

REIVINDICACIONES

Lo que se reclama:

1. Una formulación que comprende:

Una célula de cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* BC17B (número de orden atribuido al depósito ATCC (Accession Deposit Number): PTA-127137)

2. Un método que comprende:

poner en contacto una planta, una semilla o el suelo que comprende una planta con una formulación, en la que la formulación comprende:

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 una o más moléculas sintetizadas por dicho *Bacillus amyloliquefaciens*; y una solución acuosa, en la que la formulación tiene un pH comprendido entre aproximadamente 6 y aproximadamente 11;

en el que el contacto 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, en el que uno o más organismos patógenos se seleccionan del grupo formado por un hongo, una bacteria y un nematodo.

3. El método de la reivindicación 2, que comprende además:

preparar la formulación añadiendo una cantidad de (i) el *Bacillus amyloliquefaciens*, y/o (ii) la una o más moléculas sintetizadas por el *Bacillus amyloliquefaciens*, a una cantidad de la solución acuosa.

4. El método de la reivindicación 3, en el que una unidad que forma una unidad de la cantidad de (i) el *Bacillus amyloliquefaciens*, y/o (ii) la una o más moléculas sintetizadas por el *Bacillus amyloliquefaciens* en la formulación es 1×10^5 UFC/mL o mayor.

5. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en el que uno o más organismos patógenos causan una infección dentro de la planta.

6. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en el que el uno o más organismos patógenos comprende un hongo infeccioso que pertenece a un género seleccionado del grupo que consiste en *Phakopsora*, *Magnaporthe*, *Cochliobolus*, *Sphaerulina*, *Geotrichum*, *Microsphaera*, *Blumeria*, *Podosphaera*, *Peronospora*, *Colletotrichum*, y *Pseudoperonospora*.
7. El método de la reivindicación 6, en el que el hongo infeccioso es *Phakopsora pachyrhizi*, *Magnaporthe grisea*, *Cochliobolus miyabeanus*, *Sphaerulina oryzina*, *Geotrichum spp*, *Microsphaera diffusa*, *Blumeria graminis*, *Podosphaera leucotricha*, *Peronospora manshurica*, *Peronospora effusa*, *Peronospora belbahrii*, *Colletotrichum musae*, o *Pseudoperonospora cubensis*.
8. El método de la reivindicación 6 o 7, en el que el contacto previene la enfermedad o reduce la incidencia y/o la severidad de la enfermedad de la planta, y la enfermedad en la planta se reduce en, por lo menos, un 10%, por ejemplo, en torno a 50-85% en relación con una planta de control que tenga la enfermedad y que no ha estado en contacto con *Bacillus amyloliquefaciens*.
9. El método de la reivindicación 8, en la que la enfermedad comprende 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).
10. El método de cualquiera de las reclamaciones 2 a 9, en la que uno o más organismos patógenos es una bacteria.
11. El método de la reclamación 10, en la que la bacteria pertenece al género *Xanthomonas* o *Xylella*.
12. El método de la reivindicación 10 u 11, en el que el contacto previene una enfermedad o reduce la incidencia y/o gravedad de una enfermedad de la planta, y la enfermedad se reduce en, por lo menos, 10%, por ejemplo, en torno a 50-85%, en relación a una planta de control que tenga la enfermedad y no ha tenido contacto con *Bacillus amyloliquefaciens*.

13. El método de la reclamación 12, en la que la enfermedad comprende el síndrome del declive rápido del olivo, la enfermedad de Pierce (uva), hoja quemada (almendro, café), clorosis variegada cítrico, o podredumbre negra.
14. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5, en la que el contacto mata, o reduce el crecimiento, o la reproducción de un nematodo.
15. El método de la reclamación 14, en la que el nematodo pertenece al género *Heterodera* o *Meloidogyne*.
16. El método de las reivindicaciones 14 o 15, en el que el contacto previene una enfermedad o reduce la incidencia y/o gravedad de una enfermedad de la planta, y la enfermedad en la planta se reduce en al menos un 10%, *por ejemplo*, alrededor del 50-85%, en relación con una planta de control que tiene la enfermedad y no ha sido contactada con el *Bacillus amyloliquefaciens*, en relación con una planta de control que tiene la enfermedad y no ha sido contactada con el *Bacillus amyloliquefaciens*.
17. El método de la reivindicación 16, en el que la enfermedad comprende quistes de soja o nudos radiculares.
18. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 17, en el que el contacto comprende poner en contacto una hoja, raíz, fruto, semilla, flor o tallo de la planta con el *Bacillus amyloliquefaciens*.
19. El método de la reivindicación 18, en el que el contacto comprende espolvorear, sumergir, rodar, inyectar, frotar, pulverizar o cepillar.
20. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 19, en el que el *Bacillus amyloliquefaciens* coloniza un rizoma de la planta entre cosechas.
21. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 20, en el que el *Bacillus amyloliquefaciens* comprende una espora.

22. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 21, en el que el contacto produce un endófito dentro de la planta o semilla, el endófito protege a la planta o semilla contra un patógeno.
23. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 22, que comprende además: proporcionar el *Bacillus amyloliquefaciens* en una formulación estable.
24. El método de la reivindicación 23, en el que la formulación estable comprende *Bacillus amyloliquefaciens* viable después del almacenamiento a una temperatura de hasta unos 50°C durante 14 días.
25. El método de cualquiera de la reivindicación 23 o 24, en el que la formulación estable comprende una reducción de la eficacia del *Bacillus amyloliquefaciens* no superior al 10%, tras el almacenamiento a una temperatura de hasta unos 50°C durante 14 días.
26. El método de cualquiera de las reivindicaciones 23 a 25, en el que la formulación estable comprende una reducción del número de *Bacillus amyloliquefaciens* viables no superior al 10%, tras el almacenamiento a una temperatura de hasta unos 50°C durante 14 días.
27. El método de cualquiera de las reivindicaciones 23 a 26, en el que la formulación estable está a un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 8.
28. El método de cualquiera de las reivindicaciones 23 a 27, en el que la formulación estable comprende una concentración osmótica de aproximadamente 0,1 mM, aproximadamente 1 mM, aproximadamente 10 mM, aproximadamente 100 mM o aproximadamente 1 M de soluto.
29. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 28, en el que la una o más moléculas comprenden lipopéptidos, policétidos, péptidos, dipéptidos, polipéptidos, polipéptidos cíclicos, polienos, aminoglucósidos, tensioactivos o sideróforos.
30. El método de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 29, en el que la una o más moléculas comprenden un antibiótico.

31. El método de la reivindicación 29 o 30, en el que la molécula sintetizada por el *Bacillus amyloliquefaciens* comprende un lipopéptido seleccionado del grupo que consiste en fengicina, plipastatina y surfacticina.
32. El método de la reivindicación 29 o 30, en el que la molécula sintetizada por el *Bacillus amyloliquefaciens* comprende un policétido seleccionado del grupo que consiste en macrolactina H y difficidina.
33. El método de la reivindicación 29 o 30, en el que la molécula sintetizada por el *Bacillus amyloliquefaciens* comprende un péptido seleccionado del grupo que consiste en bacilisina y rizotocina A.
34. El método de la reivindicación 29 o 30, en el que la molécula sintetizada por el *Bacillus amyloliquefaciens* comprende un aminoglucósido seleccionado del grupo que consiste en butirosina A y butirosina B.
35. El método de la reivindicación 29 o 30, en el que la molécula sintetizada por el *Bacillus amyloliquefaciens* comprende bacillibactina.
36. El método de cualquiera de las reivindicaciones 29 o 30, en el que la molécula sintetizada por el *Bacillus amyloliquefaciens* comprende surfactina.
37. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 36, en el que la una o más moléculas son secretadas por el *Bacillus amyloliquefaciens* en un líquido que comprende el *Bacillus amyloliquefaciens*, y en el que el contacto comprende poner en contacto el líquido con la planta, la semilla o el suelo que comprende la planta y/o poner en contacto una fracción aislada o purificada del líquido y que comprende la una o más moléculas con la planta, la semilla o el suelo que comprende la planta.
38. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 37 comprende, además, antes del contacto, purificar la una o más moléculas pequeñas.
39. El método de cualquiera de las reivindicaciones 2 a 38 comprende además las etapas de: recoger una cosecha de la planta, y

poner en contacto el cultivo cosechado con la formulación que comprende un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprende un ácido nucleico que comprende una secuencia que es al menos 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1.

40. 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 comprendido entre aproximadamente 6 y aproximadamente 11, y
en la que la formulación comprende *Bacillus amyloliquefaciens* viable tras su almacenamiento a una temperatura de entre 18°C y 25°C o a una temperatura de hasta 50°C durante al menos 14 días.

41. La formulación de la reivindicación 40, en la que el hongo, bacteria o nematodo comprende uno o más organismos patógenos pertenecientes a un género de Phakopsora, Magnaporthe, Cochliobolus, Sphaerulina, Geotrichum, Microsphaera, Blumeria, Podosphaera, Peronospora, Pseudoperonospora, Xanthomonas, Xylella, Heterodera, Colletotrichum o Meloidogyne.

42. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 40 o 41, en la que la formulación comprende una reducción de la eficacia del *Bacillus amyloliquefaciens* no superior al 10%, tras el almacenamiento a una temperatura de hasta unos 50°C durante 14 días .

43. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 40 a 42, en la que la formulación comprende una reducción del número de *Bacillus amyloliquefaciens* viables no superior al 10% tras el almacenamiento a una temperatura de hasta unos 50°C durante 14 días.

44. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 40 a 43, en la que la formulación tiene un pH de aproximadamente 6 a aproximadamente 8.

45. La formulación de cualquiera de las reivindicaciones 40 a 44, en la que la formulación comprende una concentración osmótica de 0,1 mM, aproximadamente 1 mM, aproximadamente 10 mM, aproximadamente 100 mM o aproximadamente 1 M de soluto.

46. Un método para tratar una enfermedad en una planta, una semilla, o el suelo que comprende una planta, el método comprende pasos de:

obtención de una planta, una semilla o un suelo que comprenda una planta que tenga una enfermedad; y

poner en contacto la planta, la semilla o el suelo que comprende la planta con una formulación que comprende:

(i) un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprenda un ácido nucleico cuya secuencia sea al menos un 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1, y/o

(ii) una o más moléculas sintetizadas por dicho *Bacillus amyloliquefaciens*;

en la que la formulación tiene un pH comprendido entre aproximadamente 6 y aproximadamente 11;

en el que el contacto 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, y responsables de la enfermedad;

siendo la enfermedad la roya asiática de la soja, el añublo del arroz, la mancha parda, la mancha parda estrecha, la podredumbre de la corona, la podredumbre agria (cítricos, postcosecha), el síndrome de declive rápido del olivo, la enfermedad de Pierce (uvas), la quemadura de la hoja (almendras, café), la clorosis variegada de los cítricos, la podredumbre negra, los quistes de la soja o los nudos de la raíz.

47. Un método para prevenir o reducir la severidad de una enfermedad en una planta, una semilla o el suelo que comprende una planta, el método comprende los pasos de:

obtención de una planta, una semilla o un suelo que comprenda una planta con riesgo de contraer una enfermedad y

poner en contacto la planta, la semilla o el suelo que comprende la planta con una formulación que comprende:

(i) un *Bacillus amyloliquefaciens* que comprenda un ácido nucleico cuya secuencia sea al menos un 99,8% idéntica a SEQ ID NO: 1, y/o

(ii) una o más moléculas sintetizadas por dicho *Bacillus amyloliquefaciens*;

en la que la formulación tiene un pH comprendido entre aproximadamente 6 y aproximadamente 11;

en el que el contacto 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, y responsables de la enfermedad;

siendo la enfermedad la roya asiática de la soja, el añublo del arroz, la mancha parda, la mancha parda estrecha, la podredumbre de la corona, la podredumbre agria (cítricos, postcosecha), el síndrome de declive rápido del olivo, la enfermedad de Pierce (uvas), el chamuscado de la hoja (almendras, café), la clorosis variegada de los cítricos, la podredumbre negra, los quistes de la soja o los nudos radiculares.

48. El método de la reivindicación 47, en el que el contacto comprende poner en contacto una hoja, raíz, fruto, semilla, flor o tallo de la planta con el *Bacillus amyloliquefaciens*.

49. El método de cualquiera de las reivindicaciones 47 o 48, en el que el *Bacillus amyloliquefaciens* comprende una espora.

50. El método de cualquiera de las reivindicaciones 47 a 49, en el que el contacto produce un endófito dentro de la planta o semilla.

51. El método de cualquiera de las reivindicaciones 47 a 50, en el que el contacto se produce antes de que uno o más organismos patógenos estén presentes sobre o dentro de la planta, la semilla o el suelo que comprende la planta.

52. El método de cualquiera de las reivindicaciones 47 a 51, en el que la una o más moléculas son secretadas por el *Bacillus amyloliquefaciens* en un líquido que comprende el *Bacillus amyloliquefaciens*, y en el que el contacto comprende poner en contacto el líquido con la planta, la semilla o el suelo que comprende la planta y/o poner en contacto una fracción aislada o purificada del líquido y que comprende la una o más moléculas con la planta, la semilla o el suelo que comprende la planta.