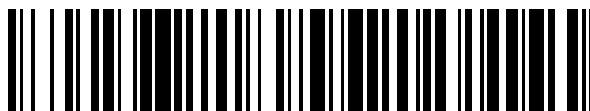


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 873 842**

51 Int. Cl.:

A01N 63/23 (2010.01)

A01P 21/00 (2006.01)

A01H 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.03.2014 PCT/US2014/030726**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14145883**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2014 E 14765307 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.05.2021 EP 2970867**

54 Título: **Bacterias promotoras del crecimiento vegetal y métodos de uso**

30 Prioridad:

15.03.2013 US 201361790476 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

04.11.2021

73 Titular/es:

**SPOGEN BIOTECH INC. (100.0%)
1601 South Providence Road, Suite 120
Columbia, Missouri 65211, US**

72 Inventor/es:

**THOMPSON, BRIAN;
THOMPSON, KATIE y
ANGLE, BRITTANY**

74 Agente/Representante:

SÁNCHEZ SILVA, Jesús Eladio

ES 2 873 842 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

Bacterias promotoras del crecimiento vegetal y métodos de uso

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere generalmente a cultivos bacteriológicos bacteriológicamente puros de nuevas cepas de bacterias promotoras del crecimiento vegetal, e inóculos que comprenden las mismas. La invención también está dirigida a semillas de plantas recubiertas con los inóculos, kits que comprenden los inóculos y métodos para estimular el crecimiento vegetal mediante el uso de los cultivos y/o inóculos bacterianos reivindicados.

Antecedentes de la invención

Las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) están asociadas con muchas, si no todas, las especies de plantas y comúnmente están presentes en muchos ambientes. El grupo de PGPB más ampliamente estudiado son las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), que colonizan las superficies de las raíces y la interfaz del suelo muy adherida, la rizosfera. Dentro de la rizosfera hay una zona donde las bacterias, hongos y otros organismos compiten por los nutrientes y por unirse a las estructuras de las raíces de la planta. Tanto las bacterias perjudiciales como las beneficiosas pueden ocupar las raíces de la planta. La presencia de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) dentro o cerca de las raíces o semillas puede conducir a un ambiente de rizosfera más saludable y plantas más saludables. Estas bacterias de vida libre promueven el crecimiento vegetal en cultivos agrícolas y conducen a un mayor crecimiento y rendimiento en la cosecha. Las bacterias que colonizan las raíces y mantienen sus beneficios durante todo el ciclo de crecimiento vegetal son especialmente deseables para su aplicación durante el crecimiento temprano o como agente de recubrimiento de semillas en cultivos agrícolas.

Los mecanismos que usan las PGPB para promover el crecimiento vegetal son diversos y, a menudo, específicos de la planta o el cultivo. Se conocen varios mecanismos promotores del crecimiento de PGPB, que pueden influir en la planta de forma directa o indirecta. El mecanismo directo implica aumentar el crecimiento vegetal al suministrarle nutrientes y hormonas, por ejemplo, al fijar el nitrógeno que está disponible para las plantas, sintetizar fitohormonas y proporcionar nutrientes como el fosfato a la planta. El mecanismo de acción indirecto de PGPB se produce a través de la capacidad de controlar los patógenos fúngicos y bacterianos perjudiciales para que no se establezcan o sobrevivan dentro de la rizosfera. Esto generalmente se logra a través de la secreción beneficiosa de antifúngicos y otros antibióticos por parte de la PGPB. Como ventaja adicional, las PGPB también pueden conducir a una remodelación extensa de los sistemas de raíces de las plantas.

En los últimos años, se ha expandido un esfuerzo significativo para identificar nuevas cepas de bacterias promotoras del crecimiento vegetal y usarlas para promover el crecimiento vegetal, aumentando así el rendimiento de productos vegetales, reduciendo el uso y las cantidades de fertilizantes y herbicidas, y proporcionando otros beneficios para las comunidades agrícolas y hortícolas.

López-Bucio y otros, 2007 Mol Plant Microbe Interact describe que las rizobacterias de *Bacillus megaterium* promueven el crecimiento y alteran la arquitectura del sistema de raíces a través de un mecanismo de señalización independiente de auxina y etileno en *Arabidopsis thaliana*.

Raddadi y otros, 2008 Annals of Microbiology analiza el cribado de los rasgos promotores del crecimiento vegetal de *Bacillus thuringiensis*.

Freitas y otros, 1997 Biology and Fertility of Soils describe que las rizobacterias solubilizantes de fosfato mejoran el crecimiento y el rendimiento, pero no la absorción de fósforo de la canola (*Brassica napus* L.).

Selvakumar y otros, 2008 Curr Microbiol analiza el aislamiento y caracterización de bacterias promotoras del crecimiento vegetal no rizobianas de los nódulos de Kudzu (*Pueraria thunbergiana*) y su efecto sobre el crecimiento de las plántulas de trigo.

55 Resumen de la invención

La invención está definida por las reivindicaciones y proporciona:

un inóculo para su aplicación a plantas, semillas de plantas o un medio de crecimiento vegetal, en donde el inóculo comprende un portador agrícola aceptable y una cantidad efectiva de un cultivo bacteriano biológicamente puro, en donde la bacteria en el cultivo bacteriano es la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924);

un método para estimular el crecimiento vegetal que comprende aplicar el inóculo de la invención a una planta, semilla de planta o medio de crecimiento vegetal;

65 una semilla de planta recubierta con el inóculo de la invención; y

un kit para estimular el crecimiento vegetal que comprende un inóculo de la invención e instrucciones para aplicar el inóculo a plantas, semillas de plantas o un medio de crecimiento vegetal.

5 También se describe un cultivo bacteriano biológicamente puro en donde las bacterias del cultivo bacteriano son: (a) cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* (NRRL No. B-50819); (b) cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* (NRRL No. B-50817); (c) cepa BT054 de *Bacillus flexus* (NRRL No. B-50816); (d) cepa NC35 de *Paracoccus kondralievae* (NRRL No. B-50820); (e) cepa BT155 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50921); (f) cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* (NRRL No. B-50822); (g) cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* (NRRL No. B-50821); (h) cepa EE118 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50918); (i) cepa EE148 de *Bacillus subtilis* (NRRL No. B-50927); (j) cepa EE107 de *Alcaligenes faecalis* (NRRL No. B-50920); (k) cepa EE141 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50916); (l) cepa BT46-3 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50922); (m) cepa EE128 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* (NRRL No. B-50917); (n) cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924); (o) cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis* (NRRL No. B-50923); (p) cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* (NRRL No. B-50928); (q) cepa EE218 de *Bacillus subtilis* (NRRL No. B-50926); (r) cepa EE281 de *Bacillus megaterium* (NRRL No. B-50925); (s) NC35 de *Paracoccus* sp. tolerante a la sal y resistente al tiram; (t) cepa BT155 de *Bacillus mycoides* tolerante a la sal y resistente al tiram; (u) *Bacillus aryabhatai* CAP53 resistente al tiram; (v) *Bacillus thuringiensis* BT013A resistente al tiram; o (w) *Bacillus aryabhatai* CAP53 tolerante al glifosato.

20 También se describen cultivos bacterianos biológicamente puros en donde las bacterias de los cultivos bacterianos son mutantes de cualquiera de las cepas anteriores que comprenden una o más mutaciones que conservan la capacidad de promover el crecimiento vegetal.

25 La presente descripción también se dirige a un inóculo para su aplicación a plantas, semillas de plantas o un medio de crecimiento vegetal, en donde el inóculo comprende una cantidad efectiva de un cultivo bacteriano biológicamente puro descrito en la presente descripción y un portador agrícola aceptable. En la invención, el cultivo bacteriano biológicamente puro es un cultivo de la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924).

30 También se describe un método para estimular el crecimiento vegetal aplicando el cultivo bacteriano biológicamente puro o el inóculo como se describe en la presente descripción a una planta, semilla de planta o medio de crecimiento vegetal.

35 También se describe un método para estimular el crecimiento vegetal mediante la aplicación de glicerol, piruvato, extracto de levadura, un poliol (por ejemplo, manitol, sorbitol, galactitol, fucitol, iditol, inositol, arabitol, xilitol, ribitol), polietilenglicol o una combinación de los mismos para un medio de crecimiento vegetal, y la aplicación de al menos un cultivo bacteriano o al menos un inóculo a una planta o semilla de planta en el medio de crecimiento vegetal, o al medio de crecimiento vegetal, en donde al menos un cultivo bacteriano o al menos un inóculo es capaz de estimular el crecimiento vegetal.

40 También se describe una semilla de planta recubierta con el inóculo o con el cultivo bacteriano descrito en la presente descripción.

45 Otro aspecto más de la presente invención es un kit para estimular el crecimiento vegetal que comprende un inóculo descrito en la presente descripción e instrucciones para aplicar el inóculo a plantas, semillas de plantas o un medio de crecimiento vegetal.

Otros objetos y características serán en parte evidentes y en parte se señalarán a continuación.

50 Definiciones

Un "cultivo bacteriano biológicamente puro" se refiere a un cultivo de bacterias que no contiene ninguna otra especie bacteriana en cantidades suficientes para interferir con la replicación del cultivo o ser detectado por técnicas bacteriológicas normales. Dicho de otra manera, es un cultivo en donde prácticamente todas las células bacterianas presentes son de la cepa seleccionada.

55 El término "rizosfera" se usa indistintamente con "zona de raíces" para denotar ese segmento del suelo que rodea las raíces de una planta y está influenciado por ellas.

60 El término "inoculante" como se describe en esta invención se define en varias regulaciones federales o estatales como (1) "los inoculantes de suelo o plantas incluirán cualquier portador o cultivo de un microorganismo específico o mezcla de microorganismos representados para mejorar el suelo o el crecimiento, la calidad o el rendimiento de las plantas, y también incluirá cualquier semilla o fertilizante que se represente para ser inoculado con dicho cultivo "(Ley Consolidada 10-A del Estado de Nueva York); (2) "sustancias distintas de los fertilizantes, fabricadas, vendidas o representadas para su uso en la mejora de la condición física del suelo o para ayudar al crecimiento vegetal o al rendimiento de los cultivos" (Ley de Fertilizantes de Canadá); (3) "una formulación que contiene mezclas puras o predeterminadas de bacterias vivas, hongos o partículas de virus para el tratamiento de semillas, plántulas u otro

material de propagación de plantas con el fin de mejorar la capacidad de crecimiento o la resistencia a enfermedades o alterar de otro modo las propiedades de la eventual plantas o cultivos "(Grupo de trabajo europeo ad hoc, 1997) o (4)" significa cualquier sustancia química o biológica o mezcla de sustancias o dispositivo distribuido en este estado para ser aplicado al suelo, plantas o semillas con fines correctivos del suelo; o que está destinado a mejorar la germinación, el crecimiento, la calidad, el rendimiento, la calidad del producto, la reproducción, el sabor u otras características deseables de las plantas o que está destinado a producir cualquier cambio químico, bioquímico, biológico o físico en el suelo "(Sección 14513 de la Ley de Alimentos de California y Código de Agricultura).

El término "cantidad efectiva" se refiere a una cantidad que es suficiente para dar como resultado un aumento estadísticamente significativo del crecimiento y/o del rendimiento de proteínas y/o del rendimiento de grano de una planta en comparación con el crecimiento, el rendimiento de proteínas y el rendimiento de grano de la planta tratada de control.

Los términos "portador agrícolamente aceptable" y "portador" se usan indistintamente en la presente descripción.

Los términos "promover el crecimiento vegetal" y "estimular el crecimiento vegetal" se usan indistintamente en la presente descripción y se refieren a la capacidad de mejorar o aumentar al menos una entre: la altura, el peso, el tamaño de la hoja, el tamaño de la raíz o el tamaño del tallo de la planta para aumentar el rendimiento de proteína de la planta o para aumentar el rendimiento de grano de la planta.

Descripción detallada

En la presente descripción se describen cultivos bacterianos biológicamente puros de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPB) en donde las bacterias, es decir, la cepa bacteriana en cada uno de los cultivos bacterianos, se seleccionan del grupo que consiste en (a) cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* (NRRL No. B-50819), (b) cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* (NRRL No. B-50817), (c) cepa BT054 de *Bacillus flexus* (NRRL No. B-50816), (d) cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* (NRRL No. B-50820), (e) cepa BT155 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50921), (f) cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* (NRRL No. B-50822), (g) cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* (NRRL No. B-50821), (h) cepa EE118 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50918), (i) cepa EE148 de *Bacillus subtilis* (NRRL No. B-50927), (j) cepa EE107 de *Alcaligenes faecalis* (NRRL No. B-50920), (k) cepa EE141 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50916), (l) cepa BT46-3 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50922), (m) cepa EE128 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* (NRRL No. B-50917), (n) cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924), (o) cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis* (NRRL No. B-50923), (p) cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* (NRRL No. B-50928), (q) cepa EE218 de *Bacillus subtilis* (NRRL No. B-50926), (r) cepa EE281 de *Bacillus megaterium* (NRRL No. B-50925), (s) NC35 de *Paracoccus sp.* tolerante a la sal y resistente al tiram (NRRL No. B-50948), (t) cepa BT155 de *Bacillus mycoides* resistente a la sal y resistente al tiram (NRRL No. B-50949), (u) *Bacillus aryabhatai* CAP53 resistente a la sal (NRRL No. B-50946), (v) *Bacillus thuringiensis* BT013A resistente al tiram (NRRL No. B-50947), o (w) *Bacillus aryabhatai* CAP53 tolerante al glifosato (NRRL No. B-50945).

Las cepas anteriores (a) - (d) y (f) - (g) se depositaron en el Servicio de Investigación Agrícola (ARS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), con la dirección 1815 North University Street, Peoria, Illinois 61604 EE. UU., el 11 de marzo de 2013, y se identifican con los números NRRL entre paréntesis. Las cepas (e) y (h) - (r) se depositaron en el Servicio de Investigación Agrícola (ARS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) el 10 de marzo de 2014 y también se identifican mediante los números NRRL entre paréntesis. Las cepas (s) - (w) se depositaron en el Servicio de Investigación Agrícola (ARS) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) el 17 de marzo de 2014 y también se identifican mediante los números NRRL entre paréntesis.

Como se muestra en los Ejemplos y Ejemplos Comparativos, las presentes cepas se aislaron de las rizosferas de varias plantas vigorosas y se demostró que eran las más prometedoras entre un gran número de aislamientos mediante cultivo *in vitro* y aplicación a plantas. Las nuevas cepas descritas en la presente descripción se identificaron mediante secuenciación de ARN 16S y ensayos bioquímicos. Por lo tanto, la cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 1, la cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 2; la cepa BT054 de *Bacillus flexus* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 3; la cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 4; la cepa BT155 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50921) tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 21; La cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 5; la cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* tiene una

5 secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 6; la cepa EE118 de *Bacillus mycooides* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 10; la cepa EE148 de *Bacillus subtilis* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 11; la cepa EE107 de *Alcaligenes faecalis* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 12; La cepa EE141 de *Bacillus mycooides* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 13; la cepa BT46-3 de *Bacillus mycooides* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 14; la cepa EE128 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*, tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 15; la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 16; la cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 17; la cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 18; la cepa EE218 de *Bacillus subtilis* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 19; y la cepa EE281 de *Bacillus megaterium* tiene una secuencia de ARN ribosómico 16S que tiene al menos aproximadamente 98 %, al menos aproximadamente 99 % o 100 % de identidad de secuencia con la secuencia de SEQ ID NO: 20. Estas secuencias se muestran en la Tabla 1 más abajo.

TABLA 1

Cepa (SEQ ID. NO)	Secuencia parcial de ARN ribosómico 16S
<i>Bacillus aryabhattai</i> CAP53 (SEQ ID NO: 1)	GGNNCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTA AAAACT CTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACGAGAGTAACTGCTCGTACCTT GACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC CGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCG TAAAGCGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCAC GGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCA GAAGAGAAAAGCGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAG ATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTTTTTGGTCTGTAAAC TGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAC CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGG TTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCCTG GGGAGTACGGTCCGCAAGACTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC CCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCAAGCAACGCGAA GAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACTCTAGAGATAGAG CGTTCCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGT CAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCACAACG
<i>Bacillus aryabhattai</i> CAP56 (SEQ ID NO: 2)	TCTGANNGNNCACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTA AAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACGAGAGTAACTGCTCGT ACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCA GCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATT GGGCGTAAAGCGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAG CCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGGA GTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCG TAGAGATGTGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTTTTTGGTCT GTAAGTACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTA GATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTA GAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCC GCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAACTCAAAGGAATTGAC GGGGCCCCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCAAGCAAC GCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACTCTAGAGA TAGAGCGTTCCCCTTCGGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGT TGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCAGC

(Continuación)

Cepa (SEQ ID. NO)	Secuencia parcial de ARN ribosómico 16S
<p>5</p> <p><i>Bacillus flexus</i> BT054 (SEQ ID NO: 3)</p> <p>10</p> <p>15</p> <p>20</p>	<p>GGANCAACGCCGCGTGAGTGANGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAAC CTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACAAGAGTAACTGCTTGTACCTG ACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC GCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGT AAAGCGCGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCACG GCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGGAACCTGAGTGCAG AAGAGAAAAGCGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGA TGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTTTTGGTCTGTAAC GACGCTGAGGCGGAAAGCGTGGGAGCAAACAGGATTAGATAC CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGAGGG TTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTG GGGAGTACGGTTCGCAAGACTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAA GAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCTAGAGATAGAG CGTTCCCTTCGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGT CAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAAC</p>
<p>25</p> <p><i>Paracoccus kondratievae</i> NC35 (SEQ ID NO: 4)</p> <p>30</p> <p>35</p>	<p>GCCGCGTGAGTGNNNAAGNCCCTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCANC TGGGAAGATAATGACTGTACCAGCAGAAGAAGCCCCGGCTAACTC CGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGGAGGGGGCTAGCGTTGTTCCGG AATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGACCGGAAAGTTGGGG GTGAAATCCCGGGGCTCAACCCCGGAACTGCCTTCAAACTATCG GTCTGGAGTTCGAGAGAGGTGAGTGGAATCCGAGTGTAGAGGTG AAATTCGTAGATAATTCGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCA CTGGCTCGATACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAAC AGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATGCCA GTCGTCCGGGAGCATGCTGTTCCGGTGACACACCTAACCGGTTAAG CATTCCGCCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGATTAAGTCAAAGGAA TTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGA AGCAACGCGCAGAACCTTACCAACCCTTGACATCCCAGGACAGCC CGAGAGATCGGGTCTCCACTTCGGTGGCCTGGAGACAGGTGCTGC ATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTCCGGTTAAGTCCGGC</p>
<p>40</p> <p><i>Enterobacter cloacae</i> CAP12 (SEQ ID NO: 5)</p> <p>45</p> <p>50</p> <p>55</p> <p>60</p> <p>65</p>	<p>CTGNNGCAGCCNTGCCGCGTGTATGAAGAAGGNCTTCGGGTTGTA AAGTACTTTCAGCGGGGAGGAAGGTGTTGTGGTTAATAACCACAG CAATTGACGTTACCCGAGAAAGAAGCACCAGGCTAACTCCGTGCCA GCAGCCGCGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAATTACT GGGCGTAAAGCGCACGAGGCGGTCTGTCAAGTCCGATGTGAAAT CCCCAGGCTCAACCTGGGAACTGCATTGAAACTGGCAGGCTAGA GTCTTGTAGAGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCG TAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACA AAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTA GATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGATTTGGAGGTTG TGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAATCGACCGC CTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGG GGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGC GAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAACTTCCAGAGATG GATTGGTGCCTTCGGGAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTGC TCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACNANNCGC AAC</p>

(Continuación)

Cepa (SEQ ID. NO)	Secuencia parcial de ARN ribosómico 16S
5 Bacillus nealsonii BOBA57 (SEQ ID NO: 6)	TGNNGGANCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAA AACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACGAGAGTAACTGCTCGTA CCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAG CAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTG GGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTCTTTAAGTCTGATGTGAAAGC CCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTGAG 10 TGCAGAAGAGAAGAGTGGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGT AGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTTTGGTCTG TAACTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAG ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAG 15 AGGGTTTTCCGCCCTTTAGTGCTGCAGCAAACGCATTAAGCACTCCG CCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGG GGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACG CGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTCCTGACAATCCTAGAGAT 20 GTGACGTTCCCCTTCGGGGGACAGGATGACAGGTGGTGCATGGTT GTCGTACGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGC
25 Bacillus mycoides EE118 (SEQ ID NO: 10)	GGAGCACGCCGCGTGAGTGNNGAAGGCTTTTCGGGTCGTAAAACCTC TGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTT GACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC CGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCG 30 TAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCAC GGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCA GAAGAGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAG ATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAC TGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAC CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGG TTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTG GGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGG 35 CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGA AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAAAACCTCTAGAGATAGA GCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTG AGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGC
40 Bacillus subtilis EE148 (SEQ ID NO: 11)	CGCCGCGTGAGTGATGAAGGTTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTT AGGGAAGAACAAGTGCCGTTCAAATAGGGCGGCACCTTGACGGTA CCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTA ATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGGG 45 CTCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAAC CGGGGAGGGTCAATTGGAAACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGG AGAGTGGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGA GGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTCTGTAACCTGACGCT GAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGT AGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTTCCG 50 CCCCTTAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGT ACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGGCCCCCAC AAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCT TACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAATCCTAGAGATAGGACGTCCC 55 CTTCGGGGGACAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCTGCTCAGTCTGT GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCC

60

65

ES 2 873 842 T3

(Continuación)

Cepa (SEQ ID. NO)	Secuencia parcial de ARN ribosómico 16S
<p>5</p> <p>Alcaligenes faecalis EE107 (SEQ ID NO: 12)</p> <p>10</p> <p>15</p> <p>20</p>	<p>CTTCGGGTTGTAAAGTACTTTTGGCAGAGAAGAAAAGGTATCTCCT AATACGAGATACTGCTGACGGTATCTGCAGAATAAGCACCGGCTA ACTACGTGCCANCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGAAGCGTTAA TCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGTGTAGGCGGTTTCGGAAAGAA AGATGTGAAATCCCAGGGCTCAACCTTGGAACTGCATTTTTAACTG CCGAGCTAGAGTATGTCAGAGGGGGGTAGAATTCNNNTGTAGCAN NGAAATGCGTAGATATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCC CCCTGGGATAATACTGACGCTCAGACACGAAAGCGTGGGGAGCAA ACAGGATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACT AGCTGTTGGGGCCGTTAGGCCTTAGTAGCGCAGCTAACCGGTGAA GTTGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTA AAAACTCAAAGGA ATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCG ATGCAACGCGAAAAACCTTACCTACCTTGACATGTCTGGAAAGC CGAAGAGATTTGGCCGTGCTCGCAAGAGAACC GGAACACAGGTGC TGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCC C</p>
<p>25</p> <p>Bacillus mycoides EE141 (SEQ ID NO: 13)</p> <p>30</p> <p>35</p>	<p>AAAGTCTGACGGAGCACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGT CGTAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAG CTGGCACCTTGACGGTACCTAAC CAGAAAGCCACGGCTAACTACG TGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAA TTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAAGTCTGATGTG AAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGAC TTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAA TGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTG GTCTGTA ACTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGG ATTAGATAACCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGT GTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCA CTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAAT TGACGGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAA GCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAAAACNC TAGAGATANNNCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCA TGTTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC</p>
<p>40</p> <p>Bacillus mycoides BT46-3 (SEQ ID NO: 14)</p> <p>45</p> <p>50</p> <p>55</p>	<p>GGAGCACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAACTC TGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTT GACGGTACCTAAC CAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC CGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCG TAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAAGTCTGATGTGAAAGCCAC GGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCA GAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAG ATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAC TGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAC CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGG TTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTG GGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGG CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGA AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCTAGAGATAGG GCTTCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTC AGCTCGTGTCTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCC</p>

60

65

ES 2 873 842 T3

(Continuación)

Cepa (SEQ ID. NO)	Secuencia parcial de ARN ribosómico 16S
<p>5</p> <p>Miembro de la familia de Bacillus cereus EE128 (SEQ ID NO: 15)</p> <p>10</p> <p>15</p> <p>20</p>	<p>GGANCAACGCCGCGTGAGTGANGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAACCT CTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTGGCACCTT GACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGC CGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCG TAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCAC GGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCA GAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAG ATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAC TGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAC CCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTAGAGGG TTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTCCGCCTG GGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGG CCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGA AGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAAAACCTCTAGAGATAGA GCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTC AGCTCGTGTCTGAGATGNTGGGTTAAGTCCCGCA</p>
<p>25</p> <p>30</p> <p>35</p> <p>40</p>	<p>TCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGT AAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTG GCACCTTGACGGTACCTAACAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGC CAGCAGCCGCGGTAATAACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTA TTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAA GCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTG AGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGC GTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTC TGTAACCTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATT AGATACCTTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTT AGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTC CGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGAC GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAA CGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGAAAACCTTAGA GATAGGGCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGT TGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGA GCGCAACCCCTTGATCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAA GGTGA CTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA ATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGA CGGTACAAAGAGCTGC</p>
<p>45</p> <p>50</p> <p>55</p> <p>60</p> <p>65</p>	<p>CTTANNGNNTGANNNNCTTGNNNAANAAGCCCCGGCTAACTACN TGCCANCANCCGCGGTAATACNTANGGNGCAAGCGTTGTCCGGAA TTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTCNNTTAAGTCTGGTGTT TAAGCCCCGGGGCTCAACCCCGGATCNCNCGGGAAACTGGATGACT TGANTGCNNAANAAGAGAGTGGAATTCNNGTGTANCGGTGAAAT GCNTANANATGTGNANGAACACCANTGGCNAANGCNACTCTCTGG GCTGTAACCTGACNCTGANGCNCGAAAGCGTGGGGAGCAAACANG ATTANATAACCTGGTANTCCACGCCNTANACNATNANTGCTAGGT GTTNNGGGTTTCNATAACCTTGNTGCCNAANTTAACACATTAANCA CTCCGCTGGNNANTACNGTCNCAANANTGAAACTCENNANGAANT GACNNGGACCCGCACAAGCNNTGNANTATGTGGTTTAANTNNNNN CAACNCNAANAANCTTACCNNGNCTTGACATCTNAATGACCNGNG CANANATGTNCCTTTCTTCNGNACATTCNNGACAGGTGGTGCATG GNTGTCNTCNCNTGTCNNGNGATGTTGGGTTAANTCCCCGCAN CNANNNN</p>

(Continuación)

Cepa (SEQ ID. NO)	Secuencia parcial de ARN ribosómico 16S
5 Miembro de la familia de Bacillus cereus EE349 (SEQ ID NO: 18)	AAGGCTTTCGGGTCGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTG CTAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCC ACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAA GCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCT TAAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTG 10 GAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCATG TGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGA AGGCGACTTTCTGGTCTGTAACCTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTG GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACG ATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGAAGTT 15 AACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAA ACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTG GTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCC TCTGAAAACCCTAGAGATAGGGCTTCTCCTTCGGGAGCAGAGTGA CAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGT 20 TAAGTCC
25 Bacillus subtilis EE218 (SEQ ID NO: 19)	AAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTTCCAATAGGGCGG TACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCC AGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTAT TGGGCGTAAAGGCTCGCAGGCGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAA 30 GCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGAATTG AGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAAATCCACGTGTAGCGGTGAAATGC GTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTCTGGTC TGTAACCTGACGCTGAGGAGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATT AGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTT AGGGGGTTTCCGCCCTTANTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCACTC CGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAACTCAAAGGAATTGAC GGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGAAGCAA 35 CGCGAANAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAATCCTAGAG ATAGGACGTCCCCTTCGGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTT GTCGTCANCTCGTGTCTGAGATGTTGGNTTAAAGTCCCAGCAACGAG
40 Bacillus megaterium EE281 (SEQ ID NO: 20)	AAGNCTTTCGGNNGTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTA CGAGAGTAACTGCTCGTACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCA CGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAG CGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTTTCTT 45 AAGTCTGATGTGAAAGCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGG AAACCTGGGGAAGTGTAGTGCAGAAGAGAAAAGCGGAATTCCACGT GTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAA GGCGGCTTTTTGGTCTGTAACCTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGG GGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGA TGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTAGTGCTGCAGCTA ACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTGAAA 50 CTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGG TTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCCT CTGACAACCTAGAGATAGAGCGTTCCCTTCGGGGGACAGAGTG ACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGG 55 TTAAGTCCNNCNNNNNNNNNNNNNNNNNNNTCTNAGANNCGNGCT GACNANNCCANGCACCNNGG

(Continuación)

Cepa (SEQ ID. NO)	Secuencia parcial de ARN ribosómico 16S
5 Bacillus mycoides BT155 (SEQ ID NO: 21)	GTCTGANGGANACGCCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGT AAAACCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGCTAGTTGAATAAGCTG GCACCTTGACGGTACCTAACCCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGC CAGCAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTA 10 TTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGTGGTTTCTTAAGTCTGATGTGAAA GCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTG AGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAAATCCATGTGTAGCGGTGAAATGC GTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTC TGTAAGTACTGACACTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATT 15 AGATACCCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGT AGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCACTC CGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGAC GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGGAAGCAA CGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTCTGACAACCCTAGAG 20 ATAGGGCTTCCCCTTCGGGGCAGAGTGACAGGTGGTGCATGGTT GTGCTCAGCTCGTGTCTGATGATGTTGGGTTAAGTCCCG

Los métodos para determinar la identidad de secuencia son bien conocidos por los expertos en la técnica. A modo de ejemplo y no de limitación, el algoritmo BLASTn disponible a través del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) puede usarse para alinear secuencias y determinar su identidad.

Las cepas bacterianas anteriores se identificaron al menos hasta la designación de su género mediante indicadores bioquímicos y morfológicos convencionales. Además, los ensayos bioquímicos para cepas gramnegativas confirmadas como *Paracoccus kondratievae*, *Alcaligenes faecalis* y *Enterobacter cloacae* incluyeron crecimiento en medio MacConkey y agar nutritivo, examen microscópico, crecimiento en medio NaCl al 5 % y 7,5 %, crecimiento a pH 5 y pH 9, crecimiento a 42 °C y 50 °C, la capacidad de producir ácido tras la fermentación con celobiosa, lactosa, glicerol, glucosa, sacarosa, d-manitol y almidón; producción de pigmentos fluorescentes; hidrólisis de gelatina; reducción de nitratos; hidrólisis de almidón; reacción oxidasa, producción de catalasa, producción de ureasa y motilidad. De manera similar, los ensayos bioquímicos para cepas Gram positivas confirmadas como *Bacillus* y *Paenibacillus* incluyeron crecimiento en medio de alcohol feniletílico (PEA) y agar nutritivo, examen microscópico, crecimiento en medio de NaCl al 5 % y 7,5 %, crecimiento a pH 5 y pH 9, crecimiento a 42 °C y 50 °C, la capacidad de producir ácido tras la fermentación con celobiosa, lactosa, glicerol, glucosa, sacarosa, d-manitol y almidón; producción de pigmentos fluorescentes; hidrólisis de gelatina; reducción de nitratos; producción de catalasa, hidrólisis de almidón; reacción oxidasa, producción de ureasa y motilidad.

También se describe un cultivo bacteriano biológicamente puro en donde las bacterias, es decir, la cepa bacteriana en el cultivo bacteriano, son mutantes de cualquiera de las cepas bacterianas anteriores, que comprende una o más mutaciones que conservan la capacidad de promover el crecimiento vegetal. Por tanto, el mutante de cualquiera de las cepas anteriores será capaz de promover el crecimiento vegetal en comparación con las plantas a las que no se aplicó el mutante. Por ejemplo, el mutante puede comprender un mutante tolerante a la sal (por ejemplo, un mutante tolerante a la sal de la cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* o un mutante tolerante a la sal de la cepa BT155 de *Bacillus mycoides*), un mutante resistente al tiram (por ejemplo, un mutante resistente al tiram de la cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae*, un mutante resistente al tiram de la cepa CAP53 de *Bacillus aryabhathi*, un mutante resistente al tiram de la cepa BT155 de *Bacillus mycoides* o un mutante resistente al tiram de *Bacillus thuringiensis* BT013A), o un mutante tolerante al glifosato (por ejemplo, mutante tolerante al glifosato de la cepa CAP53 de *Bacillus aryabhathi*).

Los siguientes ensayos se pueden usar, ya sea individualmente o en conjunto, para identificar cepas mutantes, que son capaces en condiciones gnotobióticas de aumentar el área foliar en plantas enteras de 3 a 4 semanas de edad (ensayo de vaso de precipitado), para aumentar la longitud de los brotes o peso seco de los brotes (ensayo de placa de suelo), o para aumentar la longitud de la raíz, el peso seco de la raíz, el peso seco de los brotes y la longitud de los brotes (ensayo de bolsa de crecimiento), que se correlacionan positivamente con la capacidad de promover el crecimiento directamente en plantas enteras cultivadas en suelo crudo (no esterilizado). En un ensayo de vaso de precipitado, se esteriliza una mezcla de suelo de campo y perlita, por ejemplo, mediante irradiación gamma (aproximadamente 1 mRad ha resultado adecuado). Las muestras de la mezcla se transfieren asépticamente a vasos de precipitado cubiertos estériles, a los que se agrega suficiente agua o solución nutritiva para lograr un contenido de humedad de aproximadamente el 25 %. La semilla con superficie esterilizada de una planta de prueba, como colza (*Brassica napus* y *Brassica campestris*), rábano, trigo, soja, maíz o algodón, se siembra (1 semilla por vaso de precipitado) después de incubar brevemente en una suspensión acuosa de células bacterianas de la cepa en estudio. (Una concentración bacteriana en el intervalo de 10⁹ unidades formadoras de colonias (UFC) por ml de suspensión ha demostrado ser adecuado para este propósito). Después de que las plántulas se han desarrollado, en

condiciones controladas adecuadas para la planta de ensayo, a un punto en donde las hojas maduras han crecido, las plantas sometidas a tratamientos bacterianos se comparan con controles no inoculados para determinar las diferencias en el área foliar entre los grupos de prueba y de control.

5 En un "Ensayo de placa de suelo", las placas de Petri se llenan con suelo molido secado al aire que ha sido esterilizado mediante autoclave, irradiación gamma, etc. El suelo de cada placa se humedece y se deja cubierto durante la noche para asegurar una distribución uniforme de humedad a través del suelo. Las semillas inoculadas (de prueba) y de control, como se describió anteriormente, se siembran luego en cada placa, unas seis a ocho semillas por placa a aproximadamente 1 cm de profundidad, y se cultivan en la oscuridad bajo condiciones apropiadas de temperatura y humedad hasta que se desarrollan los brotes. Al final de la incubación, se determinan las longitudes de los brotes. En un "ensayo de bolsa de crecimiento", los recipientes de celofán del tipo usado hasta ahora como bolsas de crecimiento de paquetes de semillas se llenan con un pequeño volumen de agua desionizada o solución mineral y se esterilizan en autoclave para asegurar la esterilidad. Las semillas de prueba incubadas en una suspensión bacteriana, como se describió previamente, y las semillas de control no expuestas a las bacterias se siembran asépticamente, aproximadamente seis semillas en una bolsa, respectivamente, y se germinan en la oscuridad en condiciones adecuadas y controladas. Una vez que se han desarrollado los brotes, se abren las bolsas y se determinan la longitud de la raíz de la plántula, el peso seco de la raíz, la longitud de los brotes y el peso seco de los brotes para las pruebas y los controles. Alternativamente, las cepas mutantes se pueden probar como se muestra en los Ejemplos para cualquiera de las cepas bacterianas anteriores con respecto a la capacidad de promover el crecimiento vegetal.

También se describe un inóculo para aplicación a plantas, semillas de plantas o un medio de crecimiento vegetal, en donde el inóculo comprende una cantidad efectiva de un cultivo bacteriano biológicamente puro de cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* (NRRL No. B-50819), cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* (NRRL No. B-50817), cepa BT054 de *Bacillus flexus* (NRRL No. B-50816), cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* (NRRL No. B-50820), cepa BT155 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50921), cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* (NRRL No. B-50822), cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* (NRRL No. B-50821), cepa EE118 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50918), cepa EE148 de *Bacillus subtilis* (NRRL No. B-50927), cepa EE107 de *Alcaligenes faecalis* (NRRL No. B-50920), cepa EE141 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50916), cepa BT46-3 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50922), cepa EE128 de miembro de la familia *Bacillus cereus* (NRRL No. B-50917), cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924), cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis* (NRRL No. B-50923), cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* (NRRL No. B-50928), cepa EE218 de *Bacillus subtilis* (NRRL No. B-50926), cepa EE281 de *Bacillus megaterium* (NRRL No. B-50925) o un mutante de cualquiera de las cepas anteriores, y un portador agricolamente aceptable. Alternativamente, el inóculo puede incluir una cantidad efectiva de una mezcla que comprende al menos dos cultivos bacterianos biológicamente puros descritos en la presente descripción. Por lo tanto, la mezcla de dos cultivos de bacterias biológicamente puras puede incluir cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y la cepa CAP56 de *aryabhatai Bacillus*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT054 de *Bacillus flexus*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE118 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE148 de *Bacillus subtilis*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE107 de *Alcaligenes faecalis*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE141 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT46-3 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE128 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE218 de *Bacillus subtilis*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE281 de *Bacillus megaterium*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y *Paracoccus* sp. NC35 tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides* tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y CAP53 de *Bacillus aryabhatai* resistente al tiram; cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* y CAP53 de *Bacillus aryabhatai* tolerante al glifosato; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT054 de *Bacillus flexus*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE118 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE148 de *Bacillus subtilis*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE107 de *Alcaligenes faecalis*; *Bacillus aryabhatai* cepa CAP56 y cepa EE141 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT46-3 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE128 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; *Bacillus aryabhatai* cepa CAP56 y *Bacillus subtilis* EE218 cepa; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa EE281 de *Bacillus megaterium*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y NC35 de *Paracoccus* sp. tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides* tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y CAP53 de *Bacillus aryabhatai* resistente al tiram; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y *Bacillus thuringiensis* BT013A resistente al tiram; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 tolerante al glifosato; cepa BT054 de

Bacillus flexus y cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa EE118 de *Bacillus mycoides*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa EE148 de *Bacillus subtilis*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa EE107 de *Alcaligenes faecalis*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa EE141 de *Bacillus mycoides*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa BT46-3 de *Bacillus mycoides*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa EE128 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa EE218 de *Bacillus subtilis*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa EE281 de *Bacillus megaterium*; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y NC35 de *Paracoccus* sp. tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides* tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 resistente al tiram; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y *Bacillus thuringiensis* BT013A resistente al tiram; cepa BT054 de *Bacillus flexus* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 tolerante al glifosato; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa EE118 de *Bacillus mycoides*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa EE148 de *Bacillus subtilis*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa EE107 de *Alcaligenes faecalis*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa EE141 de *Bacillus mycoides*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa BT46-3 de *Bacillus mycoides*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa EE128 de miembro de la familia *Bacillus cereus*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa EE218 de *Bacillus subtilis*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa EE281 de *Bacillus megaterium*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y NC35 de *Paracoccus* sp. tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides* resistente a la sal y resistente al tiram; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 resistente al tiram; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y *Bacillus thuringiensis* BT013A resistente al tiram; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 tolerante al glifosato; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa EE118 de *Bacillus mycoides*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa EE148 de *Bacillus subtilis*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa EE107 de *Alcaligenes faecalis*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa EE141 de *Bacillus mycoides*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa BT46-3 de *Bacillus mycoides*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa EE128 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa EE218 de *Bacillus subtilis*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa EE281 de *Bacillus megaterium*; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y *Paracoccus* sp. NC35 tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides* tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 resistente al tiram; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y *Bacillus thuringiensis* BT013A resistente al tiram; cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 tolerante al glifosato; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa EE118 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa EE148 de *Bacillus subtilis*; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa EE107 de *Alcaligenes faecalis*; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa EE141 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa BT46-3 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa EE128 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis*; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis*; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa EE218 de *Bacillus subtilis*; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa EE281 de *Bacillus megaterium*; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y *Paracoccus* sp. NC35 tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 resistente al tiram; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y *Bacillus thuringiensis* BT013A resistente al tiram; cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 tolerante al glifosato; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y cepa EE118 de *Bacillus mycoides*; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y cepa EE148 de *Bacillus subtilis*; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y cepa EE107 de *Alcaligenes faecalis*; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y cepa EE141 de *Bacillus mycoides*; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y cepa BT46-3 de *Bacillus mycoides*; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y cepa EE128 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis*; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis*; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus*; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y cepa EE218 de *Bacillus subtilis*; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y cepa EE281 de *Bacillus megaterium*; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y *Paracoccus* sp. NC35 tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides* tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 resistente al tiram; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y *Bacillus thuringiensis* BT013A resistente al tiram; cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 tolerante al glifosato; cepa EE118 de *Bacillus mycoides* y cepa EE148 de *Bacillus subtilis*; cepa EE118 de *Bacillus mycoides* y cepa EE107 de *Alcaligenes faecalis*; cepa EE118 de

resistente al tiram; cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides* resistente a la sal y resistente al tiram; cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 resistente al tiram; cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis* y *Bacillus thuringiensis* BT013A resistente al tiram; cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 tolerante al glifosato; cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* y cepa EE218 de *Bacillus subtilis*; cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* y cepa EE281 de *Bacillus megaterium*; cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* y *Paracoccus sp.* NC35 tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides* tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 resistente al tiram; cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* y *Bacillus thuringiensis* BT013A resistente al tiram; cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 tolerante al glifosato; cepa EE218 de *Bacillus subtilis* y cepa EE281 de *Bacillus megaterium*; cepa EE218 de *Bacillus subtilis* y *Paracoccus sp.* NC35 tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa EE218 de *Bacillus subtilis* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides* tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa EE218 de *Bacillus subtilis* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 resistente al tiram; cepa EE218 de *Bacillus subtilis* y *Bacillus thuringiensis* BT013A resistente al tiram; cepa EE218 de *Bacillus subtilis* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 tolerante al glifosato; cepa EE281 de *Bacillus megaterium* y *Paracoccus sp.* NC35 tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa EE281 de *Bacillus megaterium* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides* tolerante a la sal y resistente al tiram; cepa EE281 de *Bacillus megaterium* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 resistente al tiram; cepa EE281 de *Bacillus megaterium* y *Bacillus thuringiensis* BT013A resistente al tiram; o la cepa EE281 de *Bacillus megaterium* y *Bacillus aryabhatai* CAP53 tolerante al glifosato.

Un inóculo que incluye una cantidad efectiva de una mezcla de tres cultivos bacterianos bacteriológicamente pura puede incluir cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, y la cepa BT054 de *Bacillus flexus*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT054 de *Bacillus flexus*, y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT054 de *Bacillus flexus* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai*, cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa BT054 de *Bacillus flexus*, cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa BT155 de *Bacillus mycoides*; cepa BT054 de *Bacillus flexus*, cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa BT054 de *Bacillus flexus*, cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa BT054 de *Bacillus flexus*, cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae*; cepa BT054 de *Bacillus flexus*, cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa BT054 de *Bacillus flexus*, cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae*, cepa BT155 de *Bacillus mycoides* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae*, cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*; o cepa BT155 de *Bacillus mycoides*, cepa CAP12 de *Enterobacter cloacae* y cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii*.

Las siguientes mezclas de cultivos bacteriológicos bacteriológicamente puros son favorables para su uso en la estimulación del crecimiento vegetal. Incluyen, sin limitación, mezclas de: (1) *Enterobacter cloacae* CAP12 y *Bacillus aryabhatai* CAP53; (2) *Enterobacter cloacae* CAP12 y *Bacillus aryabhatai* CAP56; (3) *Enterobacter cloacae* CAP12 y *Bacillus flexus* BT054; (4) *Enterobacter cloacae* CAP12 y *Bacillus nealsonii* BOBA57; (5) *Bacillus aryabhatai* CAP53 y *Bacillus aryabhatai* CAP56; (6) *Bacillus flexus* BT054 y *Bacillus aryabhatai* CAP56, (7) *Paracoccus kondratievae* NC35 y *Bacillus mycoides* BT155, (8) *Bacillus subtilis* EE218 y *Paracoccus kondratievae* NC35, y (9) *Bacillus subtilis* EE218 y *Bacillus mycoides* BT155.

Las rizobacterias son bacterias colonizadoras de raíces que forman relaciones simbióticas con muchas plantas y, como tales, son útiles para promover el crecimiento vegetal. Por consiguiente, cualquiera de los inóculos descritos

en la presente descripción, independientemente de si contiene una única cepa bacteriana descrita en la presente descripción o una mezcla de dos o más de tales cepas bacterianas, también puede incluir una cantidad efectiva de rizobacterias.

- 5 Dichas rizobacterias pueden estar presentes como un cultivo bacteriano biológicamente puro. Alternativamente, las rizobacterias que se usan en los inóculos descritos en la presente descripción pueden incluir dos o más cepas de rizobacterias. A modo de ejemplo y no de limitación, las rizobacterias pueden incluir bacterias del género *Bradyrhizobium*, bacterias del género *Rhizobium* o una combinación de las mismas. Además, las bacterias del género *Bradyrhizobium* pueden comprender *Bradyrhizobium japonicum*, y las bacterias del género *Rhizobium* pueden comprender *Rhizobium phaseoli*, *Rhizobium leguminosarum* o una combinación de los mismos. La inclusión de rizobacterias en las presentes composiciones y métodos es especialmente ventajosa en los denominados "suelos vírgenes" que no contienen una población autóctona de PGPB como los rizobios fijadoras de nitrógeno. Esto puede ocurrir, por ejemplo, cuando los cultivos de leguminosas fijadoras de nitrógeno no se hayan cultivado anteriormente o recientemente.
- 10
- 15 Además de uno o más cultivos bacterianos biológicamente puros como se describe en las secciones anteriores, un inóculo descrito en la presente descripción también comprende un portador agrícola aceptable. El portador puede incluir un dispersante, un tensioactivo, un aditivo, agua, un espesante, un agente antiaglomerante, descomponedor de residuos, una formulación de compostaje, una aplicación granular, tierra de diatomeas, un aceite, un agente colorante, un estabilizador, un conservante, un polímero, un recubrimiento o una combinación de los mismos. Un experto en la técnica puede determinar fácilmente el portador apropiado que se usará teniendo en cuenta factores como una cepa bacteriana particular, la planta a la que se aplicará el inóculo, el tipo de suelo, las condiciones climáticas y si el inóculo está en forma líquida, sólida o en polvo.
- 20
- 25 El aditivo puede comprender un aceite, una goma, una resina, una arcilla, un polioxietilenglicol, un terpeno, un compuesto orgánico viscoso, un éster de ácido graso, un alcohol sulfatado, un alquilsulfonato, un sulfonato de petróleo, un alcohol sulfato, un diamato de alquilbutano de sodio, un poliéster de dioato de dioato de sodio, un acetonitrilo de benceno, un material proteico o una combinación de los mismos.
- 30 El material proteínico puede incluir un producto lácteo, harina de trigo, harina de soja, harina de alfalfa, extracto de levadura, sangre, albúmina, gelatina o una combinación de los mismos.
- El espesante puede comprender un alquilsulfonato de cadena larga de polietilenglicol, oleato de polioxietileno o una combinación de los mismos.
- 35 El tensioactivo puede contener un aceite de petróleo pesado, un destilado de petróleo pesado, un éster de ácido graso de polioliol, un éster de ácido graso polietoxilado, un aril alquil polioxietilenglicol, un acetato de alquil amina, un alquil aril sulfonato, un alcohol polihídrico, un alquil fosfato, o una combinación de los mismos.
- 40 El agente antiaglomerante puede incluir una sal de sodio tal como un sulfito de sodio, un sulfato de sodio, una sal de sodio de monometil naftalensulfonato, una sal de sodio de dimetilnaftalensulfonato o una combinación de los mismos; o una sal de calcio tal como carbonato de calcio, tierra de diatomeas o una combinación de los mismos.
- Puede usarse cualquier portador agrícola aceptable. Dichos portadores incluyen, entre otros, vermiculita, carbón vegetal, lodo prensado de carbonatación de fábrica de azúcar, cáscara de arroz, carboximetilcelulosa, turba, perlita, arena fina, carbonato de calcio, harina, alumbre, almidón, talco, polivinilpirrolidona o combinación de los mismos.
- 45 Los inoculantes se pueden preparar como formulaciones sólidas, líquidas o en polvo como se conoce en la técnica. El inóculo de la presente invención se puede formular como una formulación de recubrimiento de semillas, una formulación líquida para su aplicación a plantas o a un medio de crecimiento vegetal, o una formulación sólida para su aplicación a plantas o a un medio de crecimiento vegetal.
- 50 Cuando el inóculo se prepara como una formulación líquida para su aplicación en plantas o en un medio de crecimiento vegetal, se puede preparar en una formulación concentrada o en una formulación lista para usar. En algunos casos, la formulación de recubrimiento de semillas de la presente invención es una solución acuosa o basada en aceite para aplicación a semillas.
- 55 Cuando el inóculo de la presente invención se prepara como una formulación sólida para su aplicación a plantas o a un medio de crecimiento vegetal, se puede preparar como una formulación granular o un agente en polvo. La formulación de recubrimiento de semillas puede ser una formulación en polvo o granular para su aplicación a las semillas.
- 60 El inóculo puede incluir además un agroquímico como un fertilizante, un material fertilizante de micronutrientes, un insecticida, un herbicida, una enmienda para el crecimiento vegetal, un fungicida, un molusquicida, un algicida, un inoculante bacteriano, un inoculante fúngico o una combinación de los mismos. En algunos casos, el fertilizante es
- 65

- un fertilizante líquido. El agroquímico se puede aplicar a un medio de crecimiento vegetal o a plantas y/o semillas. El fertilizante líquido puede incluir, sin limitación, sulfato de amonio, nitrato de amonio, nitrato de sulfato de amonio, cloruro de amonio, bisulfato de amonio, polisulfuro de amonio, tiosulfato de amonio, amoníaco acuoso, amoníaco anhidro, polifosfato de amonio, sulfato de aluminio, nitrato de calcio, nitrato de calcio y amonio, sulfato de calcio, magnesita calcinada, piedra caliza calcítica, óxido de calcio, nitrato de calcio, piedra caliza dolomítica, cal hidratada, carbonato de calcio, fosfato de diamonio, fosfato de monoamonio, nitrato de magnesio, sulfato de magnesio, nitrato de potasio, cloruro de potasio, sulfato de magnesio y potasio, sulfato de potasio, nitratos de sodio, caliza magnésica, magnesia, urea, formaldehídos de urea, nitrato de amonio de urea, urea recubierta de azufre, urea recubierta de polímero, isobutilendurea, $K_2SO_4-2MgSO_4$, kainita, silvinita, kieserita, sales de Epsom, azufre elemental, marga, conchas de ostra molidas, harina de pescado, tortas de aceite, estiércol de pescado, harina de sangre, fosfato de roca, superfosfatos, escoria, harina de huesos, ceniza de madera, estiércol, guano de murciélago, turba, abono, arena verde, harina de semilla de algodón, harina de plumas, harina de cangrejo, emulsión de pescado o una combinación de los mismos.
- El material fertilizante de micronutrientes puede comprender ácido bórico, un borato, una frita de boro, un sulfato de cobre, una frita de cobre, un quelato de cobre, un tetraborato de sodio decahidratado, un sulfato de hierro, un óxido de hierro, sulfato de hierro y amonio, una frita de hierro, un quelato de frita de hierro, sulfato de manganeso, óxido de manganeso, quelato de manganeso, cloruro de manganeso, frita de manganeso, molibdato de sodio, ácido molídico, sulfato de zinc, óxido de zinc, carbonato de zinc, frita de zinc, fosfato de zinc, zinc quelato, o una combinación de los mismos.
- El insecticida puede incluir un organofosfato, un carbamato, un piretroide, un acaricida, un ftalato de alquilo, ácido bórico, un borato, un fluoruro, azufre, una urea haloaromática sustituida, un éster de hidrocarburo, un insecticida de base biológica o una combinación de los mismos.
- El herbicida puede comprender un compuesto clorofenoxi, un compuesto nitrofenólico, un compuesto nitrocresólico, un compuesto dipiridilo, una acetamida, un ácido alifático, una anilida, una benzamida, un ácido benzoico, un derivado del ácido benzoico, ácido anísico, un derivado del ácido anísico, un benzonitrilo, dióxido de benzotiadiazinona, un tiocarbamato, un carbamato, un carbanilato, cloropiridinilo, un derivado de ciclohexenona, un derivado de dinitroaminobenceno, un compuesto de fluorodinitrotoluidina, isoxazolidinona, ácido nicotínico, isopropilamina, un derivado de oxipropilamina, un derivado de oxipropilamina, a compuesto ácido, una triazina, un triazol, un uracilo, un derivado de urea, endotal, clorato de sodio o una combinación de los mismos.
- El fungicida puede comprender un benceno sustituido, un tiocarbamato, un bis ditiocarbamato de etileno, una tioftalidamida, un compuesto de cobre, un compuesto de organomercurio, un compuesto de organoestaño, un compuesto de cadmio, anilazina, benomilo, ciclohexamida, dodina, etridiazol, iprodiona, metlaxil, tiamimefon, triforina o una combinación de los mismos.
- El inoculante fúngico puede comprender un inoculante fúngico de la familia Glomeraceae, un inoculante fúngico de la familia Claroidoglomeraceae, un inoculante fúngico de la familia Gigasporaceae, un inoculante fúngico de la familia Acaulosporaceae, un inoculante fúngico de la familia Sacculosporaceae, un inoculante fúngico familia Entrophosporaceae, un inoculante fúngico de la familia Pacidsporaceae, un inoculante fúngico de la familia Diversisporaceae, un inoculante fúngico de la familia Paraglomeraceae, un inoculante fúngico de la familia Archaeosporaceae, un inoculante fúngico de la familia Geosiphonaceae, un hongo inoculante de la familia Ambisporaceae, un inoculante fúngico de la familia Scutellosporaceae, un inoculante fúngico de la familia Dentiscultataceae, un inoculante fúngico de la familia Racocetraceae, un inoculante fúngico del filo Basidiomycota, un inoculante fúngico del filo Ascomycota, un inoculante fúngico del filo Zygomycota o una combinación de los mismos.
- El inoculante bacteriano puede incluir un inoculante bacteriano del género *Rhizobium*, un inoculante bacteriano del género *Bradyrhizobium*, un inoculante bacteriano del género *Mesorhizobium*, un inoculante bacteriano del género *Azorhizobium*, un inoculante bacteriano del género *Allorhizobium*, un inoculante bacteriano del género *Sinorhizobium*, un inoculante bacteriano del género *Kluyvera*, un inoculante bacteriano del género *Azotobacter*, un inoculante bacteriano del género *Pseudomonas*, un inoculante bacteriano del género *Azospirillum*, un inoculante bacteriano del género *Bacillus*, un inoculante bacteriano del género *Streptomyces*, un inoculante bacteriano del género *Paenibacillus*, un inoculante bacteriano del género *Paracoccus*, un inoculante bacteriano del género *Enterobacter*, un inoculante bacteriano del género *Alcaligenes*, un inoculante bacteriano del género *Mycobacterium*, un inoculante bacteriano del género *Trichoderma*, un inoculante bacteriano del género *Gliocladium*, un inoculante bacteriano del género *Glomus*, un inoculante bacteriano del género *Klebsiella* o una combinación de los mismos.
- Todos los inóculos y cultivos bacterianos biológicamente puros descritos en la presente descripción pueden usarse en métodos para estimular el crecimiento vegetal. Dichos métodos incluyen aplicar los cultivos e inóculos anteriores a una planta, semilla de planta o medio de crecimiento vegetal para estimular el crecimiento vegetal. Se conocen en la técnica técnicas para aplicar inoculantes a plantas, que incluyen modos de administración, frecuencia de administración y dosis apropiadas. El inoculante se puede aplicar al suelo antes, al mismo tiempo o después de sembrar semillas, después de plantar o después de que las plantas hayan emergido del suelo. El inoculante también

se puede aplicar a las semillas mismas antes o en el momento de la siembra (por ejemplo, las semillas empaquetadas se pueden vender con el inoculante ya aplicado). El inoculante también se puede aplicar a la planta después de que haya emergido del suelo, o a las hojas, tallos, raíces u otras partes de la planta.

5 El método para estimular el crecimiento vegetal puede incluir la aplicación de una sustancia como glicerol, piruvato, extracto de levadura, un poliol (por ejemplo, manitol, sorbitol, galactitol, fucitol, iditol, inositol, arabitol, xilitol, ribitol), polietilenglicol o una combinación de los mismos para el medio de crecimiento vegetal. Puede usarse cualquiera de los polioles, siendo los preferidos manitol y sorbitol. Para la preparación de extracto de levadura, *Saccharomyces cerevisiae* es un material de partida de levadura preferido, aunque varias otras cepas de levadura pueden ser útiles para producir materiales de fermentación de levadura usados en las composiciones y métodos descritos en este documento. Las cepas de levadura adicionales que se pueden usar en lugar o además de *Saccharomyces cerevisiae* incluyen *Kluyveromyces marxianus*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida utilis* (levadura Torula), *Zygosaccharomyces*, *Pichiapastoris* y *Hansanula polymorpha*, y otras conocidas por los expertos en la técnica.

15 En los casos en los que la sustancia se aplica a un medio de crecimiento vegetal, se puede aplicar al menos un cultivo bacteriano o al menos un inóculo de la presente invención a una planta o semilla de planta en el medio de crecimiento vegetal o al medio de crecimiento vegetal. Preferentemente, el inóculo se aplica al medio de crecimiento vegetal como una formulación sólida o líquida. El cultivo o inóculo bacteriano y el producto químico se pueden aplicar al mismo tiempo o en momentos separados. El orden exacto no es de gran relevancia y la combinación óptima puede ser determinada empíricamente por un experto en la técnica sin la debida experimentación. Por ejemplo, un experto en la materia puede establecer condiciones experimentales en las que: (1) el inóculo o cultivo bacteriano y la sustancia se administran al mismo tiempo, (2) el inóculo o cultivo bacteriano se administra en una ocasión separada después de que la sustancia se agrega al medio de crecimiento de una planta, (3) el inóculo o cultivo bacteriano se administra en una ocasión separada antes de añadir la sustancia a un medio de crecimiento vegetal. Los resultados de tales diseños experimentales y otros similares pueden demostrar fácilmente los métodos más adecuados para la aplicación de la cepa bacteriana o inóculo y la sustancia. Por tanto, el cultivo o inóculo bacteriano descrito en la presente descripción se puede aplicar a un medio de crecimiento vegetal antes, simultáneamente con o después de plantar semillas, plántulas, esquejes, bulbos o plantas en el medio de crecimiento vegetal.

30 El medio de crecimiento vegetal incluye suelo, agua, una solución acuosa, arena, grava, un polisacárido, mantillo, abono, turba, paja, troncos, arcilla o una combinación de los mismos. Preferentemente, el medio de crecimiento vegetal es tierra o abono. Como se conoce en la técnica, el medio de cultivo de plantas se puede almacenar para plantar en el futuro.

35 Para los propósitos de las composiciones y métodos de la presente invención, la planta puede ser una dicotiledónea, una monocotiledónea o una gimnosperma.

40 La dicotiledónea se puede seleccionar del grupo que consiste en frijol, guisante, tomate, pimiento, calabaza, alfalfa, almendra, anís, manzana, albaricoque, arracha, alcachofa, aguacate, cacahuete bambara, remolacha, bergamota, pimienta negra, acacia negra, mora, arándano, naranja amarga, bok-choi, nuez de Brasil, fruta del pan, brócoli, haba, coles de Bruselas, trigo sarraceno, col, camelina, col china, cacao, melón, semillas de alcaravea, cardo, algarroba, zanahoria, anacardos, mandioca, ricino, coliflor, apio nabo, apio, cereza, castaña, garbanzo, achicoria, ají, crisantemo, canela, cidra, clementina, clavo, trébol, café, nuez de cola, colza, maíz, algodón, semilla de algodón, caupí, crambe, arándano, berro, pepino, grosella, chirimoya, palillo de tambor, guisante de tierra, berenjena, escarola, hinojo, fenogreco, higo, avellana, lino, geranio, grosella, calabaza, uva, pomelo, guayaba, cáñamo, semillas de cáñamo, henna, lúpulo, haba de caballo, rábano picante, índigo, jazmín, alcachofa de Jerusalén, yute, col rizada, kapok, kenaf, colinabo, kumquat, lavanda, limón, lentejas, lespedeza, lechuga, lima, regaliz, litchi, níspero, lupino, nuez de macadamia, macis, mandarina, mangel, mango, níspero, melón, menta, mora, mostaza, nectarina, semilla de níger, nuez moscada, quimbombó, aceituna, opio, naranja, papaya, chirivía, guisante, melocotón, maní, pera, nuez de pacana, caqui, gándul, pistacho, plátano, ciruela, granada, pomelo, semilla de amapola, patata, batata, ciruela pasa, calabaza, quebracho, membrillo, árboles del género *Cinchona*, quinua, rábano, ramio, colza, frambuesa, ñandú, ruibarbo, rosa, caucho, rutabaga, cártamo, esparceta, salsifí, zapote, Satsuma, scorzonera, sésamo, karité, soja, espinaca, calabaza, fresa, remolacha azucarera, caña de azúcar, girasol, sueco, pimiento dulce, mandarina, té, teff, tabaco, tomate, trébol, árbol de tung, nabo, urena, arveja, nuez, sandía, yerba mate, berro de invierno, bolso de pastor, berro de jardín, berro de pimienta, berro, berro, anís estrellado, laurel, laurel de laurel, casia, jamun, eneldo, tamarindo, menta, orégano, romero, salvia, guanábana, centella asiática, calabucos, pera balsamo, nuez kukui, castaña de Tahití, albahaca, arándano, hibisco, maracuyá, caimito, sasafrás, cactus, hierba de San Juan, salicaria, espino, cilantro, planta de curry, kiwi, tomillo, calabacín, olluco, jícama, hoja de agua, naranja de mono, hobo, carambola, amaranto, wasabi, pimienta japonesa, ciruela amarilla, añu, caoba china, espinaca de Nueva Zelanda, espinaca bower, ugu, tanaceto, pamplina, jocote, manzana malaya, paracress, cerraja, papa china, perejil de caballo, mostaza de cobertura, clavel lanudo, ágata, árbol cassia, cardo, pimpinella, grosella estrellada, salsola soda, salicornia, pteris, helecho de encaje plateado, berza, primula, primula, verdolaga, centinodia, cornicabra, lechuga de árbol, betel silvestre, pimienta de África occidental, yerba santa, estragón, perejil, perifollo, berro de tierra, saxífraga de burnet, hierba de miel, petasita, shiso, pimienta de agua, perilla, frijol amargo, oca, kampong, chino apio, albahaca limón, albahaca tailandesa, mimosa de agua, cicely, dracena, moringa, mauka, helecho de avestruz, hierba

de arroz, lechuga sawah amarilla, apio, hierba de pimienta, maca, calabaza de botella, frijol jacinto, espinaca de agua, hypochaeris, planta camaleón, espinaca de Okinawa, malva enana, soldado galante, culantro, rúcula, cardo, caigua, mitsuba, chipilin, hinojo marino, mampat, ebolo, calabaza de hiedra, cardo de col, col rizada, chaya, huazontle, mostaza etíope, magenta spreen, espárrago de pobres, epazote, quinhuilla, centella cresta de gallo
 5 emplumada, alcaparra, rapini, repollo napa, mizuna, col rizada china, kai-lan, hojas de mostaza, espinaca malabar, acelga, malvavisco, acacia trepadora, yute de China, pimentón, semillas de achiote, menta verde, ajedrea, mejorana, comino, manzanilla, bálsamo de limón, pimienta de Jamaica, arándano, chirimoya, zarzamora, ciruela damascena, pitaya, durian, baya de saúco, feijoa, yaca, jambul, azufaifo, physalis, mangostán morado, rambután, grosella, grosella negra, baya salal, satsuma, fruta ugli, frijol azuki, frijol negro, ojos negros guisante, frijol borlotti, frijol común,
 10 frijol verde, judías, frijol mungo, frijol azul marino, frijol pinto, frijol corredor, tirabeques, guisante, Brócoli, coliflor, ortiga, pimienta, raddichio, daikon, rábano blanco, escaravía, tatsoi, broccolini, rábano negro, raíz de bardana, habas frijol, brócoli raab, zarandaja, lupino, sterculia, frijoles de terciopelo, frijoles alados, frijoles de ñame, mulga, vernonia, arbusto paraguas, tjuntjula, wakalpulka, arbusto de brujo, acacia nervuda, chía, nuez de haya, nuez de la india, coloquintida, mamoncillo, nuez maya, mongongo, nuez ogbono, nuez del paraíso y jaca de la India.

15 La dicotiledónea puede ser de una familia seleccionada del grupo que consiste en Acanthaceae (acanto), Aceraceae (arce), Achariaceae, Achatocarpaceae (achatocarpus), Actinidiaceae (grosella china), Adoxaceae (moscatel), Aextoxicaceae, Aizoaceae (caléndula de higo), Akaniaceae, Alangiaceae, Alseuosmiaceae, Alzateaceae, Amaranthaceae (amaranto), Amborellaceae, Anacardiaceae (zumaque), Ancistrocladaceae, Anisophylleaceae, Annonaceae (chirimoya), Apiaceae (zanahoria), Apocynaceae (dogbane), Aquifoliaceae (Arboleda), Aquileaceae (agrimonia), Asclepiadaceae (algodoncillo), Asteraceae (aster), Austrobaileyaceae, Balanopaceae, Balanophoraceae (balanophora), Balsaminaceae (mimosa), Barbeyaceae, Barclayaceae, Basellaceae (basella), Bataceae (saltwort), Begoniaceae (begoniaceae), Berberidaceae (agracejo), Betulaceae (abedul), Bignoniaceae (enredadera de trompeta), Bixaceae (árbol de pintalabios), Bombacaceae (árbol de ceiba), Boraginaceae (borraja), Brassicaceae (mostaza, también Cruciferae), Bretschn eideraceae, Brunelliaceae (brunellia), Bruniaceae, Brunoniaceae, Buddlejaceae (arbusto de mariposas), Burseraceae (inciense), Buxaceae (boj), Byblidaceae, Cabombaceae (escudo de agua), Cactaceae (cactus), Caesalpiniaceae, Callitrichaceae (Calycanthaceae) arbusto de fresa), Calyceraceae (calycera), Campanulaceae (campanilla), Canellaceae (canela), Cannabaceae (cáñamo), Capparaceae (alcaparras), Caprifoliaceae (madreselva), Cardiopteridaceae, Caricaceae (papaya), Caryocaraceae (souari), Caryophyllaceae (rosa), Casuarinaceae (casuarina), Cecropiaceae (cecropia), Celastraceae (dulcamara), Cephalotaceae, Ceratophyllaceae (hornwort), Cercidiphyllaceae (árbol de katsura), Chenopodiaceae (pie de ganso), Chloranthaceae (chloranthus), Circaeasteraceae (jara), Clethraceae (clethra), Clusiaceae (mangostán, también Guttiferae), Cneoraceae, Columelliaceae, Combretaceae (almendra india), Compositae (aster), Connaraceae (cannarus), Convolvulaceae (ipomoea), Coriariaceae, Cornaceae (cornejo), Corynocarpaceae (karaka), Crassulaceae (sedum),
 20 Crossosomataceae (crossosoma), Crypteroniaceae, Cucurbitaceae (pepino), Cunoniaceae (cunonia), Cuscutaceae (cuscuta), Cyrillaphyl Datisceaeae (datisca), Davidsoniaceae, Degeneriaceae, Dialypetalanthaceae, Diapensiaceae (diapensia), Dichapetalaceae, Didiereaceae, Didymelaceae, Dilleniaceae (dillenia), Dioncophyllaceae, Dipentodontaceae, Dipsacaceae (Merantiaceae, Dipentodontaceae, Dipsacaceae (merenciáceas) Ebenaceae (éban), Elaeagnaceae (acebuche), Elaeocarpaceae (elaecarpus), Elatinaceae (elatine), Empetraceae (arándano rojo), Epacridaceae (epacris), Eremolepidaceae (muérdago blanco), Ericaceae (brezo), Erythroxylaceae (coca), Euphorbiaceae (euphorbia), Eupomatiaceae, Eupteleaceae, Fabaceae (guisante o leguminosa), Fagaceae (haya), Flacourtiaceae (kerkup), Fouquieriaceae (ocotillo), Frankeniaceae (brezo de mar), Fumariaceae (palomilla), Garryaceae (borla de seda), Geissolomataceae, Gentianaceae (genciana), Geraniaceae (geranio), Gesneriaceae (gesneriaceae), Globulariaceae, Gomortegaceae, Goodeniaceae (goodenia), Greyiaceae, Grossulariaceae (currantiaceae), Gunneraceae (gunnera), Gyrostemonaceae, Haloragaceae (milenrama de agua), Hamamelidaceae (hamamelis), Hernandiaceae (hernandia), Himantandraceae, Hippocastanaceae (castaño de indias), Hippocrateaceae (hippocratea), Hippuridaceae (cola de caballo), Hoplestiriaceae, Humáceas Hydnoraceae, Hydrangeaceae (hortensia), Hydrophyllaceae (hoja de agua), Hydrostachyaceae, Icacinaeae (icacina), Idiospermaceae, Illiciaceae (anis estrellado), Ixonanthaceae, Juglandaceae (nuez), Julianiaceae, Krameriaceae (krameria), Lacistemaetaceae, también Lamiaceae (menta), Lardizabalaceae (lardizabala), Lauraceae (laural), Lecythidaceae (nuez de Brasil), Leeaceae, Leitneriaceae (corcho), Lennoaceae (lennoa), Lentibulariaceae (bladderwort), Limnan thaceae (espuma de pradera), Linaceae (lino), Lissocarpaceae, Loasaceae (loasa), Loganiaceae (logania), Loranthaceae (muérdago llamativo), Lythraceae (salicaria), Magnoliaceae (magnolia), Malesherbiaceae, Malpighiaceae (cereza de Barbados), Malvaceae (malvaceae), Marcgraviaceae (planta de guijarros), Medusagynaceae, Medusandraceae, Melastomataceae (melastoma), Meliaceae (caoba), Melianthaceae, Mendonciaceae, Menispermaceae (semilla de luna), Menyanthaceae (menyanthes), Mimosaceae, Monotropaceae (pipa india), Moraceae (morera), Moringaceae (árbol de rábano picante), Myoporaceae (myoporum), Myricaceae (myrica), Myristicaceae (nuez moscada), Myrothamnaceae, Myrsinaceae (myrsine), Myrtaceae (mirto), Nelumbonaceae (lotus lily), Nepenthaceae (planta de jarra de las Indias Orientales), Neuradaceae, Nolanaceae, Nothofagaceae, Nyctaginaceae (cuatro en punto), Nymphaeaceae (lirio de agua), Nyssaceae (goma agria), Ochnaceae (ochna), Olacaceae (olax), Oleaceae (oliva), Oliniaceae, Onagraceae (onagra), Oncothecaceae, Opiliaceae, Orobanchaceae (colza), Oxalidaceae (acedera de madera), Paeoniaceae (peonía), Pandaceae, Papaveraceae (amapola), Papilionaceae, Paracryphiaceae, Passifloraceae (pasiflora), Pedaliaceae (sesamelaceae) Pellicieraceae, Penaeaceae, Pentaphragmataceae, Pentaphylacaceae, Peridiscaceae, Physenaceae, Phytolaccaceae (hierba carmín), Piperaceae (pimienta), Pittosporaceae (pittosporum), Plantaginaceae (plátano), Platanaceae (plátano), Plumbaginaceae, podaceae de río (leadwmaceae) (phlox), Polygalaceae (milkwort),

Polygonaceae (trigo sarraceno), Portulacaceae (verdolaga), Primulaceae (prímula), Proteaceae (protea), Punicaceae (granada), Pyrolaceae (espinilla), Quiinaceae, Rafflesiaceae (raffunlesia Ranunculaceae), Resedaceae (mignonette), Retziaceae, Rhabdodendraceae, Rhamnaceae (espinillo amarillo), Rhizophoraceae (mangle rojo), Rhoipteleaceae, Rhynchocalycaceae, Rosaceae (rosa), Rubiaceae (más loca), Rutaceae (ruda), Sabiaceae (salvia), Saccifoliaceae, 5 Salicaceae (sauce), Salvadoraceae, Santalaceae (sándalo), Sapindaceae (jaboncillo), Sapotaceae (zapote), Sarcolaenaceae, Sargentodoxaceae, Sarraceniaceae (planta de jarra), Saururaceae (lagarto de cola), Saxifragaceae (saxifrage), Schisandraceae (schisandra), Scrophulariaceae (figwort), Scyphostegiaceae, Scytopetalaceae, Simaroubaceae (quassia), Simmondsiaceae (jojoba), Solanaceae (papa), Sonneratiaceae (sonneratia), Stachyuraceae, Staphyleaceae (bladdernut), Sterculiaceae (cacao), Stylidiaceae, Styracaceae (storax), Surianaceae 10 (suriana), Symplocaceae (hoja dulce), Tamaricaceae (tamarix), Tepuianthaceae, Tetracentraceae, Tetrameristaceae, Theaceae (té) theophrasta), Thymelaeaceae (mezereum), Tiodendraceae, Tiliaceae (tilo), Tovariaceae, Trapaceae (castaño de agua), Tremandraceae, Trigoniaceae, Trimeniaceae, Trochodendraceae, Tropaeolaceae (capuchina), Turneraceae (turnera), Ulmaceae (olmo), Urticaceae (ortiga), Valerianaceae (valeriana), Verbenaceae (verbena), Violaceae (violeta), Viscaceae (muérdago de Navidad), Vitaceae (uva), Vochysiaceae, Winteraceae (wintera), 15 Xanthophyllaceae y Zygophyllaceae (arbusto de creosota).

La monocotiledónea se puede seleccionar del grupo que consiste en maíz, trigo, avena, arroz, cebada, mijo, plátano, cebolla, ajo, espárragos, raigrás, mijo, fonio, raishan, hierba nipa, cúrcuma, azafrán, galanga, cebollino, cardamomo, palmera datilera, piña, chalote, puerro, cebollín, castaña de agua, ramba, lágrimas de Job, bambú, raji, harina de 20 agua impecable, oreja de elefante de hoja de flecha, espinaca de Tahití, abacá, areca, bajra, nuez de betel, mijo de escoba, sorgo de escoba, citronela, coco, cocoyam, maíz, malanga, sorgo, trigo duro, edo, fique, formio, jengibre, hierba de huerto, hierba de esparto, hierba de Sudán, maíz de Guinea, cáñamo de Manila, henequén, maíz híbrido, jowar, hierba de limón, maguey, mijo junco, mijo dedo, mijo cola de zorra, mijo japonés, mijo común, lino de Nueva Zelanda, avena, palma de aceite, palmira de palma, palma de sagú, redtop, sisal, sorgo, trigo espelta, maíz dulce, 25 sorgo dulce, taro, teff, pheleum pratense, triticale, vainilla, trigo y ñame.

Alternativamente, la monocotiledónea se puede seleccionar de una familia seleccionada del grupo que consiste en Acoraceae (calamus), Agavaceae (planta del siglo), Alismataceae (plátano de agua), Aloeaceae (aloe), Aponogetonaceae (azucena acuática), Araceae (arum), Arecaceae (palma), Bromeliaceae (bromelia), 30 Burmanniaceae (burmannia), Butomaceae (brote de floración), Cannaceae (canna), Centrolepidaceae, Commelinaceae (Tradescantia), Corsiaceae, Costaceae (costus), Cyanastraceae, Cyclanthaceae (sombbrero de Panamá), Cymodoceaceae (manatí hierba), Cyperaceae (juncia), Dioscoreaceae (ñame), Eriocaulaceae (Eriocaulon), Flagellariaceae, Geosiridaceae, Haemodoraceae (sanguinaria), Hanguanaceae (hanguana), Heliconiaceae (heliconia), Hydatellaceae, Hydrocharitaceae (valisneria recta), Iridaceae (iris), Joinvilleaceae (joinvillea), Juncaceae 35 (junco), Juncaginaceae (hierba de flecha), Lemnaceae (lenteja de agua), Liliaceae (lirio), Limnocharitaceae (amapola de agua), Lowiaceae, Marantaceae (planta de oración), Mayacaceae (mayaca), Musaceae (plátano), Najadaceae (ninfa de agua), Orchidaceae (orquídea), Pandanaceae (pino de tornillo), Petrosaviaceae, Philydraceae (philydraceae), Poaceae (hierba), Pontederiaceae (jacinto de agua), Posidoniaceae (posidonia), Potamogetonaceae (charca), Rapateaceae, Restionaceae (dársena), Ruppiaceae (hierba), Scheuchzeriaceae (scheuchzeria), 40 Smilacaceae (smilax), Sparganiaceae (sparganium), Stemonaceae (stemona), Strelitzaceae, Taccaceae (tacca), Thurniaceae, Triuridaceae, Typhaceae (totora), Velloziaceae, Xanthorrhoeaceae, Xyridaceae (hierba amarilla), Zannichelliaceae (hierba de estanque con cuernos), Zingiberaceae (jengibre) y Zosteraceae (zostera).

La gimnosperma se puede seleccionar de una familia seleccionada del grupo que consiste en Araucariaceae, 45 Boweniaceae, Cephalotaxaceae, Cupressaceae, Cycadaceae, Ephedraceae, Ginkgoaceae, Gnetaceae, Pinaceae, Podocarpaceae, Taxaceae, Taxodiaceae, Welwitschiaceae y Zamiaceae.

La estimulación del crecimiento vegetal lograda por los métodos presentes puede medirse y demostrarse de varias formas. La estimulación del crecimiento vegetal se puede mostrar en casos en los que la altura promedio de la 50 planta aumenta en al menos aproximadamente un 5 %, al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 % o al menos aproximadamente un 20 % en comparación con el promedio de altura de plantas cultivadas en las mismas condiciones pero que no han sido tratadas con el cultivo bacteriano o inoculante. Además, la estimulación del crecimiento vegetal se puede mostrar en casos en los que el diámetro medio de las 55 hojas de las hojas de la planta aumenta en al menos aproximadamente un 5 %, al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 % o al menos aproximadamente un 20 % en comparación con el diámetro medio de las hojas de plantas cultivadas en las mismas condiciones pero que no han sido tratadas con el cultivo bacteriano o inoculante. De manera similar, la estimulación del crecimiento vegetal se puede mostrar en casos en los que la longitud promedio de la raíz de la planta aumenta en al menos aproximadamente un 5 %, al menos aproximadamente un 10 %, al menos aproximadamente un 15 % o al menos aproximadamente un 20 % en 60 comparación a la longitud media de la raíz de las plantas cultivadas en las mismas condiciones pero que no han sido tratadas con el cultivo bacteriano o inoculante.

La presente descripción también se dirige a semillas de plantas, que se recubren con cualquiera de los inóculos o 65 cultivos bacterianos bacteriológicamente puros descritos en la presente descripción. La semilla puede ser de cualquiera de las plantas discutidas en las secciones anteriores pertenecientes a monocotiledóneas, dicotiledóneas o gimnospermas. El inoculante o cultivo bacteriano se puede aplicar a las semillas mediante el uso de un

mecanismo de recubrimiento adecuado antes de que las semillas se vendan al comercio para plantar. El proceso de recubrimiento de semillas con tal inóculo es generalmente bien conocido por los expertos en la técnica. Por ejemplo, las bacterias se pueden mezclar con un vehículo granular poroso químicamente inerte como se describe en Patente de los Estados Unidos Núm. 4.875.921 Como alternativa, el inoculante bacteriano se puede preparar con o sin un portador y se vende como un inoculante separado para insertarse directamente en los surcos en los que se planta la semilla. El proceso para insertar dichos inoculantes directamente en los surcos durante la siembra de semillas también es generalmente bien conocido en la técnica. La densidad de inoculación de estos cultivos bacterianos en semillas o en los surcos debería ser suficiente para poblar la región del subsuelo adyacente a las raíces de la planta con crecimiento bacteriano viable.

La presente invención también se refiere a kits para estimular el crecimiento vegetal, que incluyen un inóculo de la invención, e instrucciones para aplicar el inóculo a plantas, semillas de plantas o un medio de crecimiento vegetal. Los kits que contienen inoculantes de la invención típicamente incluirán uno o más recipientes del inoculante e instrucciones impresas para usar el inoculante para promover el crecimiento vegetal. El kit también puede incluir herramientas o instrumentos para reconstituir, medir, mezclar o aplicar el inoculante, y variará de acuerdo con la formulación particular y el uso previsto del inoculante.

Como se muestra en el Ejemplo 10 y otras tablas, las bacterias proporcionan un buen sistema para seleccionar mutaciones para las características deseadas. Es posible forzar tales mutaciones a través de la selección adecuada de rasgos deseables, mientras se retienen las capacidades de promoción del crecimiento vegetal deseadas en las bacterias. En consecuencia, los rasgos que pueden ser deseables para inducir en cepas bacterianas descritas en la presente descripción forzando mutaciones sin afectar la promoción del crecimiento vegetal incluyen, entre otros, resistencia a antibióticos, resistencia a metales pesados, tolerancia al calor y al frío, tolerancia alta y baja a la sal, deficiencias del metabolismo (como los requisitos de ciertos aminoácidos), ganancia de función metabólica (como la capacidad de metabolizar polisacáridos o compuestos plásticos), capacidad para resistir la desecación, resistencia a la radiación UV, tolerancia a sustancias químicas artificiales, capacidad para unirse más estrechamente con las raíces de las plantas, mayor afinidad por las plantas, mayor capacidad para colonizar plantas, motilidad, capacidad para aceptar ADN recombinante y capacidad para expresar proteínas exógenas. Estos atributos pueden obtenerse mediante el uso de presión selectiva o mediante la manipulación artificial de la genética de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal.

Más detalles sobre la preparación de inoculantes bacterianos y métodos para inocular plantas con inoculantes bacterianos se encuentran en, por ejemplo, Patente de los Estados Unidos Núm. 5,586,411; 5,697,186; 5,484,464; 5,906,929; 5,288,296; 4,875,921; 4,828,600; 5,951,978; 5,183,759; 5,041,383; 6,077,505; 5,916,029; 5,360,606; 5,292,507; 5,229,114; 4,421,544; y 4,367,609.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos no limitantes se proporcionan para ilustrar más la presente invención.

Ejemplo comparativo 1: Aislamiento e identificación de cepas bacterianas.

Se recolectaron muestras de suelo de las rizosferas de las plantas más saludables y resistentes de papa (*Solanum tuberosum*), zapallo amarillo (*Cucurbita pepo*), tomate (*Solanum lycopersicum*) y frijol polar (*Phaseolus coccineus*), se diluyeron en agua estéril y se esparcieron sobre placas de agar con nutrientes. Los aislamientos bacterianos que demostraron altas tasas de crecimiento y pudieron pasar y propagarse se seleccionaron para un estudio adicional. Las cepas seleccionadas se cultivaron en medios mínimos (KH₂PO₄ 3 g, Na₂HPO₄ 6 g, NH₄Cl 1 g, NaCl 0,50 g, MgSO₄ 7H₂O 0,15 g, CaCl₂ 2H₂O 0,013 g, y glucosa 1 g, por L de peso seco). Se centrifugaron cultivos durante la noche (30 °C) de cepas seleccionadas, se decantó el medio y se resuspendieron en una cantidad igual de agua destilada. Se plantaron diez semillas de lechuga por tratamiento a una profundidad de 1 cm en un suelo franco superior (Columbia, MO) que se tamizó para eliminar los desechos grandes. Las semillas se inocularon a plantar en macetas de 4 cm con 0,5 µl de bacterias se resuspendieron en agua mezclada en 10 ml de H₂O. Diez ml de H₂O fueron suficientes para llevar las bacterias a 3 pulgadas³ (7,62 cm³) de suelo, así como para saturar el suelo para la germinación adecuada de las semillas. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 65-75 °F (18-24 °C) con 11 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Después de una semana, se recogieron las alturas de las plantas y los diámetros de las hojas, así como la salud general de las plantas. La selección inicial de los aislados de la rizosfera dio como resultado la obtención de más de 200 especies distintas de bacterias y hongos de la rizosfera de las cuatro plantas. Algunas de las especies bacterianas se describen en la Tabla 2. Las cepas identificadas están indicadas por sus identificaciones bacterianas adecuadas. Otras cepas están indicadas por su número de identificación desconocido. Los inoculantes que dieron resultados cercanos al control (+/- 2 %) se dejaron fuera de la tabla.

TABLA 2

	Lechuga mantequilla		
Inoculante bacteriano	Promedio Altura (cm)	Comparación	SEM
Sin inocular	1,8	Control	,07
<i>Paracoccus kondratiaevae</i> NC35	2	111,1 %	,05
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	3,65	202,8 %	,45
<i>B. flexus</i> BT054	2,45	136,1 %	,11
<i>Bacillus mycoides</i> cepa BT155	2,17	120,4 %	,21
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	2,1	116,7 %	,20
<i>B. nealsonii</i> BOBA57	2,8	155,6 %	,03
<i>E. cloacae</i> CAP12	2,4	133,3 %	,41
Desconocido 8	1,77	77,8 %	,65
Desconocido 122	1,9	105,6 %	,11
Desconocido 15	1,4	77,8 %	,41
Desconocido 39	1,8	100,0 %	,20
Desconocido 401	2	111,1 %	,21
Desconocido 402	1,53	85,2 %	,27
Desconocido 41	1,45	80,6 %	,31
42 desconocido	1,4	77,8 %	,15
Desconocido 44	2,2	133,3 %	,08
Desconocido 51	1,83	102,9 %	,21

Las cepas bacterianas que produjeron el mayor efecto sobre la salud general de la planta y la altura de la planta en la prueba inicial de lechuga fueron sometidas a una identificación adicional. Las cepas bacterianas se cultivaron durante la noche en caldo Luria Bertani a 37 °C y los cultivos durante la noche se centrifugaron en una centrífuga. Se decantó el medio y el sedimento bacteriano restante se sometió a aislamiento de ADN cromosómico mediante el uso del kit de aislamiento de ADN cromosómico bacteriano de Qiagen. El ADN cromosómico se sometió a amplificación por PCR de las regiones codificantes del ARNr 16S mediante el uso de los cebadores E338F 5'-ACT CCT ACG GGA GGC AGC AGT-3' (SEQ ID NO: 7), E1099R A 5'-GGG TTG CGC TCG TTG C-3' (SEQ ID NO: 8) y E1099R B 5'-GGG TTG CGC TCG TTA C-3' (SEQ ID NO: 9). Los amplicones de PCR se purificaron mediante el uso de un kit de purificación de PCR Promega, y los amplicones resultantes se diluyeron y enviaron al University of Missouri DNA Core para la secuenciación del ADN. Las secuencias de ADN se compararon con la base de datos NCBI BLAST de aislamientos bacterianos, y el género y la especie se identificaron mediante comparación directa con cepas conocidas. Las especies más identificadas se indican en la Tabla 2. En muchos casos, las secuencias de ADN de ARNr 16S solo pudieron delinear el género de la cepa bacteriana seleccionada. En los casos en los que no se obtuvo una identificación directa, se realizaron análisis bioquímicos adicionales, mediante el uso de métodos estándar en el campo, para diferenciar cepas en los niveles de especie y cepa, y se enumeran en la Tabla 3.

TABLA 3

Prueba	<i>E. cloacae</i> CAP12	<i>P. kondratiaevae</i> NC35	<i>B. aryabhatai</i> CAP53	<i>B. flexus</i> BT054	<i>B. mycooides</i> BT155	<i>B. aryabhatai</i> CAP56	<i>B. sp.</i> BOBA57
Ureasa	-	-	-	-	-	-	+
Catalasa	+	+	+	+	+	+	+
Oxidasa	-	+	+	+	-	-	-
Nitrato	+	+	-	+	+	-	+
Crecimiento, 5 % NaCl	+	-	+	+	-	+	+
Crecimiento, 7,5 % NaCl	-	-	+	+	-	+	-
Crecimiento, 42 °C	+	+	+	+	+	+	+
Crecimiento, 50 °C	-	-	+	+	-	+	-
Crecimiento, pH 5	+	-	+	+	-	+	-
Crecimiento, pH 9	+	+	+	+	+	+	+
Ácido, celobiosa	+	-	+	+	+	+	-
Ácido, lactosa	+	-	+	+	+	-	+
Ácido, almidón	-	-	-	+	-	+	-

Ejemplo 1: Aislamiento e identificación de cepas bacterianas adicionales.

Se recolectaron muestras de suelo de campos agrícolas cerca de Gas, Kansas, se diluyeron en agua estéril y se esparcieron en placas de agar nutritivo. Los aislamientos bacterianos que demostraron altas tasas de crecimiento y pudieron pasar y propagarse se seleccionaron para un estudio adicional. Las cepas seleccionadas se cultivaron en medios mínimos (KH₂PO₄ 3 g, Na₂HPO₄ 6 g, NH₄Cl 1 g, NaCl 0,50 g, MgSO₄ 7H₂O 0,15 g, CaCl₂ 2H₂O 0,013 g, y glucosa 1 g, por L de peso seco). Se centrifugaron cultivos durante la noche (30 °C) de cepas seleccionadas, se decantó el medio y se resuspendieron en una cantidad igual de agua destilada. Se recubrieron semillas de maíz con polímero de semilla comercial mezclado con agua sola (1,6 µl por semilla total) o polímero de semilla comercial que contenía cepas bacterianas seleccionadas (1,6 µl por semilla total). Las semillas recubiertas se plantaron en macetas de 7,62 cm de diámetro (3 pulgadas) a una profundidad de 2,54 cm (1 pulgada) en un suelo franco superior (Columbia, MO) que se tamizó para eliminar los desechos grandes. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 18-24 °C (65-75 °F) con 11 horas de luz/día y 50 ml de riego al momento de la siembra y cada 3 días. Después de dos semanas, se recogieron las alturas de las plantas y los diámetros de las hojas, así como la salud general de las plantas. Para los ensayos de germinación y la determinación de la longitud de la raíz de 3 días, las semillas se recubrieron como se indicó anteriormente y se dispersaron uniformemente a razón de 10 semillas por toalla de papel. Las toallas de papel se humedecieron con 10 ml de agua, se enrollaron, se colocaron en una pequeña bolsa de plástico y se incubaron a 30 °C o se colocaron sobre una estera térmica de germinación a 27-30 °C (80-85 °F). Las mediciones de la raíz se registraron después de 3 días. La selección inicial de los aislados de la rizosfera dio como resultado la obtención de más de 100 especies distintas de bacterias y hongos de la rizosfera. Algunas de las especies bacterianas se describen en la Tabla 4. Las cepas identificadas están indicadas por sus identificaciones bacterianas adecuadas.

TABLA 4

Tratamientos de semillas de maíz		
Inoculante bacteriano	Promedio Altura (2 semanas) normalizada al control de polímero (%)	Promedio Longitud de la raíz (3 días) normalizada al control de polímero (%)
Control de polímeros	100	100
<i>B. mycoides</i> EE118	111,1	189,1
<i>B. subtilis</i> EE148	99,4	172,8
<i>Alcaligenes faecalis</i> EE107	111,5	129,2
<i>B. mycoides</i> EE141	109,2	143,5
<i>B. mycoides</i> BT46-3	105,6	141,3
Miembro de la familia <i>B. cereus</i> EE128	105,6	-
<i>B. thuringiensis</i> BT013A	101,8	103,8
<i>Paenibacillus massiliensis</i> BT23	104,2	139,4
Miembro de la familia <i>B. cereus</i> EE349	105,2	-
<i>B. subtilis</i> EE218	106,6	-
<i>B. megaterium</i> EE281	107,8	-

Las cepas bacterianas que produjeron el mayor efecto sobre la salud de las plantas se describen en la Tabla 4. Las cepas bacterianas se cultivaron durante la noche en caldo Luria Bertani a 37 °C y los cultivos durante la noche se centrifugaron en una centrífuga. Se decantó el medio y el sedimento bacteriano restante se sometió a aislamiento de ADN cromosómico mediante el uso del kit de aislamiento de ADN cromosómico bacteriano de Qiagen. El ADN cromosómico se sometió a amplificación por PCR de las regiones codificantes del ARNr 16S mediante el uso de los cebadores E338F 5'-ACT CCT ACG GGA GGC AGC AGT-3 ' , E1099R A 5'-GGG TTG CGC TCG TTG C-3' y E1099R B 5 ' -GGG TTG CGC TCG TTA C-3'. Los amplicones de PCR se purificaron mediante el uso de un kit de purificación de PCR Promega, y los amplicones resultantes se diluyeron y enviaron al University of Missouri DNA Core para la secuenciación del ADN. Las secuencias de ADN se compararon con la base de datos NCBI BLAST de aislamientos bacterianos, y el género y la especie se identificaron mediante comparación directa con cepas conocidas. Las especies más identificadas se indican en la Tabla 4. En muchos casos, las secuencias de ADN de ARNr 16S solo pudieron delinear el género de la cepa bacteriana seleccionada. En los casos en que no se pudo obtener una identificación directa, se realizaron análisis bioquímicos adicionales, mediante el uso de métodos estándar en el campo, para diferenciar las cepas en los niveles de especie y cepa, y las cepas diferenciadas se enumeran en la Tabla 5.

TABLA 5

Prueba	<i>B. Thuringiensis</i> BT013A	<i>B. miembro de la familia cereus</i> EE349	<i>B. subtilis</i> EE148	<i>B. subtilis</i> EE218	<i>B. megaterio</i> EE281	<i>Paenibacillus</i> <i>massiliensis</i> BT23	<i>B. mycooides</i> BT46-3	<i>Alcaligenes faecalis</i> EE107	<i>B. mycooides</i> EE118	<i>B. miembro de la familia cereus</i> EE128	<i>B. mycooides</i> EE141
Motilidad	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-
Colonia de rizoides	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+
Catalasa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidasa	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Nitrato	+	+	db	-	-	-	+	+	+	+	+
Crecimiento, 5 % NaCl	+	db	-	+	+	-	+	+	-	+	-
Crecimiento, 7,5 % NaCl	db	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Crecimiento, 42 °C	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-
Crecimiento, 50 °C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Crecimiento, pH 5	db	-	+	+	+	-	db	+	-	+	-
Crecimiento, pH 9	+	+	-	+	+	-	db	+	+	+	-
Ácido, celobiosa	-	-	db	+	-	+	+	db	+	-	db
Ácido, lactosa	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	db
Ácido, almidón	-	+	-	+	+	-	+	db	+	+	-

db = crecimiento débil o bajo crecimiento

Ejemplo comparativo 2: Ensayo de bacterias descritas en la presente descripción en alfalfa.

Las cepas seleccionadas se cultivaron en medios mínimos (KH₂PO₄ 3 g, Na₂HPO₄ 6 g, NH₄Cl 1 g, NaCl 0,50 g, MgSO₄ 7H₂O 0,15 g, CaCl₂ 2H₂O 0,013 g, y glucosa 1 g, por L de peso seco). Se centrifugaron cultivos durante la noche (30 °C) de cepas seleccionadas, se decantó el medio y se resuspendieron las bacterias en una cantidad igual de agua destilada. Se sembraron diez semillas de alfalfa recubiertas con Zeba para cada tratamiento a una profundidad de 0,6 cm en un suelo franco superior (Columbia, MO) que se tamizó para eliminar los desechos grandes. Las semillas se inocularon durante la siembra con 0,5 µl de bacterias se resuspendieron en agua mezclada en 10 ml de H₂O. Diez ml de H₂O fueron suficientes para llevar las bacterias a 3 pulgadas³ (7,62 cm³) de suelo, así como para saturar el suelo para la germinación adecuada de las semillas. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 65-75 °F (18-24 °C) con 11 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Se dejó que la alfalfa creciera durante 1 semana para analizar la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas en las condiciones descritas. Las cepas identificadas indicadas por sus identificaciones bacterianas adecuadas y los datos de altura final se enumeran en la Tabla 6.

TABLA 6

	Alfalfa		
Inoculante bacteriano	Promedio Altura (cm)	Comparación	SEM
Sin inocular	4,82	-	,008
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	4,85	101,20 %	,016
<i>B. nealsonii</i> BOBA57	4,86	101,70 %	,021
<i>E. cloacae</i> CAP12	5,6	116,23 %	,020

Ejemplo comparativo 3: Ensayo de bacterias descritas en la presente descripción en pepinos.

Las cepas seleccionadas se cultivaron en medios mínimos (KH₂PO₄ 3 g, Na₂HPO₄ 6 g, NH₄Cl 1 g, NaCl 0,50 g, MgSO₄ 7H₂O 0,15 g, CaCl₂ 2H₂O 0,013 g, y glucosa 1 g, por L de peso seco). Se centrifugaron cultivos durante la noche (30 °C) de cepas seleccionadas, se decantó el medio y se resuspendieron en la misma cantidad de agua

destilada. Se sembraron diez semillas de pepino para cada tratamiento a una profundidad de 1 cm en un suelo franco superior (Columbia, MO) que se tamizó para eliminar los desechos grandes. Las semillas se inocularon durante la siembra con 0,5 µl de bacterias se resuspendieron en agua mezclada en 10 ml de H₂O. Diez ml de H₂O fueron suficientes para llevar las bacterias a 3 pulgadas³ (7,62 cm³) de suelo, así como para saturar el suelo para la germinación adecuada de las semillas. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 65-75 °F (18-24 °C) con 11 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Los pepinos se dejaron crecer durante 2 semanas para analizar la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas en las condiciones descritas. Las cepas identificadas indicadas por sus identificaciones bacterianas adecuadas y los datos de altura final se enumeran en la Tabla 7.

TABLA 7

	Pepinos		
Inoculante bacteriano	Promedio Altura (cm)	Comparación	SEM
Sin inocular	11,23	-	,067
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	11,5	102,00 %	,023
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	11,35	101,20 %	,035
<i>B. nealsonii</i> BOBA57	11,33	101,10 %	,014

Ejemplo comparativo 4: Ensayo de bacterias descritas en la presente descripción en calabaza amarilla.

Las cepas seleccionadas se cultivaron en medios mínimos (KH₂PO₄ 3 g, Na₂HPO₄ 6 g, NH₄Cl 1 g, NaCl 0,50 g, MgSO₄ 7H₂O 0,15 g, CaCl₂ 2H₂O 0,013 g, y glucosa 1 g, por L de peso seco). Se centrifugaron cultivos durante la noche (30 °C) de cepas seleccionadas, se decantó el medio y se resuspendieron en una cantidad igual de agua destilada. Se plantaron diez semillas de calabaza amarilla para cada tratamiento a una profundidad de 1 cm en suelo franco superior (Columbia, MO) que se tamizó para eliminar los desechos grandes. Las semillas se inocularon durante la siembra con 0,5 µl de bacterias se resuspendieron en agua mezclada en 10 ml de H₂O. Diez ml de H₂O fueron suficientes para llevar las bacterias a 3 pulgadas³ (7,62 cm³) de suelo, así como para saturar el suelo para la germinación adecuada de las semillas. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 65-75 °F (18-24 °C) con 11 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Se dejó que la calabaza creciera durante 2 semanas para analizar la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas en las condiciones descritas. Las cepas identificadas indicadas por sus identificaciones bacterianas adecuadas, datos de altura final y datos del diámetro final de la hoja (por extensión de las dos hojas) se enumeran en la Tabla 8.

TABLA 8

	Calabaza amarilla				
Inoculante bacteriano	Promedio Altura (cm)	Comparación	SEM	Diámetro de la hoja (cm)	Comparación
Sin inocular	10,16	-	,028	5,08	-
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	11,75	115,60 %	,055	7,25	142,60 %
<i>B. flexus</i> BT054	11,88	116,90 %	,017	6,36	125,20 %
<i>Bacillus mycoides</i> BT155	11,92	117,20 %	,051	6,33	124,60 %
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	11,95	117,60 %	,027	6,33	124,60 %
<i>B. nealsonii</i> BOBA57	11,89	117,00 %	,118	6,42	126,40 %
<i>E. cloacae</i> CAP12	11,42	112,30 %	,039	6,83	134,40 %

Ejemplo comparativo 5: Ensayo de bacterias descritas en la presente descripción en pasto raigrás.

Las cepas seleccionadas se cultivaron en medios mínimos (KH₂PO₄ 3 g, Na₂HPO₄ 6 g, NH₄Cl 1 g, NaCl 0,50 g, MgSO₄ 7H₂O 0,15 g, CaCl₂ 2H₂O 0,013 g, y glucosa 1 g, por L de peso seco). Se centrifugaron cultivos durante la noche (30 °C) de cepas seleccionadas, se decantó el medio y se resuspendieron en una cantidad igual de agua destilada. Se plantaron treinta semillas de pasto raigrás para cada tratamiento a una profundidad de 0,3 cm en suelo franco superior (Columbia, MO) que se tamizó para eliminar los desechos grandes. Las semillas se inocularon durante la siembra con 0,5 µl de bacterias se resuspendieron en agua mezclada en 10 ml de H₂O. Diez ml de H₂O fueron suficientes para llevar las bacterias a 3 pulgadas³ (7,62 cm³) de suelo, así como para saturar el suelo para la germinación adecuada de las semillas. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 65-75 °F (18-24 °C) con 11 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Se dejó que el pasto raigrás creciera durante 1,5 semanas para analizar la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas en las condiciones descritas. Las cepas identificadas indicadas por sus identificaciones bacterianas adecuadas y datos de altura se enumeran en la Tabla 9.

TABLA 9

	Pasto raigrás		
Inoculante bacteriano	Promedio Altura (cm)	Comparación	SEM
Sin inocular	1,61	-	,023
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	2,01	124,70 %	,012
<i>B. flexus</i> BT054	2,21	137,30 %	,034
<i>Bacillus mycoides</i> BT155	2,29	142,20 %	
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	2,19	136,00 %	,009
<i>B. nealsonii</i> BOBA57	2,29	142,40 %	,045
<i>E. cloacae</i> CAP12	1,98	122,50 %	,015

Ejemplo comparativo 6: Prueba de bacterias descritas en la presente descripción en maíz.

Las cepas seleccionadas se cultivaron en medios mínimos (KH_2PO_4 3 g, Na_2HPO_4 6 g, NH_4Cl 1 g, NaCl 0,50 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,15 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,013 g, y glucosa 1 g, por L de peso seco). Se centrifugaron cultivos durante la noche (30 °C) de cepas seleccionadas, se decantó el medio y se resuspendieron en una cantidad igual de agua destilada. Se plantaron diez semillas de maíz para cada tratamiento a una profundidad de 2,5 cm en suelo franco superior (Columbia, MO) que se tamizó para eliminar los desechos grandes. Las semillas se inocularon durante la siembra con 0,5 μl de bacterias se resuspendieron en agua mezclada en 10 ml de H_2O . Diez ml de H_2O fueron suficientes para llevar las bacterias a 3 pulgadas³ (7,62 cm³) de suelo, así como para saturar el suelo para la germinación adecuada de las semillas. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 65-75 °F (18-24 °C) con 11 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Se dejó que el maíz creciera durante 2 semanas para analizar la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas en las condiciones descritas. Las cepas identificadas indicadas por sus identificaciones bacterianas adecuadas y los datos de altura final se enumeran en la Tabla 10.

TABLA 10

	Maíz		
Inoculante bacteriano	Promedio Altura (cm)	Comparación	SEM
Sin inocular	8,9	-	,039
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	11,01	123,60 %	,081
<i>B. flexus</i> BT054	9,96	112,00 %	,095
<i>Bacillus mycoides</i> cepa BT155	9,6	107,90 %	,041
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	9,54	107,10 %	,088
<i>B. nealsonii</i> BOBA57	9,23	103,70 %	,077

Ejemplo comparativo 7: Prueba de bacterias en semillas de soja

Las cepas seleccionadas se cultivaron en medios mínimos (KH_2PO_4 3 g, Na_2HPO_4 6 g, NH_4Cl 1 g, NaCl 0,50 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,15 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,013 g, y glucosa 1 g, por L de peso seco, o para *Bradyrhizobium* o *Rhizobium* en medio de levadura y manitol). Se centrifugaron cultivos durante la noche (30 °C) de cepas seleccionadas, se decantó el medio y se resuspendieron en la misma cantidad de agua destilada. Se plantaron diez semillas de soja para cada tratamiento a una profundidad de 2,5 cm en suelo franco superior (Columbia, MO) que se tamizó para eliminar los desechos grandes. Las semillas se inocularon durante la siembra con 0,5 μl de bacterias se resuspendieron en agua mezclada en 10 ml de H_2O . Al probar dos cepas bacterianas, 0,5 μl de cada bacteria resuspendida se mezcló en 10 ml de H_2O . Diez ml de H_2O fueron suficientes para llevar las bacterias a 3 pulgadas³ (7,62 cm³) de suelo, así como para saturar el suelo para la germinación adecuada de las semillas. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 65-75 °F (18-24 °C) con 11 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Se permitió que la soja creciera durante 2 semanas para analizar la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas en las condiciones descritas. Las cepas identificadas indicadas por sus identificaciones bacterianas adecuadas y los datos de altura final se enumeran en la Tabla 11. La coinoculación de cepas de bacterias en la presente invención con miembros de *Bradyrhizobium* sp. o *Rhizobium* sp. conducen a un aumento en el crecimiento vegetal en comparación con cualquier inoculante solo.

TABLA 11

		Soja		
Inoculante bacteriano	Promedio Altura (cm)	Comparación	SEM	
Sin inocular	13,94	-	,089	
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	16,32	117,1 %	,146	
<i>B. flexus</i> BT054	17,85	128,0 %	,177	
<i>Bacillus mycoides</i> cepa BT155	18,93	135,8 %	,117	
<i>B. aryabhatai</i> CAP56	17,23	123,6 %	,133	
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	16,32	117,1 %	,077	
<i>B. aryabhatai</i> CAP53 y <i>Bradyrhizobium</i> sp.	16,72	119,9 %	,182	
<i>B. aryabhatai</i> CAP53 y <i>Rhizobium</i> sp.	17,32	124,2 %	,086	
<i>Bradyrhizobium</i> sp.	14,25	102,2 %		
<i>Rhizobium</i> sp.	14,75	105,8 %		

Ejemplo comparativo 8: Ensayo de bacterias descritas en la presente descripción en semillas de soja con el efecto aditivo de productos químicos que promueven el crecimiento vegetal.

Las cepas seleccionadas se cultivaron en medios mínimos (KH_2PO_4 3 g, Na_2HPO_4 6 g, NH_4Cl 1 g, NaCl 0,50 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,15 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,013 g, y glucosa 1 g, por L de peso seco). Se centrifugaron cultivos durante la noche (30 °C) de cepas seleccionadas, se decantó el medio y se resuspendieron en la misma cantidad de agua destilada. Se plantaron diez semillas de soja para cada tratamiento a una profundidad de 2,5 cm en suelo franco superior (Columbia, MO) que se tamizó para eliminar los desechos grandes. Las semillas se inoculan durante la siembra con 0,5 µl de bacterias resuspendidas en agua se mezclan en 10 ml de H_2O sola, en 10 ml de H_2O con 0,5 µl de glicerol, en 10 ml de H_2O con 0,5 µl de 2,3-butanodiol, o en 10 ml de H_2O con 0,5 mg de extracto de levadura. Diez ml de H_2O fueron suficientes para llevar las bacterias a 3 pulgadas³ (7,62 cm³) de suelo, así como para saturar el suelo para la germinación adecuada de las semillas. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 65-75 °F (18-24 °C) con 11 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Se permitió que la soja creciera durante 2 semanas para analizar la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas en las condiciones descritas. Las cepas identificadas indicadas por sus identificaciones bacterianas adecuadas y datos de altura final se enumeran en la Tabla 12.

TABLA 12

		Soja		
Inoculante bacteriano	Promedio Altura (cm)	Comparación con los no inoculados	Comparación con el inoculante	SEM
Sin inocular	11,24	-		,153
Sin inocular y glicerol	12,34	109,8 %		,107
Extracto de levadura y sin inocular	14,03	124,8 %		,212
<i>B. aryabhatai</i> CAP53	12,56	111,7 %	-	,146
<i>B. aryabhatai</i> CAP53 y glicerol	13,22	117,6 %	105,3 %	,118
<i>B. aryabhatai</i> CAP53 y extracto de levadura	14,73	131,0 %	117,3 %	,119
<i>Paracoccus</i> sp. NC35	13,32	118,5 %	-	,027
<i>Paracoccus</i> sp. NC35 y 2,3-butanodiol	15,09	134,3 %	113,3 %	,210
<i>Paracoccus</i> sp. NC35 y extracto de levadura	15,83	140,8 %	118,8 %	,145

Ejemplo comparativo 9: Ensayo de bacterias descritas en la presente descripción en maíz con el efecto aditivo de productos químicos que promueven el crecimiento vegetal.

Las cepas seleccionadas se cultivaron en medios mínimos (KH_2PO_4 3 g, Na_2HPO_4 6 g, NH_4Cl 1 g, NaCl 0,50 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,15 g, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,013 g, y glucosa 1 g, por L de peso seco). Se centrifugaron cultivos durante la noche (30 °C) de cepas seleccionadas, se decantó el medio y se resuspendieron en una cantidad igual de agua destilada. Se plantaron diez semillas de maíz para cada tratamiento a una profundidad de 2,5 cm en suelo franco superior (Columbia, MO) que se tamizó para eliminar los desechos grandes. Las semillas se inoculan durante la

siembra con 0,5 µl de bacterias resuspendidas en agua se mezclaron en 10 ml de H₂O sola, en 10 ml de H₂O con 0,5 µl de 2,3-butanodiol, o en 10 ml de H₂O con 0,5 mg extracto de levadura. Diez ml de H₂O fueron suficientes para llevar las bacterias a 3 pulgadas³ (7,62 cm³) de suelo, así como para saturar el suelo para la germinación adecuada de las semillas. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 65-75 °F (18-24 °C) con 11 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Se dejó que el maíz creciera durante 2 semanas para analizar la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas en las condiciones descritas. Las cepas identificadas indicadas por sus identificaciones bacterianas adecuadas y los datos de altura final se enumeran en la Tabla 13.

TABLA 13

	Maíz			
Inoculante bacteriano	Promedio Altura (cm)	Comparación con los no inoculados	Comparación con el inoculante	SEM
Sin inocular	15,15	-		,156
Sin inocular y 2,3-butanodiol	16,03	105,8 %		,078
Extracto de levadura y sin inocular	17,04	112,5 %		,101
<i>Paracoccus</i> sp. NC35	16,04	105,9 %	-	,023
<i>Paracoccus</i> sp. NC35 y 2,3-butanodiol	16,24	107,2 %	101,2 %	,111
<i>Paracoccus</i> sp. NC35 y extracto de levadura	17,96	118,5 %	112,0 %	,127

Ejemplo comparativo 10: Generación de mutantes capaces de crecer en condiciones de alta salinidad que retienen la capacidad de promover el crecimiento vegetal mediante el uso de presión selectiva.

Se encontró que *Paracoccus kondratiaevae* NC35 y *Bacillus mycoides* BT155 son sensibles a la sal y no muy activos en tipos de suelos con alto contenido de sal (Tabla 3). Para inducir la tolerancia a la sal en estas bacterias promotoras del crecimiento vegetal, se usó una presión selectiva mediante el uso de concentraciones sucesivamente más altas de NaCl para encontrar mutantes que pudieran tolerar estos tipos de suelos con alto contenido de sal. Las cepas seleccionadas se cultivaron en medio líquido Luria Bertani a 37 °C durante la noche y se sembraron en medio de agar con sal de NaCl al 1 % y se dejaron crecer durante 48 horas a 30 °C. Se cultivaron colonias individuales de cepas que sobrevivieron en las placas de agar LB con sal de 1 % en Luria Bertani con medio líquido de NaCl al 1 % a 37 °C durante la noche y se sembraron en medio de agar LB con sal de NaCl al 3 % durante 48 horas a 30 °C. Las colonias de cepas que sobrevivieron en el agar LB con sal de NaCl al 3 % se cultivaron en Luria Bertani con medio líquido con NaCl al 3 % a 37 °C durante la noche y se sembraron en medio de agar LB con sal de NaCl al 5 % y se dejaron crecer durante 48 horas a 30 °C. Las colonias bacterianas seleccionadas de las placas de agar LB con sal al 5 % se cultivaron en Luria Bertani durante la noche más medio NaCl al 5 % a 37 °C. Se cultivaron durante la noche cultivos de cepas originales en medio mínimo y mutantes tolerantes a la sal durante la noche y se centrifugaron, se decantaron los medios y se resuspendieron en la misma cantidad de agua destilada. Se plantaron nueve semillas de soja para cada tratamiento a una profundidad de 2,5 cm en suelo franco superior (Columbia, MO) o franco suplementado con una solución salina al 5 % (p/p), en donde ambos suelos se tamizaron para eliminar los desechos grandes. Las semillas se inocularon durante la siembra con 0,5 µl de bacterias se resuspendieron en agua mezclada en 10 ml de H₂O. Diez ml de H₂O fueron suficientes para llevar las bacterias a 3 pulgadas³ (7,62 cm³) de suelo, así como para saturar el suelo para la germinación adecuada de las semillas. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 65-75 °F (18-24 °C) con 11 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Se permitió que la soja creciera durante 2 semanas para analizar la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas en las condiciones descritas. Las cepas identificadas indicadas por sus identificaciones bacterianas adecuadas y los datos de altura final se enumeran en la Tabla 14. Se forzaron mutaciones en una cepa sensible a la sal que conservaba la capacidad de promover el crecimiento vegetal.

TABLA 14

Inoculante bacteriano	Promedio Altura, suelo franco (cm)	Porcentaje	Promedio altura, 5 % Suelo salado (cm)	Porcentaje	SEM, suelo franco	SEM, 5 % de suelo salado
Control de H ₂ O	10,54	100 %	7,34	100 %	,322	,117
<i>Paracoccus</i> sp NC35, sensible a la sal	11,91	113 %	7,15	97,4 %	,115	,215
<i>Paracoccus</i> sp. Tolerante a la sal NC35	12,02	114 %	9,23	125,7 %	,451	,105
<i>Bacillus mycoides</i> cepa BT155, sensible a la sal	12,75	120,9 %	7,45	101,5 %	,212	,279
<i>Bacillus mycoides</i> cepa BT155, tolerante a la sal	12,92	122,6 %	8,93	121,7 %	,185	,056

Ejemplo comparativo 11: Generación de mutantes capaces de crecer en presencia de tiram que retuvieron la capacidad de promover el crecimiento vegetal mediante el uso de presión selectiva.

El tiram es un insecticida y fungicida común y bien establecido que se utiliza en una amplia gama de cultivos agrícolas. El tiram también es bastante antibacteriano y puede tener efectos perjudiciales sobre la mayoría de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, incluidas las descritas en la presente descripción. Se encontró que todas las cepas probadas tenían un alto grado de sensibilidad al tiram. Varias de las cepas, incluyendo *Paracoccus kondratiavae* NC35 resistente a la sal del Ejemplo 11, *Bacillus aryabhattai* CAP53, *Bacillus mycoides* BT155 resistente a la sal del Ejemplo 11 y *Bacillus thuringiensis* BT0013A se cultivaron en medio LB con cantidades diminutas de tiram (0,05 mg/L). El crecimiento en estas condiciones tomó cuatro días, en lugar de las típicas 12 horas en ausencia de tiram. Las bacterias mutadas que comenzaron a crecer en presencia de tiram fueron sometidas secuencialmente a concentraciones cada vez más altas de tiram (0,25 mg/L, 0,50 mg/L, 1 mg/L, 5 mg/L). Al lograr un cultivo mutado que pudiera soportar la mayor cantidad de tiram en la semilla (0,05 mg/semilla), *Paracoccus kondratiave* NC35, el mutante resistente a la sal/tiram (ThR) NC35, *Bacillus aryabhattai* CAP53, el mutante CAP53 ThR, *Bacillus mycoides* BT155, el mutante BT155 sal/ThR, *Bacillus thuringiensis* BT013A y el mutante BT013A ThR se aplicaron sobre semillas en presencia de tiram a 0,05 mg/semilla. Se cultivaron durante la noche cultivos de cepas originales en medio mínimo y mutantes resistentes al tiram durante la noche y se centrifugaron, se decantaron los medios y se resuspendieron en la misma cantidad de agua destilada. Se sembraron diez semillas de soja para cada tratamiento a una profundidad de 2,5 cm en suelo franco superior (Columbia, MO) en un tratamiento de semilla estándar con 0,5 mg/semilla de tiram. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 18-24 °C (65-75 °F) con 11 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Se permitió que la soja creciera durante 2 semanas para analizar la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas en las condiciones descritas. Se forzaron mutaciones en todas las cepas que conservaban la capacidad de promover el crecimiento vegetal. Los resultados se muestran en la Tabla 15 a continuación.

TABLA 15

Inoculante bacteriano	Porcentaje	SEM,
Control de H ₂ O	100 %	3,4 %
<i>Paracoccus</i> sp NC35, sensible al tiram	114,3 %	7,1 %
<i>Paracoccus</i> sp. NC35 ThR, resistente al tiram	135,3 %	9,2 %
<i>Bacillus aryabhattai</i> CAP53, sensible al tiram	107,6 %	10,1 %
<i>Bacillus aryabhattai</i> CAP53 ThR resistente al tiram	111,9 %	7,2 %
<i>Bacillus mycoides</i> BT155, sensible al tiram	103,9 %	6,9 %
<i>Bacillus mycoides</i> BT 155, ThR resistente al tiram	124,1 %	12,3 %
<i>Bacillus thuringiensis</i> BT013A, sensible al tiram	100,1 %	5,7 %
<i>Bacillus thuringiensis</i> BT013A, ThR, resistente al tiram	104,9 %	8,3 %

Ejemplo comparativo 12: Generación de mutantes capaces de crecer en presencia de glifosato que retuvieron la capacidad de promover el crecimiento vegetal mediante el uso de presión selectiva.

El glifosato es un herbicida común y bien establecido que se utiliza en una amplia gama de cultivos agrícolas. El glifosato también es bastante inhibidor de diversas bacterias y puede tener efectos perjudiciales sobre algunas bacterias promotoras del crecimiento vegetal, incluidas las descritas en la presente descripción. Dos de las cepas

descritas en la presente descripción tenían un grado de inhibición en presencia de glifosato. Se cultivaron *Bacillus aryabhatai* CAP53 en medio LB con cantidades diminutas de glifosato (0,05 mg/L). El crecimiento en estas condiciones tomó dos días, en lugar de las típicas 12 horas en ausencia de glifosato. Las bacterias mutadas que comenzaron a crecer en presencia de glifosato fueron sometidas secuencialmente a concentraciones cada vez más altas de glifosato (0,25 mg/L, 0,50 mg/L, 1 mg/L, 5 mg/L). Al lograr un cultivo mutado que pudiera soportar una mayor cantidad de glifosato en el suelo (100 ppm), se aplicaron cepas de tipo salvaje y tolerantes al glifosato de *Bacillus aryabhatai* CAP53 a las semillas a una tasa de 1×10^5 UFC/semilla con un tratamiento estándar de semillas. Se plantaron diez semillas de soja para cada tratamiento a una profundidad de 2,5 cm en suelo franco (Columbia, MO) en un tratamiento de semilla estándar con 100 ppm de glifosato. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 18-24 °C (65-75 °F) con 11 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Se permitió que la soja creciera durante 2 semanas para analizar la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas en las condiciones descritas. Se forzaron mutaciones en todas las cepas que conservaban la capacidad de promover el crecimiento vegetal.

TABLA 16

Inoculante bacteriano	Porcentaje	SEM,
Control de H ₂ O	100 %	7,4 %
<i>Bacillus aryabhatai</i> CAP53, sensible al glifosato	107,4 %	5,8 %
<i>Bacillus aryabhatai</i> CAP53, tolerante al glifosato, GlyR	110,5 %	4,6 %

Ejemplo 2: miembros de la familia de *Bacillus cereus* con atributos que promueven el crecimiento vegetal

La cepa BT155 de *Bacillus mycoides*, la cepa EE118 de *Bacillus mycoides*, la cepa EE141 de *Bacillus mycoides*, la cepa BT46-3 de *Bacillus mycoides*, la cepa EE349 de miembro de la familia *Bacillus cereus*, la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* y la cepa EE281 de *Bacillus megaterium* a 37 °C y en caldo de Luria Bertani, se centrifugaron los cultivos durante la noche, se decantaron los medios y se resuspendieron en una cantidad igual de agua destilada. Se sembraron 20 semillas de maíz para cada tratamiento a una profundidad de 2,5 cm en un suelo franco superior (Columbia, MO) que se tamizó para eliminar los desechos grandes. Las semillas se inocularon durante la siembra con 0,5 µl de bacterias se resuspendieron en agua mezclada en 10 ml de H₂O. Cincuenta ml de H₂O fueron suficientes para llevar las bacterias a las 29 pulgadas³ (442,5 cm³) de suelo, así como para saturar el suelo para la germinación adecuada de las semillas. Las plantas se cultivaron a temperaturas entre 65-72 °F con 13 horas de luz/día y 5 ml de riego cada 3 días. Las plántulas se dejaron crecer durante 2 semanas para analizar la emergencia y el crecimiento inicial de las plantas en las condiciones descritas. Las cepas identificadas indicadas por sus identificaciones bacterianas adecuadas y los datos de altura final se enumeran en la Tabla 17.

TABLA 17

Inoculante bacteriano	Promedio Altura, cm, maíz	Porcentaje	SEM,
Control de H ₂ O	11,41	100 %	,123
<i>B. mycoides</i> EE118	12,43	108,9 %	,207
<i>B. mycoides</i> EE141	12,84	112,5 %	,231
<i>B. mycoides</i> BT46-3	11,81	103,5 %	,089
<i>Bacillus thuringiensis</i> BT013A	12,05	105,6 %	,148
Miembro de la familia de <i>Bacillus cereus</i> EE128	13,12	114,9 %	,159
<i>Bacillus mycoides</i> BT155	12,85	112,6 %	,163
<i>Bacillus megaterium</i> EE281	11,99	105,1 %	,098

Todas las bacterias promotoras del crecimiento vegetal probadas tuvieron un efecto beneficioso sobre la altura del maíz a las dos semanas en las condiciones descritas. La cepa EE128, miembro de la familia *Bacillus cereus*, tuvo el mayor efecto en este ensayo, dando un aumento mayor al 14 % en la altura del maíz. Cuando se introducen elementos de la presente invención, los artículos "un", "una", "el" y "dicho" pretenden significar que hay uno o más de los elementos. Los términos "que comprende", "que incluye" y "que tiene" pretenden ser inclusivos y significan que puede haber elementos adicionales distintos de los elementos enumerados.

En vista de lo anterior, se verá que se logran los diversos objetos de la invención y se obtienen otros resultados ventajosos.

REIVINDICACIONES

1. Un inóculo para la aplicación a plantas, semillas de plantas o un medio de crecimiento vegetal, en donde el inóculo comprende un portador agrícolamente aceptable y una cantidad efectiva de un cultivo bacteriano biológicamente puro, en donde la bacteria en el cultivo bacteriano es la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924).
2. Un inóculo de la reivindicación 1, en donde el inóculo comprende una cantidad efectiva de una mezcla de al menos dos cultivos bacterianos, la mezcla comprende:
 - la cepa CAP53 de *Bacillus aryabhatai* (NRRL No. B-50819) y la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924);
 - la cepa CAP56 de *Bacillus aryabhatai* (NRRL No. B-50817) y la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924);
 - la cepa BT054 de *Bacillus flexus* (NRRL No. B-50816) y la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924);
 - la cepa NC35 de *Paracoccus kondratievae* (NRRL No. B-50820) y la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924);
 - la cepa BT155 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50921) y la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924);
 - la cepa BOBA57 de *Bacillus nealsonii* (NRRL No. B-50821) y la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924);
 - la cepa EE118 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50918) y la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924);
 - la cepa EE148 de *Bacillus subtilis* (NRRL No. B-50927) y la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924);
 - la cepa EE141 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50916) y la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924);
 - la cepa BT46-3 de *Bacillus mycoides* (NRRL No. B-50922) y la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924);
 - la cepa EE128 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* (NRRL No. B-50917) y la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924);
 - la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924) y la cepa BT23 de *Paenibacillus massiliensis* (NRRL No. B-50923);
 - la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924) y la cepa EE349 de miembro de la familia de *Bacillus cereus* (NRRL No. B-50928);
 - la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924) y la cepa EE218 de *Bacillus subtilis* (NRRL No. B-50926); o
 - la cepa BT013A de *Bacillus thuringiensis* (NRRL No. B-50924) y la cepa EE281 de *Bacillus megaterium* (NRRL No. B-50925).
3. Un inóculo de la reivindicación 1 o 2, en donde el inóculo comprende además una cantidad efectiva de una rizobacteria.
4. Un inóculo de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde el portador agrícolamente aceptable comprende un dispersante, un tensioactivo, un aditivo, agua, un espesante, un agente antiaglomerante, descomposición de residuos, una formulación de compostaje, una aplicación granular, tierra de diatomeas, un aceite, un agente colorante, un estabilizador, un conservante, un polímero, un recubrimiento o una combinación de los mismos.
5. Un inóculo de la reivindicación 4, en donde:
 - el aditivo comprende un aceite, una goma, una resina, una arcilla, un polioxietilenglicol, un terpeno, un compuesto orgánico viscoso, un éster de ácido graso, un alcohol sulfatado, un alquilsulfonato, un sulfonato de petróleo, un alcohol sulfato, un diamato de alquil butano de sodio, un poliéster de dioato de tiobutante de sodio, un material proteico o una combinación de los mismos;
 - el espesante comprende un alquilsulfonato de cadena larga de polietilenglicol, oleato de polioxietileno o una combinación de los mismos;
 - el tensioactivo comprende un aceite de petróleo pesado, un destilado de petróleo pesado, un éster de ácido graso de polioliol, un éster de ácido graso polietoxilado, un aril alquil polioxietilenglicol, un acetato de alquil amina, un alquil aril sulfonato, un alcohol polihídrico, un alquil fosfato o una combinación de los mismos; o
 - el agente antiaglomerante comprende una sal de sodio, un carbonato de calcio, tierra de diatomeas o una combinación de los mismos.
6. Un inóculo de cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde el portador agrícolamente aceptable comprende vermiculita, carbón vegetal, lodo de prensa de carbonatación de fábrica de azúcar, cáscara de arroz, carboximetilcelulosa, turba, perlita, arena fina, carbonato de calcio, harina, alumbre, un almidón, talco, polivinilpirrolidona o una combinación de los mismos.

7. Un inóculo de cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde el inóculo se formula como una formulación de recubrimiento de semillas, una formulación líquida para su aplicación a plantas o a un medio de crecimiento vegetal, o una formulación sólida para su aplicación a plantas o a un medio de crecimiento vegetal.
- 5 8. Un inóculo de la reivindicación 7, en donde:
la formulación de recubrimiento de semillas es una solución acuosa o basada en aceite para su aplicación a
semillas o una formulación en polvo o granular para aplicación a semillas;
la formulación líquida para su aplicación a plantas o a un medio de crecimiento vegetal está en una
10 formulación concentrada o una formulación lista para usar; o
la formulación sólida para su aplicación a plantas o a un medio de crecimiento vegetal es una formulación
granular o un agente en polvo.
9. Un inóculo de cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde el inóculo comprende además un fertilizante,
15 un material fertilizante de micronutrientes, un insecticida, un herbicida, una enmienda para el crecimiento
vegetal, un fungicida, un moluscicida, un algicida, un inoculante bacteriano, un inoculante fúngico o una
combinación de los mismos.
10. Un inóculo de la reivindicación 9, en donde:
20 el fertilizante comprende sulfato de amonio, nitrato de amonio, nitrato de sulfato de amonio, cloruro de
amonio, bisulfato de amonio, polisulfuro de amonio, tiosulfato de amonio, amoniaco acuoso, amoniaco
anhidro, polifosfato de amonio, sulfato de aluminio, nitrato de calcio, nitrato de amonio y calcio, sulfato de
calcio, magnesita calcinada, caliza calcítica, óxido de calcio, nitrato de calcio, caliza dolomítica, cal hidratada,
25 carbonato de calcio, fosfato diamónico, fosfato monoamónico, nitrato de magnesio, sulfato de magnesio,
nitrato de potasio, cloruro de potasio, sulfato de potasio y magnesio, sulfato de potasio, nitratos de sodio,
caliza magnésica, magnesita, urea, formaldehídos de urea, nitrato de amonio y urea, urea recubierta de
azufre, urea recubierta de polímero, isobutiliden diurea, $K_2SO_4 \cdot 2MgSO_4$, kainita, silvinita, kieserita, sales de
Epsom, azufre elemental, margas, conchas de ostra molidas, harina de pescado, tortas de aceite, estiércol de
30 pescado, harina de sangre, fosfato de roca, superfosfatos, escoria, harina de huesos, ceniza de madera,
estiércol, guano de murciélago, turba, abono, arena verde, harina de semilla de algodón, harina de plumas,
harina de cangrejo, emulsión de pescado o una combinación de los mismos;
el material fertilizante de micronutrientes comprende ácido bórico, un borato, una frita de boro, sulfato de
cobre, una frita de cobre, un quelato de cobre, un tetraborato de sodio decahidratado, un sulfato de hierro, un
35 óxido de hierro, sulfato de hierro y amonio, una frita de hierro, un quelato de hierro, un sulfato de manganeso,
un óxido de manganeso, un quelato de manganeso, un cloruro de manganeso, una frita de manganeso, un
molibdato de sodio, ácido molídico, un sulfato de zinc, un óxido de zinc, un carbonato de zinc, una frita de
zinc, fosfato de zinc, un quelato de zinc, o una combinación de los mismos;
el insecticida comprende un organofosfato, un carbamato, un piretroide, un acaricida, un ftalato de alquilo,
40 ácido bórico, un borato, un fluoruro, azufre, una urea haloaromática sustituida, un éster hidrocarbonado, un
insecticida de base biológica o una combinación de los mismos;
el herbicida comprende un compuesto clorofenoxi, un compuesto nitrofenólico, un compuesto nitrocresólico,
un compuesto dipiridilo, una acetamida, un ácido alifático, una anilida, una benzamida, un ácido benzoico,
ácido anísico, un benzonitrilo, dióxido de benzotriazinona, un tiocarbamato, un carbamato, un carbanilato,
cloropiridinilo, un compuesto de fluorodinitrotoluidina, isoxazolidinona, ácido nicotínico, isopropilamina,
45 oxadiazolinona, un fosfato, un ftalato, un compuesto de ácido picolínico, una triazina, un triazol, un uracilo,
endotal, clorato de sodio o una combinación de los mismos;
el fungicida comprende un benceno sustituido, un tiocarbamato, un bis ditiocarbamato de etileno, una
tioftalidamida, un compuesto de cobre, un compuesto de organomercurio, un compuesto de organoestaño, un
compuesto de cadmio, anilazina, benomilo, ciclohexamida, dodina, etridiazol, iprodiona, metlaxil, tiamimefon,
50 triforina o una combinación de los mismos;
el inoculante fúngico comprende un inoculante fúngico de la familia Glomeraceae, un inoculante fúngico de la
familia Claroidoglomeraceae, un inoculante fúngico de la familia Gigasporaceae, un inoculante fúngico de la
familia Acaulosporaceae, un inoculante fúngico de la familia Sacculosporaceae, un inoculante fúngico de la
familia Entrophosporaceae, un inoculante fúngico de la familia Pacidsporaceae, un inoculante fúngico de la
55 familia Diversisporaceae, un inoculante fúngico de la familia Paraglomeraceae, un inoculante fúngico de la
familia Archaeosporaceae, un inoculante fúngico de la familia Geosiphonaceae, un inoculante fúngico de la
familia Ambisporaceae, un inoculante fúngico de la familia Scutellosporaceae, un inoculante fúngico de la
familia Dentiscultataceae, un inoculante fúngico de la familia Racocetraceae, un inoculante fúngico del filo
Basidiomycota, un inoculante fúngico del filo Ascomycota, un inoculante fúngico del filo Zygomycota o una
60 combinación de los mismos; o
el inoculante bacteriano comprende un inoculante bacteriano del género *Rhizobium*, un inoculante bacteriano
del género *Bradyrhizobium*, un inoculante bacteriano del género *Mesorhizobium*, un inoculante bacteriano del
género *Azorhizobium*, un inoculante bacteriano del género *Allorhizobium*, un inoculante bacteriano del género
Sinorhizobium, un inoculante bacteriano del género *Kluyvera*, un inoculante bacteriano del género
65 *Azotobacter*, un inoculante bacteriano del género *Pseudomonas*, un inoculante bacteriano del género
Azospirillum, un inoculante bacteriano del género *Bacillus*, un inoculante bacteriano del género
Streptomyces, un inoculante bacteriano del género *Paenibacillus*, un inoculante bacteriano del género

Paracoccus, un inoculante bacteriano del género *Enterobacter*, un inoculante bacteriano del género *Alcaligenes*, un inoculante bacteriano del género *Mycobacterium*, un inoculante bacteriano del género bacteriano *Trichoderma* inoculante del género *Gliocladium*, un inoculante bacteriano del género *Glomus*, un inoculante bacteriano del género *Klebsiella* o una combinación de los mismos.

- 5
11. Un método para estimular el crecimiento vegetal que comprende aplicar el inóculo de cualquiera de las reivindicaciones 1-10 a una planta, semilla de planta o medio de crecimiento vegetal.
- 10
12. Un método de la reivindicación 11, que comprende:
aplicar el cultivo o inóculo bacteriano al medio de crecimiento vegetal;
aplicar el cultivo o inóculo bacteriano al medio de crecimiento vegetal antes, al mismo tiempo o después de plantar semillas, plántulas, esquejes, bulbos o plantas en el medio de crecimiento vegetal;
aplicar el cultivo o inóculo bacteriano a las hojas, raíces o tallos de las plantas; o
aplicar el cultivo o inóculo bacteriano a semillas de plantas.
- 15
13. Una semilla de planta recubierta con el inóculo de cualquiera de las reivindicaciones 1-10.
- 20
14. Un kit para estimular el crecimiento vegetal que comprende un inóculo de cualquiera de las reivindicaciones 1-10 e instrucciones para aplicar el inóculo a plantas, semillas de plantas o un medio de crecimiento vegetal.