nematodos.
- [00209] Realización 41. El método de la realización 36, en el que la secuencia del ácido nucleico es 100% idéntica a SEQ ID NO: 1.
- [00210] Realización 42. Un método de tratamiento, que comprende: inocular una planta, semilla, o suelo que comprende la planta con un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1; en el que el contacto reduce el crecimiento de una bacteria *Xylella* en la planta, o reduce el desarrollo de la enfermedad vascular en la planta.
- [00211] Realización 43. El método de la realización 42, en el que la planta comprende un árbol de frutos secos.
- [00212] Realización 44. El método de la realización 42, en el que el árbol de frutos secos comprende un almendro.
- [00213] Realización 45. El método de la realización 42, en el que la planta comprende una planta frutal.
- [00214] Realización 46. El método de la realización 42, en el que la planta frutal comprende un olivo.
- [00215] Realización 47. El método de la realización 42, en el que la planta frutal comprende una planta de bayas.
- [00216] Realización 48. El método de la realización 42, en el que la planta de bayas comprende una planta de arándanos.
- [00217] Realización 49. El método de la realización 42, en el que la planta frutal comprende una vid.
- [00218] Realización 50. El método de la realización 42, en el que el contacto comprende poner en contacto una hoja, raíz o tallo de la planta con el *Bacillus amyloliquefaciens*.
- [00219] Realización 51. El método de la realización 50, en el que el contacto comprende la pulverización.

- [00220] Realización 52. El método de la realización 42, en el que la bacteria *Xylella* comprende *Xylella fastidiosa*.
- [00221] Realización 53. El método de la realización 42, en el que la enfermedad vascular comprende la quemadura de la hoja.
- [00222] Realización 54. El método de la realización 42, en el que la secuencia del ácido nucleico es 100% idéntica a SEQ ID NO: 1.
- [00223] Realización 55. Un método de tratamiento, que comprende: inocular una planta, semilla o suelo que comprende la planta con un *Bacillus amyloliquefaciens*, en el que la planta comprende un almendro o una planta de arándano; y en el que el contacto reduce el crecimiento de una bacteria *Xylella* en la planta, o reduce el desarrollo de una enfermedad vascular en la planta.
- [00224] Realización 56. El método de la realización 55, en el que el contacto comprende poner en contacto una hoja, raíz o tallo de la planta con el *Bacillus amyloliquefaciens*.
- [00225] Realización 57. El método de la realización 56, en el que el contacto comprende la pulverización.
- [00226] Realización 58. El método de la realización 55, en el que la bacteria *Xylella* comprende *Xylella fastidiosa*.
- [00227] Realización 59. El método de la realización 55, en el que la enfermedad vascular comprende la hoja quemada.
- [00228] Realización 60. El método de la realización 55, en el que el *Bacillus amyloliquefaciens* comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1
- [00229] Realización 61. El método de la realización 60, en el que la secuencia del ácido nucleico es 100% idéntica a SEQ ID NO: 1.
- [00230] Realización 62. Un método de tratamiento, que comprende: inocular una planta, semilla, o suelo que comprende la planta con un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID

- NO: 1; en el que el contacto reduce el crecimiento de un hongo *Mycosphaerella* en la planta, o reduce el desarrollo de una enfermedad de mancha foliar en la planta.
- [00231] Realización 63. El método de la realización 62, en el que la planta comprende una planta frutal.
- [00232] Realización 64. El método de la realización 63, en el que la planta frutal comprende un platanero.
- [00233] Realización 65. El método de la realización 62, en el que el contacto comprende poner en contacto una hoja, raíz o tallo de la planta con el *Bacillus amyloliquefaciens*.
- [00234] Realización 66. El método de la realización 62, en el que el hongo *Mycosphaerella* comprende *Mycosphaerella fijiensis* o *Mycosphaerella musicola*.
- [00235] Realización 67. El método de la realización 62, en el que la enfermedad de la mancha foliar comprende la sigatoka negra.
- [00236] Realización 68. El método de la realización 62, en el que la secuencia del ácido nucleico es 100% idéntica a SEQ ID NO: 1.
- [00237] Realización 69. Un método de tratamiento, que comprende: inocular una planta, semilla, o suelo que comprende la planta con un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1; en el que la planta comprende arroz, y el contacto reduce el desarrollo de una enfermedad del arroz.
- [00238] Realización 70. El método de la realización 69, en el que el contacto comprende poner en contacto una hoja, raíz o tallo de la planta con el *Bacillus amyloliquefaciens*.
- [00239] Realización 71. El método de la realización 69, en el que la enfermedad del arroz comprende el añublo del arroz, la mancha marrón estrecha, la mancha marrón o el tizón de la vaina.
- [00240] Realización 72. El método de la realización 69, en el que la enfermedad del arroz en la planta se reduce al menos un 10% en relación con la enfermedad del arroz en una planta sin contacto.

- [00241] Realización 73. El método de la realización 69, en el que la secuencia del ácido nucleico es 100% idéntica a SEQ ID NO: 1.
- [00242] Realización 74. Un método de protección post-cosecha, que comprende: inocular un cultivo cosechado con una composición que comprende el cultivo cosechado con un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1, en el que el contacto previene una enfermedad o reduce la incidencia y/o gravedad de una enfermedad.
- [00243] Realización 75. El método de la realización 74, en el que el cultivo cosechado es una fruta.
- [00244] Realización 76. El método de la realización 75, en el que la fruta es un cítrico.
- [00245] Realización 77. El método de la realización 76, en el que el cítrico es una naranja.
- [00246] Realización 78. El método de la realización 74, en el que el cultivo cosechado está infectado o amenazado de infección por al menos uno de los siguientes géneros: *Fusarium spp*, *Botrytis spp*, *Penicillium spp*, *Geotrichum spp* y *Rhizoctonia spp*.
- [00247] Realización 79. El método de la realización 77, en el que la naranja está infectada o amenazada de infección por *Penicillium digitatum*.
- [00248] Realización 80. El método de la realización 79, en el que se previene la infección o se reduce la gravedad de la enfermedad.
- [00249] Realización 81. Un método de tratamiento, que comprende: inocular una planta, semilla, o suelo que comprende la planta con un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1; en el que el contacto reduce el crecimiento de una *Phakopsora pachyrhizi* en la planta, o reduce el desarrollo de la roya de la soja en la planta.
- [00250] EJEMPLOS
- [00251] Los siguientes ejemplos se incluyen únicamente con fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la divulgación.

[00252] Ejemplo 1: Inhibición del crecimiento de *Xanthomonas campestris* in vitro por *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B

[00253] Se evaluó la capacidad de la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* para inhibir el crecimiento de *Xanthomonas campestris* en un medio R2A. BC17B y *Xanthomonas campestris* (Xc) se cultivaron en un medio R2A durante 18 horas. Xc se extendió en agar R2A a 1000 células/placa. Se inocularon 100 µL (microlitros) de BC17B en un tapón y se evaluó la inhibición midiendo las zonas de eliminación en el césped bacteriano, en comparación con el control sin candidato. El BC17B mostró una clara inhibición de *X. campestris* como se muestra en la FIG. 2. En particular, las imágenes digitales se tomaron tres días después de la siembra.

[00254] Ejemplo 2: Inhibición del crecimiento de *Xanthomonas campestris* en hojas de lechuga desprendidas por *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B

[00255] Se investigó el control de las manchas bacterianas de la hoja con BC17B en comparación con Serenade® Opti (que incluye un 26,2% de la cepa QST713 de *Bacillus subtilis*) y un tratamiento de control con solución salina tamponada con fosfato (PBS). Los tratamientos se aplicaron a discos de hoja de lechuga inoculados con *Xanthomonas campestris*. BC17B se aplicó como solución en PBS a 8mL (mililitros) de $2,5 \times 10^7$ unidades formadoras de colonias (UFC)/mL en cada hoja. Las puntuaciones de severidad se tomaron 1, 4, 7, 11, 14 y 18 días después del tratamiento. Los experimentos se realizaron por duplicado (disco 1 y disco 2) con 15 réplicas por duplicado. La gravedad media de la enfermedad de las 15 réplicas se calculó para cada disco en cada momento basándose en un sistema de clasificación visual de 0 (ausencia de enfermedad) a 10 (cobertura completa de la enfermedad).

[00256] Los resultados indicaron que BC17B en PBS inhibió la mancha foliar en mayor medida que Serenade® Opti (con un 26,2% de cepa QST713 de *Bacillus subtilis*), incluso en un grado estadísticamente significativo en el disco 1. FIG. 3A y FIG. 3B muestran las puntuaciones medias de severidad de la enfermedad para el disco 1 y el disco 2, respectivamente. Las letras en las FIGs. 3A y 3B indican si las puntuaciones son

significativamente diferentes para cada punto temporal (letras diferentes) o no significativamente diferentes (misma letra).

[00257] Ejemplo 3: *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B inhibe la enfermedad de la mancha negra de la lechuga causada por *Xanthomonas campestris*.

[00258] Se sembraron lechugas en bandejas de tierra que había sido inoculada con 1×10^7 UFC/mL del patógeno bacteriano *Xanthomonas campestris*. Dos semanas después de la siembra, se aplicaron 10 mL de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B en PBS a 1×10^9 UFC/mL mediante empapado de suelo a cada planta. Como controles, (i) se aplicó PBS a 20 g/a (galones por acre), o (ii) se aplicó el fungicida biológico Serenade® ASO a 4 qt/a (cuarto de galón por acre). Se evaluaron 15 réplicas de 3 plantas por maceta, y la gravedad de la mancha negra se evaluó en tres plántulas por maceta.

[00259] La FIG. 4A muestra el grado de control de la mancha negra para las tres condiciones experimentales a los 25 días post-plantación. Comparado con el control PBS, BC17B en PBS obtuvo el mayor grado de control de la enfermedad con 72.5%, que fue superior al control que fue tratado con fungicida Serenade® ASO (con 1.34% de cepa QST713 de *Bacillus subtilis*) con 49.7%. FIG. 4B compara la apariencia de la lechuga tratada con PBS y BC17B en la lechuga tratada con PBS, que muestra una estructura de la planta más densa y más completa con el tratamiento de solución BC17B en comparación con sólo PBS.

[00260] Ejemplo 4: *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B inhibe *Botrytis cinerea* en melocotones heridos

[00261] Se evaluó la capacidad de un microbio para proteger a los melocotones de la infección de heridas por *Botrytis cinerea*. El microbio candidato evaluado fue la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens*. Como se indica en el Ejemplo 1, BC17B es una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende una secuencia de rRNA 16S proporcionada en SEQ ID NO: 1.

[00262] Se crearon cuatro heridas en la superficie de cada melocotón de 2 mm (milímetro) de diámetro y 1 mm de profundidad. Se aplicaron 10 µl de BC17B a 2×10^8 células/mL en cada herida y se dejó secar el tratamiento durante 4 horas. Se aplicaron 10 µl de esporas de

Botrytis en las heridas (excluyendo los controles negativos (-)) y se dejaron secar durante 1 hora.

[00263] Los melocotones se almacenaron en un recipiente de plástico con alta humedad a temperatura ambiente. Al tercer día, se evaluaron las siguientes propiedades: 1) Número de heridas infectadas; 2) diámetros de las lesiones para todas las heridas; y 3) peso del tejido enfermo alrededor de la herida. Los melocotones tratados con BC17B mostraron una clara protección frente a la infección por Botrytis, como se muestra en la FIG. 5, que incluye datos gráficos para el diámetro medio de la lesión (en milímetros, mm) y el peso principal de la enfermedad (gramos, g) para las muestras tratadas con BC17B, los controles negativos y los controles positivos. Los gráficos de la FIG. 5 muestran medias combinadas de tres experimentos.

[00264] Ejemplo 5: *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B reduce el Tizón de la Flor causado por *Botrytis cinerea* en arándanos

[00265] Se estableció un ensayo de campo para probar la eficacia de la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* en una solución de PBS contra la podredumbre del arándano causada por el patógeno *Botrytis cinerea*. El BC17B en PBS se aplicó en dosis alta, media y baja. El volumen de producto aplicado fue de 2 L (litros) para la tasa alta, 1 L para la tasa media y 500 mL (mililitros) para la tasa baja.

[00266] El ensayo se realizó en una plantación madura de arándanos. La incidencia de Botrytis blossom blight se evaluó en los dos arbustos centrales de cada parcela en la fase de desarrollo de la floración y el inicio de la caída de pétalos.

[00267] La presión del tizón de la flor de Botrytis fue alta y todos los tratamientos redujeron significativamente la incidencia de la enfermedad como se muestra en la FIG. 6. El tratamiento con una solución de BC17B en PBS redujo la enfermedad de una manera dependiente de la dosis, con la alta tasa de reducción del tizón de la flor en un 57% en comparación con el control no tratado (UTC). Un tratamiento químico estándar de la industria controló completamente la enfermedad y dio lugar a una mejora del 100% en comparación con el UTC.

[00268] A lo largo del ensayo, se controlaron los arbustos de arándanos en busca de síntomas de fitotoxicidad durante toda la temporada. No se observaron síntomas de fitotoxicidad.

[00269] Ejemplo 6: El *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B reduce la Botrytis, el Oídio y el Mildiú en las hojas de la uva en el campo.

[00270] Se evaluó la eficacia de la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* para el control de la podredumbre del racimo por Botrytis, el oídio y el mildiu en uvas de vinificación. Los controles negativos se dejaron sin tratar. Los controles positivos y los tratamientos de comparación (es decir, Los controles positivos y los tratamientos de comparación (es decir, "estándares") se trataron con Manzate® Max (fungicida que contiene Mancozeb 37%, que es un producto de coordinación de zinc, manganeso y etilenbisditiocarbamato, que se puede obtener de UPL); fungicida Pristine® (BASF), que incluye (ácido carbámico, [2-[[1-(4-clorofenil)- 1H-pirazol-3-il]oxi]metil]fenil]metoxi-, éster metílico al 12,8% y 3-piridinecacetato al 12,8%). 8% y 3-piridinocarboxamida, 2-cloro-N-(4'-cloro(1,1'-bifenil)-2-il) al 25. 2%); Sovran® 50 WG (fungicida que puede obtenerse de FMC Corporation y que contiene acetato de metilo (E)-2-metoxiimino-2-(2-o-toliloximetil)fenilo)50%); o Rovral® 4F (fungicida que puede obtenerse de FMC Corporation y que contiene 3-(3,5-diclorofenil)-N-(1-metiletil)-2,4-dioxo-1-imidazolidinocarboxamida al 41,6%).

[00271] Todos los controles positivos se trataron de la misma manera. Las 2 primeras aplicaciones fueron Manzate® Max (para oídio, 0,56 gal (galones)) se aplicó en los brotes. A estos tratamientos les siguieron Sovran® 50 WG (para mildiú, 6,4 oz (onza)), Rovral® 4F (para podredumbre de Botrytis, 1,5 pt (pinta)), combinación de Rovral® 4F 1. 5 pt y Vanguard® WG (10 oz, Vanguard® WG (que tiene un 75% de 4-ciclopropil-6-metil-N-fenil-pirimidinamina y se puede obtener de Syngenta)); y la combinación de Vanguard® WG y Pristine®; y por último, 2 aplicaciones de la combinación de Fracture® Fungicide (FMC Corporation; incluye Banda de Lupinus albus doce (20%), 24. 4 fl oz (onza líquida)), Nufilm® P (Miller Chemical & Fertilizer, LLC; incluye polímeros de pineno

(politerpenos) al 100%, petrolato, etoxilato de alquilamina; 0,125%) y Mustang® Maxx (FMC Corporation, incluye zeta-cipermetrina al 9,15% en peso; 4fl oz).a).

[00272] [A seguir]

[00273] Todos los tratamientos recibieron un programa comercial estándar de fertilización e insecticidas. Se realizaron 4 repeticiones con 3 vides por parcela en un diseño de parcelas aleatorizadas. Los tratamientos se aplicaron utilizando una barra de pulverización con 40 g/a para las 4 primeras aplicaciones, y 50 g/a para las 4 últimas, con intervalos de 7-14 días en función de las fases de crecimiento. BC17B se aplicó en dosis alta, media y baja, correspondientes a $9,08 \times 10^{13}$ UFC/acre, $4,54 \times 10^{13}$ UFC/acre y $2,27 \times 10^{13}$ UFC/acre, respectivamente.

[00274] La incidencia se calculó como el porcentaje de hojas o racimos con enfermedad, y la gravedad se calculó como el porcentaje de superficie sintomática sólo en las partes enfermas de la planta. El índice de enfermedad se calculó como incidencia por gravedad. Los datos se analizaron mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y las medias se compararon mediante la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher. Los gráficos de cajas marcados con la misma letra no son significativamente diferentes LSD $p=0,05$.

[00275] Se determinó que BC17B reduce Botrytis, Oídio y Mildiú en Hojas de Uva en el campo de una manera dependiente de la dosis (por ejemplo, como se muestra en las FIGS. 7A-10C). Los estándares de la industria se aplicaron para la mayoría de controles en las tres enfermedades. En algunos casos, como se muestra en las FIG. 8B, 8C, 9B, 9C, 10B, y 10C, las dosis más altas de BC17B alcanzaron aproximadamente las eficacias observadas para los experimentos estándar comparativos.

[00276] Ejemplo 7: *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B inhibe el mildiú en pepinos

[00277] Se evaluó la eficacia de BC17B para el control del mildiú en pepinos. Las soluciones de las cepas se prepararon sin diluir (concentración de 2×10^8 UFC/mL), diluidas al 50% v/v, y diluidas al 25% v/v. Todas las diluciones se hicieron en agua. Los fungicidas biológicos y químicos disponibles comercialmente Serenade® Opti y Mancozeb se pulverizaron a las dosis recomendadas en la etiqueta como controles. Tras la aplicación

de todos los tratamientos, las plantas se mantuvieron en el laboratorio hasta que se secaron antes de inocularlas con una suspensión de esporas de mildiú. Posteriormente, las plantas se mantuvieron en una cámara de crecimiento con humedad y temperatura controladas hasta su clasificación.

[00278] Tratamientos: Todos los tratamientos se pulverizaron con aerógrafo para garantizar una cobertura uniforme y total de las plantas.

[00279] Plantas: Se utilizaron plantas de pepino Straight Eight de dos semanas de edad (1ª fase de hoja verdadera) para el bioensayo del mildiú. Se utilizaron seis plantas (repeticiones) para cada tratamiento. Las esporas de mildiú se recogieron de material foliar muy infectado. La suspensión de esporas se diluyó a 10^5 esporas/mL en agua antes de la pulverización.

[00280] Condiciones de la cámara de crecimiento: Las bandejas de plantas inoculadas se mantuvieron en contenedores cerrados con agua en el fondo para mantener una humedad elevada. Los contenedores se mantuvieron cubiertos durante 18-24 horas para asegurar la infección. Las condiciones de la cámara se ajustaron a un ciclo de 16 horas de luz a 17°C.

[00281] Las plantas tratadas con agua alcanzaron una infección media del 100%. La FIG. 11 muestra el porcentaje de reducción de la enfermedad con respecto a los controles de agua para las distintas condiciones, con barras más altas que indican un mejor control. El BC17B mostró una eficacia dependiente de la dosis en la reducción del mildiú. No se observaron otros efectos secundarios, como fitotoxicidad o fomento del crecimiento de las plantas.

[00282] Ejemplo 8: *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B inhibe la *Monilinia fructicola* (podredumbre parda) *in vitro*

[00283] La eficacia del BC17B para el control de *Monilinia fructicola* se evaluó *in vitro* en medios de melocotón. A partir de un stock de esporas de trabajo de *Monilinia fructicola*, se hicieron diluciones seriadas para concentraciones de 1×10^7 a 1×10^5 esporas/mL. Se cortaron placas de inhibición para crecimiento radial junto con placas de control adicionales para cada concentración de esporas. Para cada concentración de esporas de

Monilinia, se sembraron 100 µL en agar y se inocularon 100 µL de cada cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* (esporas, sobrenadante o células vegetativas, como se indica en la FIG. 12) en los tapones. Las placas se incubaron a temperatura ambiente. La inhibición se evaluó midiendo las zonas de aclaramiento en el césped fúngico, en comparación con el control (sin *Bacillus amyloliquefaciens*).

[00284] Se observó que las esporas BC17B inhibían eficazmente *la Monilinia fructicola* (por ejemplo, como se muestra en la FIG. 12). El sobrenadante BC17B representa el fermentado libre de células, tras la centrifugación. En ausencia de células se observó una protección mínima.

[00285] Ejemplo 9: *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B inhibe la enfermedad de Panamá causada por *Fusarium oxysporum*

[00286] Se evaluó en estudios de invernadero la capacidad de la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* en una solución de PBS para inhibir la enfermedad de Panamá de los plátanos Cavendish. La solución de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B se preparó a 5×10^9 UFC/mL en PBS.

[00287] Las plántulas de plátano Cavendish se sacaron de las macetas y se colocaron en portamuestras que cubrían el sistema radicular, que luego se llenaron con 200 ml de cada tratamiento (solución de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B, fungicida químico Propiconazol o ningún tratamiento). Transcurridos 30 minutos, se retiraron las plantas de los portamuestras, se dejaron secar y se plantaron en 500 g de tierra para macetas previamente infestada con *Fusarium oxysporum* var. *cubense* (excepto para una condición de control negativo no infestada). Se utilizaron de 2 a 5 plántulas por condición.

[00288] Las plantas se colocaron en un invernadero con un fotoperiodo de 16 h y un rango de temperatura diurna de 79°-86°F. Se fotografiaron plantas enteras con varas de medir para evaluar su salud y altura, y se contaron y registraron las hojas de plátano sanas. Los pseudotallos se cortaron primero 3 pulgadas por encima de la línea del suelo y se fotografiaron, luego se sacaron de la maceta, se sacudieron para liberarlos del suelo, se cortaron verticalmente y se fotografiaron de nuevo para evaluar el pseudotallo/cormo

restante. Las fotografías de los pseudotallos diseccionados se analizaron utilizando un programa informático para evaluar los porcentajes de cormos infectados.

[00289] Se observó que el tratamiento con *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B superó al fungicida químico Propiconazol y redujo significativamente el desarrollo de síntomas de *Fusarium oxysporum* en los pseudotallos en comparación con el control positivo (por ejemplo, como se muestra en las FIG. 13A y FIG. 13B).

[00290] Ejemplo 10: El *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B inoculado en la raíz se vuelve endofítico y epifítico.

[00291] Las plántulas de plátano Cavendish se sacaron de las macetas y se colocaron en porta muestras que cubrían el sistema radicular, que luego se llenaron con solución de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B (10^9 UFC/mL) para inocular las raíces. Transcurridos 30 minutos, se sacaron las plantas del porta muestras, se dejaron secar y se plantaron en 500 g de tierra para macetas. Las plantas se colocaron en un invernadero con un fotoperiodo de 16 h y un rango de temperatura diurna de 79°-86°F.

[00292] Se recogieron muestras de hoja, raíz y tallo, se prepararon diluciones seriadas y se midió la presencia y abundancia de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B mediante la siembra en los medios apropiados.

[00293] La FIG. 14A muestra la abundancia relativa de BC17B detectada en hoja, raíz y tallo después de 45 días. Los controles incluyeron plantas no tratadas con BC17B. Hubo alguna detección de fondo en las plantas de control debido a cepas de *Bacillus amyloliquefaciens* distintas de BC17 que reaccionaron de forma cruzada con los cebadores para BC17B. La FIG. 14B muestra imágenes representativas de muestras recogidas y placas de agar. Estos resultados demuestran que el BC17B inoculado en la raíz se vuelve endofítico y epifítico y persiste durante al menos 45 días.

[00294] Ejemplo 11: *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B protege las plantas de arándano contra el patógeno bacteriano endófito *Xylella fastidiosa*.

[00295] Se evaluó la capacidad de la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* para proteger contra el patógeno bacteriano endófito *Xylella fastidiosa* a las plantas de arándano.

[00296] Las plantas de arándano en macetas individuales se inocularon *mediante* inyección con 5 µl de *Xylella fastidiosa* (10⁸ UFC/mL). Las plantas se trataron con 5 µl de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B (10⁸ UFC/mL, con un 0,2% en peso de tensioactivo Breakthru® (disponible en Evonik) mediante pulverización foliar, o con 5 µl de PBS.

[00297] Se utilizó un diseño de ensayo de bloques completos aleatorizados en un invernadero con una temperatura que oscilaba entre 15°C-32°C durante un máximo de 16 semanas. La respuesta del cultivo y la eficacia contra la gravedad de la infección *por Xylella* se evaluaron semanalmente después de que la incidencia de la enfermedad se hiciera evidente en los controles (8-10 semanas). La enfermedad se clasificó en función del porcentaje (%) de hojas sintomáticas y asintomáticas por planta.

[00298] Se observó que el tratamiento con BC17B mediante pulverización foliar fue muy eficaz para suprimir la progresión de la enfermedad endofítica en general y en relación con los controles, como se muestra en el gráfico de la FIG. 15, que muestra la gravedad de la enfermedad a lo largo del tiempo. Notablemente, la enfermedad no se observó en plantas tratadas con BC17B hasta aproximadamente el día 81.

[00299] Ejemplo 12: Evaluación de la protección contra la enfermedad de Pierce, causada por el patógeno bacteriano *Xylella fastidiosa*, en plantas de uva.

[00300] Se evaluó la capacidad de una solución de *Bacillus amyloliquefaciens* cepa BC17B en PBS para proteger contra el patógeno bacteriano endófito *Xylella fastidiosa* en plantas de uva. Las plantas se inocularon con *Xylella fastidiosa* y se trataron inmediatamente con una solución de PBS que incluía *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B. Las plantas fueron tratadas con la solución PBS incluyendo el *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B con 5x10¹³ CFU por equivalente a un acre. La gravedad de la enfermedad se controló semanalmente durante 20 semanas y se evaluó la capacidad del BC17B para proteger las plantas contra la enfermedad. La FIG. 16 muestra la lectura de la gravedad de la enfermedad a lo largo del tiempo.

[00301] Las plantas inoculadas con *Xylella fastidiosa* y tratadas con la solución BC17B mostraron una disminución significativa de la severidad de la enfermedad y un retraso en

su aparición en comparación con las plantas inoculadas con *Xylella fastidiosa* sola como se muestra en la FIG. 16.

[00302] Ejemplo 13: Evaluación de la protección contra la hoja quemada causada por el patógeno bacteriano *Xylella fastidiosa* en almendros.

[00303] Se evaluó la capacidad de una solución PBS de *Bacillus amyloliquefaciens* cepa BC17B para proteger contra el patógeno bacteriano endófito *Xylella fastidiosa* en almendros.

[00304] Se inyectó *Xylella fastidiosa* (Xfa) o *Xylella fastidiosa* sp. *multiplex* (Xfa mpx) en tres nudos consecutivos de la parte basal de tallos de almendros de dos años en macetas de 1 galón. La solución PBS de *Bacillus amyloliquefaciens* cepa BC17B se pulverizó sobre las plantas en combinación con o sin surfactante, o co-inoculada con *Xylella fastidiosa*. La incidencia y la gravedad de la enfermedad se controlaron, a lo largo del tiempo, mediante la evaluación de 50 hojas por planta, por tratamiento, en cada punto temporal.

[00305] La incidencia (como se muestra en FIG. 17A-17B) y severidad (como se muestra en FIG. 17C-17D) de los síntomas de Xfa o Xfa mpx fueron significativamente reducidos cuando la solución de BC17B (tx) fue aplicada por aspersión foliar. La incidencia (como se muestra en FIG. 17E-17F) y severidad (como se muestra en FIG. 17G-17H) de síntomas de Xfa o Xfa mpx fueron significativamente reducidos cuando la solución de BC17B (tx) fue inyectada.

[00306] Ejemplo 14: La cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* persiste como epífita y endofita en tallos de almendros.

[00307] Se evaluó la capacidad de la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* para persistir como epífita y endófito en almendros. La cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* en combinación con un surfactante se roció sobre almendros de dos años en plantas de maceta de 1 galón. Se recogieron muestras de tallos y hojas de las plantas tres meses después del tratamiento.

[00308] Para la evaluación de las epífitas, se pesaron los tejidos vegetales sin heridas visibles, se añadieron a PBS, se saturaron durante cinco minutos y se procesaron para la

siembra en diluciones seriadas en medios antibióticos semiselectivos (con ciclohexamida y polimixina B) y el cálculo de UFC.

[00309] Para la evaluación de los endófitos, los tejidos vegetales se lavaron en etanol al 70%, seguido de hipoclorito sódico al 8% durante 2 minutos, para matar o eliminar los organismos superficiales. Las muestras se enjuagaron con agua estéril cuatro veces. Los tejidos vegetales se trituraron en PBS y, a continuación, se procesaron para la siembra en diluciones seriadas en medios antibióticos semi-selectivos y el cálculo de UFC. También se sembró la solución de aclarado. Las placas se incubaron a 37°C durante 24 horas y se calcularon las UFC BC17.

[00310] Alrededor de 7×10^4 UFC/g de BC17B persistieron epifíticamente en el tejido del tallo del almendro (como se muestra en la FIG. 18A), y cerca de 1000 UFC/g endofíticamente en el tejido del tallo (como se muestra en la FIG. 18B). El control incluyó la falta de tratamiento con BC17B. Hubo alguna detección de fondo debido a cepas de *Bacillus amyloliquefaciens* distintas de BC17 que reaccionaron de forma cruzada con los cebadores para BC17B.

[00311] Ejemplo 15: La cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* muestra actividad nematocida en el suelo

[00312] Se evaluó la capacidad de una solución de PBS de la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* para reducir la carga de nematodos en el suelo. Se inocularon frascos de laboratorio con 500 g de suelo con un número conocido de nematodos del nudo radicular. Se aplicaron 250 mL de BC17B a 10^8 UFC/mL. Como controles, las muestras se trataron con Majestene® (nematicida biológico con células muertas por calor de la cepa A396 de *Burkholderia spp.* y medio de fermentación usado (94,46%); 8 qt/a; se puede obtener de Maronne Bio Innovations, Inc.), o Vydate® L (nematicida químico con 24% de Oxamyl [metil NN -dimetil-N-[(metil carbamoil)Oxy]-I-tiooxamimidato]; 4 pt/a; se puede obtener de DuPont).

[00313] Se recogieron muestras 6 y 13 días después de la aplicación y se sometieron a recuentos de nematodos vivos/muertos. El tratamiento con la solución BC17B dio lugar a

una reducción del número de nematodos, incluido un control superior en comparación con el tratamiento con Majestene®, como se muestra en la FIG. 19.

[00314] Ejemplo 16: La cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* muestra actividad nematocida en las raíces.

[00315] En un estudio sobre semillas y plantas de pepino se evaluó la capacidad de una solución de PBS de la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* para reducir la carga de nematodos en las raíces.

[00316] Se aplicaron 10 mL de la solución BC17B a 10^8 UFC/mL a semillas estériles de pepino. En el momento de la plantación, las macetas se infectaron con 165 nematodos del nudo radicular por 100 mL de tierra. Se aplicaron 250 mL de la solución BC17B a 10^8 UFC/mL al suelo alrededor de las plántulas a intervalos de 3 a 7 días. Las plántulas se controlaron en un estudio de 30 días en invernadero, con cinco tratamientos. Se incluyeron seis repeticiones, con cuatro macetas por repetición y dos plantas por maceta. Se puntuaron las plántulas para detectar el agallamiento de las raíces; se tiñeron las raíces para calcular la penetración y el desarrollo de los nematodos. A modo de comparación, las plantas se trataron con Majestene®, nematicida biológico con células de *Burkholderia spp.* cepa A396 muertas por calor y medio de fermentación usado (94,46%); 8 pt/a; se puede obtener de Maronne Bio Innovations, Inc.), o Vydate® L (nematicida químico con 24% de oxamilo [metil NN -dimetil-N-[(metil carbamoil)oxi]-I-tiooxamimidato]; 4 pt/a; se puede obtener de DuPont), o un control sin tratamiento.

[00317] Se determinó que el tratamiento con la solución de BC17B lograba una protección duradera de las raíces frente a los nematodos del nudo radicular, como se muestra en la FIG. 20, incluido un control superior en comparación con el tratamiento biológico con Majestene®. Como tal, se determinó que un intervalo de tratamiento de 14 días era suficiente para el control de los nematodos del nudo radicular con la solución PBS de BC17B.

[00318] Ejemplo 17: Eficacia de la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* contra el añublo del arroz, la mancha parda estrecha, la mancha parda y el tizón de la vaina.

[00319] Se evaluó la actividad de una solución de PBS que incluía la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* contra el añublo del arroz, la mancha marrón estrecha, la mancha marrón y el tizón de la vaina. La solución BC17B se aplicó mediante pulverización foliar dos veces (a intervalos de 14 días) a parcelas de 4×215 pies cuadrados (ft^2). Se aplicó 1 litro de la solución BC17B por pulverización a una tasa de $1,0 \times 10^{12}$ UFC acre^{-1} (UFC/a); a un volumen de aplicación de 53,5 galones por acre (g/a). Para comparar, las parcelas se trataron con ARMURE® (Syngenta): 300 g/L, 100 mL acre^{-1} (mL/a); o *Bacillus subtilis*: 1×10^9 UFC, 1 L acre^{-1} (UFC/[L·a]).

[00320] Los niveles de enfermedad foliar se registraron antes del momento de la primera aplicación mediante estimación visual de la superficie porcentual de hojas específicas afectadas por enfermedades individuales en 20 macollos principales de toda la zona del ensayo. La incidencia de la enfermedad se registró como el porcentaje de grupos con más de una lesión o colonia. La gravedad de la enfermedad se registró como porcentaje de superficie sintomática sólo en los racimos enfermos. El índice de enfermedad se calculó como incidencia de la enfermedad $\times$ gravedad de la enfermedad.

[00321] La solución BC17B exhibió un muy buen control del índice de la enfermedad del añublo del arroz, incluyendo un control comparable o incluso más consistente que el tratamiento químico como se muestra en la FIG. 21. La solución BC17B exhibió muy buen control del índice de enfermedad de mancha marrón estrecha, incluyendo control comparable al tratamiento químico y superior a *B. subtilis* como se muestra en la FIG. 22. La solución BC17B exhibió un muy buen control del índice de enfermedad de mancha marrón, incluyendo un control comparable al tratamiento químico y superior a *B. subtilis* como se muestra en la FIG. 23. La solución BC17B mostró un control muy bueno del índice de la enfermedad del tizón de la vaina, incluyendo un control comparable al tratamiento químico y superior a *B. subtilis*, como se muestra en la FIG. 24. La fitotoxicidad se monitorizó mediante la solución BC17B. Se controló la fitotoxicidad durante ambas temporadas y no se observó ninguna.

[00322] Ejemplo 18: Eficacia de la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* contra la enfermedad fúngica del plátano Sigatoka negra

[00323] Se realizó un experimento *in vitro* con *Mycosphaerella musicola*, combinado con el tratamiento con una solución de PBS que incluía BC17B. Los datos se muestran en las FIG. 25A-25B. Los resultados mostraron una reducción en el recuento de esporas por la solución BC17B, son indicativos de la actividad curativa por la solución BC17B en plantas con sigatoka negra.

[00324] Se realizó un ensayo adicional *in situ* en un invernadero para evaluar la actividad de una solución de PBS que incluía la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* contra la enfermedad fúngica del plátano Sigatoka negra. Se inocularon plantas de plátano en invernadero con *Mycosphaerella fijiensis*. El follaje se trató con pulverizaciones foliares de la solución BC17B-PBS, PBS, Serenade®, o Tilt® (Syngenta, 41,8% Propiconazol), en los días 0, 14 y 28. El patógeno se aplicó a 10^4 esporas/mL después de que el tratamiento del día 0 se hubiera secado. La solución de BC17B se aplicó a una concentración de 10^8 UFC/mL hasta que las hojas gotearon; los demás tratamientos se realizaron a las dosis recomendadas por los fabricantes. Todos los tratamientos incluían adyuvantes. Se vigiló la aparición de síntomas en las plantas durante 8 semanas después de la primera aplicación del tratamiento.

[00325] Los resultados del experimento *in planta* se muestran en las FIGs. 26A-26B, donde letras diferentes indican diferencias estadísticas. También se muestra el área bajo la curva para las plantas tratadas con BC17B que no estaban infectadas. En particular, los resultados muestran que la solución BC17B-PBS redujo la Sigatoka negra en una medida estadísticamente indistinguible de Tilt®, mientras que los cultivos tratados con Serenade® y los cultivos no tratados fueron estadísticamente indistinguibles.

[00326] Ejemplo 19: Evaluación de la protección contra el patógeno bacteriano *Xylella fastidiosa* en olivos

[00327] Se evaluó la capacidad de una solución de PBS que incluía la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* para proteger contra el patógeno bacteriano endófito *Xylella fastidiosa* en olivos.

[00328] Se inyectó *Xylella fastidiosa* en tres nudos consecutivos de la parte basal del tallo de olivos de dos años en macetas de 1 galón. La solución que incluía la cepa BC17B de

Bacillus amyloliquefaciens se pulverizó sobre las plantas en combinación con un agente tensioactivo. La incidencia y la gravedad de la enfermedad se controlaron durante 28 días después de la aplicación.

[00329] El tratamiento con la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* en PBS mostró niveles significativamente más bajos de gravedad de la enfermedad (por ejemplo, como se muestra en la FIG. 27A) y de incidencia (por ejemplo, como se muestra en la FIG. 27B) en comparación con un tratamiento con surfactante solo.

[00330] Ejemplo 20: *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B inhibe la enfermedad de Panamá causada por *Fusarium oxysporum* en ensayos de campo.

[00331] Se evaluó en ensayos de campo la capacidad de una solución de PBS que incluía la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* para inhibir la enfermedad de Panamá de los plátanos Cavendish. La solución de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B se preparó a 5×10^9 CFU/mL. Se aclimataron plántulas de cultivo tisular de 45 días de edad de banano Cavendish, cultivadas en un ambiente libre de enfermedades y sin contacto con FOC, hasta alcanzar al menos 15 cm de altura y no mostraron deficiencia de nutrientes.

[00332] Se sacaron las plántulas de las macetas y se retiró el sustrato de las raíces, que se cubrieron con 100 mL por planta con la solución BC17B ajustada a 5×10^8 UFC/mL; o agua, o Serenade®. A continuación, se retiraron las plantas y se dejaron secar durante 30 minutos.

[00333] Las plantas se mantuvieron en un invernadero durante 4 semanas antes de trasplantarlas al campo infestado en un diseño de bloques completos aleatorizados (DBCA). Cada tratamiento contenía 4 bloques de 10 plantas. Los tratamientos durante un año completo se realizaron de la siguiente manera:

[00334] - BC17B inmersión radicular y trasplante, con una inmersión mensual en el suelo de 50 mL de una solución de 10^8 UFC/mL de BC17B en PBS por planta.

[00335] - Inmersión de las raíces en agua y trasplante, con aplicación foliar mensual de PBS con un 0,2% de tensioactivo Breakthru®; o bien

[00336] - Inmersión de las raíces en Serenade y trasplante con una inmersión mensual en el suelo de 15 ml de Serenade® por planta.

[00337] La evaluación externa se llevó a cabo mensualmente y la interna a mitad de los seis meses, sacrificando 2 plantas por tratamiento. Las evaluaciones clasificaron cada planta en función de una puntuación de gravedad normalizada por un conjunto de imágenes de plantas infectadas.

[00338] FIG. 28A muestra las puntuaciones medias de severidad para la evaluación de los síntomas internos del marchitamiento de Panamá causado por *Fusarium oxysporum*. Letras diferentes denotan puntuaciones de severidad estadísticamente diferentes. La FIG. 28B muestra imágenes representativas de secciones transversales de plantas de banano tratadas con *Bacillus amyloliquefaciens* BC 17B (izquierda) o agua (derecha). El tratamiento con la solución de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B redujo de forma estadísticamente significativa el desarrollo de síntomas de *Fusarium oxysporum* en los pseudotallos en comparación con el control positivo.

[00339] Ejemplo 21: *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B inhibe *Penicillium digitatum* en cítricos postcosecha

[00340] La capacidad de la cepa BC17B de *Bacillus amyloliquefaciens* para inhibir *Penicillium digitatum* en cítricos postcosecha se evaluó mediante la zona de aclaramiento en medios de agar preparados a partir de extractos de mandarina. Los experimentos se realizaron en un medio estándar de laboratorio (PDA) y en dos medios basados en la mandarina, y las imágenes se tomaron 3 días después de la siembra. En particular, se observó una zona de aclaramiento sustancial con BC17B como se muestra en la FIG. 29.

[00341] Ejemplo 22: *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B inhibe la roya asiática de la soja en invernaderos

[00342] Las plantas de soja se trataron, se dejaron secar de 2 a 4 horas y, a continuación, se rociaron con una suspensión de urediniosporas (10^5 esporas / mL). Tras la inoculación, las plantas se incubaron en condiciones de alta humedad durante toda la noche y, a continuación, se colocaron en un banco de invernadero.

[00343] Los resultados se muestran en la FIG. 30, donde letras diferentes indican diferencias estadísticas. Los índices de enfermedad se midieron como porcentaje de superficie foliar cubierta por lesiones. Se utilizó una media de 10 plantas para cada tratamiento. Se observó que las soluciones que incluían BC17B reducían la roya asiática de la soja de manera comparable a la prolina, un agente de control químico común.

[00344] Ejemplo 23: *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B es estable cuando se produce en forma de spora

[00345] BC17B se preparó en forma de esporas y se almacenó en PBS a 54°C durante dos semanas. Los recuentos de UFC viables se determinaron a los 0, los 7 y los 14 días. La actividad antifúngica se evaluó en un ensayo de confrontación con *Botrytis cinerea*. La solución de esporas de BC17B no mostró pérdida de viabilidad o eficacia después de dos semanas a 54°C (por ejemplo, como se muestra en las FIGs. 31A y 31B).

[00346] Aunque se han mostrado y descrito aquí realizaciones preferidas de la presente divulgación, será obvio para los expertos en la materia que dichas realizaciones se proporcionan únicamente a modo de ejemplo. Numerosas variaciones, cambios y sustituciones se producirán ahora a los expertos en la materia sin apartarse de la divulgación. Debe entenderse que diversas alternativas a las realizaciones de la divulgación descrita en el presente documento pueden ser empleadas en la práctica de la divulgación. Se pretende que las siguientes reivindicaciones definan el alcance de la divulgación y que los métodos y estructuras dentro del alcance de estas reivindicaciones y sus equivalentes queden cubiertos por las mismas.

[00347] A lo largo de la solicitud, los números ordinales (por ejemplo, primero, segundo, tercero) pueden utilizarse como adjetivo de un elemento (es decir, cualquier sustantivo de la solicitud). El uso de números ordinales no implica ni crea un orden particular de los elementos ni limita ningún elemento a ser un único elemento, a menos que se indique expresamente, como por ejemplo mediante el uso de los términos "antes", "después", "único" y otra terminología similar. El uso de números ordinales sirve más bien para distinguir entre los elementos. A modo de ejemplo, un primer elemento es distinto de un

segundo elemento, y el primer elemento puede abarcar más de un elemento y suceder (o preceder) al segundo elemento en un orden de elementos.

[00348] Debe entenderse que las formas singulares "un", "una", "el/la" y "los/las" incluyen referentes plurales a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a "una viga horizontal" incluye la referencia a una o más de dichas vigas.

[00349] Términos como "aproximadamente" o "sustancialmente" significan que no es necesario que la característica, parámetro o valor mencionado se alcance con exactitud, sino que las desviaciones o variaciones, incluidas, por ejemplo, las tolerancias, el error de medición, las limitaciones de precisión de la medición y otros factores conocidos por los expertos en la materia, pueden producirse en cantidades que no impidan el efecto que se pretendía obtener con la característica.

[00350] Debe entenderse que uno o más de los pasos mostrados en los diagramas de flujo pueden omitirse, repetirse o realizarse en un orden diferente al mostrado. Por consiguiente, el ámbito de aplicación no debe considerarse limitado a la disposición específica de los pasos mostrados en los diagramas de flujo.

[00351] Aunque no se introducen reivindicaciones dependientes múltiples, sería evidente para un experto en la materia que el objeto de las reivindicaciones dependientes de una o más realizaciones puede combinarse con otras reivindicaciones dependientes.

[00352] Aunque sólo unas pocas realizaciones de ejemplo se han descrito en detalle anteriormente, los expertos en la materia apreciarán fácilmente que muchas modificaciones son posibles en las realizaciones de ejemplo sin apartarse materialmente de esta invención. Por ejemplo, cualquier aspecto o realización descrita en el presente documento se puede combinar con cualquier otro aspecto o realización como se describe en el presente documento. En consecuencia, todas estas modificaciones están destinadas a ser incluidas dentro del alcance de esta divulgación como se define en las siguientes reivindicaciones.