



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 332 484**

51 Int. Cl.:  
**C12N 15/82** (2006.01)  
**C12N 15/31** (2006.01)  
**A01N 63/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **99958773 .6**  
96 Fecha de presentación : **04.11.1999**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1124974**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.08.2001**

54 Título: **Resistencia al estrés inducida por un inductor de respuesta hipersensible.**

30 Prioridad: **05.11.1998 US 107243 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**05.02.2010**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**05.02.2010**

73 Titular/es: **Eden Bioscience Corporation**  
**11816 North Creek Parkway N.**  
**Bothell, Washington 98011-8205, US**

72 Inventor/es: **Wei, Zhong-Min y**  
**Schading, Richard, L.**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 332 484 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

**DESCRIPCIÓN**

Resistencia al estrés inducida por un inductor de respuesta hipersensible.

**5 Campo de la invención**

La presente invención se refiere a conferir a las plantas resistencia al estrés con un inductor de respuesta hipersensible.

**10 Antecedente de la invención**

Bajo condiciones naturales y de agricultura, las plantas están expuestas a diversas formas de estrés ambiental. El estrés se mide principalmente con respecto al crecimiento (es decir la acumulación de biomasa) o con respecto a los principales procedimientos de asimilación (es decir la captación de dióxido de carbono y minerales). El déficit de agua de la tierra, las temperaturas subóptimas y supraóptimas, la salinidad y la mala aireación de las tierras pueden causar algunas restricciones del crecimiento durante la estación de crecimiento, de manera que el rendimiento de las plantas al final de la estación expresa solamente una pequeña fracción de su potencial genético. De hecho, se estima que en los Estados Unidos el rendimiento de los cultivos en los campos cultivados es sólo del 22% del potencial genético. Los mismos factores fisicoquímicos pueden volverse extremos en algunos hábitats, tales como desiertos o pantanos, y solamente la vegetación especialmente adaptada puede completar su ciclo vital en las condiciones inusualmente hostiles. En los entornos menos extremos, las plantas individuales pueden aclimatarse a los cambios en el agua potencial, la temperatura, la salinidad y la carencia de oxígeno de manera que mejore su aptitud para esos entornos. Algunas especies son más capaces de adaptarse que otras, y diversos mecanismos anatómicos, estructurales y bioquímicos explican la aclimatación.

Bajo condiciones naturales y de agricultura, las plantas deben soportar constantemente el estrés. Algunos factores ambientales pueden volverse estresantes en un período de tiempo muy corto (por ejemplo, la temperatura alta o baja) o pueden tardar períodos de tiempo prolongados en provocar estrés en las plantas (por ejemplo, el contenido de agua o nutrientes minerales en la tierra). En general, el estrés ambiental que afecta a las plantas puede estar en la forma de estrés relacionado con el clima, estrés de la contaminación del aire, estrés químico y estrés nutricional. Los ejemplos de estrés relacionado con el clima incluyen la sequía, el agua, la escarcha, la temperatura baja, la temperatura alta, la luz excesiva y la luz insuficiente. El estrés de la contaminación del aire puede estar en la forma de dióxido de carbono, monóxido de carbono, dióxido de azufre, NO<sub>x</sub>, hidrocarburos, ozono, radiación ultravioleta y lluvia ácida. El estrés químico puede ser el resultado de la aplicación de insecticidas, fungicidas, herbicidas y de metales pesados. El estrés nutricional puede estar causado por los fertilizantes, los micronutrientes y los macronutrientes.

Para la mayoría de las plantas, el agua es esencial para el crecimiento. Algunas plantas son capaces de conservar algo de agua en la tierra para uso más tardío, mientras que otras completan sus ciclos vitales durante una estación húmeda antes del comienzo de cualquier sequía. Otras plantas son capaces de consumir agresivamente el agua para protegerse provocando la privación del agua para otras plantas en esa ubicación. Las plantas que carecen de cualquiera de estas capacidades quedan seriamente impedidas por la ausencia de agua.

Las lesiones por heladas aparecen en las especies sensibles a temperaturas que son demasiado bajas para el crecimiento normal pero no suficientemente bajas para formar hielo. Tales lesiones aparecen típicamente en especies de origen tropical o subtropical. Cuando tiene lugar la helada, aparece decoloración o lesiones en las hojas que les dan un aspecto empapado de agua. Si se hielan las raíces, las plantas pueden marchitarse. Por otra parte, las temperaturas de congelación y la formación asociada de cristales de hielo pueden ser letales para las plantas si los cristales de hielo se extienden en los protoplastos o permanecen durante períodos largos.

El estrés también es causado por los otros extremos de temperatura con pocas plantas capaces de resistir las temperaturas altas. Cuando las células o los tejidos de las plantas superiores se deshidratan o no están creciendo, pueden resistir temperaturas más elevadas que las células que están hidratadas, son vegetativas y están en crecimiento. Los tejidos que están creciendo activamente rara vez pueden resistir a temperaturas superiores a 45°C.

Las altas concentraciones de sal son otra forma de estrés ambiental que puede afectar a las plantas. En condiciones naturales, tales concentraciones altas de sal se encuentran cerca de la orilla del mar y en los estuarios. Más tierra adentro, la sal natural puede filtrar desde los depósitos geológicos adyacentes a las áreas agrícolas. Además, la sal puede acumularse en el agua de riego cuando el agua pura se evapora o transpira desde la tierra. Aproximadamente 1/3 de todas las tierras de labranza irrigadas están afectadas por concentraciones elevadas de sal. El alto contenido de sal no sólo daña las plantas sino que degrada la estructura de la tierra disminuyendo la porosidad y la permeabilidad del agua.

La contaminación del aire en la forma de ozono, dióxido de carbono, monóxido de carbono, dióxido de azufre, NO<sub>x</sub> e hidrocarburos pueden tener efectos adversos en el crecimiento de las plantas al crear niebla tóxica y el calentamiento ambiental.

El documento WO98/32844 se refiere a un procedimiento para mejorar el crecimiento de las plantas. Esto implica aplicar un polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible en una forma no infecciosa a una planta o



ES 2 332 484 T3

Gly Ala Ser Ser Lys Gly Leu Gly Met Ser Asn Gln Leu Gly Gln Ser  
 65 70 75 80  
 5 Phe Gly Asn Gly Ala Gln Gly Ala Ser Asn Leu Leu Ser Val Pro Lys  
 85 90 95  
 10 Ser Gly Gly Asp Ala Leu Ser Lys Met Phe Asp Lys Ala Leu Asp Asp  
 100 105 110  
 15 Leu Leu Gly His Asp Thr Val Thr Lys Leu Thr Asn Gln Ser Asn Gln  
 115 120 125  
 20 Leu Ala Asn Ser Met Leu Asn Ala Ser Gln Met Thr Gln Gly Asn Met  
 130 135 140  
 25 Asn Ala Phe Gly Ser Gly Val Asn Asn Ala Leu Ser Ser Ile Leu Gly  
 145 150 155 160  
 30 Asn Gly Leu Gly Gln Ser Met Ser Gly Phe Ser Gln Pro Ser Leu Gly  
 165 170 175  
 35 Ala Gly Gly Leu Gln Gly Leu Ser Gly Ala Gly Ala Phe Asn Gln Leu  
 180 185 190  
 40 Gly Asn Ala Ile Gly Met Gly Val Gly Gln Asn Ala Ala Leu Ser Ala  
 195 200 205  
 45 Leu Ser Asn Val Ser Thr His Val Asp Gly Asn Asn Arg His Phe Val  
 210 215 220  
 50 Asp Lys Glu Asp Arg Gly Met Ala Lys Glu Ile Gly Gln Phe Met Asp  
 225 230 235 240  
 55 Gln Tyr Pro Glu Ile Phe Gly Lys Pro Glu Tyr Gln Lys Asp Gly Trp  
 245 250 255  
 60 Ser Ser Pro Lys Thr Asp Asp Lys Ser Trp Ala Lys Ala Leu Ser Lys  
 260 265 270  
 65 Pro Asp Asp Asp Gly Met Thr Gly Ala Ser Met Asp Lys Phe Arg Gln  
 275 280 285  
 70 Ala Met Gly Met Ile Lys Ser Ala Val Ala Gly Asp Thr Gly Asn Thr  
 290 295 300  
 75 Asn Leu Asn Leu Arg Gly Ala Gly Gly Ala Ser Leu Gly Ile Asp Ala  
 305 310 315 320  
 80 Ala Val Val Gly Asp Lys Ile Ala Asn Met Ser Leu Gly Lys Leu Ala  
 325 330 335  
 85 Asn Ala

## ES 2 332 484 T3

Este polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible tiene un peso molecular de 34 kDa, es termoestable, tiene un contenido de glicina mayor del 16%, y no contiene sustancialmente cisteína. El polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible de *Erwinia chrysanthemi* está codificado por una molécula de ADN que tiene una secuencia de nucleótidos que corresponde a la SEC. ID N° 2 siguiente:

5

	CGATTTTACC CGGGTGAACG TGCTATGACC GACAGCATCA CGGTATTCGA CACCGTTACG	60
10	GCGTTTATGG CCGCGATGAA CCGGCATCAG GCGGCGCGCT GGTCCGCCA ATCCGGCGTC	120
	GATCTGGTAT TTCAGTTTGG GGACACCGGG CGTGAActCA TGATGCAGAT TCAGCCGGGG	180
	CAGCAATATC CCGGCATGTT GCGCACGCTG CTCGCTCGTC GTTATCAGCA GGCGGCAGAG	240
15	TGCGATGGCT GCCATCTGTG CCTGAACGGC AGCGATGTAT TGATCCTCTG GTGGCCGCTG	300
	CCGTCGGATC CCGGCAGTTA TCCGCAGGTG ATCGAACGTT TGTTTGAAct GGCGGGAATG	360
20	ACGTTGCCGT CGCTATCCAT AGCACCGACG GCGCGTCCGC AGACAGGGAA CGGACGCGCC	420
	CGATCATTAA GATAAAGGCG GCTTTTTTTA TTGCAAACG GTAACGGTGA GGAACCGTTT	480
25	CACCGTCGGC GTCActCAGT AACAAGTATC CATCATGATG CCTACATCGG GATCGGCGTG	540
	GGCATCCGTT GCAGATACTT TTGCGAACAC CTGACATGAA TGAGGAAACG AAATTATGCA	600
	AATTACGATC AAAGCGCACA TCGGCGGTGA TTTGGGCGTC TCCGCTCTGG GGCTGGGTGC	660
30	TCAGGGActG AAAGGActGA ATTCCGCGGC TTCATCGCTG GGTTCAGCG TGGATAAACT	720
	GAGCAGCACC ATCGATAAGT TGACCTCCGC GCTGActTCG ATGATGTTTG GCGGCGCGCT	780
35	GGCGCAGGGG CTGGGCGCCA GCTCGAAGGG GCTGGGGATG AGCAATCAAC TGGGCCAGTC	840
	TTTCGGCAAT GCGCGCAGG GTGCGAGCAA CCTGCTATCC GTACCGAAAT CCGGCGGCGA	900
40	TGCGTTGTCA AAAATGTTTG ATAAAGCGCT GGACGATCTG CTGGGTCATG ACACCGTGAC	960
	CAAGCTGAct AACCAGAGCA ACCAACTGGC TAATTCAATG CTGAACGCCA GCCAGATGAC	1020
45	CCAGGGTAAT ATGAATGCGT TCGGCGCGG TGTGAACAAC GCACTGTCTG CCATTCTCGG	1080
	CAACGGTCTC GGCCAGTCGA TGAGTGGCTT CTCTCAGCCT TCTCTGGGG CAGGCGGCTT	1140
	GCAGGGCCTG AGCGGCGCGG GTGCATTCAA CCACTGGGT AATGCCATCG GCATGGGCGT	1200
50	GGGGCAGAAT GCTGCGCTGA GTGCGTTGAG TAACGTCAGC ACCCACGTAG ACGGTAACAA	1260
	CCGCCActTT GTAGATAAAG AAGATCGCGG CATGGCGAAA GAGATCGGCC AGTTTATGGA	1320
55	TCAGTATCCG GAAATATTCG GTAAACCGGA ATACCAGAAA GATGGCTGGA GTTCGCCGAA	1380
	GACGGACGAC AAATCCTGGG CTAAAGCGCT GAGTAAACCG GATGATGACG GTATGACCGG	1440
60	CGCCAGCATG GACAAATTCC GTCAGGCGAT GGTATGATC AAAAGCGCGG TGGCGGGTGA	1500
	TACCGGCAAT ACCAACTGA ACCTGCGTGG CGCGGGCGGT GCATCGCTGG GTATCGATGC	1560
65	GGCTGTCTGTC GCGGATAAAA TAGCCAACAT GTCGCTGGGT AAGCTGGCCA ACGCCTGATA	1620

## ES 2 332 484 T3

```

ATCTGTGCTG GCCTGATAAA GCGGAAACGA AAAAAGAGAC GGGGAAGCCT GTCTCTTTTC      1680
TTATTATGCG GTTATGCGG TTACCTGGAC CGGTTAATCA TCGTCATCGA TCTGGTACAA      1740
5  ACGCACATTT TCCCGTTCAT TCGCGTCGTT ACGCGCCACA ATCGCGATGG CATCTTCCTC      1800
GTCGCTCAGA TTGCGCGGCT GATGGGGAAC GCCGGGTGGA ATATAGAGAA ACTCGCCGGC      1860
10 CAGATGGAGA CACGTCTGCG ATAAATCTGT GCCGTAACGT GTTCTATCC GCCCCTTTAG      1920
CAGATAGATT GCGGTTTCGT AATCAACATG GTAATGCGGT TCCGCCTGTG CGCCGCGCGG      1980
15 GATCACCACA ATATTCATAG AAAGCTGTCT TGCACCTACC STATCGCGGG AGATACCGAC      2040
AAAATAGGGC AGTTTTTGCG TGGTATCCGT GGGGTGTTCC GGCCTGACAA TCTTGAGTTG      2100
20 GTTCGTCATC ATCTTTCTCC ATCTGGGCGA CCTGATCGGT T      2141

```

25 El polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible de *Erwinia amylovora* tiene una secuencia de aminoácidos que corresponde a la SEC. ID N° 3 siguiente:

```

Met Ser Leu Asn Thr Ser Gly Leu Gly Ala Ser Thr Met Gln Ile Ser
1           5           10           15
30 Ile Gly Gly Ala Gly Gly Asn Asn Gly Leu Leu Gly Thr Ser Arg Gln
           20           25           30
35 Asn Ala Gly Leu Gly Gly Asn Ser Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Asn
           35           40           45
40 Gln Asn Asp Thr Val Asn Gln Leu Ala Gly Leu Leu Thr Gly Met Met
           50           55           60
45 Met Met Met Ser Met Met Gly Gly Gly Gly Leu Met Gly Gly Gly Leu
65           70           75           80
Gly Gly Gly Leu Gly Asn Gly Leu Gly Gly Ser Gly Gly Leu Gly Glu
85           90           95
50 Gly Leu Ser Asn Ala Leu Asn Asp Met Leu Gly Gly Ser Leu Asn Thr
           100          105          110
55 Leu Gly Ser Lys Gly Gly Asn Asn Thr Thr Ser Thr Thr Asn Ser Pro
           115          120          125
60 Leu Asp Gln Ala Leu Gly Ile Asn Ser Thr Ser Gln Asn Asp Asp Ser
130          135          140
65 Thr Ser Gly Thr Asp Ser Thr Ser Asp Ser Ser Asp Pro Met Gln Gln
145          150          155          160
Leu Leu Lys Met Phe Ser Glu Ile Met Gln Ser Leu Phe Gly Asp Gly
165          170          175

```

ES 2 332 484 T3

Gln Asp Gly Thr Gln Gly Ser Ser Ser Gly Gly Lys Gln Pro Thr Glu  
 180 185 190  
 5 Gly Glu Gln Asn Ala Tyr Lys Lys Gly Val Thr Asp Ala Leu Ser Gly  
 195 200 205  
 10 Leu Met Gly Asn Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly  
 210 215 220  
 Gly Gly Gln Gly Gly Asn Ala Gly Thr Gly Leu Asp Gly Ser Ser Leu  
 225 230 235 240  
 15 Gly Gly Lys Gly Leu Gln Asn Leu Ser Gly Pro Val Asp Tyr Gln Gln  
 245 250 255  
 20 Leu Gly Asn Ala Val Gly Thr Gly Ile Gly Met Lys Ala Gly Ile Gln  
 260 265 270  
 Ala Leu Asn Asp Ile Gly Thr His Arg His Ser Ser Thr Arg Ser Phe  
 275 280 285  
 25 Val Asn Lys Gly Asp Arg Ala Met Ala Lys Glu Ile Gly Gln Phe Met  
 290 295 300  
 30 Asp Gln Tyr Pro Glu Val Phe Gly Lys Pro Gln Tyr Gln Lys Gly Pro  
 305 310 315 320  
 Gly Gln Glu Val Lys Thr Asp Asp Lys Ser Trp Ala Lys Ala Leu Ser  
 325 330 335  
 35 Lys Pro Asp Asp Asp Gly Met Thr Pro Ala Ser Met Glu Gln Phe Asn  
 340 345 350  
 40 Lys Ala Lys Gly Met Ile Lys Arg Pro Met Ala Gly Asp Thr Gly Asn  
 355 360 365  
 Gly Asn Leu Gln Ala Arg Gly Ala Gly Gly Ser Ser Leu Gly Ile Asp  
 370 375 380  
 45 Ala Met Met Ala Gly Asp Ala Ile Asn Asn Met Ala Leu Gly Lys Leu  
 385 390 395 400  
 50 Gly Ala Ala

55

60

65

## ES 2 332 484 T3

Este polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible tiene un peso molecular de aproximadamente 39 kDa, tiene un pI de aproximadamente 4,3, y es termoestable a 100°C durante al menos 10 minutos. Este polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible no tiene sustancialmente cisteína. El polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible derivado de *Erwinia amylovora* se describe más detalladamente en Wei, Z.-M., R. J. Laby, C. H. Zumoff, D. W. Bauer, S.-Y. He, A. Collmer, and S. V. Beer, "Harpin, Elicitor of the Hypersensitive Response Produced by the Plant Pathogen *Erwinia amylovora*", *Science* 257: 85-88 (1992). La molécula de ADN que codifica este polipéptido o proteína tiene una secuencia de nucleótidos que corresponde a la SEC. ID N° 4 siguiente:

```

10      AAGCTTCEGC ATGGCACGTT TGACCGTTGG GTGGGCAGGG TACGTTTGAA TTATTCATAA      60
      GAGGAATACG TTATGAGTCT GAATACAAGT GGGCTGGGAG CPTCAACGAT GCAAATTTCT      120
      ATCGGCGGTE CCGGCGGAAA TAACGGGTTG CTGGGTACCA GTCCCCAGAA TGCTGGGTTG      180
15      GGTGGCAATT CTGCAC TGGG GCTGGGCGGC GGTAATCAA A TGATAACCGT CAATCAGCTG      240
      GCTGGCTTAC TCACCGGCAT GATGATGATG ATGAGCATGA TGGGCGGTGG TGGGCTGATG      300
20      GCGGGTGGCT TAGGCGGTGG CTTAGGTAAT GGCTTGGGTG GCTCAGGTGG CCTGGGCGAA      360
      GGACTGTCTGA ACGCGCTGAA CGATATGTTA GGCGGTTCGC TGAAACAGCT GGGCTCGAAA      420
25      GCGCGCAACA ATACCACTTC AACAACTAAT TCCCCGCTGG ACCAGGCGCT GGGTATTAAC      480
      TCACGTCCTC AAAACGACGA TTCCACCTCC GGCACAGATT CCACCTCAGA CTCCAGCGAC      540
      CCGATGCAGC AGCTGCTGAA GATGTTGAGC GAGATAATGC AAAGCCTGTT TGGTGATGGG      600
30      CAAGATGGCA CCCAGGGCAG TTCCTCTGGG GGCAAGCAGC CGACCGAAGG CGACCGAAGC      660
      GCCATATAAAA AAGCAGTCAC TGATGCGCTG TCGGGCCTGA TGGGTAATGG TCTGAGCCAG      720
35      CTCCTTGGCA ACGGGGGACT GGGAGGTGGT CAGGGCGGTA ATGCTGGCAC GGGTCTTGAC      780
      GGTTCGTCCG TGGGCGGCAA AGGGCTGCAA AACCTGAGCG GGCCGGTGGG CTACCAGCAG      840
40      TTAGGTAACG CCGTGGGTAC CGGTATCGGT ATGAAAGCGG GCATTTCAGGC GCTGAATGAT      900
      ATCGGTACGC ACAGGCACAG TTCAACCCGT TCTTTCGTCA ATAAAGGCGA TCGGGCGATG      960
      GCGAAGGAAA TCGGTCAGTT CATGGACCAG TATCCTGAGG TGTTTGGCAA GCCGCAGTAC      1020
45      CAGAAAGGCC CGGGTCAGGA GGTGAAAACC GATGACAAAT CATGGGCAAA AGCACTGAGC      1080
      AAGCCAGATG ACGACGGAAT GACACCAGCC AGTATGGAGC AGTTCAACAA AGCCAAGGGC      1140
50      ATGATCAAAA GGCCCATGGC GGGTGATACC GGCAACGGCA ACCTGCAGGC ACGCGGTGCC      1200
      GGTGGTTCTT CGCTGGGTAT TGATGCCATG ATGGCCGGTG ATGCCATTAA CAATATGGCA      1260
55      CTTGGCAAGC TGGGCGCGGC TTAAGCTT      1288

```

## ES 2 332 484 T3

Otro inductor de respuesta hipersensible potencialmente adecuado de *Erwinia amylovora* se da a conocer en la Solicitud de Patente de EEUU N° de serie 09/120.927. La proteína está codificada por una molécula de ADN que tiene una secuencia de ácido nucleico de la SEC. ID N° 5 siguiente:

```

5      ATGTCAATTC TTACGCTTAA CAACAATACC TCGTCCTCGC CGGGTCTGTT CCAGTCCGGG      60
      GGGGACAACG GGCTTGGTGG TCATAATGCA AATTCTGCGT TGGGGCAACA ACCCATCGAT      120
10     CGGCAAACCA TTGAGCAAAT GGCTCAATTA TTGGCGGAAC TGTTAAAGTC ACTGCTATCG      180
      CCACAATCAG GTAATGCGGC AACCGGAGCC GGTGGCAATG ACCAGACTAC AGGAGTTGGT      240
      AACGCTGGCG GCCTGAACGG ACGAAAAGGC ACAGCAGGAA CCACTCCGCA GTCTGACAGT      300
15     CAGAACATGC TGAGTGAGAT GGGCAACAAC GGGCTGGATC AGGCCATCAC GCCCGATGGC      360
      CAGGGCGGCG GGCAGATCGG CGATAATCCT TTA CTGAAAG CCATGCTGAA GCTTATTGCA      420
      CGCATGATGG ACGGCCAAAG CGATCAGTTT GGCCAACCTG GTACGGGCAA CAACAGTGCC      480
20     TCTTCCGGTA CTTCTTCATC TGGCGGTTCC CCTTTTAAAG ATCTATCAGG GGGGAAGGCC      540
      CCTTCCGGCA ACTCCCCTTC CGGCAACTAC TCTCCCGTCA GTACCTTCTC ACCCCCATCC      600
25     ACGCCAACGT CCCCTACCTC ACCGCTTGAT TTCCCTTCTT CTCCCACCAA AGCAGCCGGG      660
      GGCAGCACGC CGGTAACCGA TCATCCTGAC CCTGTTGGTA GCGCGGGCAT CGGGGCCGGA      720
      AATTCGGTGG CCTTCACCAG CGCCGGCGCT AATCAGACGG TGCTGCATGA CACCATTACC      780
30     GTGAAAGCGG GTCAGGTGTT TGATGGCAA GGACAAACCT TCACCGCCGG TTCAGAATTA      840
      GGCGATGGCG GCCAGTCTGA AAACCAGAAA CCGCTGTTTA TACTGGAAGA CGGTGCCAGC      900
35     CTGAAAAACG TCACCATGGG CGACGACGGG GCGGATGGTA TTCATCTTTA CGGTGATGCC      960
      AAAATAGACA ATCTGCACGT CACCAACGTG GGTGAGGACG CGATTACCGT TAAGCCAAAC      1020
      AGCGCGGGCA AAAAATCCCA CGTTGAAATC ACTAACAGTT CCTTCGAGCA CGCCTCTGAC      1080
40     AAGATCCTGC AGCTGAATGC CGATACTAAC CTGAGCGTTG ACAACGTGAA GGCCAAAGAC      1140
      TTTGGTACTT TTGTACGCAC TAACGGCGGT CAACAGGGTA ACTGGGATCT GAATCTGAGC      1200
      CATATCAGCG CAGAAGACGG TAAGTTCTCG TTCGTTAAAA GCGATAGCGA GGGGCTAAAC      1260
45     GTCAATACCA GTGATATCTC ACTGGGTGAT GTTGAAAACC ACTACAAAGT GCCGATGTCC      1320
      GCCAACCTGA AGGTGGCTGA ATGA      1344
50

```

Véase GenBank N° de acceso U94513. La molécula de ADN aislada de la presente invención codifica una proteína o un polipéptido inductor de respuesta hipersensible que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEC. ID N° 6 siguiente:

```

55
      Met Ser Ile Leu Thr Leu Asn Asn Asn Thr Ser Ser Ser Pro Gly Leu
      1           5           10           15
60     Phe Gln Ser Gly Gly Asp Asn Gly Leu Gly Gly His Asn Ala Asn Ser
           20           25           30
65     Ala Leu Gly Gln Gln Pro Ile Asp Arg Gln Thr Ile Glu Gln Met Ala
           35           40           45

```

ES 2 332 484 T3

Gln Leu Leu Ala Glu Leu Leu Lys Ser Leu Leu Ser Pro Gln Ser Gly  
 50 55 60  
 5 Asn Ala Ala Thr Gly Ala Gly Gly Asn Asp Gln Thr Thr Gly Val Gly  
 65 70 75 80  
 10 Asn Ala Gly Gly Leu Asn Gly Arg Lys Gly Thr Ala Gly Thr Thr Pro  
 85 90 95  
 Gln Ser Asp Ser Gln Asn Met Leu Ser Glu Met Gly Asn Asn Gly Leu  
 100 105 110  
 15 Asp Gln Ala Ile Thr Pro Asp Gly Gln Gly Gly Gln Ile Gly Asp  
 115 120 125  
 20 Asn Pro Leu Leu Lys Ala Met Leu Lys Leu Ile Ala Arg Met Met Asp  
 130 135 140  
 Gly Gln Ser Asp Gln Phe Gly Gln Pro Gly Thr Gly Asn Asn Ser Ala  
 145 150 155 160  
 25 Ser Ser Gly Thr Ser Ser Ser Gly Gly Ser Pro Phe Asn Asp Leu Ser  
 165 170 175  
 30 Gly Gly Lys Ala Pro Ser Gly Asn Ser Pro Ser Gly Asn Tyr Ser Pro  
 180 185 190  
 Val Ser Thr Phe Ser Pro Pro Ser Thr Pro Thr Ser Pro Thr Ser Pro  
 195 200 205  
 35 Leu Asp Phe Pro Ser Ser Pro Thr Lys Ala Ala Gly Gly Ser Thr Pro  
 210 215 220  
 40 Val Thr Asp His Pro Asp Pro Val Gly Ser Ala Gly Ile Gly Ala Gly  
 225 230 235 240  
 Asn Ser Val Ala Phe Thr Ser Ala Gly Ala Asn Gln Thr Val Leu His  
 245 250 255  
 45 Asp Thr Ile Thr Val Lys Ala Gly Gln Val Phe Asp Gly Lys Gly Gln  
 260 265 270  
 50 Thr Phe Thr Ala Gly Ser Glu Leu Gly Asp Gly Gly Gln Ser Glu Asn  
 275 280 285  
 Gln Lys Pro Leu Phe Ile Leu Glu Asp Gly Ala Ser Leu Lys Asn Val  
 290 295 300  
 55 Thr Met Gly Asp Asp Gly Ala Asp Gly Ile His Leu Tyr Gly Asp Ala  
 305 310 315 320  
 60 Lys Ile Asp Asn Leu His Val Thr Asn Val Gly Glu Asp Ala Ile Thr  
 325 330 335  
 Val Lys Pro Asn Ser Ala Gly Lys Lys Ser His Val Glu Ile Thr Asn  
 340 345 350

65

## ES 2 332 484 T3

	Ser	Ser	Phe	Glu	His	Ala	Ser	Asp	Lys	Ile	Leu	Gln	Leu	Asn	Ala	Asp	
			355					360					365				
5	Thr	Asn	Leu	Ser	Val	Asp	Asn	Val	Lys	Ala	Lys	Asp	Phe	Gly	Thr	Phe	
		370					375					380					
10	Val	Arg	Thr	Asn	Gly	Gly	Gln	Gln	Gly	Asn	Trp	Asp	Leu	Asn	Leu	Ser	
	385				390						395				400		
15	His	Ile	Ser	Ala	Glu	Asp	Gly	Lys	Phe	Ser	Phe	Val	Lys	Ser	Asp	Ser	
					405					410					415		
20	Glu	Gly	Leu	Asn	Val	Asn	Thr	Ser	Asp	Ile	Ser	Leu	Gly	Asp	Val	Glu	
				420					425					430			
25	Asn	His	Tyr	Lys	Val	Pro	Met	Ser	Ala	Asn	Leu	Lys	Val	Ala	Glu		
			435					440					445				

Este polipéptido o proteína es ácido, rico en glicina y serina, y carece de cisteína. También es termoestable, sensible a la proteasa, y es suprimido por inhibidores del metabolismo de la planta. La proteína o el polipéptido de la presente invención tienen un tamaño molecular predicho de ca. 4,5 kDa.

Otro inductor de respuesta hipersensible potencialmente adecuado de *Erwinia amylovora* se da a conocer en la Solicitud de Patente de EEUU N° de serie 09/120.663. La proteína está codificada por una molécula de ADN que tiene una secuencia de ácido nucleico de la SEC. ID N° 7 siguiente:

	ATGGAATTAA AATCACTGGG AACTGAACAC AAGGCGGCAG TACACACAGC GCGGCACAAC	60
	CCTGTGGGGC ATGGTGTTC CTTACAGCAG GGCAGCAGCA GCAGCAGCCC GCAAATGCC	120
35	GCTGCATCAT TGGCGGCAGA AGGCAAAAAT CGTGGGAAAA TGCCGAGAAT TCACCAGCCA	180
	TCTACTGCGG CTGATGGTAT CAGCGCTGCT CACCAGCAA ACAAATCCTT CAGTCTCAGG	240
40	GGCTGTTTGG GGACGAAAAA ATTTCCAGA TCGGCACCGC AGGCGCAGCC AGGTACCACC	300
	CACAGCAAAG GGGCAACATT GCGCGATCTG CTGGCGCGGG ACGACGGCGA AACGCAGCAT	360
45	GAGGCGGCCG CGCCAGATGC GCGCGTTTTG ACCCGTTCCG GCGGCGTCAA ACGCCGCAAT	420
	ATGGACGACA TGGCCGGGCG GCCAATGGTG AAAGGTGGCA GCGGCGAAGA TAAGGTACCA	480
50	ACGCAGCAA AACGGCATCA GCTGAACAAT TTTGGCCAGA TCGGCCAAAC GATGTTGAGC	540
	AAAATGGCTC ACCCGGCTTC AGCCAACGCC GGCATCGCC TGCAGCATTC ACCGCGCAC	600
55	ATCCCGGGTA GCCACCAGA AATCAAGGAA GAACCGGTTG GCTCCACCAG CAAGGCAACA	660
	ACGGCCCACG CAGACAGAGT GGAAATCGCT CAGGAAGATG ACGACAGCGA ATTCAGCAA	720
60	CTGCATCAAC AGCGGCTGGC GCGCGAACGG GAAAATCCAC CGCAGCCGCC CAAACTCGGC	780
	GTTGCCACAC CGATTAGCGC CAGGTTTCAG CCCAAACTGA CTGCGGTTGC GGAAAGCGTC	840

ES 2 332 484 T3

	CTTGAGGGGA CAGATACCAC GCAGTCACCC CTTAAGCCGC AATCAATGCT GAAAGGAAGT	900
	GGAGCCGGGG TAACGCCGCT GGCCGTAACG CTGGATAAAG GCAAGTTGCA GCTGGCACCG	960
5	GATAATCCAC CCGCGCTCAA TACGTTGTTG AAGCAGACAT TGGGTAAAGA CACCCAGCAC	1020
	TATCTGGCGC ACCATGCCAG CAGCGACGGT AGCCAGCATC TGCTGCTGGA CAACAAAGGC	1080
10	CACCTGTTTG ATATCAAAAG CACCGCCACC AGCTATAGCG TGCTGCACAA CAGCCACCCC	1140
	GGTGAGATAA AGGGCAAGCT GGCGCAGGCG GGTACTGGCT CCGTCAGCGT AGACGGTAAA	1200
	AGCGGCAAGA TCTCGCTGGG GAGCGGTACG CAAAGTCACA ACAAACAAT GCTAAGCCAA	1260
15	CCGGGGGAAG CGCACCGTTC CTTATTAACC GGCATTTGGC AGCATCCTGC TGCCGCAGCG	1320
	CGGCCGCAGG GCGAGTCAAT CCGCCTGCAT GACGACAAA TTCATATCCT GCATCCGGAG	1380
20	CTGGGCGTAT GGCAATCTGC GGATAAAGAT ACCCACAGCC AGCTGTCTCG CCAGGCAGAC	1440
	GGTAAGCTCT ATGCGCTGAA AGACAACCGT ACCCTGCAA ACCTCTCCGA TAATAAATCC	1500
	TCAGAAAAGC TGGTCGATAA AATCAAATCG TATTCCGTTG ATCAGCGGGG GCAGGTGGCG	1560
25	ATCCTGACGG ATACTCCCGG CCGCCATAAG ATGAGTATTA TGCCCTCGCT GGATGCTTCC	1620
	CCGGAGAGCC ATATTTCCCT CAGCCTGCAT TTTGCCGATG CCCACCAGGG GTTATTGCAC	1680
30	GGGAAGTCGG AGCTTGAGGC ACAATCTGTC GCGATCAGCC ATGGGCGACT GGTGTGGCC	1740
	GATAGCGAAG GCAAGCTGTT TAGCGCCGCC ATTCCGAAGC AAGGGGATGG AAACGAAGT	1800
	AAAATGAAAG CCATGCCTCA GCATGCGCTC GATGAACATT TTGGTCATGA CCACCAGATT	1860
35	TCTGGATTTT TCCATGACGA CCACGGCCAG CTTAATGCCG TGGTGAAAAA TAACTTCAGG	1920
	CAGCAGCATG CCTGCCCGTT GGGTAACGAT CATCAGTTTC ACCCCGGCTG GAACCTGACT	1980
40	GATGCGCTGG TTATCGACAA TCAGCTGGGG CTGCATCATA CCAATCCTGA ACCGCATGAG	2040
	ATTCTTGATA TGGGGCATTT AGGCAGCCTG GCGTTACAGG AGGGCAAGCT TCACTATTTT	2100
	GACCAGCTGA CCAAAGGGTG GACTGGCGCG GAGTCAGATT GTAAGCAGCT GAAAAAGGC	2160
45	CTGGATGGAG CAGCTTATCT ACTGAAAGAC GGTGAAGTGA AACGCCTGAA TATTAATCAG	2220
	AGCACCTCCT CTATCAAGCA CGGAACGGAA AACGTTTTTT CGCTGCCGCA TGTGCGCAAT	2280
50	AAACCGGAGC CGGGAGATGC CCTGCAAGGG CTGAATAAAG ACGATAAGGC CCAGGCCATG	2340
	GCGGTGATTG GGGTAAATAA ATACCTGGCG CTGACGGAAA AAGGGGACAT TCGCTCCTTC	2400
	CAGATAAAAC CCGCACCCA GCAGTTGGAG CGGCCGGCAC AACTCTCAG CCGCGAAGGT	2460
55	ATCAGCGGCG AACTGAAAGA CATTCATGTC GACCACAAGC AGAACCTGTA TGCCTTGACC	2520
	CACGAGGGAG AGGTGTTTCA TCAGCCGCGT GAAGCCTGGC AGAATGGTGC CGAAAGCAGC	2580
60	AGCTGGCACA AACTGGCGTT GCCACAGAGT GAAAGTAAGC TAAAAGTCT GGACATGAGC	2640
	CATGAGCACA AACCGATTGC CACCTTTGAA GACGGTAGCC AGCATCAGCT GAAGGCTGGC	2700
65	GGCTGGCACG CCTATGCGGC ACCTGAACGC GGGCCGCTGG CGGTGGGTAC CAGCGTTCA	2760

ES 2 332 484 T3

	CAAACCGTCT TTAACCGACT AATGCAGGGG GTGAAAGGCA AGGTGATCCC AGGCAGCGGG	2820
	TTGACGGTTA AGCTCTCGGC TCAGACGGGG GGAATGACCG GCGCCGAAGG GCGCAAGGTC	2880
5	AGCAGTAAAT TTTCCGAAAG GATCCGCGCC TATGCGTTCA ACCCAACAAT GTCCACGCCG	2940
	CGACCGATTA AAAATGCTGC TTATGCCACA CAGCACGGCT GGCAGGGGCG TGAGGGGTTG	3000
10	AAGCCGTTGT ACGAGATGCA GGGAGCGCTG ATTAAACAAC TGGATGCGCA TAACGTTTCGT	3060
	CATAACGCGC CACAGCCAGA TTTGCAGAGC AAAGTGGAAA CTCTGGATTT AGGCGAACAT	3120
	GGCGCAGAAT TGCTTAAACGA CATGAAGCGC TTCCGCGACG AACTGGAGCA GAGTGCAACC	3180
15	CGTTCGGTGA CCGTTTTAGG TCAACATCAG GGAGTGCTAA AAAGCAACGG TGAAATCAAT	3240
	AGCGAATTTA AGCCATCGCC CGGCAAGGCG TTGGTCCAGA GCTTTAACGT CAATCGCTCT	3300
	GGTCAGGATC TAAGCAAGTC ACTGCAACAG GCAGTACATG CCACGCCGCC ATCCGCAGAG	3360
20	AGTAAACTGC AATCCATGCT GGGGCACCTT GTCAGTGCCG GGGTGGATAT GAGTCATCAG	3420
	AAGGGCGAGA TCCCGCTGGG CCGCCAGCGC GATCCGAATG ATAAAACCGC ACTGACCAAA	3480
25	TCGCGTTTAA TTTTAGATAC CGTGACCATC GGTGAACTGC ATGAACTGGC CGATAAGGCG	3540
	AAACTGGTAT CTGACCATAA ACCCGATGCC GATCAGATAA AACAGCTGCG CCAGCAGTTC	3600
	GATACGCTGC GTGAAAAGCG GTATGAGAGC AATCCGGTGA AGCATTACAC CGATATGGGC	3660
30	TTCAACCATA ATAAGGCGCT GGAAGCAAAC TATGATGCGG TCAAAGCCTT TATCAATGCC	3720
	TTTAAGAAAG AGCACCACGG CGTCAATCTG ACCACGCGTA CCGTACTGGA ATCACAGGGC	3780
35	AGTGCGGAGC TGGCGAAGAA GCTCAAGAAAT ACGCTGTTGT CCCTGGACAG TGGTGAAAGT	3840
	ATGAGCTTCA GCCGGTCATA TGGCGGGGGC GTCAGCACTG TCTTTGTGCC TACCCTTAGC	3900
	AAGAAGGTGC CAGTTCCGGT GATCCCCGGA GCCGGCATCA CGCTGGATCG CGCCTATAAC	3960
40	CTGAGCTTCA GTCGTACCAG CGGCGGATTG AACGTCAGTT TTGGCCGCGA CGGCGGGGTG	4020
	AGTGGTAACA TCATGGTTCG TACCGCCAT GATGTGATGC CCTATATGAC CGGTAAGAAA	4080
	ACCAGTGCAG GTAACGCCAG TGAAGGTTG AGCGCAAAAC ATAAAATCAG CCCGGACTTG	4140
45	CGTATCGGCG CTGCTGTGAG TGGCACCTG CAAGGAACGC TACAAAACAG CCTGAAGTTT	4200
	AAGCTGACAG AGGATGAGCT GCCTGGCTTT ATCCATGGCT TGACGCATGG CACGTTGACC	4260
50	CCGGCAGAAC TGTTGCAAAA GGGGATCGAA CATCAGATGA AGCAGGGCAG CAACTGACG	4320
	TTTAGCGTCG ATACCTCGGC AAATCTGGAT CTGCGTGCCG GTATCAATCT GAACGAAGAC	4380
	GGCAGTAAAC CAAATGGTGT CACTGCCCGT GTTCTGCCG GGCTAAGTGC ATCGGCAAAC	4440
55	CTGGCCGCCG GCTCGCGTGA ACGCAGCACC ACCTCTGGCC AGTTTGGCAG CACGACTTCG	4500
	GCCAGCAATA ACCGCCAAC CTTCTCAAC GGGGTCGGCG CGGGTGCTAA CCTGACGGCT	4560
60	GCTTTAGGGG TTGCCCATTC ATCTACGCAT GAAGGGAAAC CGGTCCGGAT CTTCCCGGCA	4620
	TTTACCTCGA CCAATGTTTC GGCAGCGCTG GCGCTGGATA ACCGTACCTC ACAGAGTATC	4680
65	AGCCTGGAAT TGAAGCGCGC GGAGCCGGTG ACCAGCAACG ATATCAGCGA GTTGACCTCC	4740

ES 2 332 484 T3

5  
10  
15  
20  
25

```

ACGCTGGGAA AACACTTTAA GGATAGCGCC ACAACGAAGA TGCTTGCCGC TCTCAAAGAG      4800
TTAGATGACG CTAAGCCCGC TGAACAACTG CATATTTTAC AGCAGCATT T CAGTGCAAAA      4860
GATGTCGTCG GTGATGAACG CTACGAGGCG GTGCGCAACC TGAAAAAACT GGTGATACGT      4920
CAACAGGCTG CGGACAGCCA CAGCATGGAA TTAGGATCTG CCAGTCACAG CACGACCTAC      4980
AATAATCTGT CGAGAATAAA TAATGACGGC ATTGTGCGAG TGCTACACAA ACATTTTCGAT      5040
GCGGCATTAC CAGCAAGCAG TGCCAAACGT CTTGGTGAAA TGATGAATAA CGATCCGGCA      5100
CTGAAAGATA TTATTAAGCA GCTGCAAAGT ACGCCGTTCA GCAGCGCCAG CGTGTGCGATG      5160
GAGCTGAAAG ATGGTCTGCG TGAGCAGACG GAAAAAGCAA TACTGGACGG TAAGGTCGGT      5220
CGTGAAGAAG TGGGAGTACT TTTCCAGGAT CGTAACAACT TGCCTGTAA ATCGGTCAGC      5280
GTCAGTCAGT CCGTCAGCAA AAGCGAAGGC TTCAATACCC CAGCGCTGTT ACTGGGGACG      5340
AGCAACAGCG CTGCTATGAG CATGGAGCGC AACATCGGAA CCATTAATTT TAAATACGGC      5400
CAGGATCAGA ACACCCACG GCGATTTACC CTGGAGGGTG GAATAGCTCA GGCTAATCCG      5460
CAGGTCGCAT CTGCGCTTAC TGATTTGAAG AAGGAAGGGC TGGAAATGAA GAGCTAA      5517

```

30 Esta molécula de ADN se conoce como el gen dspE para *Erwinia amylovora*. Esta molécula de ADN aislada de la presente invención codifica una proteína o un polipéptido que inducen una respuesta hipersensible de un patógeno de la planta que tiene una secuencia de aminoácidos de SEC. ID N° 8 siguiente:

35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

```

Met Glu Leu Lys Ser Leu Gly Thr Glu His Lys Ala Ala Val His Thr
 1           5           10           15

Ala Ala His Asn Pro Val Gly His Gly Val Ala Leu Gln Gln Gly Ser
           20           25           30

Ser Ser Ser Ser Pro Gln Asn Ala Ala Ala Ser Leu Ala Ala Glu Gly
 35           40           45

Lys Asn Arg Gly Lys Met Pro Arg Ile His Gln Pro Ser Thr Ala Ala
 50           55           60

Asp Gly Ile Ser Ala Ala His Gln Gln Lys Lys Ser Phe Ser Leu Arg
 65           70           75           80

Gly Cys Leu Gly Thr Lys Lys Phe Ser Arg Ser Ala Pro Gln Gly Gln
           85           90           95

Pro Gly Thr Thr His Ser Lys Gly Ala Thr Leu Arg Asp Leu Leu Ala
           100          105          110

Arg Asp Asp Gly Glu Thr Gln His Glu Ala Ala Ala Pro Asp Ala Ala
           115          120          125

Arg Leu Thr Arg Ser Gly Gly Val Lys Arg Arg Asn Met Asp Asp Met
           130          135          140

```

ES 2 332 484 T3

Ala Gly Arg Pro Met Val Lys Gly Gly Ser Gly Glu Asp Lys Val Pro  
 145 150 155 160

5 Thr Gln Gln Lys Arg His Gln Leu Asn Asn Phe Gly Gln Met Arg Gln  
 165 170 175

Thr Met Leu Ser Lys Met Ala His Pro Ala Ser Ala Asn Ala Gly Asp  
 180 185 190

10 Arg Leu Gln His Ser Pro Pro His Ile Pro Gly Ser His His Glu Ile  
 195 200 205

Lys Glu Glu Pro Val Gly Ser Thr Ser Lys Ala Thr Thr Ala His Ala  
 210 215 220

15 Asp Arg Val Glu Ile Ala Gln Glu Asp Asp Asp Ser Glu Phe Gln Gln  
 225 230 235 240

20 Leu His Gln Gln Arg Leu Ala Arg Glu Arg Glu Asn Pro Pro Gln Pro  
 245 250 255

Pro Lys Leu Gly Val Ala Thr Pro Ile Ser Ala Arg Phe Gln Pro Lys  
 260 265 270

25 Leu Thr Ala Val Ala Glu Ser Val Leu Glu Gly Thr Asp Thr Thr Gln  
 275 280 285

Ser Pro Leu Lys Pro Gln Ser Met Leu Lys Gly Ser Gly Ala Gly Val  
 290 295 300

30 Thr Pro Leu Ala Val Thr Leu Asp Lys Gly Lys Leu Gln Leu Ala Pro  
 305 310 315 320

Asp Asn Pro Pro Ala Leu Asn Thr Leu Leu Lys Gln Thr Leu Gly Lys  
 325 330 335

35 Asp Thr Gln His Tyr Leu Ala His His Ala Ser Ser Asp Gly Ser Gln  
 340 345 350

40 His Leu Leu Leu Asp Asn Lys Gly His Leu Phe Asp Ile Lys Ser Thr  
 355 360 365

Ala Thr Ser Tyr Ser Val Leu His Asn Ser His Pro Gly Glu Ile Lys  
 370 375 380

45 Gly Lys Leu Ala Gln Ala Gly Thr Gly Ser Val Ser Val Asp Gly Lys  
 385 390 395 400

Ser Gly Lys Ile Ser Leu Gly Ser Gly Thr Gln Ser His Asn Lys Thr  
 405 410 415

50 Met Leu Ser Gln Pro Gly Glu Ala His Arg Ser Leu Leu Thr Gly Ile  
 420 425 430

Trp Gln His Pro Ala Gly Ala Ala Arg Pro Gln Gly Glu Ser Ile Arg  
 435 440 445

55 Leu His Asp Asp Lys Ile His Ile Leu His Pro Glu Leu Gly Val Trp  
 450 455 460

Gln Ser Ala Asp Lys Asp Thr His Ser Gln Leu Ser Arg Gln Ala Asp  
 465 470 475 480

Gly Lys Leu Tyr Ala Leu Lys Asp Asn Arg Thr Leu Gln Asn Leu Ser  
 485 490 495

65

ES 2 332 484 T3

Asp Asn Lys Ser Ser Glu Lys Leu Val Asp Lys Ile Lys Ser Tyr Ser  
 500 505 510  
 5 Val Asp Gln Arg Gly Gln Val Ala Ile Leu Thr Asp Thr Pro Gly Arg  
 515 520 525  
 His Lys Met Ser Ile Met Pro Ser Leu Asp Ala Ser Pro Glu Ser His  
 530 535 540  
 10 Ile Ser Leu Ser Leu His Phe Ala Asp Ala His Gln Gly Leu Leu His  
 545 550 555 560  
 Gly Lys Ser Glu Leu Glu Ala Gln Ser Val Ala Ile Ser His Gly Arg  
 565 570 575  
 15 Leu Val Val Ala Asp Ser Glu Gly Lys Leu Phe Ser Ala Ala Ile Pro  
 580 585 590  
 20 Lys Gln Gly Asp Gly Asn Glu Leu Lys Met Lys Ala Met Pro Gln His  
 595 600 605  
 Ala Leu Asp Glu His Phe Gly His Asp His Gln Ile Ser Gly Phe Phe  
 610 615 620  
 25 His Asp Asp His Gly Gln Leu Asn Ala Leu Val Lys Asn Asn Phe Arg  
 625 630 635 640  
 Gln Gln His Ala Cys Pro Leu Gly Asn Asp His Gln Phe His Pro Gly  
 645 650 655  
 30 Trp Asn Leu Thr Asp Ala Leu Val Ile Asp Asn Gln Leu Gly Leu His  
 660 665 670  
 His Thr Asn Pro Glu Pro His Glu Ile Leu Asp Met Gly His Leu Gly  
 675 680 685  
 35 Ser Leu Ala Leu Gln Glu Gly Lys Leu His Tyr Phe Asp Gln Leu Thr  
 690 695 700  
 40 Lys Gly Trp Thr Gly Ala Glu Ser Asp Cys Lys Gln Leu Lys Lys Gly  
 705 710 715 720  
 Leu Asp Gly Ala Ala Tyr Leu Leu Lys Asp Gly Glu Val Lys Arg Leu  
 725 730 735  
 45 Asn Ile Asn Gln Ser Thr Ser Ser Ile Lys His Gly Thr Glu Asn Val  
 740 745 750  
 Phe Ser Leu Pro His Val Arg Asn Lys Pro Glu Pro Gly Asp Ala Leu  
 755 760 765  
 50 Gln Gly Leu Asn Lys Asp Asp Lys Ala Gln Ala Met Ala Val Ile Gly  
 770 775 780  
 Val Asn Lys Tyr Leu Ala Leu Thr Glu Lys Gly Asp Ile Arg Ser Phe  
 785 790 795 800  
 Gln Ile Lys Pro Gly Thr Gln Gln Leu Glu Arg Pro Ala Gln Thr Leu  
 805 810 815  
 60 Ser Arg Glu Gly Ile Ser Gly Glu Leu Lys Asp Ile His Val Asp His  
 820 825 830  
 Lys Gln Asn Leu Tyr Ala Leu Thr His Glu Gly Glu Val Phe His Gln  
 835 840 845  
 65

ES 2 332 484 T3

Pro Arg Glu Ala Trp Gln Asn Gly Ala Glu Ser Ser Ser Trp His Lys  
 850 855 860  
 5 Leu Ala Leu Pro Gln Ser Glu Ser Lys Leu Lys Ser Leu Asp Met Ser  
 865 870 875 880  
 His Glu His Lys Pro Ile Ala Thr Phe Glu Asp Gly Ser Gln His Gln  
 885 890 895  
 10 Leu Lys Ala Gly Gly Trp His Ala Tyr Ala Ala Pro Glu Arg Gly Pro  
 900 905 910  
 Leu Ala Val Gly Thr Ser Gly Ser Gln Thr Val Phe Asn Arg Leu Met  
 915 920 925  
 15 Gln Gly Val Lys Gly Lys Val Ile Pro Gly Ser Gly Leu Thr Val Lys  
 930 935 940  
 Leu Ser Ala Gln Thr Gly Gly Met Thr Gly Ala Glu Gly Arg Lys Val  
 945 950 955 960  
 Ser Ser Lys Phe Ser Glu Arg Ile Arg Ala Tyr Ala Phe Asn Pro Thr  
 965 970 975  
 25 Met Ser Thr Pro Arg Pro Ile Lys Asn Ala Ala Tyr Ala Thr Gln His  
 980 985 990  
 Gly Trp Gln Gly Arg Glu Gly Leu Lys Pro Leu Tyr Glu Met Gln Gly  
 995 1000 1005  
 30 Ala Leu Ile Lys Gln Leu Asp Ala His Asn Val Arg His Asn Ala Pro  
 1010 1015 1020  
 Gln Pro Asp Leu Gln Ser Lys Leu Glu Thr Leu Asp Leu Gly Glu His  
 1025 1030 1035 1040  
 35 Gly Ala Glu Leu Leu Asn Asp Met Lys Arg Phe Arg Asp Glu Leu Glu  
 1045 1050 1055  
 Gln Ser Ala Thr Arg Ser Val Thr Val Leu Gly Gln His Gln Gly Val  
 1060 1065 1070  
 Leu Lys Ser Asn Gly Glu Ile Asn Ser Glu Phe Lys Pro Ser Pro Gly  
 1075 1080 1085  
 45 Lys Ala Leu Val Gln Ser Phe Asn Val Asn Arg Ser Gly Gln Asp Leu  
 1090 1095 1100  
 Ser Lys Ser Leu Gln Gln Ala Val His Ala Thr Pro Pro Ser Ala Glu  
 1105 1110 1115 1120  
 50 Ser Lys Leu Gln Ser Met Leu Gly His Phe Val Ser Ala Gly Val Asp  
 1125 1130 1135  
 Met Ser His Gln Lys Gly Glu Ile Pro Leu Gly Arg Gln Arg Asp Pro  
 1140 1145 1150  
 55 Asn Asp Lys Thr Ala Leu Thr Lys Ser Arg Leu Ile Leu Asp Thr Val  
 1155 1160 1165  
 Thr Ile Gly Glu Leu His Glu Leu Ala Asp Lys Ala Lys Leu Val Ser  
 1170 1175 1180  
 60 Asp His Lys Pro Asp Ala Asp Gln Ile Lys Gln Leu Arg Gln Gln Phe  
 1185 1190 1195 1200  
 65

ES 2 332 484 T3

Asp Thr Leu Arg Glu Lys Arg Tyr Glu Ser Asn Pro Val Lys His Tyr  
 1205 1210 1215  
 5 Thr Asp Met Gly Phe Thr His Asn Lys Ala Leu Glu Ala Asn Tyr Asp  
 1220 1225 1230  
 Ala Val Lys Ala Phe Ile Asn Ala Phe Lys Lys Glu His His Gly Val  
 1235 1240 1245  
 10 Asn Leu Thr Thr Arg Thr Val Leu Glu Ser Gln Gly Ser Ala Glu Leu  
 1250 1255 1260  
 Ala Lys Lys Leu Lys Asn Thr Leu Leu Ser Leu Asp Ser Gly Glu Ser  
 1265 1270 1275 1280  
 15 Met Ser Phe Ser Arg Ser Tyr Gly Gly Gly Val Ser Thr Val Phe Val  
 1285 1290 1295  
 20 Pro Thr Leu Ser Lys Lys Val Pro Val Pro Val Ile Pro Gly Ala Gly  
 1300 1305 1310  
 Ile Thr Leu Asp Arg Ala Tyr Asn Leu Ser Phe Ser Arg Thr Ser Gly  
 1315 1320 1325  
 25 Gly Leu Asn Val Ser Phe Gly Arg Asp Gly Gly Val Ser Gly Asn Ile  
 1330 1335 1340  
 Met Val Ala Thr Gly His Asp Val Met Pro Tyr Met Thr Gly Lys Lys  
 1345 1350 1355 1360  
 30 Thr Ser Ala Gly Asn Ala Ser Asp Trp Leu Ser Ala Lys His Lys Ile  
 1365 1370 1375  
 35 Ser Pro Asp Leu Arg Ile Gly Ala Ala Val Ser Gly Thr Leu Gln Gly  
 1380 1385 1390  
 Thr Leu Gln Asn Ser Leu Lys Phe Lys Leu Thr Glu Asp Glu Leu Pro  
 1395 1400 1405  
 40 Gly Phe Ile His Gly Leu Thr His Gly Thr Leu Thr Pro Ala Glu Leu  
 1410 1415 1420  
 Leu Gln Lys Gly Ile Glu His Gln Met Lys Gln Gly Ser Lys Leu Thr  
 1425 1430 1435 1440  
 45 Phe Ser Val Asp Thr Ser Ala Asn Leu Asp Leu Arg Ala Gly Ile Asn  
 1445 1450 1455  
 50 Leu Asn Glu Asp Gly Ser Lys Pro Asn Gly Val Thr Ala Arg Val Ser  
 1460 1465 1470  
 Ala Gly Leu Ser Ala Ser Ala Asn Leu Ala Ala Gly Ser Arg Glu Arg  
 1475 1480 1485  
 55 Ser Thr Thr Ser Gly Gln Phe Gly Ser Thr Thr Ser Ala Ser Asn Asn  
 1490 1495 1500  
 Arg Pro Thr Phe Leu Asn Gly Val Gly Ala Gly Ala Asn Leu Thr Ala  
 1505 1510 1515 1520  
 60 Ala Leu Gly Val Ala His Ser Ser Thr His Glu Gly Lys Pro Val Gly  
 1525 1530 1535  
 65

# ES 2 332 484 T3

5           Ile Phe Pro Ala Phe Thr Ser Thr Asn Val Ser Ala Ala Leu Ala Leu  
                                   1540                                   1545                                   1550

10           Asp Asn Arg Thr Ser Gln Ser Ile Ser Leu Glu Leu Lys Arg Ala Glu  
                                   1555                                   1560                                   1565

15           Pro Val Thr Ser Asn Asp Ile Ser Glu Leu Thr Ser Thr Leu Gly Lys  
                                   1570                                   1575                                   1580

20           His Phe Lys Asp Ser Ala Thr Thr Lys Met Leu Ala Ala Leu Lys Glu  
                                   1585                                   1590                                   1595                                   1600

25           Leu Asp Asp Ala Lys Pro Ala Glu Gln Leu His Ile Leu Gln Gln His  
                                   1605                                   1610                                   1615

30           Phe Ser Ala Lys Asp Val Val Gly Asp Glu Arg Tyr Glu Ala Val Arg  
                                   1620                                   1625                                   1630

35           Asn Leu Lys Lys Leu Val Ile Arg Gln Gln Ala Ala Asp Ser His Ser  
                                   1635                                   1640                                   1645

40           Met Glu Leu Gly Ser Ala Ser His Ser Thr Thr Tyr Asn Asn Leu Ser  
                                   1650                                   1655                                   1660

45           Arg Ile Asn Asn Asp Gly Ile Val Glu Leu Leu His Lys His Phe Asp  
                                   1665                                   1670                                   1675                                   1680

50           Ala Ala Leu Pro Ala Ser Ser Ala Lys Arg Leu Gly Glu Met Met Asn  
                                   1685                                   1690                                   1695

55           Asn Asp Pro Ala Leu Lys Asp Ile Ile Lys Gln Leu Gln Ser Thr Pro  
                                   1700                                   1705                                   1710

60           Phe Ser Ser Ala Ser Val Ser Met Glu Leu Lys Asp Gly Leu Arg Glu  
                                   1715                                   1720                                   1725

65           Gln Thr Glu Lys Ala Ile Leu Asp Gly Lys Val Gly Arg Glu Glu Val  
                                   1730                                   1735                                   1740

70           Gly Val Leu Phe Gln Asp Arg Asn Asn Leu Arg Val Lys Ser Val Ser  
                                   1745                                   1750                                   1755                                   1760

75           Val Ser Gln Ser Val Ser Lys Ser Glu Gly Phe Asn Thr Pro Ala Leu  
                                   1765                                   1770                                   1775

80           Leu Leu Gly Thr Ser Asn Ser Ala Ala Met Ser Met Glu Arg Asn Ile  
                                   1780                                   1785                                   1790

85           Gly Thr Ile Asn Phe Lys Tyr Gly Gln Asp Gln Asn Thr Pro Arg Arg  
                                   1795                                   1800                                   1805

90           Phe Thr Leu Glu Gly Gly Ile Ala Gln Ala Asn Pro Gln Val Ala Ser  
                                   1810                                   1815                                   1820

95           Ala Leu Thr Asp Leu Lys Lys Glu Gly Leu Glu Met Lys Ser  
                                   1825                                   1830                                   1835

60       Esta proteína o polipéptido tiene aproximadamente 198 kDa y tiene un pI de 8,98.

65

## ES 2 332 484 T3

La presente invención se refiere a una molécula de ADN aislada que tiene una secuencia de nucleótidos de la SEC. ID N° 9 siguiente:

```

5      ATGACATCGT CACAGCAGCG GGTGAAAGG TTTTACAGT ATTTCTCCGC CGGGTGTA   60
      ACGCCCATAC ATCTGAAAGA CGGGTGTGC GCCCTGTATA ACGAACAAGA TGAGGAGGCG   120
      GCGGTGCTGG AAGTACCGCA ACACAGCGAC AGCCTGTTAC TACTCTGCCG AATCATTGAG   180
10     GCTGACCCAC AAACCTCAAT AACCCGTGAT TCGATGCTAT TACAGCTGAA TTTTGAAATG   240
      GCGGCCATGC GCGGCTGTTG GCTGGCGCTG GATGAACTGC ACAACGTGCG TTTATGTTTT   300
15     CAGCAGTCGC TGGAGCATCT GGATGAAGCA AGTTTTAGCG ATATCGTTAG CGGCTTCATC   360
      GAACATGCGG CAGAAGTGCG TGAGTATATA GCGCAATTAG ACGAGAGTAG CGCGGCATAA   420
  
```

20      Ésta se conoce como el gen dspF. Esta molécula de ADN aislada de la presente invención codifica una proteína o un polipéptido que inducen la respuesta hipersensible que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEC. ID N° 10 siguiente:

```

25     Met Thr Ser Ser Gln Gln Arg Val Glu Arg Phe Leu Gln Tyr Phe Ser
      1              5              10              15
      Ala Gly Cys Lys Thr Pro Ile His Leu Lys Asp Gly Val Cys Ala Leu
      20              25              30
30     Tyr Asn Glu Gln Asp Glu Glu Ala Ala Val Leu Glu Val Pro Gln His
      35              40              45
      Ser Asp Ser Leu Leu Leu His Cys Arg Ile Ile Glu Ala Asp Pro Gln
      50              55              60
40     Thr Ser Ile Thr Leu Tyr Ser Met Leu Leu Gln Leu Asn Phe Glu Met
      65              70              75              80
      Ala Ala Met Arg Gly Cys Trp Leu Ala Leu Asp Glu Leu His Asn Val
      85              90              95
45     Arg Leu Cys Phe Gln Gln Ser Leu Glu His Leu Asp Glu Ala Ser Phe
      100             105             110
      Ser Asp Ile Val Ser Gly Phe Ile Glu His Ala Ala Glu Val Arg Glu
      115             120             125
50     Tyr Ile Ala Gln Leu Asp Glu Ser Ser Ala Ala
      130             135
  
```

Esta proteína o polipéptido tiene aproximadamente 16 kDa y tiene un pI de 4,45.

55      El polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible derivado de *Pseudomonas syringae* tiene una secuencia de aminoácidos que corresponde a la SEC. ID N° 11 siguiente:

```

60     Met Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Ser Ser Leu Gln Thr Pro Ala Met
      1              5              10              15
  
```

65

ES 2 332 484 T3

Ala Leu Val Leu Val Arg Pro Glu Ala Glu Thr Thr Gly Ser Thr Ser  
 20 25 30

5 Ser Lys Ala Leu Gln Glu Val Val Val Lys Leu Ala Glu Glu Leu Met  
 35 40 45

10 Arg Asn Gly Gln Leu Asp Asp Ser Ser Pro Leu Gly Lys Leu Leu Ala  
 50 55 60

Lys Ser Met Ala Ala Asp Gly Lys Ala Gly Gly Gly Ile Glu Asp Val  
 65 70 75 80

15 Ile Ala Ala Leu Asp Lys Leu Ile His Glu Lys Leu Gly Asp Asn Phe  
 85 90 95

20 Gly Ala Ser Ala Asp Ser Ala Ser Gly Thr Gly Gln Gln Asp Leu Met  
 100 105 110

Thr Gln Val Leu Asn Gly Leu Ala Lys Ser Met Leu Asp Asp Leu Leu  
 115 120 125

25 Thr Lys Gln Asp Gly Gly Thr Ser Phe Ser Glu Asp Asp Met Pro Met  
 130 135 140

30 Leu Asn Lys Ile Ala Gln Phe Met Asp Asp Asn Pro Ala Gln Phe Pro  
 145 150 155 160

Lys Pro Asp Ser Gly Ser Trp Val Asn Glu Leu Lys Glu Asp Asn Phe  
 165 170 175

35 Leu Asp Gly Asp Glu Thr Ala Ala Phe Arg Ser Ala Leu Asp Ile Ile  
 180 185 190

40 Gly Gln Gln Leu Gly Asn Gln Gln Ser Asp Ala Gly Ser Leu Ala Gly  
 195 200 205

Thr Gly Gly Gly Leu Gly Thr Pro Ser Ser Phe Ser Asn Asn Ser Ser  
 210 215 220

45 Val Met Gly Asp Pro Leu Ile Asp Ala Asn Thr Gly Pro Gly Asp Ser  
 225 230 235 240

50 Gly Asn Thr Arg Gly Glu Ala Gly Gln Leu Ile Gly Glu Leu Ile Asp  
 245 250 255

Arg Gly Leu Gln Ser Val Leu Ala Gly Gly Gly Leu Gly Thr Pro Val  
 260 265 270

55 Asn Thr Pro Gln Thr Gly Thr Ser Ala Asn Gly Gly Gln Ser Ala Gln  
 275 280 285

60 Asp Leu Asp Gln Leu Leu Gly Gly Leu Leu Leu Lys Gly Leu Glu Ala  
 290 295 300

Thr Leu Lys Asp Ala Gly Gln Thr Gly Thr Asp Val Gln Ser Ser Ala  
 305 310 315 320

65



## ES 2 332 484 T3

Otro inductor de la respuesta hipersensible potencialmente adecuado de *Pseudomonas syringae* se da a conocer en la Solicitud de Patente de EEUU N° de serie 09/120.817. La proteína tiene una secuencia de nucleótidos de la SEC. ID N° 13 siguiente;

5	TCCACTTCGC TGATTTTGAA ATTGGCAGAT TCATAGAAAC GTTCAGGTGT GGAAATCAGG	60
	CTCAGTGC GC AGATTTCTGT GATAAGGGTG TGGTACTGGT CATGTTGGT CATTTCAGG	120
10	CCTCTGAGTG CCGTGCGGAG CAATACCAGT CTTCCTGCTG GCGTGTGCAC ACTGAGTCCG	180
	AGGCATAGGC ATTTTCAGTTC CTTGCGTTGG TTGGGCATAT AAAAAAAGCA ACTTTTAAAA	240
	ACAGTGCAAT GAGATGCCGG CAACACGGGA ACCGGTCGCT GCGCTTTGCC ACTCACTTCG	300
15	AGCAAGCTCA ACCCCAAACA TCCACATCCC TATCGAACGG ACAGCGATAC GGCCACTTGC	360
	TCTGGTAAAC CCTGGAGCTG GCGTCGGTCC AATTGCCAC TTAGCGAGGT AACCGAGCAT	420
	GAGCATCGGC ATCACACCCC GGCCGCAACA GACCACCAG CCACTCGATT TTTCGGCGCT	480
20	AAGCGGCAAG AGTCCTCAAC CAAACACGTT CCGCGAGCAG AACACTCAGC AAGCGATCGA	540
	CCCGAGTGCA CTGTTGTTCC GCAGCGACAC ACAGAAAGAC GTCAACTTCG GCACGCCCGA	600
25	CAGCACCGTC CAGAATCCGC AGGACGCCAG CAAGCCCAAC GACAGCCAGT CCAACATCGC	660
	TAAATYGATC AGTGCAATGA TCATGTCGTT GCTGCAGATG CTCACCAACT CCAATAAAA	720
	GCAGGACACC AATCAGGAAC AGCCTGATAG CCAGGCTCCT TTCCAGAACA ACGGCGGGCT	780
30	CGGTACACCG TCGGCCGATA GCGGGGGCGG CCGTACACCG GATGCGACAG GTGGCGGGCG	840
	CGGTGATACG CCAAGCGCAA CAGGCGGTGG CCGCGGTGAT ACTCCGACCG CAACAGGCGG	900
35	TGGCGGCAGC GGTGGCGGGC GCACACCCAC TGCAACAGGT GGCGGCAGCG GTGGCACACC	960
	CACTGCAACA GCGGTGGCG AGGGTGGCGT AACACCGCAA ATCACTCCGC AGTTGECCAA	1020
	CCCTAACCGT ACCTCAGGTA CTGGCTCGGT GTCGGACACC GCAGGTTCTA CCGAGCAAGC	1080
40	CGGCAAGATC AATGTGGTGA AAGACACCAT CAAGGTCGGC GCTGGCGAAG TCTTTGACGG	1140
	CCACGGCGCA ACCTTCACTG CCGACAAATC TATGGGTAAC GGAGACCAGG GCGAAAATCA	1200
	GAAGCCCATG TTCGAGCTGG CTGAAGGCGC TACGTTGAAG AATGTGAACC TGGGTGAGAA	1260
45	CGAGGTGAT GGCATCCACG TGAAGCCAA AAACGCTCAG GAAGTCACCA TTGACAACGT	1320
	GCATGCCAG AACGTCGGTG AAGACCTGAT TACGSTCAA GCGAGGSAG GCGCAGCGGT	1380
	CACTAATCTG AACATCAAGA ACAGCAGTGC CAAAGGTGCA GACGACAAGG TTGTCCAGCT	1440
50	CAACGCCAAC ACTCACTTGA AAATCGACAA CTTCAAGGCC GACGATTTCC GCACGATGGT	1500
	TCCACCCAC GGTGGCAAGC AGTTTGATGA CATGAGCATC GAGCTGAACG GCATCGAAGC	1560
55	TAACCACGGC AAGTTCCGCC TGGTGAAAAG CGACAGTGAC GATCTGAAGC TGGCAACGGG	1620
	CAACATCGCC ATGACCGACG TCAAACACGC CTACGATAAA ACCCAGGCAT CGACCCAACA	1680
	CACCGAGCTT TGAATCCAGA CAAGTAGCTT GAAAAAAGG GGTGGACTC	1729

60

65

## ES 2 332 484 T3

Esta molécula de ADN se conoce como el gen dspE para *Pseudomonas syringae*. Esta molécula de ADN aislada de la presente invención codifica una proteína o un polipéptido que induce la respuesta hipersensible de un patógeno de la planta que tiene una secuencia de aminoácidos de la SEC. ID N° 14 siguiente:

5  
 10  
 15  
 20  
 25  
 30  
 35  
 40  
 45  
 50  
 55

```

Met Ser Ile Gly Ile Thr Pro Arg Pro Gln Gln Thr Thr Thr Pro Leu
1           5           10           15

Asp Phe Ser Ala Leu Ser Gly Lys Ser Pro Gln Pro Asn Thr Phe Gly
          20           25           30

Glu Gln Asn Thr Gln Gln Ala Ile Asp Pro Ser Ala Leu Leu Phe Gly
          35           40           45

Ser Asp Thr Gln Lys Asp Val Asn Phe Gly Thr Pro Asp Ser Thr Val
          50           55           60

Gln Asn Pro Gln Asp Ala Ser Lys Pro Asn Asp Ser Gln Ser Asn Ile
65           70           75           80

Ala Lys Leu Ile Ser Ala Leu Ile Met Ser Leu Leu Gln Met Leu Thr
          85           90           95

Asn Ser Asn Lys Lys Gln Asp Thr Asn Gln Glu Gln Pro Asp Ser Gln
          100          105          110

Ala Pro Phe Gln Asn Asn Gly Gly Leu Gly Thr Pro Ser Ala Asp Ser
115          120          125

Gly Gly Gly Gly Thr Pro Asp Ala Thr Gly Gly Gly Gly Gly Asp Thr
130          135          140

Pro Ser Ala Thr Gly Gly Gly Gly Gly Asp Thr Pro Thr Ala Thr Gly
145          150          155          160

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Pro Thr Ala Thr Gly Gly Gly
165          170          175

Ser Gly Gly Thr Pro Thr Ala Thr Gly Gly Gly Glu Gly Gly Val Thr
180          185          190

Pro Gln Ile Thr Pro Gln Leu Ala Asn Pro Asn Arg Thr Ser Gly Thr
195          200          205

Gly Ser Val Ser Asp Thr Ala Gly Ser Thr Glu Gln Ala Gly Lys Ile
210          215          220

Asn Val Val Lys Asp Thr Ile Lys Val Gly Ala Gly Glu Val Phe Asp
225          230          235          240
  
```

55

60

65

## ES 2 332 484 T3

Gly His Gly Ala Thr Phe Thr Ala Asp Lys Ser Met Gly Asn Gly Asp  
 245 250 255  
 5 Gln Gly Glu Asn Gln Lys Pro Met Phe Glu Leu Ala Glu Gly Ala Thr  
 260 265 270  
 10 Leu Lys Asn Val Asn Leu Gly Glu Asn Glu Val Asp Gly Ile His Val  
 275 280 285  
 Lys Ala Lys Asn Ala Gln Glu Val Thr Ile Asp Asn Val His Ala Gln  
 290 295 300  
 15 Asn Val Gly Glu Asp Leu Ile Thr Val Lys Gly Glu Gly Gly Ala Ala  
 305 310 315 320  
 20 Val Thr Asn Leu Asn Ile Lys Asn Ser Ser Ala Lys Gly Ala Asp Asp  
 325 330 335  
 Lys Val Val Gln Leu Asn Ala Asn Thr His Leu Lys Ile Asp Asn Phe  
 340 345 350  
 25 Lys Ala Asp Asp Phe Gly Thr Met Val Arg Thr Asn Gly Gly Lys Gln  
 355 360 365  
 30 Phe Asp Asp Met Ser Ile Glu Leu Asn Gly Ile Glu Ala Asn His Gly  
 370 375 380  
 Lys Phe Ala Leu Val Lys Ser Asp Ser Asp Asp Leu Lys Leu Ala Thr  
 385 390 395 400  
 35 Gly Asn Ile Ala Met Thr Asp Val Lys His Ala Tyr Asp Lys Thr Gln  
 405 410 415  
 40 Ala Ser Thr Gln His Thr Glu Leu  
 420

Esta proteína o polipéptido tiene aproximadamente 42,9 kDa.

El polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible derivado de *Pseudomonas solanacearum* tiene una secuencia de aminoácidos que corresponde a la SEC. ID N° 15 siguiente:

Met Ser Val Gly Asn Ile Gln Ser Pro Ser Asn Leu Pro Gly Leu Gln  
 1 5 10 15  
 Asn Leu Asn Leu Asn Thr Asn Thr Asn Ser Gln Gln Ser Gly Gln Ser  
 20 25 30  
 55 Val Gln Asp Leu Ile Lys Gln Val Glu Lys Asp Ile Leu Asn Ile Ile  
 35 40 45  
 60 Ala Ala Leu Val Gln Lys Ala Ala Gln Ser Ala Gly Gly Asn Thr Gly  
 50 55 60

65

ES 2 332 484 T3

Asn Thr Gly Asn Ala Pro Ala Lys Asp Gly Asn Ala Asn Ala Gly Ala  
 65 70 75 80  
 5 Asn Asp Pro Ser Lys Asn Asp Pro Ser Lys Ser Gln Ala Pro Gln Ser  
 85 90 95  
 10 Ala Asn Lys Thr Gly Asn Val Asp Asp Ala Asn Asn Gln Asp Pro Met  
 100 105 110  
 Gln Ala Leu Met Gln Leu Leu Glu Asp Leu Val Lys Leu Leu Lys Ala  
 115 120 125  
 15 Ala Leu His Met Gln Gln Pro Gly Gly Asn Asp Lys Gly Asn Gly Val  
 130 135 140  
 20 Gly Gly Ala Asn Gly Ala Lys Gly Ala Gly Gly Gln Gly Gly Leu Ala  
 145 150 155 160  
 Glu Ala Leu Gln Glu Ile Glu Gln Ile Leu Ala Gln Leu Gly Gly Gly  
 165 170 175  
 25 Gly Ala Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Gly Val Gly Gly Ala Gly Gly  
 180 185 190  
 30 Ala Asp Gly Gly Ser Gly Ala Gly Gly Ala Gly Gly Ala Asn Gly Ala  
 195 200 205  
 Asp Gly Gly Asn Gly Val Asn Gly Asn Gln Ala Asn Gly Pro Gln Asn  
 210 215 220  
 35 Ala Gly Asp Val Asn Gly Ala Asn Gly Ala Asp Asp Gly Ser Glu Asp  
 225 230 235 240  
 40 Gln Gly Gly Leu Thr Gly Val Leu Gln Lys Leu Met Lys Ile Leu Asn  
 245 250 255  
 Ala Leu Val Gln Met Met Gln Gln Gly Gly Leu Gly Gly Gly Asn Gln  
 260 265 270  
 45 Ala Gln Gly Gly Ser Lys Gly Ala Gly Asn Ala Ser Pro Ala Ser Gly  
 275 280 285  
 50 Ala Asn Pro Gly Ala Asn Gln Pro Gly Ser Ala Asp Asp Gln Ser Ser  
 290 295 300  
 Gly Gln Asn Asn Leu Gln Ser Gln Ile Met Asp Val Val Lys Glu Val  
 305 310 315 320  
 55 Val Gln Ile Leu Gln Gln Met Leu Ala Ala Gln Asn Gly Gly Ser Gln  
 325 330 335  
 60 Gln Ser Thr Ser Thr Gln Pro Met  
 340  
 65





Otro ejemplo de fragmentos adecuados de un inductor de respuesta hipersensible que no inducen una respuesta hipersensible son fragmentos de *Erwinia amylovora* que incluyen un fragmento del extremo C terminal de la secuencia de aminoácidos de SEC. ID N° 3, un fragmento del extremo N terminal de la secuencia de aminoácidos de SEC. ID N° 3, o un fragmento interno de la secuencia de aminoácidos de SEC. ID N° 3. El fragmento del extremo C terminal de la secuencia de aminoácidos de SEC. ID N° 3 puede abarcar los aminoácidos 105 y 403 de la SEC. ID N° 3. El fragmento del extremo N terminal de la secuencia de aminoácidos de SEC. ID N° 3 puede abarcar los siguientes aminoácidos de SEC. ID N° 3: 1 y 98, 1 y 104, 1 y 122, 1 y 168, 1 y 218, 1 y 266, 1 y 342, 1 y 321, y 1 y 372. El fragmento interno de la secuencia de aminoácidos de SEC. ID N° 3 puede abarcar los siguientes aminoácidos de SEC. ID N° 3: 76 y 209, 105 y 209, 99 y 209, 137 y 204, 137 y 200, 109 y 204, 109 y 200, 137 y 180, y 105 y 180.

Las moléculas de ADN adecuadas son las que hibridan a la molécula de ADN que comprende una secuencia de nucleótidos de SEC. ID N° 2, 4, 5, 7, 9, 12, 13 y 16 bajo condiciones rigurosas. Un ejemplo de condiciones de alta rigurosidad adecuadas es cuando la hibridación se realiza a 65°C durante 20 horas en un medio que contiene NaCl 1M, Tris-HCl 50 mM, pH 7,4, EDTA 10 mM, dodecilsulfato de sodio al 0,1%, ficoll al 0,2%, polivinilpirrolidona al 0,2%, albúmina sérica de ternera al 0,2%, ADN de *E. coli* 50 µmg/ml.

Las variantes pueden generarse, por ejemplo, por delección o adición de aminoácidos que tengan mínima influencia en las propiedades, la estructura secundaria y la naturaleza hidropática del polipéptido. Por ejemplo, un polipéptido puede conjugarse a una secuencia señal (o líder) en el extremo N terminal de la proteína que de manera cotraduccional o postraduccional dirige la transferencia de la proteína. El polipéptido puede también conjugarse a un conector o a otra secuencia para facilitar la síntesis, la purificación, o la identificación del polipéptido.

El inductor de la respuesta hipersensible de la presente invención está de preferencia en una forma aislada (es decir, separado del organismo huésped) y de más preferencia se produce en forma purificada (de preferencia al menos aproximadamente al 60%, de más preferencia al 80% de pureza) por medio de técnicas convencionales. Típicamente, el inductor de la respuesta hipersensible de la presente invención se produce pero no se secreta en el medio de cultivo de las células huésped recombinantes. Como alternativa, la proteína o el péptido de la presente invención se secreta en el medio de cultivo. En el caso de la proteína no secretada, para aislar la proteína, se propaga la célula huésped (por ejemplo, *E. coli*) que porta un plásmido recombinante, se lisa por medio de ultrasonido, calor o tratamiento químico, y el homogeneizado se centrifuga para retirar los residuos celulares. A continuación, se somete el sobrenadante a tratamiento con calor y el inductor de la respuesta hipersensible se separa por centrifugación. La fracción del sobrenadante que contiene el inductor de la respuesta hipersensible se somete a una filtración en gel en una columna de dextrano o poliacrilamida del tamaño adecuado para separar los fragmentos. Si es necesario, la fracción de proteínas puede purificarse más por intercambio iónico o por HPLC.

La molécula de ADN que codifica el polipéptido o proteína inductor de la respuesta hipersensible puede introducirse en las células usando la tecnología de ADN recombinante convencional. Generalmente, esto implica insertar la molécula de ADN en un sistema de expresión heterólogo respecto a la molécula de ADN (es decir, que normalmente no está presente). La molécula de ADN heterólogo se inserta en el vector o sistema de expresión orientada en el sentido apropiado y en el marco de lectura correcto. El vector contiene los elementos necesarios para la transcripción y la traducción de las secuencias insertadas que codifican la proteína.

La Patente de EEUU N° 4.237.224 de Cohen y Boyer describe la producción de sistemas de expresión en la forma de plásmidos recombinantes utilizando escisión con enzimas de restricción y unión con ADN ligasa. Posteriormente, estos plásmidos recombinantes se introducen por medio de una transformación y se replican en cultivos unicelulares que incluyen los organismos procariontes y las células eucariotas que crecen en cultivos de tejidos.

Los genes recombinantes también pueden introducirse en virus, tales como el virus vacunal. Los virus recombinantes pueden generarse por medio de la transfección de los plásmidos en las células infectadas con el virus.

Los vectores adecuados incluyen, pero no se limitan a, los siguientes vectores virales tales como los sistemas vectores de lambda gt11, gt WES.tB, Charon 4 y vectores plasmídicos tales como pBR322, pBR325, pACYC177, pACYC184, pUC8, pUC9, pUC18, pUC19, pLG339, pR290, pKC37, pKC101, SV 40, pBluescript II SK +/- o KS +/- (véase el catálogo de "Sistemas de clonación de Stratagene" de Stratagene, La Jolla, California), pQE, pIH821, pGEX, la serie pET (véase F. W. Studier y col., "Use of T7 RNA Polymerase to Direct Expression of Cloned Genes", Gene Expression Technology vol. 185 (1990)) y cualquiera de sus derivados. Las moléculas recombinantes pueden introducirse en las células a través de la transformación, particularmente de la transducción, conjugación, movilización o electroporación. Las secuencias de ADN se clonan en el vector usando procedimientos de clonación convencionales conocidos en la técnica, como está descrito por Sambrook y col., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Springs Laboratory, Cold Springs Harbor, Nueva York (1989).

Para expresar la(s) secuencia(s) que codifican proteína(s) puede utilizarse una diversidad de sistemas vector-huésped. En primer lugar, el sistema vector debe ser compatible con la célula huésped utilizada. Los sistemas vector-huésped incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: bacterias transformadas con ADN de bacteriófagos, ADN de plásmidos o ADN de cósmidos; microorganismos tales como levaduras que contienen vectores de levaduras; sistemas de células de mamíferos infectadas con virus (por ejemplo, virus vacunal, adenovirus, etc.); sistemas de células de insectos infectadas con virus (por ejemplo, baculovirus); y células vegetales infectadas por bacterias. Los elementos de expresión de estos vectores varían en su intensidad y su especificidad. Según el sistema vector-huésped utilizado, puede usarse uno cualquiera de una serie de elementos de transcripción y traducción adecuados.

## ES 2 332 484 T3

Diferentes acontecimientos de señales genéticas y procesamiento controlan en muchos niveles la expresión genética (por ejemplo, la transcripción del ADN y la traducción del ARN mensajero (ARNm)).

5 La transcripción del ADN es dependiente de la presencia de un promotor que es una secuencia de ADN que dirige la unión de la ARN polimerasa y, por consiguiente, promueve la síntesis del ARNm. Las secuencias de ADN de los promotores eucariotas difieren de las de los promotores procariotas. Además, los promotores eucariotas y las señales genéticas que los acompañan pueden no ser reconocidas o pueden no funcionar en un sistema procariota y, además, los promotores procariotas no son reconocidos y no funcionan en las células eucariotas.

10 De manera similar, la traducción del ARNm en los procariotas depende de la presencia de las señales procariotas adecuadas, que difieren de las de los eucariotas. La traducción eficaz del ARNm en los procariotas requiere un sitio de unión al ribosoma, denominado secuencia de Shine-Dalgarno (“SD”), en el ARNm. Esta secuencia es una secuencia de nucleótidos corta del ARNm que está localizada antes del codón de inicio, usualmente AUG, que codifica la metionina del extremo amino terminal de la proteína. Las secuencias de SD son complementarias al extremo 3’ del ARNr (ARN ribosómico) 16S y, probablemente, promueven la unión de un ARNm a los ribosomas mediante la formación de una doble cadena con el ARNr para permitir la colocación correcta del ribosoma. Para una revisión sobre la maximización de la expresión genética, véase Roberts and Lauer, *Methods in Enzymology*, 68: 473 (1979).

20 Los promotores varían por su “fuerza” (es decir, su capacidad para promover la transcripción). Para los propósitos de expresar un gen clonado, es deseable usar promotores fuertes para obtener un nivel elevado de transcripción y, por consiguiente, de expresión del gen. Según el sistema de célula huésped utilizado, puede usarse uno cualquiera de una serie de promotores adecuados. Por ejemplo, cuando se clona en *E. coli*, los promotores de sus bacteriófagos, o plásmidos, tales como el promotor del fago T7, el promotor de *lac*, el promotor de *trp*, el promotor de *recA*, el promotor del ARN ribosómico, los promotores P<sub>R</sub> y P<sub>L</sub> del colifago lambda y otros, incluidos, pero no limitados a, 25 *lacUV5*, *ompF*, *bla*, *lpp* y similares, pueden usarse para dirigir un nivel elevado de transcripción de los segmentos de ADN adyacentes. Además, puede usarse un promotor híbrido *trp-lacUV5 (tac)* u otros promotores de *E. coli* producidos por medio de ADN recombinante u otras técnicas de ADN sintético para proporcionar la transcripción del gen insertado.

30 Las cepas bacterianas de células huésped y los vectores de expresión pueden escogerse para inhibir la acción del promotor a menos que se induzca específicamente. En determinadas operaciones, es necesaria la adición de inductores específicos para la transcripción eficaz del ADN insertado. Por ejemplo, el operón *lac* se induce por la adición de lactosa o IPTG (isopropiltio-beta-D-galactósido). Una diversidad de otros operones, tales como *trp* o *pro*, etc. se encuentran bajo controles diferentes.

35 Las señales específicas de iniciación también son necesarias para la transcripción y la traducción genética eficaces en las células procariotas. Estas señales de iniciación de la transcripción y la traducción pueden variar en “fuerza” en función de la medición de la cantidad de ARN mensajero específico del gen y la cantidad de proteína sintetizada, respectivamente. El vector de expresión del ADN, que contiene un promotor, también puede contener una combinación de varias diversas señales “fuertes” de iniciación de la transcripción y/o traducción. Por ejemplo, la traducción eficaz 40 en *E. coli* requiere una secuencia de SD de aproximadamente 7-9 bases en posición 5’ del codón de iniciación (“ATG”) para proporcionar un sitio de unión al ribosoma. Por consiguiente, puede usarse cualquier combinación SD-ATG que pueda ser utilizada por los ribosomas de la célula huésped. Tales combinaciones incluyen, pero no se limitan a, la combinación SD-ATG derivada del gen *cro* o el gen *N* del colifago lambda, o derivados de los genes E, D, C, B o A del triptofano de *E. coli*. Además, puede usarse cualquier combinación SD-ATG producida por ADN recombinante u otras técnicas que implican la incorporación de nucleótidos sintéticos.

50 Una vez que se ha clonado en un sistema de expresión, la molécula de ADN aislada que codifica el polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible está lista para ser incorporada en una célula huésped. Tal incorporación puede llevarse a cabo por medio de las diversas formas de transformación indicadas anteriormente, dependiendo del sistema vector/célula huésped. Las células huésped adecuadas incluyen, pero no se limitan a, bacterias, virus, levaduras, células de mamíferos, de insectos, vegetales y similares.

55 El procedimiento de la presente invención de conferir resistencia al estrés a las plantas puede implicar la aplicación del polipéptido o proteína inductor de la respuesta hipersensible en una forma no infecciosa a toda o parte de una planta o semilla de planta bajo condiciones eficaces para que el inductor confiera resistencia al estrés. Como alternativa, la proteína o el polipéptido inductor de la respuesta hipersensible puede aplicarse a las plantas de manera tal que las semillas recuperadas de tales plantas son por sí mismas capaces de conferir resistencia al estrés en las plantas.

60 Como una alternativa para aplicar el polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible a las plantas o semillas de plantas para conferir resistencia al estrés en las plantas o plantas cultivadas a partir de la semilla, pueden utilizarse plantas o semillas de plantas transgénicas. Cuando se utilizan plantas transgénicas, esto implica proporcionar una planta transgénica transformada con una molécula de ADN que codifica un polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible y cultivar la planta bajo condiciones eficaces para permitir que la molécula de ADN confiera 65 resistencia al estrés a las plantas. Como alternativa, puede suministrarse y plantarse en la tierra una semilla de planta transgénica con una molécula de ADN que codifica un polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible. Posteriormente, se propaga una planta a partir de la semilla plantada bajo condiciones eficaces para permitir que la molécula de ADN confiera resistencia al estrés a las plantas.

La forma de realización de la presente invención en la que se aplica un polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible a la planta o semilla de planta puede llevarse a cabo en una serie de manera, que incluyen: 1) aplicación de un inductor de la respuesta hipersensible aislado o 2) aplicación de bacterias que no causan enfermedad y que están transformadas con genes que codifican el inductor. En la última forma de realización, el inductor puede aplicarse a las plantas o semillas de plantas aplicando las bacterias que contienen la molécula de ADN que codifica un polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible. Tal bacteria debe ser capaz de secretar o exportar el inductor de manera que el inductor pueda contactar las células de la planta las semillas de la planta. En estas formas de realización, el inductor es producido por las bacterias *in planta* o en las semillas o justo antes de la introducción de las bacterias a las plantas o semillas de plantas.

Los procedimientos de la presente invención pueden utilizarse para tratar una gran diversidad de plantas o sus semillas para conferir resistencia al estrés. Las plantas adecuadas incluyen monocotiledóneas y dicotiledóneas. Más particularmente, las plantas de cultivo útiles pueden incluir: alfalfa, arroz, trigo, cebada, centeno, algodón, girasol, cacahuete, maíz, patata, boniato, judía, guisante, achicoria, lechuga, endivia, col, col de Bruselas, remolacha, chirivía, coliflor, brécol, nabo, rábano, espinaca, cebolla, ajo, berenjena, pimiento, apio, zanahoria, calabacín, calabaza, calabacín zucchini, pepino, manzana, pera, melón, cítricos, fresa, uva, frambuesa, piña, soja, tabaco, tomate, sorgo y caña de azúcar. Los ejemplos de plantas ornamentales adecuadas son: *Arabidopsis thaliana*, *Saintpaulia*, petunia, pelargonio, flor de pascua, crisantemo, clavel y zinnia.

Según la presente invención, el término “estrés” se refiere a sal, temperaturas frías (por ejemplo, helada), tratamiento químico (por ejemplo, insecticidas, fungicidas, herbicidas, fertilizantes), luz excesiva, y luz insuficiente.

El procedimiento de la presente invención que implica la aplicación del polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible puede llevarse a cabo a través de una diversidad de procedimientos cuanto se trata toda o parte de la planta, incluidas las hojas, los tallos, las raíces, los propágulos (por ejemplo, esquejes), etc. Estos pueden (pero no necesariamente) implicar la infiltración del polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible en la planta. Los procedimientos de aplicación adecuados incluyen la pulverización a presión alta o baja, la inyección, y la abrasión de la hoja próxima cuando tiene lugar la aplicación del inductor. Cuando se tratan semillas de plantas o propágulos (por ejemplo, esquejes), según la forma de realización de aplicación de la presente invención, la proteína o el polipéptido que induce la respuesta hipersensible, según la presente invención, puede aplicarse por pulverización a presión baja o alta, recubrimiento, inmersión o inyección. Los expertos en la técnica pueden imaginar otros procedimientos de aplicación adecuados con la condición de que sean capaces de contactar el inductor con las células de la planta o semillas de la planta. Una vez tratadas con el inductor de la respuesta hipersensible de la presente invención, las semillas pueden plantarse en tierra natural o artificial y cultivarse usando procedimientos convencionales para producir plantas. Una vez que las plantas se hayan propagado a partir de semillas tratadas según la presente invención, las plantas pueden tratarse con una o más aplicaciones de la proteína o el polipéptido que induce la respuesta hipersensible para conferir a las plantas resistencia al estrés.

El polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible, según la presente invención, puede aplicarse a las plantas o semillas de plantas solo o en una mezcla con otros materiales. Como alternativa, el polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible puede aplicarse por separado a las plantas con otros materiales a aplicar en diferentes momentos.

Una composición adecuada para tratar plantas o semillas de plantas según la forma de realización de aplicación de la presente invención contiene un polipéptido o proteína que induce la respuesta hipersensible en un vehículo. Los vehículos adecuados incluyen agua, disoluciones acuosas, suspensiones o polvos secos. En esta forma de realización, la composición contiene más de 500 nM del inductor.

Aunque no es necesario, esta composición puede contener otros aditivos, incluidos fertilizantes, insecticidas, fungicidas, nematocidas y sus mezclas. Los fertilizantes adecuados incluyen  $(\text{NH}_4)_2\text{NO}_3$ . Un ejemplo de un insecticida adecuado es Malathion. Los fungicidas útiles incluyen el Captan.

Otros aditivos adecuados incluyen agentes tamponadores, agentes humectantes, agentes de recubrimiento y agentes abrasivos. Estos materiales pueden usarse para facilitar el proceso de la presente invención. Además, el inductor de la respuesta hipersensible puede aplicarse a las semillas de plantas con otra formulación y materiales de tratamiento convencionales, incluidos arcillas y polisacáridos.

En la forma de realización alternativa de la presente invención que implica el uso de plantas transgénicas y de semillas transgénicas, no es necesario aplicar de manera tópica un inductor de la respuesta hipersensible a las plantas o semillas. En su lugar, se producen plantas transgénicas transformadas con una molécula de ADN que codifica uno de tales inductores según los procedimientos bien conocidos en la técnica.

El vector descrito anteriormente puede microinyectarse directamente en las células vegetales por medio de micropipetas para transferir mecánicamente el ADN recombinante. Crossway, Mol. Gen. Genetics, 202: 179-185 (1985). El material genético puede también transferirse a la célula vegetal usando polietilenglicol. Krens, y col., Nature, 296: 72-74 (1982).

Otro enfoque para transformar las células vegetales con un gen es el bombardeo de partículas (también conocido como transformación biolística) de la célula huésped. Este puede realizarse en una de varias maneras. La primera implica propulsar partículas inertes o biológicamente activas en las células. Esta técnica se da a conocer en las Patentes de EEUU N° 4.945.050, 5.036.006 y 5.100.792, todas de Sanford y col.

En general, este procedimiento implica propulsar partículas inertes o biológicamente activas en las células bajo condiciones eficaces para penetrar la superficie exterior de la célula y para quedar incorporadas en el interior de las mismas. Cuando se utilizan partículas inertes, el vector puede introducirse en la célula recubriendo las partículas con el vector que contiene el ADN heterólogo. Como alternativa, la célula diana puede ser rodeada por el vector de modo que el vector es llevado dentro de la célula por la estela de la partícula. Las partículas biológicamente activas (por ejemplo, células bacterianas secadas que contienen el vector y el ADN heterólogo) también pueden propulsarse en las células vegetales.

Aún otro procedimiento de introducción es la fusión de protoplastos con otras entidades, ya sea minicélulas, células, lisosomas, u otros cuerpos con superficie de lípidos fusionables. Fraley, y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79: 1859-1863 (1982).

La molécula de ADN puede introducirse también en las células vegetales por electroporación. Fromm y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82: 5824 (1985). En esta técnica, los protoplastos de la planta se electroporan en presencia de los plásmidos que contienen la casete de expresión. Los impulsos eléctricos de intensidad de campo elevada permeabilizan de manera reversible las biomembranas permitiendo la introducción de los plásmidos. Los protoplastos de la planta electroporados reforman la pared celular, se dividen y regeneran.

Otro procedimiento para introducir la molécula de ADN en las células vegetales es infectar una célula de la planta con *Agrobacterium tumefaciens* o *A. rhizogenes* transformados previamente con el gen. Bajo condiciones adecuadas conocidas en la técnica, las células de la planta transformadas se cultivan para formar brotes o raíces, y se desarrollan más formando plantas. En general, este procedimiento implica inocular el tejido de la planta con una suspensión de bacterias e incubar el tejido durante 48 a 72 horas en medio de regeneración sin antibióticos a 25-28°C.

El *Agrobacterium* es un género representativo de la familia gram negativa Rhizobiaceae. Sus especies son responsable de la enfermedad de los tumores en el cuello (*A. tumefaciens*) y de la raíz vellosa (*A. rhizogenes*). Las células vegetales en los tumores del cuello y las raíces vellosas son inducidas a producir derivados de aminoácidos conocidos como opinas, que son catabolizados solamente por las bacterias. Los genes bacterianos responsables de la expresión de opinas son una fuente conveniente de elementos de control para las casetes de expresión quiméricas. Además, el análisis de la presencia de opinas puede usarse para identificar el tejido transformado.

La secuencia genética heteróloga puede introducirse en las células vegetales adecuadas por medio del plásmido Ti de *A. tumefaciens* o el plásmido Ri de *A. rhizogenes*. El plásmido Ti o Ri se transmite a las células de la planta en la infección por *Agrobacterium* y se integra de manera estable en el genoma de la planta. J. Schell, Science, 237: 1176-1183 (1987).

Después de la transformación, las células de la planta transformada deben regenerarse.

La regeneración de la planta a partir de protoplastos cultivados está descrita en Evans y col., Handbook of Plant Cell Cultures, Vol. 1: (MacMillan Publishing Co., Nueva York, 1983); y Vasil I. R. (ed.), Cell Culture and Somatic Genetics of Plants, Acad. Press, Orlando, Vol. 1, 1984, y Vol. III (1986).

Se sabe que prácticamente todas las plantas pueden regenerarse a partir de las células o los tejidos cultivados, incluidos pero no limitados a, todas las especies principales de caña de azúcar, remolacha azucarera, algodón, árboles frutales y legumbres.

El medio para la regeneración varía entre las especies de plantas, pero por lo general se proporciona primero una suspensión de protoplastos transformados o una placa de petri que contiene explantes transformados. Se forma el tejido del callo y los brotes pueden inducirse del callo y posteriormente formar raíces. Como alternativa, puede inducirse la formación de embriones en el tejido del callo. Estos embriones germinan como embriones naturales para formar las plantas. El medio de cultivo contiene generalmente diversos aminoácidos y hormonas, tales como auxina y citocininas. Es también ventajoso añadir ácido glutámico y prolina al medio, especialmente para las especies tales como el maíz y la alfalfa. La regeneración eficaz dependerá del medio, del genotipo y de la historia del cultivo. Si se controlan estas tres variables, entonces la regeneración es usualmente reproducible y repetible.

Una vez que la casete de expresión queda incorporada de manera estable en las plantas transgénicas, puede transferirse a otras plantas por cruzamiento sexual. Puede usarse cualquiera de una serie de técnicas de reproducción convencionales, dependiendo de las especies a cruzar.

Una vez producidas las plantas transgénicas de este, las mismas plantas pueden cultivarse de acuerdo con los procedimientos convencionales con la presencia del gen que codifica el inductor de la respuesta hipersensible dando como resultado para la planta la resistencia al estrés. Como alternativa, se recuperan las semillas transgénicas o propágulos (por ejemplo, los esquejes) de las plantas transgénicas. Las semillas pueden plantarse entonces en la tierra y cultivarse

usando los procedimientos convencionales para producir plantas transgénicas. Las plantas transgénicas se propagan a partir de las semillas transgénicas plantadas bajo condiciones eficaces para impartir resistencia al estrés a las plantas. Sin tener la intención de estar ligados a la teoría, tal resistencia al estrés puede estar mediada por el ARN o puede ser el resultado de la expresión del polipéptido o proteína inductor.

5 Cuando se usan plantas y semillas de plantas transgénicas según la presente invención, éstas pueden tratarse además con los mismos materiales que se usan para tratar las plantas y las semillas a las que se aplica un inductor de la respuesta hipersensible según la presente invención. Estos otros materiales, incluido un inductor de la respuesta hipersensible según la presente invención, pueden aplicarse a las plantas transgénicas y a las semillas de plantas por medio de los procedimientos indicados anteriormente, incluidos la vaporización a presión alta o baja, la inyección, el recubrimiento y la inmersión. De manera similar, después de que las plantas se hayan propagado a partir de las semillas de la planta transgénica, las plantas pueden tratarse con una o más aplicaciones del inductor de la respuesta hipersensible según la presente invención para conferir resistencia al estrés. Tales plantas pueden también tratarse con agentes convencionales de tratamiento de plantas (por ejemplo, insecticidas, fertilizantes, etc.).

## 15 Ejemplos

### Ejemplo 1

20 *El algodón tratado con inductor de respuesta hipersensible es más resistente al daño causado por el estrés por insecticidas*

Los áfidos (*Aphids gossypii*) infectan el algodón durante toda la estación de crecimiento. El daño de la infección por los áfidos varía desde el depósito de melaza que contamina la pelusa y reduce el valor del cultivo hasta el deshoje que reduce o destruye los cultivos. Para proteger las plantas de la infección por áfidos, el algodón se pulveriza por lo general con insecticidas, por ejemplo Asana XL cuando la presión de la infección no es muy alta, y Admire cuando la presión de la infestación es alta. El efecto de un inductor de respuesta hipersensible sobre los áfidos en el algodón se estudió por medio de un ensayo que incluía un diseño de bloque completo aleatorizado. Éste implicaba el tratamiento con el inductor de respuesta hipersensible de *Erwinia amylovora* (es decir, HP-1000™) a 20, 60 y 80 ppm y un insecticida químico, Asana XL, a 561 g/ha (8 oz./ac). Cada tratamiento incluía la aplicación foliar comenzando en el cotiledón hasta tres hojas verdaderas y a partir de entonces en intervalos de 14 días usando un pulverizador de mochila. Se realizaron los recuentos de áfidos y el crecimiento global del algodón inmediatamente antes de la aplicación de la pulverización a los 14, 28, 35 y 42 días después del primer tratamiento ("DAT 1"). Se recogieron veinticinco hojas seleccionadas aleatoriamente por parcela en las primeras tres fechas de muestreo y las hojas por parcela en la fecha final de muestreo.

### Resultados

1. Control de áfidos: El número de áfidos en el algodón tratado con inductor de respuesta hipersensible se redujo significativamente con respecto al algodón tratado químicamente (véase Tabla 1).

TABLA 1

Recuento de áfidos por hoja en el algodón tras el tratamiento con Asana XL® o HP-1000™

Tratamiento	Tasa <sup>2</sup>	Número de áfidos por hoja <sup>1</sup>			
		Nº de pulverizaciones aplicadas/días tras el tratamiento			
		1/14DAT1	2/28DAT2	3/35DAT1	4/42DAT1
Asana XL®	561 g/ha 8 oz/ac	0,2 a	32,2 a	110,0 a	546,9 a
HP-1000™	20 µg/ml	0,2 a	7,8 b	22,9 b	322,1 a
HP-1000™	60 µg/ml	0,1 a	4,9 b	34,6 b	168,3 a
HP-1000™	80 µg/ml	0,0 a	2,7 b	25,8 b	510,2 a

<sup>1</sup> Seguido por diferentes letras significa que son significativamente distintos según MRT de Duncan, P = 0,05. <sup>2</sup>La tasa para Asana XL® es para el producto formulado, la tasa para HP-1000™ es para el componente activo (c.a.).

## ES 2 332 484 T3

A los 14 días tras DAT 1, los recuentos de áfidos fueron relativamente bajos a través de todos los tratamientos, pero a los 28 días tras DAT 1 (momento en el que se habían aplicado dos pulverizaciones), el número de áfidos por hoja fue significativamente mayor en las plantas tratadas con Asana XL comparado con los algodones tratados con inductor de respuesta hipersensible. A los 35 días tras DAT 1 (momento en el que se habían aplicado tres pulverizaciones), los recuentos de áfidos habían subido para todos los tratamientos, con todo, los recuentos de áfidos por hoja todavía eran significativamente más bajos para el algodón tratado con inductor de respuesta hipersensible comparado con el tratamiento con Asana XL. Finalmente, a los 42 días tras DAT 1 (momento en el que se habían aplicado cuatro pulverizaciones), el número de áfidos por hoja había aumentado hasta un nivel que amenazaba vencer a las plantas incluso cuando se trataban con el insecticida químico convencional. Para salvar el ensayo, se aplicó otro producto químico, Pravado (Admire), a todas las parcelas para erradicar los áfidos del campo.

2. El algodón tratado con inductor de respuesta hipersensible fue más resistente al daño causado por Pravado (Admire) y Asana. Después de la segunda pulverización química, se observó que las plantas de algodón sufrían estrés por los insecticidas. Las plantas de algodón tratadas previamente con Asana y las de control no tratadas quedaron deshojadas. En la mayoría de las plantas de algodón tratadas con producto químico, no había hojas, o había muy pocas hojas, en la parte más baja de las plantas. Sin embargo, las plantas tratadas con el inductor de respuesta hipersensible, especialmente en la parcela donde el inductor de respuesta hipersensible se aplicó a 80 ppm, no tenían deshoje y las plantas de algodón eran vigorosas y sanas. Por el recuento del número de bolas maduras, se mostró claramente que las plantas tratadas con el inductor de respuesta hipersensible (a 80 ppm) tenían más grupos de bolas que las tratadas con producto químico y las de control sin tratar (Tabla 2), indicando que las plantas tratadas con el inductor de respuesta hipersensible eran más tolerantes al estrés provocado por el insecticida.

TABLA 2

*Número de bolas de algodón formadas contadas en diez plantas en cada una de cuatro repeticiones por tratamiento*

Tratamiento	Nº de bolas/10 plantas/repeticion
Control no tratado	28
Químico convencional	6
Inductor de respuesta hipersensible	35

### Ejemplo 2

*Los pepinos tratados con inductor de respuesta hipersensible son más resistentes a la sequía (sólo ejemplo comparativo)*

Se creó un ensayo de campo de pepinos para probar el efecto del inductor de respuesta hipersensible de *Erwinia amylovora* en el control de la enfermedad, la tolerancia al estrés por la sequía y el rendimiento. Se probaron tres diferentes tasas, a 15, 30 y 60 µg/ml. Además del tratamiento con el inductor de respuesta hipersensible, había un control sin tratamiento. Cada tratamiento contenía tres parcelas por duplicado. Al brotar la primera hoja verdadera, se pulverizó el inductor de respuesta hipersensible con un pulverizador de mochila. La segunda pulverización se aplicó diez días después de la primera pulverización. La tercera aplicación fue justo después de la recuperación de las plántulas de pepino después del trasplante en el campo. El tratamiento individual se asignó aleatoriamente en el campo.

Cuando brotó la primera hoja verdadera (Día 0), se pulverizó una primera aplicación. Usualmente, las plántulas del pepino se trasplantan cuando las plántulas muestran dos hojas verdaderas. Se ha sabido que la tasa de recuperación después del trasplante está estrechamente relacionada con los tamaños de las plántulas. Debido a la sequía, las plántulas se mantuvieron en el vivero durante diez días más y la segunda pulverización se aplicó en el Día 10. Dos días después de la segunda pulverización, las plantas se trasplantaron en los campos y se cubrieron con láminas de plástico. Las plantas tenían 4-5 hojas verdaderas.

### Resultado

La tasa de recuperación de las plántulas de pepino trasplantadas fue más alta para las plantas tratadas con el inductor de respuesta hipersensible que para el control sin tratar. Más del 80% de las plántulas de pepino tratadas con el inductor de respuesta hipersensible sobrevivieron, mientras que sólo sobrevivió el 57% de las plantas no tratadas.

A lo largo de la estación de crecimiento hubo un serio problema de sequía. Las visitas tempranas a los campos indicaron que las plantas tratadas con el inductor de respuesta hipersensible tenían más masa de raíces y mejor crecimiento global. El pepino tratado con el inductor de respuesta hipersensible comenzó a florecer 14 días antes que el pepino de control no tratado. La floración temprana dio como resultado una cosecha más temprana. En la primera

## ES 2 332 484 T3

cosecha, se recogieron más de 0,4 kilogramos de frutos de pepino por planta de los pepinos tratados con el inductor de respuesta hipersensible; sin embargo, virtualmente no se recogieron frutos de los controles no tratados. Al final de la estación, las plantas no tratadas murieron por la sequía grave, pero las plantas tratadas con el inductor de respuesta hipersensible aún estaban vivas y tuvieron una cosecha más.

El rendimiento final fue significativamente diferente entre las plantas tratadas con el inductor de respuesta hipersensible y las plantas sin tratar. El inductor de respuesta hipersensible administrado en una tasa de 30 ppm produjo un rendimiento tres veces mayor que las plantas de control (Tabla 3).

TABLA 3

*Aumento del rendimiento de fruto del pepino a partir de plantas tratadas con el inductor de respuesta hipersensible*

Tratamiento	Repetición	kg/planta	Rendimiento/ Repetición	% de aumento del rendimiento
HP 15	I	1,25	37,5	
	II	1,00	30,0	103,8
	III	1,21	36,3	241
HP 30	I	1,54	46,2	
	II	1,43	42,9	133,2
	III	1,47	44,1	339
Control	I	0,43	12,9	
	II	0,41	12,3	39,3
	III	0,47	14,1	

El mayor rendimiento se atribuyó parcialmente a la mejora del crecimiento inducida por el inductor de respuesta hipersensible y resultó parcialmente de una mayor tolerancia del pepino tratado con el inductor de respuesta hipersensible a la sequía, porque usualmente el aumento del rendimiento por la mejora del crecimiento inducida por el inductor de respuesta hipersensible es de entre 10 y 40%.

### Ejemplo 3

*El pimiento tratado con inductor de respuesta hipersensible es más tolerante al estrés por herbicidas*

Las plántulas de pimiento se empaparon con inductor de respuesta hipersensible a 20 ppm siete días antes del trasplante, se pulverizaron siete días después del trasplante, y a continuación, se pulverizaron cada catorce días. Se usaron los productos químicos convencionales, Brave, Maneb, Kocide y Admire, para el resto del tratamiento. Además de la mejora temprana del crecimiento, que dio como resultado un rendimiento más alto, un fruto más grande, y resistencia a varias enfermedades, el pimiento tratado con inductor de respuesta hipersensible fue más tolerante al daño por herbicidas. El campo de pimientos recibió la aplicación del herbicida SENCOR que no está etiquetado para el pimiento. Se sabe que este herbicida provoca daño foliar grave al pimiento en plantas tratadas con productos químicos pero no con las plantas tratadas con inductor de respuesta hipersensible.

La diferencia entre el efecto adverso del herbicida en las plantas tratadas con inductor de respuesta hipersensible y en las plantas no tratadas con inductor de respuesta hipersensible es espectacular. Véase Tabla 4 a continuación. Treinta y nueve de las 60 plantas tratadas con inductor mostraron solamente daños menores por el herbicida, las hojas dañadas fueron menos del 20%. En cambio, 53 de las 60 plantas de pimiento tratadas con productos químicos tuvieron daños graves, el 40-57% de las hojas estaban dañadas, y 20 plantas murieron. La capacidad del inductor de respuesta hipersensible para ayudar a los cultivos a resistir los efectos fitotóxicos de un herbicida es una ventaja muy importante en la industria agrícola.

## ES 2 332 484 T3

TABLA 4

*Los pimientos tratados con inductor de respuesta hipersensible son más tolerantes al daño con herbicidas*

Tratamiento	Clasificación de daños						Índice de daño %
	1	2	3	4	5	6	41
Inductor de respuesta hipersensible	1	38	17	3	1	0	
Productos químicos	0	1	6	16	19	18	87

Clasificación de daños: 1. Sin daños; 2. 0-20% de las hojas dañadas; 3. 20-40% de las hojas dañadas; 4. 40-50% de las hojas dañadas; 6. Más del 75% de las hojas dañadas o planta completa muerta.

Índice de daño = suma de cada clasificación por el número de plantas bajo la escala de clasificación, dividido por el número total de plantas por 6.

Índice de daño para plantas tratadas con inductor de respuesta hipersensible =  $\frac{1 \times 1 + 2 \times 38 + 3 \times 17 + 4 \times 3 + 5 \times 1 + 6 \times 0}{6} \times 100\% = 41\%$

### Ejemplo 4

*El pimiento tratado con inductor de respuesta hipersensible es más tolerante al estrés por herbicidas bajo condiciones experimentales controladas*

Se realizó un ensayo de campo para probar si el pimiento tratado con inductor de respuesta hipersensible sería más tolerante al estrés por herbicidas. El ensayo contiene 6 tratamientos y 4 repeticiones para cada tratamiento. Los tratamientos se describen de la siguiente manera:

1. Control, los pimientos no se trataron ni con un inductor de respuesta hipersensible ("HR") ni con el herbicida LEXONE™ (DuPont Agricultural Products, Wilmington, Delaware).

2. Pimiento de control con aplicación de 0,168 kg/ha (0,15 libras/acre) del herbicida LEXONE™.

3. Pimiento de control con aplicación de 0,336 kg/ha (0,3 libras/acre) del herbicida LEXONE™.

4. Se usó el tratamiento con inductor de HR sin la aplicación del herbicida LEXONE™ usando un producto formulado conocido como biopesticida MESSENGER™ (Eden Bioscience Corporation, Bothell, Washington) que contiene proteína inductora HR al 3%.

5. Tratamiento con inductor HR con la aplicación de 0,168 kg/ha (0,15 libras/acre) del herbicida LEXONE™.

6. Tratamiento con inductor HR con la aplicación de 0,336 kg/ha (0,3 libras/acre) del herbicida LEXONE™.

LEXONE™ contiene los mismos compuestos activos que el herbicida SENCOR™ (Bayer, Kansas City, Missouri) usado en el Ejemplo 3. Las plántulas de pimiento se empaparon con disolución de MESSENGER™ a la concentración de la proteína inductora de HR de aproximadamente 20 ppm siete días antes de transplantarlas en el campo y a continuación se vaporizaron cada 14 días después del trasplante. Se aplicó LEXONE en niveles altos (0,336 kg/ha (0,3 libras/acre)) y a niveles bajos (0,168 kg/ha (0,15 libras/acre)). Se introdujeron 190 litros (50 galones) de agua y 100 ml de la disolución del herbicida en la zona de la raíz de cada planta en el tratamiento respectivo cinco semanas después del trasplante en el campo.

Se evaluó el porcentaje de clorosis de los tratamientos causado por la aplicación del herbicida LEXONE™ y se evaluó el rendimiento de pimiento. Las plantas tratadas con inductor de HR expuestas a altas tasas de herbicida tuvieron significativamente menos clorosis y produjeron 108% más fruto comparado con las plantas tratadas con inductor de respuesta no hipersensible expuestas a la misma cantidad de herbicida. Véanse Tablas 5 y 6 a continuación. No hubo diferencias significativas en la reducción de clorosis en la tasa de herbicida baja entre los pimientos tratados con el inductor de HR y los sin tratar con el inductor de HR. Sin embargo, las plantas tratadas con el inductor de HR produjeron 15% más de fruto que las plantas de control correspondientes expuestas a la misma cantidad de herbicida. No hubo clorosis ni en las plantas de control ni en las plantas tratadas con inductor de HR que no recibieron el tratamiento con el herbicida LEXONE™.

## ES 2 332 484 T3

Las plantas tratadas con inductor de HR fueron afectadas con mucho menor gravedad por la aplicación del herbicida que las plantas de control respectivas en la tasa de herbicida alta. Sin embargo, la cantidad de clorosis visual fue similar en la tasa baja tanto para las plantas de control como para las tratadas con inductor de HR. De manera importante, los rendimientos tanto de los tratamientos de herbicidas en tasa alta como baja de plantas tratadas con inductor de HR se vieron afectados con menor gravedad por el herbicida que los controles. Estos hallazgos confirman además que los inductores de HR pueden ayudar a que los cultivos resistan los efectos fitotóxicos de los herbicidas y son muy ventajosos para la industria agrícola.

TABLA 5

*Reducción de la clorosis foliar y aumento en el rendimiento en plantas tratadas con inductor de respuesta hipersensible tras la exposición al herbicida LEXONE™*

Tratamiento	Clorosis foliar por ciento y rendimiento del pimiento						Rendimiento kilogramos (libras)	diferencia % del control respectivo
	A	B	C	D	E			
6 (MESSENGER™ + LEXONE™ tasa alta)	13,75	30,00	37,50	36,25	40,00	3,77 (8,31)	108%	
3 (LEXONE™ tasa alta)	26,25	43,75	51,25	50,00	51,25	1,82 (4,00)	-	
5 (MESSENGER™ + LEXONE™ tasa baja)	16,25	22,50	28,75	23,75	27,50	3,64 (8,00)	15%	
2 (LEXONE™)	12,50	20,00	25,00	25,00	23,75	3,09 (6,81)	-	

TABLA 6

*Peso de los pimientos cosechados en plantas tratadas con inductor de respuesta hipersensible tras la exposición al herbicida LEXONE™ comparado con plantas de control*

Tratamiento	Peso de los pimientos cosechados el 12/1/98 en kilogramos (libras)
HP20 + LEXONE™ tasa alta	3,77 (8,31)
Control + LEXONE™ tasa alta	1,82 (4,00)
HP20 + LEXONE™ tasa baja	3,64 (8,00)
Control + LEXONE™ tasa baja	3,09 (6,81)

## ES 2 332 484 T3

### Ejemplo 5

*El algodón tratado con inductor de respuesta hipersensible es más tolerante al estrés por la sequía (sólo ejemplo comparativo)*

5 Un ensayo de algodón sin riego experimentó 26 días consecutivos de sequía. El índice de calor diario medio era de aproximadamente 37,8°C (100 grados F) o superior, que se añadía al estrés que soportaban las plantas en el campo.

10 Las observaciones en el campo indicaban que las plantas tratadas con inductor de HR a la concentración de 15 ppm (62,4 g (2,2 onzas) de producto formulado, MESSENGER™ conteniendo el componente activo, proteína inductora de HR, al 3%) eran más vigorosas y tenían menos deshoje que las plantas de control como resultado del estrés por el calor y la sequía. Se recogieron cuidadosamente cantidades iguales de plantas de las parcelas tratadas con MESSENGER™ y sin tratamiento con MESSENGER™ del campo y se analizó el mapa del número de nodos y cápsulas por posición. También se pesaron las plantas en una balanza analítica Metler para determinar el peso de la planta completa, la raíz  
15 y los brotes.

20 Las plantas tratadas con MESSENGER™ sobrevivieron al estrés del calor y la sequía mucho mejor que las plantas sin tratar. Las plantas tratadas con MESSENGER™ tenían una masa de raíz y brotes 37,6% mayor que las plantas de control (Tabla 7). Las plantas tratadas con MESSENGER™ también tenían significativamente más cápsulas de algodón que las plantas de control (Tabla 8). El número de cápsulas de algodón de las posiciones 1 y 2 tiene una contribución significativa al rendimiento global. La Tabla 8 mostró que las plantas tratadas con MESSENGER™ tenían 47% más cápsulas en las posiciones 1 y 2 y 57% más cápsulas de una planta completa comparado con el rendimiento alcanzado usando un tratamiento de crecimiento convencional (es decir sin tratamiento con MESSENGER™). Una reacción  
25 común al estrés en el algodón es que la planta aborte las cápsulas. Los resultados indican que las plantas tratadas con MESSENGER™ son más tolerantes al estrés por la sequía.

TABLA 7

*Peso por planta de algodón no regado después de 26 días de sequía*

Tratamiento	Peso raíz (pond/planta)	Diferencia %	Peso brote (pond/planta)	Diferencia %	Peso planta completa (pond/planta)	Diferencia %
MESSENGER™ 155 g/ha (2,2 onzas/acre)	0,041 a*	37,6%	0,505 a	37,5%	0,546	37,5%
Control (Crecimiento convencional)	0,0298 b		0,367 b		0,397	
Nivel de significancia estadística	P = 0,119		P = 0,034			P = 0,033
* La misma letra indica sin diferencia estadística entre los dos tratamientos en el nivel definido; letras diferentes indican una diferencia estadística entre los dos tratamientos en el nivel definido.						

## ES 2 332 484 T3

TABLA 8

*Número de cápsulas por 5 plantas en las posiciones número 1 y 2 y número total de cápsulas de plantas completas en algodón no regado tras 26 días de sequía*

Tratamiento	Nº cápsulas promedio en las posiciones Nº 1 y 2	Diferencia por ciento	Nº cápsulas promedio por 5 plantas	Diferencia por ciento
MESSENGER™ 155 g/ha (2,2 onzas/acre)	18,4 a	+46,0%	21,4 a	+57,0%
Control	12,6 b		13,6 b	
Nivel de significancia estadística	P = 0,032		P = 0,01	
* La misma letra indica sin diferencia estadística entre los dos tratamientos en los niveles definidos; letras diferentes indican una diferencia estadística entre los dos tratamientos en el nivel definido.				

### Ejemplo 6

*El tomate tratado con inductor de respuesta hipersensible es más tolerante a la carencia de calcio*

El calcio es un elemento importante para la fisiología y el desarrollo de la planta. Una carencia de calcio puede provocar varias enfermedades en las plantas. Por ejemplo, la podredumbre apical tiene como causa una carencia localizada de calcio en el extremo distal del fruto del tomate. Como el calcio no es un elemento muy móvil, puede aparecer una carencia con una fluctuación en el suministro de agua. En el pasado, los cultivadores del tomate experimentaban niveles más elevados de podredumbre apical durante períodos de condiciones ambientales secas cuando las tormentas de lluvias infrecuentes descargaban mucha agua y posteriormente se volvía con rapidez a una condición de sequedad y calor. Disminuir o aumentar el nivel freático de riego de manera irregular durante una estación de crecimiento seca y caliente también puede aumentar la enfermedad.

Se diseñó un ensayo de campo para probar si el tomate tratado con proteína inductora de HR podía ser más tolerante a la carencia de calcio bajo una estación de crecimiento seca y caliente. Para el ensayo se usó MESSENGER™, el producto formulado que contiene inductor de HR al 3%. La tasa de aplicación del MESSENGER™ fue de 159 g/ha (2,27 oz. por acre). La primera pulverización de MESSENGER™ se realizó 7 días antes del trasplante y posteriormente cada 14 después de trasplantar. Se compararon los tomates tratados con MESSENGER™ con un tratamiento de crecimiento convencional sin utilizar MESSENGER™. Cada tratamiento tuvo 4 repeticiones.

Se contó la cantidad de frutos infectados de un campo de 9,29 metros cuadrados (100 pies cuadrados). La podredumbre comienza típicamente con lesiones de color canela claro empapadas de agua, que posteriormente aumentan, y a continuación se vuelven negras. En un sondeo, aproximadamente el 20% de los frutos estaban infectados. En el tratamiento convencional aparecieron síntomas de podredumbre apical grave; sin embargo, un promedio de solamente 2,5% de los frutos estaban infectados en las plantas tratadas con MESSENGER™. Los datos de la cosecha mostraron que las plantas tratadas con MESSENGER™ tenían 8% más de fruto comercializable (Tabla 9). Los resultados de la prueba demostraron que el tratamiento con MESSENGER™ puede reducir el estrés resultante de la carencia de calcio y aumentar la resistencia de la planta a la podredumbre apical.

# ES 2 332 484 T3

TABLA 9

*El tratamiento con inductor de respuesta hipersensible redujo la podredumbre apical y aumentó el rendimiento del fruto del tomate*

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

Tratamiento	Fruto con podredumbre apical*				Rendimiento de frutos del tomate	
	Rep I	Rep II	Rep III	Rep IV	Cubos/0,41 ha (1 acre)	Diferencia %
MESSENGER <sup>TM</sup>	0	9	0	1	35	8
Tratamiento convencional	24	22	16	17	31,5	-
* Los datos se recogieron de los frutos de una parcela de 9,29 metros cuadrados (100 pies cuadrados).						

**REIVINDICACIONES**

1. Un procedimiento para conferir a las plantas resistencia al estrés que comprende:

5 aplicar una proteína o un polipéptido inductor de la respuesta hipersensible en una forma no infecciosa a una planta o semilla de planta bajo condiciones eficaces para conferir resistencia frente al estrés por contaminación del aire, estrés químico, estrés nutricional o frente al estrés relacionado con el clima seleccionado del grupo constituido por las heladas, la temperatura fría, la temperatura elevada, la luz excesiva y la luz insuficiente.

2. Un procedimiento para conferir a las plantas resistencia al estrés que comprende:

15 suministrar una planta o semilla de planta transgénica transformada con una molécula de ADN que codifica una proteína o un polipéptido inductor de la respuesta hipersensible y

20 cultivar la planta o plantas transgénicas producidas a partir de las semillas de plantas transgénicas bajo condiciones eficaces para conferir resistencia frente estrés por contaminación del aire, estrés químico, estrés nutricional o frente al estrés relacionado con el clima seleccionado del grupo constituido por las heladas, la temperatura fría, la temperatura elevada, la luz excesiva y la luz insuficiente.

3. Un procedimiento según la reivindicación 2, en el que dicho suministro se lleva a cabo suministrando una planta transgénica.

25 4. Un procedimiento según la reivindicación 2, en el que dicho suministro se lleva a cabo suministrando una semilla de planta transgénica, comprendiendo dicho procedimiento además:

plantar las semillas transgénicas en tierra natural o artificial y

30 propagar las plantas a partir de las semillas plantadas en la tierra.

5. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el estrés es estrés químico donde el producto químico se selecciona del grupo constituido por insecticidas, fungicidas, herbicidas y metales pesados.

35 6. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el estrés es estrés relacionado con el clima seleccionado del grupo constituido por heladas, temperatura fría, temperatura elevada, luz excesiva y luz insuficiente.

40 7. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el estrés es estrés por contaminación del aire seleccionado del grupo constituido por dióxido de carbono, monóxido de carbono, dióxido de azufre, NO<sub>x</sub>, hidrocarburos, ozono, radiación ultravioleta y lluvia ácida.

45 8. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que el estrés es estrés nutricional donde el estrés nutricional está causado por fertilizantes, micronutrientes o macronutrientes.

9. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la proteína o el polipéptido inductor de la respuesta hipersensible deriva de *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Phytophthora* o *Clavibacter*.

50 10. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la proteína o el polipéptido inductor de la respuesta hipersensible deriva de *Erwinia amylovora*, *Erwinia carotovora*, *Erwinia chrysanthemi* y *Erwinia stewartii*.

55 11. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la proteína o el polipéptido inductor de la respuesta hipersensible deriva de *Pseudomonas syringae* o *Pseudomonas solanacearum*.

12. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la proteína o el polipéptido inductor de la respuesta hipersensible deriva de una especie de *Xanthomonas*.

60 13. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la proteína o el polipéptido inductor de la respuesta hipersensible deriva de una *Phytophthora*.

14. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que la proteína o el polipéptido inductor de la respuesta hipersensible deriva de *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*.

65 15. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que dicha aplicación se lleva a cabo aplicando la proteína o el polipéptido inductor de la respuesta hipersensible a la planta en una forma no infecciosa.

## ES 2 332 484 T3

16. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que dicha aplicación se lleva a cabo aplicando la proteína o el polipéptido inductor de la respuesta hipersensible a una semilla de planta en una forma no infecciosa, comprendiendo dicho procedimiento además:

5           plantar las semillas tratadas con la proteína o el polipéptido inductor de la respuesta hipersensible en tierra natural o artificial y

          propagar las plantas a partir de las semillas plantadas en la tierra.

10       17. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la planta se selecciona del grupo constituido por alfalfa, arroz, trigo, cebada, centeno, algodón, girasol, cacahuete, maíz, patata, boniato, judía, guisante, achicoria, lechuga, endivia, col, col de Bruselas, remolacha, chirivía, coliflor, brécol, nabo, rábano, espinaca, cebolla, ajo, berenjena, pimiento, apio, zanahoria, calabacín, calabaza, calabacín zucchini, pepino, manzana, pera, melón, cítricos, fresa, uva, frambuesa, piña, soja, tabaco, tomate, sorgo y caña de azúcar.

15       18. Un procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en el que la planta se selecciona del grupo constituido por *Arabidopsis thaliana*, *Saintpaulia*, petunia, pelargonio, flor de pascua, crisantemo, clavel y zinnia.

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

# ES 2 332 484 T3

## LISTA DE SECUENCIAS

<110> Eden Bioscience Corporation

5 <120> RESISTENCIA AL ESTRÉS INDUCIDA POR UN INDUCTOR DE RESPUESTA HIPERSENSIBLE

<130> 21829/42

10 <140>

<141>

<150> 60/107.243

15 <151> 05-11-1998

<160> 18

20 <170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 338

25 <212> PRT

<213> *Erwinia chrysanthemi*

30 <400> 1

Met Gln Ile Thr Ile Lys Ala His Ile Gly Gly Asp Leu Gly Val Ser  
1 5 10 15

35 Gly Leu Gly Ala Gln Gly Leu Lys Gly Leu Asn Ser Ala Ala Ser Ser  
20 25 30

40 Leu Gly Ser Ser Val Asp Lys Leu Ser Ser Thr Ile Asp Lys Leu Thr  
35 40 45

45 Ser Ala Leu Thr Ser Met Met Phe Gly Gly Ala Leu Ala Gln Gly Leu  
50 55 60

50 Gly Ala Ser Ser Lys Gly Leu Gly Met Ser Asn Gln Leu Gly Gln Ser  
65 70 75 80

55 Phe Gly Asn Gly Ala Gln Gly Ala Ser Asn Leu Leu Ser Val Pro Lys  
85 90 95

60 Ser Gly Gly Asp Ala Leu Ser Lys Met Phe Asp Lys Ala Leu Asp Asp  
100 105 110

65 Leu Leu Gly His Asp Thr Val Thr Lys Leu Thr Asn Gln Ser Asn Gln  
115 120 125

ES 2 332 484 T3

Leu Ala Asn Ser Met Leu Asn Ala Ser Gln Met Thr Gln Gly Asn Met  
 130 135 140  
 5  
 Asn Ala Phe Gly Ser Gly Val Asn Asn Ala Leu Ser Ser Ile Leu Gly  
 145 150 155 160  
 10  
 Asn Gly Leu Gly Gln Ser Met Ser Gly Phe Ser Gln Pro Ser Leu Gly  
 165 170 175  
 15  
 Ala Gly Gly Leu Gln Gly Leu Ser Gly Ala Gly Ala Phe Asn Gln Leu  
 180 185 190  
 20  
 Gly Asn Ala Ile Gly Met Gly Val Gly Gln Asn Ala Ala Leu Ser Ala  
 195 200 205  
 25  
 Leu Ser Asn Val Ser Thr His Val Asp Gly Asn Asn Arg His Phe Val  
 210 215 220  
 30  
 Asp Lys Glu Asp Arg Gly Met Ala Lys Glu Ile Gly Gln Phe Met Asp  
 225 230 235 240  
 35  
 Gln Tyr Pro Glu Ile Phe Gly Lys Pro Glu Tyr Gln Lys Asp Gly Trp  
 245 250 255  
 40  
 Ser Ser Pro Lys Thr Asp Asp Lys Ser Trp Ala Lys Ala Leu Ser Lys  
 260 265 270  
 45  
 Pro Asp Asp Asp Gly Met Thr Gly Ala Ser Met Asp Lys Phe Arg Gln  
 275 280 285  
 50  
 Ala Met Gly Met Ile Lys Ser Ala Val Ala Gly Asp Thr Gly Asn Thr  
 290 295 300  
 55  
 Asn Leu Asn Leu Arg Gly Ala Gly Gly Ala Ser Leu Gly Ile Asp Ala  
 305 310 315 320  
 Ala Val Val Gly Asp Lys Ile Ala Asn Met Ser Leu Gly Lys Leu Ala  
 325 330 335  
 Asn Ala

<210> 2

<211> 2141

60 <212> ADN

<213> *Erwinia chrysanthemi*

65

ES 2 332 484 T3

<400> 2

5 cgattttace cgggtgaacg tgctatgacc gacagcatca cggatttcga caccggttacg 60  
 gcgtttatgg ccgcatgaa ccggcatcag gcgccgcgct ggtcgcgcga atccggcgctc 120  
 gatctggtat ttcagtttg ggacaccggg cgtgaactca tgatgcagat tcagccgggg 180  
 cagcaatate ccggcatggt gcgcacgctg ctcgctcgtc gttatcagca ggcggcagag 240  
 10 tgcgatggct gccatctgtg cctgaacggc agcgatgtat tgatcctctg gtggccgctg 300  
 ccgtcggatc ccggcagtta tccgcagggt atcgaaactg tgtttgaact ggcgggaatg 360  
 acgttgccgt cgctatccat agcaccgacg gcgcgtccgc agacagggaa cggacgcgcc 420  
 cgatcattaa gataaaggcg gcttttttta ttgcaaacg gtaacggtga ggaaccggtt 480  
 15 caccgtcggc gtcactcagt aacaagtatc catcatgatg cctacatcgg gatcggcgctg 540  
 ggcattccgtt gcagatactt ttgcgaacac ctgacatgaa tgaggaaacg aaattatgca 600  
 aattacgatc aaagcgcaca tcggcgggtga tttgggcgctc tccggtctgg ggctgggtgc 660  
 tcagggactg aaaggactga attccgcggc ttcacgctg ggtccagcg tggataaact 720  
 20 gagcagcacc atcgataagt tgacctccgc gctgacttcg atgatgtttg gcgccgcgct 780  
 ggcgcagggg ctgggcgccca gctcgaaggg gctggggatg agcaatcaac tgggcccagtc 840  
 tttcggcaat ggcgcgcagg gtgcgagcaa cctgctatcc gtaccgaaat ccggcggcga 900  
 tgcgttgctca aaaatgtttg ataaagcgt ggacgatctg ctgggtcatg acaccgtgac 960  
 25 caagctgact aaccagagca accaactggc taattcaatg ctgaacgccca gccagatgac 1020  
 ccagggtaat atgaatgctg tcggcagcgg tgtgaacaac gcactgtcgt ccattctcgg 1080  
 caacggtctc ggccagtcga tgagtggctt ctctcagcct tctctggggg caggcggctt 1140  
 gcagggcctg agcggcgcgg gtgcattcaa ccagttgggt aatgccatcg gcatgggctg 1200  
 30 ggggcagaat gctgcgctga gtgcgttgag taacgtcagc acccacgtag acggtaacaa 1260  
 ccgccacttt gtagataaag aagatcgcgg catggcgaaa gagatcggcc agtttatgga 1320  
 tcagtatccg gaaatattcg gtaaaccgga ataccagaaa gatggctgga gttcgcggaa 1380  
 35 gacggacgac aaatcctggg ctaaagcgt gagtaaaccg gatgatgacg gtatgaccgg 1440  
 cgccagcatg gacaaattcc gtcagggcat gggatgatc aaaagcgcgg tggcgggtga 1500  
 taccggcaat accaacctga acctgcgtgg cgcgggcggt gcatcgtcgg gtatcgtatg 1560  
 ggctgtcgtc ggcgataaaa tagccaacat gtcgctgggt aagctggcca acgctgata 1620  
 40 atctgtgctg gcctgataaa gcggaaacga aaaaagagac ggggaagcct gtctcttttc 1680  
 ttattatgct gtttatgcgg ttacctggac cggttaatca tcgtcatoga tctggtacaa 1740  
 acgcacattt tcccgttcat tcgcgtcgtt acgcgccaca atcgcgatgg catcttctc 1800  
 gtcgctcaga ttgcgcggct gatggggaac gccgggtgga atatagagaa actcgcggc 1860  
 45 cagatggaga cacgtctgctg ataaatctgt gccgtaacgt gttctatcc gccctttag 1920  
 cagatagatt gcggtttcgt aatcaacatg gtaatgcggg tccgcctgtg cgcggccgg 1980  
 gatcaccaca atattcatag aaagctgtct tgcacctacc gtatcgcggg agataccgac 2040  
 50 aaaatagggc agtttttgcg tggatccgt ggggtgttcc ggcctgacaa tcttgagttg 2100  
 gttcgtcatc atctttctcc atctgggcga cctgatcggg t 2141

55 <210> 3

<211> 403

<212> PRT

<213> *Erwinia amylovora*

60

65

ES 2 332 484 T3

<400> 3

5 Met Ser Leu Asn Thr Ser Gly Leu Gly Ala Ser Thr Met Gln Ile Ser  
 1 5 10 15  
 Ile Gly Gly Ala Gly Gly Asn Asn Gly Leu Leu Gly Thr Ser Arg Gln  
 20 25 30  
 10 Asn Ala Gly Leu Gly Gly Asn Ser Ala Leu Gly Leu Gly Gly Gly Asn  
 35 40 45  
 15 Gln Asn Asp Thr Val Asn Gln Leu Ala Gly Leu Leu Thr Gly Met Met  
 50 55 60  
 20 Met Met Met Ser Met Met Gly Gly Gly Gly Leu Met Gly Gly Gly Leu  
 65 70 75 80  
 25 Gly Gly Gly Leu Gly Asn Gly Leu Gly Gly Ser Gly Gly Leu Gly Glu  
 85 90 95  
 30 Gly Leu Ser Asn Ala Leu Asn Asp Met Leu Gly Gly Ser Leu Asn Thr  
 100 105 110  
 35 Leu Gly Ser Lys Gly Gly Asn Asn Thr Thr Ser Thr Thr Asn Ser Pro  
 115 120 125  
 40 Leu Asp Gln Ala Leu Gly Ile Asn Ser Thr Ser Gln Asn Asp Asp Ser  
 130 135 140  
 45 Thr Ser Gly Thr Asp Ser Thr Ser Asp Ser Ser Asp Pro Met Gln Gln  
 145 150 155 160  
 50 Leu Leu Lys Met Phe Ser Glu Ile Met Gln Ser Leu Phe Gly Asp Gly  
 165 170 175  
 55 Gln Asp Gly Thr Gln Gly Ser Ser Ser Gly Gly Lys Gln Pro Thr Glu  
 180 185 190  
 60 Gly Glu Gln Asn Ala Tyr Lys Lys Gly Val Thr Asp Ala Leu Ser Gly  
 195 200 205  
 65 Leu Met Gly Asn Gly Leu Ser Gln Leu Leu Gly Asn Gly Gly Leu Gly  
 210 215 220  
 70 Gly Gly Gln Gly Gly Asn Ala Gly Thr Gly Leu Asp Gly Ser Ser Leu  
 225 230 235 240  
 75 Gly Gly Lys Gly Leu Gln Asn Leu Ser Gly Pro Val Asp Tyr Gln Gln  
 245 250 255  
 80 Leu Gly Asn Ala Val Gly Thr Gly Ile Gly Met Lys Ala Gly Ile Gln  
 260 265 270

ES 2 332 484 T3

5  
 10  
 15  
 20  
 25  
 30  
 35

Ala Leu Asn Asp Ile Gly Thr His Arg His Ser Ser Thr Arg Ser Phe  
 275 280 285

Val Asn Lys Gly Asp Arg Ala Met Ala Lys Glu Ile Gly Gln Phe Met  
 290 295 300

Asp Gln Tyr Pro Glu Val Phe Gly Lys Pro Gln Tyr Gln Lys Gly Pro  
 305 310 315 320

Gly Gln Glu Val Lys Thr Asp Asp Lys Ser Trp Ala Lys Ala Leu Ser  
 325 330 335

Lys Pro Asp Asp Asp Gly Met Thr Pro Ala Ser Met Glu Gln Phe Asn  
 340 345 350

Lys Ala Lys Gly Met Ile Lys Arg Pro Met Ala Gly Asp Thr Gly Asn  
 355 360 365

Gly Asn Leu Gln Ala Arg Gly Ala Gly Gly Ser Ser Leu Gly Ile Asp  
 370 375 380

Ala Met Met Ala Gly Asp Ala Ile Asn Asn Met Ala Leu Gly Lys Leu  
 385 390 395 400

Gly Ala Ala

<210> 4

<211> 1288

40 <212> ADN

<213> *Erwinia amylovora*

<400> 4

45

50  
 55  
 60  
 65

aagcttcggc atggcacggt tgaccggttg gtcggcaggg tacgtttgaa ttattcataa 60  
 gaggaatacg ttatgagtct gaatacaagt gggctgggag cgtcaacgat gcaaatttct 120  
 atcggcgggtg cgggcggaaa taacgggttg ctgggtacca gtcgccagaa tgctgggttg 180  
 ggtggcaatt ctgcactggg gctgggceggc ggtaatcaaa atgataccgt caatcagctg 240  
 gctggccttac tcaccggcat gatgatgatg atgagcatga tgggcgggtg tgggctgatg 300  
 ggcgggtggct taggcgggtg cttaggtaat ggcttgggtg gctcagggtg cctgggcgaa 360  
 ggactgtcga acgcgctgaa cgatatgtta ggcggttcgc tgaacacgct gggctcgaaa 420  
 ggcggcaaca ataccacttc aacaacaaat tccccgctgg accaggcgct gggtattaac 480  
 tcaacgtccc aaaacgacga ttccacctcc ggacacagatt ccacctcaga ctccagcgac 540  
 ccgatgcagc agctgctgaa gatgttcagc gagataatgc aaagcctggt tggatgatggg 600  
 caagatggca cccagggcag ttctctctggg ggcaagcagc cgaccgaagg cgagcagaac 660  
 gcctataaaa aaggagtcac tgatgcgctg tgggctga tgggtaatgg tctgagccag 720  
 ctctctggca acgggggact gggaggtggt cagggcggta atgctggcac gggctctgac 780  
 ggttcgctgc tgggcggcaa agggctgcaa aacctgagcg ggccgggtgga ctaccagcag 840

ES 2 332 484 T3

5 ttaggtaacg ccgtaggtac cggatcgggt atgaaagcgg gcattcagge gctgaatgat 900  
 atcggtagcg acaggcacag ttcaaccggt tctttcgtca ataaaggcga tcgggagatg 960  
 gogaaggaaa tcggtcagtt catggaccag tatcctgagg tgtttggcaa gccgcagtac 1020  
 cagaaaggcc cgggtcagga ggtgaaaacc gatgacaaat catgggcaaa agcactgagc 1080  
 aagccagatg acgacggaat gacaccagcc agtatggagc agttcaacaa agccaagggc 1140  
 atgatcaaaa ggcccatggc gggatgatac ggcaacggca acctgcagge acgagggtgcc 1200  
 10 ggtgggttctt cgctgggtat tgatgccatg atggccgggtg atgccattaa caatatggca 1260  
 cttggcaagc tgggagcgcc ttaagctt 1288

15 <210> 5  
 <211> 1344  
 <212> ADN  
 <213> *Erwinia amylovora*  
 20 <400> 5

25 atgtcaattc ttacgcttaa caacaatacc tcgtcctcgc cgggtctggt ccagtcceggg 60  
 ggggacaacg ggcttggtgg tcataatgca aattctgctg tggggcaaca acccatcgat 120  
 cggcaaacca ttgagcaaat ggctcaatta ttggcggaac tgtaaagtc actgctatcg 180  
 ccacaatcag gtaatgcggc aaccggagcc ggtggcaatg accagactac aggagttggt 240  
 30 aacgctggcg gcctgaacgg acgaaaaggc acagcaggaa ccaactccgca gtctgacagt 300  
 cagaacatgc tgagtggatg gggcaacaac gggctggatc aggccatcac gcccgatggc 360  
 cagggcggcg ggcagatcgg cgataatcct ttactgaaag ccatgctgaa gcttattgca 420  
 cgcatgatgg acggccaaag cgatcagttt ggccaacctg gtacgggcaa caacagtgcc 480  
 35 tcttccggta cttcttcac tggcgggtcc ccttttaacg atctatcagg ggggaaggcc 540  
 ccttccggca actccccttc cggcaactac tctcccgtca gtaccttct accccatcc 600  
 acgccaacgt cccctacctc accgcttgat ttcccttctt ctcccaccaa agcagccggg 660  
 ggcagcacgc cggtaaccga tcatcctgac cctgttggtg gcgaggcat cggggccgga 720  
 40 aattcgggtg ccttcaccag cgccggcgct aatcagacgg tgctgcatga caccattacc 780  
 gtgaaagcgg gtcaggtggt tgatggcaaa ggacaaacct tcaccgccgg ttcagaatta 840  
 ggcgatggcg gccagctctga aaaccagaaa ccgctgttta tactggaaga cggtgccagc 900  
 ctgaaaaacg tcaccatggg cgacgacggg ggggatggta ttcatcttta cggatgatgcc 960  
 45 aaaatagaca atctgcacgt caccaacgtg ggtgaggacg cgattaccgt taagccaaac 1020  
 agcgcgggca aaaaatccca cgttgaatc actaacagtt ccttcgagca cgcctctgac 1080  
 aagatcctgc agctgaatgc cgatactaac ctgagcgttg acaacgtgaa ggccaaagac 1140  
 tttggtactt ttgtacgcac taacggcggc caacagggtg actgggatct gaatctgagc 1200  
 50 catatcagcg cagaagacgg taagtctctg ttcgttaaaa gcgatagcga ggggctaaac 1260  
 gtcaatacca gtgatctct actgggtgat gttgaaaacc actacaaagt gccgatgtcc 1320  
 gccaacctga aggtggctga atga 1344

55 <210> 6  
 <211> 447  
 <212> PRT  
 60 <213> *Erwinia amylovora*

65

ES 2 332 484 T3

<400> 6

5 Met Ser Ile Leu Thr Leu Asn Asn Asn Thr Ser Ser Ser Pro Gly Leu  
 1 5 10 15  
 Phe Gln Ser Gly Gly Asp Asn Gly Leu Gly Gly His Asn Ala Asn Ser  
 20 25 30  
 10 Ala Leu Gly Gln Gln Pro Ile Asp Arg Gln Thr Ile Glu Gln Met Ala  
 35 40 45  
 Gln Leu Leu Ala Glu Leu Leu Lys Ser Leu Leu Ser Pro Gln Ser Gly  
 15 50 55 60  
 Asn Ala Ala Thr Gly Ala Gly Gly Asn Asp Gln Thr Thr Gly Val Gly  
 65 70 75 80  
 20 Asn Ala Gly Gly Leu Asn Gly Arg Lys Gly Thr Ala Gly Thr Thr Pro  
 85 90 95  
 25 Gln Ser Asp Ser Gln Asn Met Leu Ser Glu Met Gly Asn Asn Gly Leu  
 100 105 110  
 Asp Gln Ala Ile Thr Pro Asp Gly Gln Gly Gly Gly Gln Ile Gly Asp  
 115 120 125  
 30 Asn Pro Leu Leu Lys Ala Met Leu Lys Leu Ile Ala Arg Met Met Asp  
 130 135 140  
 35 Gly Gln Ser Asp Gln Phe Gly Gln Pro Gly Thr Gly Asn Asn Ser Ala  
 145 150 155 160  
 40 Ser Ser Gly Thr Ser Ser Ser Gly Gly Ser Pro Phe Asn Asp Leu Ser  
 165 170 175  
 45 Gly Gly Lys Ala Pro Ser Gly Asn Ser Pro Ser Gly Asn Tyr Ser Pro  
 180 185 190  
 50 Val Ser Thr Phe Ser Pro Pro Ser Thr Pro Thr Ser Pro Thr Ser Pro  
 195 200 205  
 Leu Asp Phe Pro Ser Ser Pro Thr Lys Ala Ala Gly Gly Ser Thr Pro  
 210 215 220  
 55 Val Thr Asp His Pro Asp Pro Val Gly Ser Ala Gly Ile Gly Ala Gly  
 225 230 235 240  
 60 Asn Ser Val Ala Phe Thr Ser Ala Gly Ala Asn Gln Thr Val Leu His  
 245 250 255  
 Asp Thr Ile Thr Val Lys Ala Gly Gln Val Phe Asp Gly Lys Gly Gln  
 260 265 270

65

ES 2 332 484 T3

Thr Phe Thr Ala Gly Ser Glu Leu Gly Asp Gly Gly Gln Ser Glu Asn  
 275 280 285  
 5  
 Gln Lys Pro Leu Phe Ile Leu Glu Asp Gly Ala Ser Leu Lys Asn Val  
 290 295 300  
 10  
 Thr Met Gly Asp Asp Gly Ala Asp Gly Ile His Leu Tyr Gly Asp Ala  
 305 310 315 320  
 15  
 Lys Ile Asp Asn Leu His Val Thr Asn Val Gly Glu Asp Ala Ile Thr  
 325 330 335  
 20  
 Val Lys Pro Asn Ser Ala Gly Lys Lys Ser His Val Glu Ile Thr Asn  
 340 345 350  
 25  
 Ser Ser Phe Glu His Ala Ser Asp Lys Ile Leu Gln Leu Asn Ala Asp  
 355 360 365  
 30  
 Thr Asn Leu Ser Val Asp Asn Val Lys Ala Lys Asp Phe Gly Thr Phe  
 370 375 380  
 35  
 Val Arg Thr Asn Gly Gly Gln Gln Gly Asn Trp Asp Leu Asn Leu Ser  
 385 390 395 400  
 40  
 His Ile Ser Ala Glu Asp Gly Lys Phe Ser Phe Val Lys Ser Asp Ser  
 405 410 415  
 45  
 Glu Gly Leu Asn Val Asn Thr Ser Asp Ile Ser Leu Gly Asp Val Glu  
 420 425 430  
 50  
 Asn His Tyr Lys Val Pro Met Ser Ala Asn Leu Lys Val Ala Glu  
 435 440 445

45 <210> 7  
 <211> 5517  
 <212> ADN  
 50 <213> *Erwinia amylovora*  
 <400> 7

55 atggaattaa aatcactggg aactgaacac aaggcggcag tacacacagc ggcgcacaac 60  
 cctgtggggc atggtgttgc cttacagcag ggcagcagca gcagcagccc gcaaaatgcc 120  
 gctgcatcat tggcggcaga aggcaaaaat cgtgggaaaa tgccgagaat tcaccagcca 180  
 tctactgogg ctgatggtat cagcgtgct caccagcaaa agaaatcctt cagtctcagg 240  
 60 ggctgtttgg ggacgaaaaa attttccaga tcggcaccgc agggccagcc aggtaccacc 300  
 cacagcaaag gggcaacatt gcgcgatctg ctggcgcggg acgacggcga aacgcagcat 360  
 gagggggccg cgccagatgc ggcgcgtttg acccgttcgg gcggcgtaaa acgccgcaat 420  
 65 atggacgaca tggccggggc gccaatggtg aaaggtggca gcggcgaaga taaggtacca 480

ES 2 332 484 T3

acgcagcaaa aacggcatca gctgaacaat tttggccaga tgcgccaaac gatgttgagc 540  
 aaaatggctc acccggttc agccaacgcc ggcgatcgcc tgcagcattc accgcccagc 600  
 5 atccccgggta gccaccacga aatcaaggaa gaaccgggtg gctccaccag caaggcaaca 660  
 acggcccacg cagacagagt ggaaatcgct caggaagatg acgacagcga attccagcaa 720  
 ctgcatcaac agcggctggc gcgcgaacgg gaaaatccac cgcagccgcc caaactcggc 780  
 gttgccacac cgattagcgc caggtttcag cccaaactga ctgcggttgc ggaaagcgtc 840  
 10 cttgagggga cagataccac gcagtcacce cttaagccgc aatcaatgct gaaaggaagt 900  
 ggagccgggg taacgccgct ggcggtaacg ctggataaag gcaagttgca gctggcaccg 960  
 gataatccac ccgcgctcaa tacgttggtg aagcagacat tgggtaaaga caccagcac 1020  
 tatctggcgc accatgccag cagcgacggt agccagcatc tgctgctgga caacaaaggc 1080  
 15 cacctgtttg atatcaaaag caccgccacc agctatagcg tgctgcacaa cagccacccc 1140  
 ggtgagataa agggcaagct ggcgcaggcg ggtactggct ccgtcagcgt agacggtaaa 1200  
 agcggcaaga tctcgctggg gagcggtagc caaagtcaca acaaaacaat gctaagccaa 1260  
 ccgggggaag cgcaccgttc cttattaacc ggcatttggc agcatcctgc tggcgcagcg 1320  
 20 cggccgcagg gcgagtcaat ccgcctgcat gacgacaaaa ttcatacct gcatccggag 1380  
 ctgggcgtat ggcaatctgc ggataaagat acccacagcc agctgtctcg ccaggcagac 1440  
 ggtaagctct atgcgctgaa agacaaccgt accctgcaaa acctctccga taataaatcc 1500  
 25 tcagaaaagc tggtcgataa aatcaaatcg tattccgttg atcagcgggg gcaggtggcg 1560  
 atcctgacgg atactcccgg ccgccataag atgagtatta tgccctcgtc ggatgcttcc 1620  
 ccggagagcc atatttcct cagcctgcat tttgccgatg cccaccaggg gttattgcac 1680  
 gggaaagtccg agcttgagge acaatctgtc gcgatcagcc atgggcgact ggttgtggcc 1740  
 30 gatagcgaag gcaagctgtt tagcgcgccc attccgaagc aaggggatgg aaacgaactg 1800  
 aaaatgaaag ccatgcctca gcatgcgctc gatgaacatt ttggtcatga ccaccagatt 1860  
 tctggattht tccatgacga ccacggccag cttaatgcgc tggtgaaaaa taacttcagg 1920  
 cagcagcatg cctgcccgtt gggtaacgat catcagttc accccggctg gaacctgact 1980  
 35 gatgcgctgg ttatcgacaa tcagctgggg ctgcatcata ccaatcctga accgcatgag 2040  
 attcttgata tggggcattt aggcagcctg gcgttacagg agggcaagct tcaactattht 2100  
 gaccagctga ccaaagggtg gactggcgcg gagtcagatt gtaagcagct gaaaaaaggc 2160  
 ctggatggag cagcttatct actgaaagac ggtgaagtga aacgcctgaa tattaatcag 2220  
 40 agcacctcct ctatcaagca cggaacggaa aacgtthttht cgctgccgca tgtgcgcaat 2280  
 aaaccggagc cgggagatgc cctgcaaggg ctgaataaag acgataaggc ccaggccatg 2340  
 gcggtgattg gggtaataaa atacctggcg ctgacggaaa aaggggacat tcgctccttc 2400  
 45 cagataaaac ccggcaccaca gcagttggag cggccggcac aaactctcag ccgcgaaggt 2460  
 atcagcggcg aactgaaaga cattcatgtc gaccacaagc agaacctgta tgccttgacc 2520  
 cacgagggag aggtgtttca tcagcccgct gaagcctggc agaatgggtc cgaaagcagc 2580  
 agctggcaca aaotggcggt gccacagagt gaaagtaagc taaaaagtct ggacatgagc 2640  
 50 catgagcaca aaccgattgc cacctttgaa gacggtagcc agcatcagct gaaggctggc 2700  
 ggctggcagc cctatgcggc acctgaaagc gggccgctgg cggtgggtac cagcggttca 2760  
 caaacctctt ttaaccgact aatgcagggg gtgaaaggca aggtgatccc aggcagcggg 2820  
 ttgacggtta agctctcggc tcagacgggg ggaatgaccg gcgccgaagg gcgcaaggtc 2880  
 55 agcagtaaat thtccgaaaag gatcccgccc tatgcgttca acccaacaat gtccacgccc 2940  
 cgaccgatta aaaatgctgc ttatgccaca cagcacggct ggcaggggcg tgaggggttg 3000  
 aagccgttgt acgagatgca gggagcgcgt attaaacaac tggatgcgca taacgttctg 3060  
 cataacgcgc cacagccaga tttgcagagc aaactggaaa ctctggattt aggcgaacat 3120  
 60 ggcgcagaat tgcttaacga catgaagcgc ttccgcgacg aactggagca gagtgaacc 3180  
 cgttcgggtg ccgtthttagg tcaacatcag ggagtgttaa aaagcaacgg tgaaatcaat 3240  
 agcgaattta agccatcgc ccggcaaggcg ttgggtccaga gctthtaacgt caatcgctct 3300  
 ggtcaggatc taagcaagtc actgcaacag gcagtacatg ccacgccgcc atccgcagag 3360

65

ES 2 332 484 T3

agtaaactgc aatccatgct ggggcacttt gtcagtgccg ggggtggatat gagtcatcag 3420  
 aagggcgaga tcccgctggg ccgccagcgc gatccgaatg ataaaaccgc actgaccaa 3480  
 5 tccgctttaa ttttagatac cgtgaccatc ggtgaactgc atgaactggc cgataaggcg 3540  
 aactgggtat ctgaccataa acccgatgcc gatcagataa aacagctgcg ccagcagttc 3600  
 gatagctgct gtgaaaagcg gtatgagagc aatccgggtga agcattacac cgatatgggc 3660  
 ttcacccata ataaggcgct ggaagcaaac tatgatgcgg tcaaagcctt tatcaatgcc 3720  
 10 ttaagaaaag agcaccacgg cgtcaatctg accacgcgta ccgtactgga atcacagggc 3780  
 agtgcggagc tggcgaagaa gctcaagaat acgctgttgt ccctggacag tggtgaaagt 3840  
 atgagcttca gccggtcata tggcgggggc gtcagcactg tctttgtgcc tacccttagc 3900  
 aagaagggtc cagttccggg gatccccgga gccggcatca cgctggatcg cgcctataac 3960  
 15 ctgagcttca gtcgtaccag cggcggattg aacgtcagtt ttggccgcga cggcgggggtg 4020  
 agtggtaaca tcatggtcgc taccggccat gatgtgatgc cctatatgac cggtaagaaa 4080  
 accagtgcag gtaacgccag tgactgggtg agcgcaaac ataaaatcag cccggacttg 4140  
 cgtatcggcg ctgctgtgag tggcaccctg caaggaacgc taaaaacag cctgaagttt 4200  
 20 aagctgacag aggatgagct gcctggcttt atccatggct tgacgcattg cacgttgacc 4260  
 ccggcagaac tgttgcaaaa ggggatcgaa catcagatga agcagggcag caaactgacg 4320  
 tttagcgtcg atacctcggc aaatctggat ctgctgtccg gtatcaatct gaacgaagac 4380  
 ggcagtaaac caaatgggtg cactgccctg gtttctgccg ggctaagtgc atcggcaaac 4440  
 25 ctggccgccc gctcgcgtga acgcagcacc acctctggcc agtttggcag cacgacttcg 4500  
 gccagcaata accgccaac cttcctcaac ggggtcggcg cgggtgctaa cctgacggct 4560  
 gctttagggg ttgcccattc atctacgat gaagggaaac cggtcgggat cttcccggca 4620  
 30 tttacctcga ccaatgttcc ggcagcgtg gcgctggata accgtacctc acagagtatc 4680  
 agcctggaat tgaagcgcgc ggagccggtg accagcaacg atatcagcga gttgacctcc 4740  
 acgctgggaa aacactttaa ggatagcgc acaacgaaga tgcttgccgc tctcaaagag 4800  
 ttagatgacg ctaagcccgc tgaacaactg catattttac agcagcattt cagtgcaaaa 4860  
 35 gatgtcgtcg gtgatgaacg ctacgaggcg gtgcgcaacc tgaaaaaact ggtgatcagt 4920  
 caacaggctg cggacagcca cagcatggaa ttaggatctg ccagtcacag cacgacctac 4980  
 aataatctgt cgagaataaa taatgacggc attgtcgagc tgctacacaa acatttcgat 5040  
 gcggcattac cagcaagcag tgccaaacgt cttggtgaaa tgatgaataa cgatccggca 5100  
 40 ctgaaagata ttattaagca gctgcaaagt acgccgttca gcagcggcag cgtgtcgtatg 5160  
 gagctgaaag atggtctcgc tgagcagacg gaaaaagcaa tactggacgg taaggtcggg 5220  
 cgtgagaag tgggagtact tttccaggat cgtaacaact tgctgtgtaa atcggtcagc 5280  
 gtcagtcagt ccgtcagcaa aagcgaaggc ttcaataccc cagcgtgtt actggggacg 5340  
 45 agcaacagcg ctgctatgag catggagcgc aacatcgaa ccattaattt taaatacggc 5400  
 caggatcaga acaccccacg gcgatttacc ctggagggtg gaatagctca ggctaaccg 5460  
 caggtcgcat ctgcgcttac tgatttgaag aaggaagggc tggaaatgaa gagctaa 5517

50 <210> 8  
 <211> 1838  
 <212> PRT  
 55 <213> *Erwinia amylovora*

<400> 8

60 Met Glu Leu Lys Ser Leu Gly Thr Glu His Lys Ala Ala Val His Thr  
 1 5 10 15  
 Ala Ala His Asn Pro Val Gly His Gly Val Ala Leu Gln Gln Gly Ser  
 65 20 25 30

ES 2 332 484 T3

5 Ser Ser Ser Ser Pro Gln Asn Ala Ala Ala Ser Leu Ala Ala Glu Gly  
 35 40 45  
 Lys Asn Arg Gly Lys Met Pro Arg Ile His Gln Pro Ser Thr Ala Ala  
 50 55 60  
 10 Asp Gly Ile Ser Ala Ala His Gln Gln Lys Lys Ser Phe Ser Leu Arg  
 65 70 75 80  
 15 Gly Cys Leu Gly Thr Lys Lys Phe Ser Arg Ser Ala Pro Gln Gly Gln  
 85 90 95  
 Pro Gly Thr Thr His Ser Lys Gly Ala Thr Leu Arg Asp Leu Leu Ala  
 100 105 110  
 20 Arg Asp Asp Gly Glu Thr Gln His Glu Ala Ala Ala Pro Asp Ala Ala  
 115 120 125  
 25 Arg Leu Thr Arg Ser Gly Gly Val Lys Arg Arg Asn Met Asp Asp Met  
 130 135 140  
 30 Ala Gly Arg Pro Met Val Lys Gly Gly Ser Gly Glu Asp Lys Val Pro  
 145 150 155 160  
 35 Thr Gln Gln Lys Arg His Gln Leu Asn Asn Phe Gly Gln Met Arg Gln  
 165 170 175  
 40 Thr Met Leu Ser Lys Met Ala His Pro Ala Ser Ala Asn Ala Gly Asp  
 180 185 190  
 Arg Leu Gln His Ser Pro Pro His Ile Pro Gly Ser His His Glu Ile  
 195 200 205  
 45 Lys Glu Glu Pro Val Gly Ser Thr Ser Lys Ala Thr Thr Ala His Ala  
 210 215 220  
 50 Asp Arg Val Glu Ile Ala Gln Glu Asp Asp Asp Ser Glu Phe Gln Gln  
 225 230 235 240  
 55 Leu His Gln Gln Arg Leu Ala Arg Glu Arg Glu Asn Pro Pro Gln Pro  
 245 250 255  
 60 Pro Lys Leu Gly Val Ala Thr Pro Ile Ser Ala Arg Phe Gln Pro Lys  
 260 265 270  
 65 Leu Thr Ala Val Ala Glu Ser Val Leu Glu Gly Thr Asp Thr Thr Gln  
 275 280 285

ES 2 332 484 T3

Ser Pro Leu Lys Pro Gln Ser Met Leu Lys Gly Ser Gly Ala Gly Val  
 290 295 300

5

Thr Pro Leu Ala Val Thr Leu Asp Lys Gly Lys Leu Gln Leu Ala Pro  
 305 310 315 320

10

Asp Asn Pro Pro Ala Leu Asn Thr Leu Leu Lys Gln Thr Leu Gly Lys  
 325 330 335

15

Asp Thr Gln His Tyr Leu Ala His His Ala Ser Ser Asp Gly Ser Gln  
 340 345 350

20

His Leu Leu Leu Asp Asn Lys Gly His Leu Phe Asp Ile Lys Ser Thr  
 355 360 365

25

Ala Thr Ser Tyr Ser Val Leu His Asn Ser His Pro Gly Glu Ile Lys  
 370 375 380

30

Gly Lys Leu Ala Gln Ala Gly Thr Gly Ser Val Ser Val Asp Gly Lys  
 385 390 395 400

35

Ser Gly Lys Ile Ser Leu Gly Ser Gly Thr Gln Ser His Asn Lys Thr  
 405 410 415

40

Met Leu Ser Gln Pro Gly Glu Ala His Arg Ser Leu Leu Thr Gly Ile  
 420 425 430

45

Trp Gln His Pro Ala Gly Ala Ala Arg Pro Gln Gly Glu Ser Ile Arg  
 435 440 445

50

Leu His Asp Asp Lys Ile His Ile Leu His Pro Glu Leu Gly Val Trp  
 450 455 460

55

Gln Ser Ala Asp Lys Asp Thr His Ser Gln Leu Ser Arg Gln Ala Asp  
 465 470 475 480

60

Gly Lys Leu Tyr Ala Leu Lys Asp Asn Arg Thr Leu Gln Asn Leu Ser  
 485 490 495

65

Asp Asn Lys Ser Ser Glu Lys Leu Val Asp Lys Ile Lys Ser Tyr Ser  
 500 505 510

Val Asp Gln Arg Gly Gln Val Ala Ile Leu Thr Asp Thr Pro Gly Arg  
 515 520 525

His Lys Met Ser Ile Met Pro Ser Leu Asp Ala Ser Pro Glu Ser His  
 530 535 540

ES 2 332 484 T3

Ile Ser Leu Ser Leu His Phe Ala Asp Ala His Gln Gly Leu Leu His  
 545 550 555 560  
 5  
 Gly Lys Ser Glu Leu Glu Ala Gln Ser Val Ala Ile Ser His Gly Arg  
 565 570 575  
 10  
 Leu Val Val Ala Asp Ser Glu Gly Lys Leu Phe Ser Ala Ala Ile Pro  
 580 585 590  
 15  
 Lys Gln Gly Asp Gly Asn Glu Leu Lys Met Lys Ala Met Pro Gln His  
 595 600 605  
 20  
 Ala Leu Asp Glu His Phe Gly His Asp His Gln Ile Ser Gly Phe Phe  
 610 615 620  
 25  
 His Asp Asp His Gly Gln Leu Asn Ala Leu Val Lys Asn Asn Phe Arg  
 625 630 635 640  
 30  
 Gln Gln His Ala Cys Pro Leu Gly Asn Asp His Gln Phe His Pro Gly  
 645 650 655  
 35  
 Trp Asn Leu Thr Asp Ala Leu Val Ile Asp Asn Gln Leu Gly Leu His  
 660 665 670  
 40  
 His Thr Asn Pro Glu Pro His Glu Ile Leu Asp Met Gly His Leu Gly  
 675 680 685  
 45  
 Ser Leu Ala Leu Gln Glu Gly Lys Leu His Tyr Phe Asp Gln Leu Thr  
 690 695 700  
 50  
 Lys Gly Trp Thr Gly Ala Glu Ser Asp Cys Lys Gln Leu Lys Lys Gly  
 705 710 715 720  
 55  
 Leu Asp Gly Ala Ala Tyr Leu Leu Lys Asp Gly Glu Val Lys Arg Leu  
 725 730 735  
 60  
 Asn Ile Asn Gln Ser Thr Ser Ser Ile Lys His Gly Thr Glu Asn Val  
 740 745 750  
 65  
 Phe Ser Leu Pro His Val Arg Asn Lys Pro Glu Pro Gly Asp Ala Leu  
 755 760 765  
 70  
 Gln Gly Leu Asn Lys Asp Asp Lys Ala Gln Ala Met Ala Val Ile Gly  
 770 775 780  
 75  
 Val Asn Lys Tyr Leu Ala Leu Thr Glu Lys Gly Asp Ile Arg Ser Phe  
 785 790 795 800

ES 2 332 484 T3

Gln Ile Lys Pro Gly Thr Gln Gln Leu Glu Arg Pro Ala Gln Thr Leu  
 805 810 815  
 5 Ser Arg Glu Gly Ile Ser Gly Glu Leu Lys Asp Ile His Val Asp His  
 820 825 830  
 10 Lys Gln Asn Leu Tyr Ala Leu Thr His Glu Gly Glu Val Phe His Gln  
 835 840 845  
 15 Pro Arg Glu Ala Trp Gln Asn Gly Ala Glu Ser Ser Ser Trp His Lys  
 850 855 860  
 20 Leu Ala Leu Pro Gln Ser Glu Ser Lys Leu Lys Ser Leu Asp Met Ser  
 865 870 875 880  
 25 His Glu His Lys Pro Ile Ala Thr Phe Glu Asp Gly Ser Gln His Gln  
 885 890 895  
 30 Leu Lys Ala Gly Gly Trp His Ala Tyr Ala Ala Pro Glu Arg Gly Pro  
 900 905 910  
 35 Leu Ala Val Gly Thr Ser Gly Ser Gln Thr Val Phe Asn Arg Leu Met  
 915 920 925  
 40 Gln Gly Val Lys Gly Lys Val Ile Pro Gly Ser Gly Leu Thr Val Lys  
 930 935 940  
 45 Leu Ser Ala Gln Thr Gly Gly Met Thr Gly Ala Glu Gly Arg Lys Val  
 945 950 955 960  
 50 Ser Ser Lys Phe Ser Glu Arg Ile Arg Ala Tyr Ala Phe Asn Pro Thr  
 965 970 975  
 55 Met Ser Thr Pro Arg Pro Ile Lys Asn Ala Ala Tyr Ala Thr Gln His  
 980 985 990  
 60 Gly Trp Gln Gly Arg Glu Gly Leu Lys Pro Leu Tyr Glu Met Gln Gly  
 995 1000 1005  
 65 Ala Leu Ile Lys Gln Leu Asp Ala His Asn Val Arg His Asn Ala Pro  
 1010 1015 1020  
 Gln Pro Asp Leu Gln Ser Lys Leu Glu Thr Leu Asp Leu Gly Glu His  
 1025 1030 1035 1040  
 Gly Ala Glu Leu Leu Asn Asp Met Lys Arg Phe Arg Asp Glu Leu Glu  
 1045 1050 1055

ES 2 332 484 T3

Gln Ser Ala Thr Arg Ser Val Thr Val Leu Gly Gln His Gln Gly Val  
 1060 1065 1070  
 5  
 Leu Lys Ser Asn Gly Glu Ile Asn Ser Glu Phe Lys Pro Ser Pro Gly  
 1075 1080 1085  
 10  
 Lys Ala Leu Val Gln Ser Phe Asn Val Asn Arg Ser Gly Gln Asp Leu  
 1090 1095 1100  
 15  
 Ser Lys Ser Leu Gln Gln Ala Val His Ala Thr Pro Pro Ser Ala Glu  
 1105 1110 1115 1120  
 20  
 Ser Lys Leu Gln Ser Met Leu Gly His Phe Val Ser Ala Gly Val Asp  
 1125 1130 1135  
 25  
 Met Ser His Gln Lys Gly Glu Ile Pro Leu Gly Arg Gln Arg Asp Pro  
 1140 1145 1150  
 30  
 Asn Asp Lys Thr Ala Leu Thr Lys Ser Arg Leu Ile Leu Asp Thr Val  
 1155 1160 1165  
 35  
 Thr Ile Gly Glu Leu His Glu Leu Ala Asp Lys Ala Lys Leu Val Ser  
 1170 1175 1180  
 40  
 Asp His Lys Pro Asp Ala Asp Gln Ile Lys Gln Leu Arg Gln Gln Phe  
 1185 1190 1195 1200  
 45  
 Asp Thr Leu Arg Glu Lys Arg Tyr Glu Ser Asn Pro Val Lys His Tyr  
 1205 1210 1215  
 50  
 Thr Asp Met Gly Phe Thr His Asn Lys Ala Leu Glu Ala Asn Tyr Asp  
 1220 1225 1230  
 55  
 Ala Val Lys Ala Phe Ile Asn Ala Phe Lys Lys Glu His His Gly Val  
 1235 1240 1245  
 60  
 Asn Leu Thr Thr Arg Thr Val Leu Glu Ser Gln Gly Ser Ala Glu Leu  
 1250 1255 1260  
 65  
 Ala Lys Lys Leu Lys Asn Thr Leu Leu Ser Leu Asp Ser Gly Glu Ser  
 1265 1270 1275 1280  
 Met Ser Phe Ser Arg Ser Tyr Gly Gly Gly Val Ser Thr Val Phe Val  
 1285 1290 1295  
 Pro Thr Leu Ser Lys Lys Val Pro Val Pro Val Ile Pro Gly Ala Gly  
 1300 1305 1310

ES 2 332 484 T3

Ile Thr Leu Asp Arg Ala Tyr Asn Leu Ser Phe Ser Arg Thr Ser Gly  
 1315 1320 1325  
 5  
 Gly Leu Asn Val Ser Phe Gly Arg Asp Gly Gly Val Ser Gly Asn Ile  
 1330 1335 1340  
 10  
 Met Val Ala Thr Gly His Asp Val Met Pro Tyr Met Thr Gly Lys Lys  
 1345 1350 1355 1360  
 15  
 Thr Ser Ala Gly Asn Ala Ser Asp Trp Leu Ser Ala Lys His Lys Ile  
 1365 1370 1375  
 20  
 Ser Pro Asp Leu Arg Ile Gly Ala Ala Val Ser Gly Thr Leu Gln Gly  
 1380 1385 1390  
 25  
 Thr Leu Gln Asn Ser Leu Lys Phe Lys Leu Thr Glu Asp Glu Leu Pro  
 1395 1400 1405  
 30  
 Gly Phe Ile His Gly Leu Thr His Gly Thr Leu Thr Pro Ala Glu Leu  
 1410 1415 1420  
 35  
 Leu Gln Lys Gly Ile Glu His Gln Met Lys Gln Gly Ser Lys Leu Thr  
 1425 1430 1435 1440  
 40  
 Phe Ser Val Asp Thr Ser Ala Asn Leu Asp Leu Arg Ala Gly Ile Asn  
 1445 1450 1455  
 45  
 Leu Asn Glu Asp Gly Ser Lys Pro Asn Gly Val Thr Ala Arg Val Ser  
 1460 1465 1470  
 50  
 Ala Gly Leu Ser Ala Ser Ala Asn Leu Ala Ala Gly Ser Arg Glu Arg  
 1475 1480 1485  
 55  
 Ser Thr Thr Ser Gly Gln Phe Gly Ser Thr Thr Ser Ala Ser Asn Asn  
 1490 1495 1500  
 60  
 Arg Pro Thr Phe Leu Asn Gly Val Gly Ala Gly Ala Asn Leu Thr Ala  
 1505 1510 1515 1520  
 65  
 Ala Leu Gly Val Ala His Ser Ser Thr His Glu Gly Lys Pro Val Gly  
 1525 1530 1535  
 Ile Phe Pro Ala Phe Thr Ser Thr Asn Val Ser Ala Ala Leu Ala Leu  
 1540 1545 1550  
 Asp Asn Arg Thr Ser Gln Ser Ile Ser Leu Glu Leu Lys Arg Ala Glu  
 1555 1560 1565

ES 2 332 484 T3

Pro Val Thr Ser Asn Asp Ile Ser Glu Leu Thr Ser Thr Leu Gly Lys  
 1570 1575 1580  
 5  
 His Phe Lys Asp Ser Ala Thr Thr Lys Met Leu Ala Ala Leu Lys Glu  
 1585 1590 1595 1600  
 10  
 Leu Asp Asp Ala Lys Pro Ala Glu Gln Leu His Ile Leu Gln Gln His  
 1605 1610 1615  
 15  
 Phe Ser Ala Lys Asp Val Val Gly Asp Glu Arg Tyr Glu Ala Val Arg  
 1620 1625 1630  
 20  
 Asn Leu Lys Lys Leu Val Ile Arg Gln Gln Ala Ala Asp Ser His Ser  
 1635 1640 1645  
 25  
 Met Glu Leu Gly Ser Ala Ser His Ser Thr Thr Tyr Asn Asn Leu Ser  
 1650 1655 1660  
 30  
 Arg Ile Asn Asn Asp Gly Ile Val Glu Leu Leu His Lys His Phe Asp  
 1665 1670 1675 1680  
 35  
 Ala Ala Leu Pro Ala Ser Ser Ala Lys Arg Leu Gly Glu Met Met Asn  
 1685 1690 1695  
 40  
 Asn Asp Pro Ala Leu Lys Asp Ile Ile Lys Gln Leu Gln Ser Thr Pro  
 1700 1705 1710  
 45  
 Phe Ser Ser Ala Ser Val Ser Met Glu Leu Lys Asp Gly Leu Arg Glu  
 1715 1720 1725  
 50  
 Gln Thr Glu Lys Ala Ile Leu Asp Gly Lys Val Gly Arg Glu Glu Val  
 1730 1735 1740  
 55  
 Gly Val Leu Phe Gln Asp Arg Asn Asn Leu Arg Val Lys Ser Val Ser  
 1745 1750 1755 1760  
 60  
 Val Ser Gln Ser Val Ser Lys Ser Glu Gly Phe Asn Thr Pro Ala Leu  
 1765 1770 1775  
 65  
 Leu Leu Gly Thr Ser Asn Ser Ala Ala Met Ser Met Glu Arg Asn Ile  
 1780 1785 1790  
 Gly Thr Ile Asn Phe Lys Tyr Gly Gln Asp Gln Asn Thr Pro Arg Arg  
 1795 1800 1805  
 Phe Thr Leu Glu Gly Gly Ile Ala Gln Ala Asn Pro Gln Val Ala Ser  
 1810 1815 1820  
 Ala Leu Thr Asp Leu Lys Lys Glu Gly Leu Glu Met Lys Ser  
 1825 1830 1835

ES 2 332 484 T3

<210> 9

<211> 420

<212> ADN

5 <213> *Erwinia amylovora*

<400> 9

10 atgacatcgt cacagcagcg ggttgaaagg tttttacagt atttctccgc cgggtgtaaa 60  
 acgcccatac atctgaaaga cggggtgtgc gccctgtata acgaacaaga tgaggaggcg 120  
 gcggtgctgg aagtaccgca acacagcgac agcctgttac tacactgccg aatcattgag 180  
 15 gctgaccac aaacttcaat aaccctgtat tcgatgctat tacagctgaa ttttgaaatg 240  
 gcggccatgc gcggctgttg gctggcgctg gatgaactgc acaacgtgcg tttatgtttt 300  
 cagcagtcgc tggagcatct ggatgaagca agttttagcg atatcgtag cggcttcac 360  
 gaacatgctg cagaagtgcg tgagtatata gcgcaattag acgagagtag cgcggcataa 420

20

<210> 10

<211> 139

<212> PRT

25 <213> *Erwinia amylovora*

<400> 10

30

Met Thr Ser Ser Gln Gln Arg Val Glu Arg Phe Leu Gln Tyr Phe Ser  
 1 5 10 15

35

Ala Gly Cys Lys Thr Pro Ile His Leu Lys Asp Gly Val Cys Ala Leu  
 20 25 30

40

Tyr Asn Glu Gln Asp Glu Glu Ala Ala Val Leu Glu Val Pro Gln His  
 35 40 45

45

Ser Asp Ser Leu Leu Leu His Cys Arg Ile Ile Glu Ala Asp Pro Gln  
 50 55 60

50

Thr Ser Ile Thr Leu Tyr Ser Met Leu Leu Gln Leu Asn Phe Glu Met  
 65 70 75 80

55

Ala Ala Met Arg Gly Cys Trp Leu Ala Leu Asp Glu Leu His Asn Val  
 85 90 95

60

Arg Leu Cys Phe Gln Gln Ser Leu Glu His Leu Asp Glu Ala Ser Phe  
 100 105 110

65

Ser Asp Ile Val Ser Gly Phe Ile Glu His Ala Ala Glu Val Arg Glu  
 115 120 125

Tyr Ile Ala Gln Leu Asp Glu Ser Ser Ala Ala  
 130 135

ES 2 332 484 T3

<210> 11

<211> 341

<212> PRT

5 <213> *Pseudomonas syringae*

<400> 11

10           Met Gln Ser Leu Ser Leu Asn Ser Ser Ser Leu Gln Thr Pro Ala Met  
              1                           5                           10                           15

15           Ala Leu Val Leu Val Arg Pro Glu Ala Glu Thr Thr Gly Ser Thr Ser  
                                  20                           25                           30

20           Ser Lys Ala Leu Gln Glu Val Val Val Lys Leu Ala Glu Glu Leu Met  
                                  35                           40                           45

25           Arg Asn Gly Gln Leu Asp Asp Ser Ser Pro Leu Gly Lys Leu Leu Ala  
                                  50                           55                           60

30           Lys Ser Met Ala Ala Asp Gly Lys Ala Gly Gly Gly Ile Glu Asp Val  
                                  65                           70                           75                           80

35           Ile Ala Ala Leu Asp Lys Leu Ile His Glu Lys Leu Gly Asp Asn Phe  
                                  85                           90                           95

40           Gly Ala Ser Ala Asp Ser Ala Ser Gly Thr Gly Gln Gln Asp Leu Met  
                                  100                           105                           110

45           Thr Gln Val Leu Asn Gly Leu Ala Lys Ser Met Leu Asp Asp Leu Leu  
                                  115                           120                           125

50           Thr Lys Gln Asp Gly Gly Thr Ser Phe Ser Glu Asp Asp Met Pro Met  
                                  130                           135                           140

55           Leu Asn Lys Ile Ala Gln Phe Met Asp Asp Asn Pro Ala Gln Phe Pro  
                                  145                           150                           155                           160

60           Lys Pro Asp Ser Gly Ser Trp Val Asn Glu Leu Lys Glu Asp Asn Phe  
                                  165                           170                           175

65           Leu Asp Gly Asp Glu Thr Ala Ala Phe Arg Ser Ala Leu Asp Ile Ile  
                                  180                           185                           190

              Gly Gln Gln Leu Gly Asn Gln Gln Ser Asp Ala Gly Ser Leu Ala Gly

ES 2 332 484 T3

		195		200		205													
5	Thr	Gly	Gly	Gly	Leu	Gly	Thr	Pro	Ser	Ser	Phe	Ser	Asn	Asn	Ser	Ser			
		210					215					220							
10	Val	Met	Gly	Asp	Pro	Leu	Ile	Asp	Ala	Asn	Thr	Gly	Pro	Gly	Asp	Ser			
		225				230					235					240			
15	Gly	Asn	Thr	Arg	Gly	Glu	Ala	Gly	Gln	Leu	Ile	Gly	Glu	Leu	Ile	Asp			
					245					250					255				
20	Arg	Gly	Leu	Gln	Ser	Val	Leu	Ala	Gly	Gly	Gly	Leu	Gly	Thr	Pro	Val			
				260					265						270				
25	Asn	Thr	Pro	Gln	Thr	Gly	Thr	Ser	Ala	Asn	Gly	Gly	Gln	Ser	Ala	Gln			
			275					280					285						
30	Asp	Leu	Asp	Gln	Leu	Leu	Gly	Gly	Leu	Leu	Leu	Lys	Gly	Leu	Glu	Ala			
		290					295					300							
35	Thr	Leu	Lys	Asp	Ala	Gly	Gln	Thr	Gly	Thr	Asp	Val	Gln	Ser	Ser	Ala			
		305				310					315					320			
40	Ala	Gln	Ile	Ala	Thr	Leu	Leu	Val	Ser	Thr	Leu	Leu	Gln	Gly	Thr	Arg			
					325					330					335				
45	Asn	Gln	Ala	Ala	Ala														
				340															

40 <210> 12  
 <211> 1026  
 <212> ADN  
 <213> *Pseudomonas syringae*

45 <400> 12

```

atgcagagtc tcagttctaa cagcagctcg ctgcaaacc cggcaatggc ccttgctctg 60
gtacgtcctg aagccgagac gactggcagt acgtcgagca aggcgcttca ggaagttgtc 120
gtgaagctgg ccgaggaact gatgcgcaat ggtcaactcg acgacagctc gccattggga 180
aaactgttgg ccaagtcgat ggccgcagat ggcaaggcgg gcggcggtat tgaggatgtc 240
atcgctgcgc tggacaagct gatccatgaa aagctcgggtg acaacttcgg cgcgtctgcg 300
gacagcgctt cgggtaccgg acagcaggac ctgatgactc aggtgctcaa tggcctggcc 360
aagtcgatgc tcgatgatct tctgaccaag caggatggcg ggacaagctt ctccgaagac 420
gatatgccga tgctgaacaa gatcgcgcag ttcattgatg acaatcccgc acagtttccc 480
aagccggact cgggtcctcg ggtgaacgaa ctcaaggaag acaacttcct tgatggcgac 540
gaaacggctg cgttccgctc ggcactcgac atcattggcc agcaactggg taatcagcag 600
agtgacgctg gcagtctggc agggacgggt ggaggtctgg gcaactccgag cagtttttcc 660
aacaactcgt ccgtgatggg tgatccgctg atcgacgcca ataccggtcc cggtgacagc 720
  
```

65

ES 2 332 484 T3

5  
 ggcaataccc gtggtgaage ggggcaactg atcggcgagc ttatcgaccg tggcctgcaa 780  
 tcggtattgg ccggtggtgg actgggcaca cccgtaaaca ccccgagac cggtaoactg 840  
 gcgaatggcg gacagtccgc tcaggatcct gatcagttgc tggggggctt gctgctcaag 900  
 ggccctggagg caacgctcaa ggatgccggg caaacaggca ccgacgtgca gtcgagcgc 960  
 gcgcaaactc ccaccttgct ggtcagtagc ctgctgcaag gcacccgcaa tcaggctgca 1020  
 gcctga 1026

10

<210> 13

<211> 1729

<212> ADN

15

<213> *Pseudomonas syringae*

<400> 13

20

tccacttcgc tgatthtgaa attggcagat tcatagaaac gttcaggtgt ggaaatcagg 60  
 ctgagtgcgc agatthtogg gataaggggtg tggtaactgg cattgttgg catttcaagg 120  
 cctctgagtg cgggtgcggag caataccagt cttcctgctg gcgtgtgcac actgagtcgc 180  
 25 aggcataagg atttcagttc cttgctgttg ttgggcatat aaaaaaagga actthtataa 240  
 acagtgcaat gagatgccgg caaaacggga accggctcgt gcgctttgcc actcacttcg 300  
 agcaagctca accccaaaca tccacatccc tatcgaacgg acagcgatac ggccacttgc 360  
 tctggtaaac cctggagctg gcgtcggctc aattgcccac ttagcgaggt aacgcagcat 420  
 30 gagcactggc atcacacccc ggccgcaaca gaccaccacg ccaactcgatt tttcggcgt 480  
 aagcggcaag agtcctcaac caaacacggt cggcgagcag aacactcagc aagcgatcga 540  
 cccgagtgca ctgttgcttc gcagcgacac acagaaagac gtcaacttcg gcacgcccga 600  
 cagcaccgtc cagaatccgc aggcagccag caagcccaac gacagccagt ccaacatcgc 660  
 35 taaattgatc agtgcattga tcatgtcgtt gctgcagatg ctaccaact ccaataaaaa 720  
 gcaggacacc aatcaggaac agcctgatag ccaggctcct ttccagaaca acggcgggct 780  
 cggtaacacc tcggccgata gcggggggcg cggtaacacc gatgcgacag gtggcggcgg 840  
 cggtgatacg ccaagcgcaa caggcgggtg cggcgggtgat actccgaccg caacaggcgg 900  
 40 tggcggcagc ggtggcggcg gcacacccac tgcaacagggt ggcggcagcg gtggcacacc 960  
 cactgcaaca ggcgggtggcg aggggtggcgt aacaccgcaa atcactccgc agttggccaa 1020  
 ccctaaccgt acctcaggta ctggctcggg gtcggacacc gcaggttcta ccgagcaagc 1080  
 45 cggcaagatc aatgtggtga aagacaccat caaggctcgg gctggcgaag tctttgacgg 1140  
 ccacggcgcga accttactg ccgacaaatc tatgggtaac ggagaccagg gcgaaaatca 1200  
 gaagcccatg ttcgagctgg ctgaaggcgc tacgttgaag aatgtgaacc tgggtgagaa 1260  
 cgaggtcgat ggcattccag tgaaagccaa aaacgctcag gaagtcacca ttgacaacgt 1320  
 50 gcatgccagc aacgtcgggt aagacctgat tacggtaaaa ggcgagggag gcgagcgggt 1380  
 cactaatctg aacatcaaga acagcagtg ccaagggtgca gacgacaagg ttgtccagct 1440  
 caacgccaac actcacttga aaatcgacaa cttcaaggcc gacgatttcg gcacgatgg 1500  
 tcgcaccaac ggtggcaagc agtttgatga catgagcacc gagctgaacg gcacgaaagc 1560  
 55 taaccacggc aagttcgccc tgggtgaaaag cgacagtgac gatctgaagc tggcaacggg 1620  
 caacatcggc atgaccgagc tcaaacacgc ctacgataaa acccaggcat cgacccaaca 1680  
 caccgagctt tgaatccaga caagtagctt gaaaaaaggg ggtggactc 1729

60

<210> 14

<211> 424

<212> PRT

65

<213> *Pseudomonas syringae*

ES 2 332 484 T3

<400> 14

5 Met Ser Ile Gly Ile Thr Pro Arg Pro Gln Gln Thr Thr Thr Pro Leu  
 1 5 10 15  
 10 Asp Phe Ser Ala Leu Ser Gly Lys Ser Pro Gln Pro Asn Thr Phe Gly  
 20 25 30  
 15 Glu Gln Asn Thr Gln Gln Ala Ile Asp Pro Ser Ala Leu Leu Phe Gly  
 35 40 45  
 20 Ser Asp Thr Gln Lys Asp Val Asn Phe Gly Thr Pro Asp Ser Thr Val  
 50 55 60  
 25 Gln Asn Pro Gln Asp Ala Ser Lys Pro Asn Asp Ser Gln Ser Asn Ile  
 65 70 75 80  
 30 Ala Lys Leu Ile Ser Ala Leu Ile Met Ser Leu Leu Gln Met Leu Thr  
 85 90 95  
 35 Asn Ser Asn Lys Lys Gln Asp Thr Asn Gln Glu Gln Pro Asp Ser Gln  
 100 105 110  
 40 Ala Pro Phe Gln Asn Asn Gly Gly Leu Gly Thr Pro Ser Ala Asp Ser  
 115 120 125  
 45 Gly Gly Gly Gly Thr Pro Asp Ala Thr Gly Gly Gly Gly Gly Asp Thr  
 130 135 140  
 50 Pro Ser Ala Thr Gly Gly Gly Gly Gly Asp Thr Pro Thr Ala Thr Gly  
 145 150 155 160  
 55 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Pro Thr Ala Thr Gly Gly Gly  
 165 170 175  
 60 Ser Gly Gly Thr Pro Thr Ala Thr Gly Gly Gly Glu Gly Gly Val Thr  
 180 185 190  
 65 Pro Gln Ile Thr Pro Gln Leu Ala Asn Pro Asn Arg Thr Ser Gly Thr  
 195 200 205  
 70 Gly Ser Val Ser Asp Thr Ala Gly Ser Thr Glu Gln Ala Gly Lys Ile  
 210 215 220  
 75 Asn Val Val Lys Asp Thr Ile Lys Val Gly Ala Gly Glu Val Phe Asp  
 225 230 235 240  
 80 Gly His Gly Ala Thr Phe Thr Ala Asp Lys Ser Met Gly Asn Gly Asp  
 245 250 255

ES 2 332 484 T3

Gln Gly Glu Asn Gln Lys Pro Met Phe Glu Leu Ala Glu Gly Ala Thr  
 260 265 270  
 5 Met Ser Val Gly Asn Ile Gln Ser Pro Ser Asn Leu Pro Gly Leu Gln  
 1 5 10 15  
 10 Asn Leu Asn Leu Asn Thr Asn Thr Asn Ser Gln Gln Ser Gly Gln Ser  
 20 25 30  
 15 Val Gln Asp Leu Ile Lys Gln Val Glu Lys Asp Ile Leu Asn Ile Ile  
 305 310 315 320  
 20 Val Thr Asn Leu Asn Ile Lys Asn Ser Ser Ala Lys Gly Ala Asp Asp  
 325 330 335  
 25 Lys Val Val Gln Leu Asn Ala Asn Thr His Leu Lys Ile Asp Asn Phe  
 340 345 350  
 30 Lys Ala Asp Asp Phe Gly Thr Met Val Arg Thr Asn Gly Gly Lys Gln  
 355 360 365  
 35 Phe Asp Asp Met Ser Ile Glu Leu Asn Gly Ile Glu Ala Asn His Gly  
 370 375 380  
 40 Lys Phe Ala Leu Val Lys Ser Asp Ser Asp Asp Leu Lys Leu Ala Thr  
 385 390 395 400  
 45 Gly Asn Ile Ala Met Thr Asp Val Lys His Ala Tyr Asp Lys Thr Gln  
 405 410 415  
 50 Ala Ser Thr Gln His Thr Glu Leu  
 420

<210> 15

45 <211> 344

<212> PRT

<213> *Pseudomonas solanacearum*

50 <400> 15

Met Ser Val Gly Asn Ile Gln Ser Pro Ser Asn Leu Pro Gly Leu Gln  
 1 5 10 15  
 55 Asn Leu Asn Leu Asn Thr Asn Thr Asn Ser Gln Gln Ser Gly Gln Ser  
 20 25 30  
 60 Val Gln Asp Leu Ile Lys Gln Val Glu Lys Asp Ile Leu Asn Ile Ile

65



ES 2 332 484 T3

290

295

300

5 Gly Gln Asn Asn Leu Gln Ser Gln Ile Met Asp Val Val Lys Glu Val  
305 310 315 320

10 Val Gln Ile Leu Gln Gln Met Leu Ala Ala Gln Asn Gly Gly Ser Gln  
325 330 335

Gln Ser Thr Ser Thr Gln Pro Met  
340

15 <210> 16

<211> 1035

<212> ADN

20 <213> *Pseudomonas solanacearum*

<400> 16

25 atgtcagtcg gaaacatcca gagcccgtcg aacctcccgg gtctgcagaa cctgaacctc 60  
aacaccaaca ccaacagcca gcaatcgggc cagtccgtgc aagacctgat caagcaggtc 120  
gagaaggaca tcctcaacat catcgcagcc ctctgtgcaga aggccgcaca gtcggcgggc 180  
ggcaacaccg gtaacaccgg caacgcgccg gcgaaggacg gcaatgccaa cgcggggcgc 240  
30 aacgacccga gcaagaacga cccgagcaag agccaggctc cgcagtcggc caacaagacc 300  
ggcaacgtcg acgacgccaa caaccaggat ccgatgcaag cgctgatgca gctgctggaa 360  
gacctggtga agctgctgaa ggcgccctg cacatgcagc agcccggcgg caatgacaag 420  
ggcaacggcg tggcggtgca caacggcgcc aagggtgccc gcggccaggg cggcctggcc 480  
35 gaagcgctgc aggagatcga gcagatcctc gccagctcg gcggcggcgg tgctggcgcc 540  
ggcgccggcg gtggcggtgt cggcggtgct ggtggcgcg atggcggtc cgggtcggggt 600  
ggcgcaggcg gtgcgaacgg cgccgacggc ggcaatggcg tgaacggcaa ccaggcgaac 660  
ggcccgcaga acgcaggcga tgtcaacggt gccaacggcg cggatgacgg cagcgaagac 720  
40 cagggcggcc tcaccggcgt gctgcaaaag ctgatgaaga tcctgaacgc gctggtgcag 780  
atgatgcagc aaggcggcct cggcgggcggc aaccaggcgc agggcggtc gaagggtgcc 840  
ggcaacgcct cgccggcttc cggcgcggaac ccgggcgcga accagcccgg ttcggcggat 900  
45 gatcaatcgt ccggccagaa caatctgcaa tcccagatca tggatgtggt gaaggaggtc 960  
gtccagatcc tgcagcagat gctggcggcg cagaacggcg gcagccagca gtccacctcg 1020  
acgcagccga tgtaa 1035

50 <210> 17

<211> 26

<212> PRT

55 <213> *Xanthomonas campestris pv. glycines*

<400> 17

60 Thr Leu Ile Glu Leu Met Ile Val Val Ala Ile Ile Ala Ile Leu Ala  
1 5 10 15

Ala Ile Ala Leu Pro Ala Tyr Gln Asp Tyr  
20 25

65 <210> 18

<211> 20

ES 2 332 484 T3

<212> PRT

<213> *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii*

5 <400> 18

**Ser Ser Gln Gln Ser Pro Ser Ala Gly Ser Glu Gln Gln Leu Asp Gln**  
**1 5 10 15**

10

**Leu Leu Ala Met**  
**20**

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65