

ya da bunun tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzu arasından seçilmesidir.

Fitopatogenik mantarları kontrol etmek için *Bacillus subtilis* gibi spor oluşturan bakterileri içeren çeşitli mikrobiyal pestisitler daha önce tarif edilmiştir, örneğin bakınız WO 1998/050422; WO 2000/029426; WO 1998/50422 ve WO 2000/58442.

5 "2009/0126473", sulu/organik bir çözücü içerisinde bulunan ve ayrıca böcek kontrol ajanlarını, pestisitleri, fungusitleri ya da bunların kombinasyonlarını içerebilen bakteri ya da mantar sporlarını içeren, tarımsal olarak kabul edilebilir sulu kompozisyonları açıklamaktadır. *Bacillus* cinsine ait bakterilerin sporları tercih edilen türlerdir.

10 WO 2006/017361 bitki patojenlerini kontrol eden ve en az bir faydalı bakteri, en az bir faydalı mantar, en az besin maddesi ve böyle bir kompozisyonun etkin ömrünü uzatan en az bir bileşik içermektedir. Yararlı bakteri grubu e.a. *Paenibacillus polymyxa* ve *Paenibacillus* durum bakterilerini içermektedir.

15 EP-A-1 168 922 bitki büyümesini etkilemek ve/veya hastalık direnci vermek için en az iki bitki büyümesini teşvik eden *Rhizobacteria* suşu ve bir chitinous bileşiği içeren kompozisyonlarla ilgili olup burada sözü edilen türler, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus*, *Virgibacillus*, *Alicyclobacillus* ve *Aneurinibacillus* cinsleri arasından seçilmektedir. Ancak talep edilen kombinasyonları desteklemek üzere özel bir *Paenibacillus* suşu örneklenmemiştir.

WO 1999/059412 çeşitli fitopatogenik mantarlara karşı aktif olan bir *Paenibacillus polymyxa* suşunu PKB1 (ATCC erişim no. 202127'yi taşımaktadır) açıklamaktadır.

20 WO 2006/016558 bitkileri mantar enfeksiyonlarından korumak için *Paenibacillus* sp. suşları olan BS-0048, BS-0074, BS-0277 ve *P. polymyxa* suşu BS-0105 ve yanısıra fusarisidin A ve fusarisidin B'yi açıklamaktadır. Başka bir antifungal *Paenibacillus* suşu BRF-1 soya fasulyesi rizosferinden izole edilmiştir (African J. Microbiol. Res. 4(24), 2692-2698, 2010).

25 WO 2011/069227 numaralı patent, patojenik bakterilere, dominant olarak gıda kaynaklı insan patojenik bakterilerine karşı yüksek derecede inhibe edici etkiye sahip bir *P. polymyxa* suşu JB05-01-1'i (ATCC erişim no PTA-10436) açıklamaktadır.

Budi et al. (Appl Environ Microbiol, 1999, 65, 5148-5150) *Phytophthora parasitica* gibi toprak kaynaklı mantar patojenlerine karşı antagonistik aktiviteye sahip olan *Sorghum bicolor*'ın mikorizosferinden *Paenibacillus* sp. suşu B2'yi izole etmiştir.

30 Fildişi Sahili'nde topraktan Delaporte, B. (Lab Cytol Veg, Paris, Fransa) tarafından izole edilen ve NRRL Erişim No. BD-62 (Int. J. Syst Bacteriol. 46(4), 988-1003, 1996, bundan sonra suş BD-62 olarak da adlandırılacaktır) kapsamında USDA, ABD Tarımsal Araştırma Servisi'nin açık koleksiyonunda saklanan bir *Paenibacillus peoriae* suşu 11.D.3 birkaç fitopatogenik bakteri ve mantara karşı antifungal aktivite sergilemiştir (J. Appl. Microbiol. 95, 1143-1151, 2003). NRRL, PATENT PROSEDURU AMACI İLE SAKLANAN MİKROORGANİZMALARIN

ULUSLARARASI TANINMASINA İLİŞKİN BUDAPEŞTE ANLAŞMASI altında mikroorganizma suşlarını saklamak amacıyla kurulmuş bir uluslar arası saklama otoritesi olan ve Tarımsal Kullanım Araştırmaları Ulusal Merkezi, Tarımsal Araştırma Servisi, ABD Ziraat Departmanı, 1815 North University Street, Peoria, Illinois 61604, ABD adresinde yer alan Tarımsal Araştırma Hizmeti Kültür Koleksiyonunun kısaltmasıdır.

Çok sayıda *Paenibacillus* suşunun, örneğin bir *P. peoriae* suşu, çok sayıda bakteri, mantar ve maya patojenine karşı antimikrobiyal aktivitesi başka bir yerlerde de bildirilmiştir (Lett. Appl. Microbiol. 43, 541-547, 2006).

Raza et al. (Brazilian Arch. Biol. Techol. 53, 1145-1154, 2010; Eur. J. Plant Pathol. 125: 471-483, 2009) *Fusarium oxysporum*'a karşı etkili bir fusarisidin tipi bileşik üreten *Paenibacillus* polimiksa suşu sQR-21'i tarif etmiştir.

Fusarisidinler, siklik lipodepsipeptidlerin sınıfına ait *Paenibacillus* spp.'den izole edilmiş bir antibiyotik grubudur. Ailede boyunca korunan ortak yapısal özellikleri şunlardır: üçü L-Thr, D-allo-Thr ve D-Ala olan 6 amino asit kalıntısından oluşan bir makrosiklik halka, N-terminal L-Thr tortusuna bir amid bağı ile bağlanmış 15-guanidino-3-hidroksipentadekanoik asit kuyruğu (ChemMedChem 7, 871-882, 2012; J. Microbiol. Meth. 85, 175-182, 2011, buradaki Tablo 1). Bu bileşikler, N-terminal L-Thr hidroksil grubu ile C-terminal D-Ala karbonil grubu arasındaki bir lakton köprüsü ile siklize edilmektedir. Amino asit tortularının depsipeptid halkası içindeki pozisyonları genellikle, kendisi de GHPD zincirini taşıyan ve C-terminal D-Ala ile biten yukarıda belirtilen L-Thr ile başlayarak numaralandırılmaktadır. *Paenibacillus*'tan izole edilen fusarisidinlerin sınırlayıcı olmayan örnekleri, LI-F03, LI-F04, LI-F05, LI-F07 ve LI-F08 (J. Antibiotics 40(11), 1506-1514, 1987; Heterocycles 53(7), 1533-1549, 2000; Peptides 32, 1917-1923, 2011) ve fusarisidin A (LI-F04a olarak da bilinir), B (LI-F04b olarak da adlandırılır), C (LI-F03a olarak da bilinir) ve D (LI-F03b olarak da bilinir) olarak belirtilmektedir (J. Antibiotics 49(2), 129-135, 1996; J. Antibiotics 50(3), 220-228, 1997). Bir fusarisidin amino asit zinciri, ribozomal olarak üretilmemekte, ancak ribozomal olmayan bir peptid sentetaz tarafından üretilmektedir. Bilinen fusarisidinlerin yapısal formülleri Tablo 1'de gösterilmiştir (Bio-technol Lett. 34, 1327-1334, 2012; oradaki Şekil 1). LI-F03a, LI-F03b ile LI-F08a ve LI-F08b şeklinde belirtilen bileşikler fusarisidin familyasındaki yapıları nedeniyle (Tablo 1'e bakınız) burada ayrıca fusarisidinler LI-F03a, LI-F03b ile LI-F08a ve LI-F08b olarak da adlandırılmaktadır.

buradaki tek çizgi (ok başı olmadan), D-Ala'nın karbonil grubu (D-alanin) ve L-Thr'nin hidroksil grubu arasında tek bir (ester) bağ tanımlamaktadır; ve burada GHPD 15-guanidino-3-hidroksipentadekanoik asittir.

İzole fusarisidin antibiyotikler arasında, fusarisidin A, *Staphylococcus aureus* gibi çeşitli klinik olarak ilgili mantar ve gram-pozitif bakterilere karşı en umut verici antimikrobiyal etkinliği sergilemiştir (MIC değer aralığı: 0.78-3.12 µg/ml) (ChemMedChem 7, 871-882, 2012). Doğal olarak ortaya çıkan GHPD yerine 12-guanidino-dodekanoik asit (12-GDA) ya da 12-amino-dodekanoik asit (12-ADA) içeren Fusarisidin analoglarının sentezi gerçekleştirilmiş ancak GHPD'nin 12-ADA ile değiştirilmesi, antimikrobiyal aktivitenin tamamen kaybedilmesine neden olurken, GHPD'nin 12-GDA ile değiştirilmesi antimikrobiyal aktiviteyi korumuştur (Tetrahedron Lett. 47, 8587-8590, 2006; ChemMedChem 7, 871-882, 2012).

Ayrıca Fusarisidin A, B, C ve D'nin *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* ve *Penicillium thomii* gibi bitki patojenik mantarlarını inhibe ettiği de bildirilmiştir (J. Antibiotics 49(2), 129-135, 1996; J. Antibiotics 50(3), 220-228, 1997). LI-F05, LI-F07 ve LI-F08 gibi fusarisidinlerin *Fusarium moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. roseum*, *Gibberella fujikuroi*, *Helminthosporium sesamum* ve *Penicillium expansum* gibi çeşitli bitki patojenik mantarlarına karşı belirli antifungal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (J. Antibiotics 40(11), 1506-1514, 1987). Fusarisidinler ayrıca *Staphylococcus aureus* de dahil olmak üzere Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteye sahiptir (J. Antibiotics 49, 129-135, 1996; J. Antibiotics 50, 220-228, 1997). Buna ilaveten, fusarisidinler, kanolanın siyah kök çürüklüğüne neden olan *Leptosphaeria maculans*'a karşı antifungal aktiviteye sahiptir (Can. J. Microbiol. 48, 159-169, 2002). Ayrıca, fusarisidin A ve B ve bunlarla ilişkili iki bileşiğin (burada D-allo-Thr, belirli *Paenibacillus* suşları tarafından üretilen bir ester köprüsünü kullanarak hidroksil grubu aracılığıyla ilave bir alanine bağlanmaktadır), kültürlenmiş maydanoz hücrelerinde direnç reaksiyonlarını indüklediği ve *Fusarium oxysporum*'un büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur (WO 2006/016558; EP 1 788 074 A1).

"WO 2007/086645", fusarisidin sentetaz enzimini ve bunun kodlama genini, enzimin fusarisidin A, B, C, D, LI-F03, LI-F04, LI-F05, LI-F07 ve LI-F08'in sentezinde rol oynayan *Paenibacillus polymyxa* suşu E681'den izole edildiği şekilde tarif etmektedir.

Şu ana kadar birkaç *Paenibacillus polymyxa* suşunun genomu yayınlanmıştır: diğerlerinin yanı sıra M-1 suşu için (NCBI erişim no. NC_017542; J. Bacteriol. 193 (29), 5862-63, 2011; BMC Microbiol. 13, 137, 2013), suş CR1 (GenBank erişim no. CP006941; Genome Announcements 2 (1), 1, 2014) ve suş SC2 (GenBank erişim no. CP002213 ve CP002214; NCBI erişim no. NC_014622; J. Bacteriol. 193 (1), 311-312, 2011), daha başka suşlar için buradaki Şekil

12'deki açıklamaya bakınız. *P. polymyxa* suşu M-1, erişim no. CGMCC 7581 numarası altında Çin Genel Mikrobiyolojik Kültür Koleksiyonu Merkezinde (CGMCC) saklanmaktadır.

Montefusco ve ark. Int. J. Systematic Bacteriol. (43, 388-390, 1993)'de *Bacillus* cinsinin yeni bir bakteri türünü tarif etmektedir ve örneğin *Bacillus badius*, *B. coagulans*, *B. polymyxa* ve diğerleri gibi diğer *Bacillus* suşlarından ayırt edilebilen *Bacillus peoriae* adını önermektedir. Sözü edilen yeni *Bacillus* suşunun, oksidaz üretmeden spor ürettiği, gram pozitif olduğu ve katalaz ürettiği bildirilmiştir. Diğer biyokimyasal özellikleri burada özetlenmektedir. Toprakta ya da çürüyen bitkisel materyallerden izole edilebilecek olan suş BD-57 olarak adlandırılmıştır ve Tarımsal Araştırma Servisi, USDA, ABD'de NRRL B-14750 olarak ve ayrıca DSMZ'de (aşağıya bakınız) DSM 8320 suşu olarak depolanmıştır. Daha fazla biyokimyasal ve genetik analize dayanarak, sözü edilen suş daha sonra *Paenibacillus peoriae* olarak yeniden adlandırılmıştır (bakınız Int. J. Systematic Bacteriol. 46, 988-1003, 1996). Mısır rizosferindeki *Paenibacillus* spp.'nin çeşitliliğinin PCR-DGGE yöntemini kullanarak daha yeni bir değerlendirmesi J. Microbiol. Methods 54, 213-231, 2003'te tarif edilmiştir.

Bitki hastalıklarına karşı kullanım için biyopestisitler, kendilerini çeşitli mahsuller üzerinde çoktan oluşturmuştur. Örneğin, biyopestisitler, tüylü küf hastalıklarının kontrolünde halihazırda önemli bir rol oynamaktadır. Yararları şunları içermektedir: bir 0 Gün Hasat Öncesi Aralığı ve orta ila şiddetli hastalık baskısı altında kullanıma yetisi.

Biyopestisitler için önemli bir büyüme alanı, tohumları işleme tabi tutma ve toprak değişiklikleri alanındadır. Biyopestisidal tohum tedavileri örneğin tohum çürükleri, sönümleme, kök çürüklüğü ve fide yanıklarına neden olan toprak kaynaklı mantar patojenlerini kontrol etmek için kullanılmaktadır. Ayrıca tohumun içinde bulunan mantar patojenlerini kontrol etmenin yanı sıra tohumun yüzeyinde bulunan mantar patojenlerini kontrol etmek üzere de kullanılabilir. Birçok biyopestisidal ürün ayrıca, işlenmiş mahsulleri çeşitli biyotik ve abiyotik streslere karşı daha dirençli hale getirebilen bitki konak savunmasını ve diğer fizyolojik süreçleri teşvik etmek üzere ayrıca kapasite sergilemektedir.

Bununla birlikte, belirli koşullar altında biyopestisitlerin de yüksek özgüllük (haşere/patojenin tam olarak tanımlanmasını ve çoklu ürünlerin kullanılmasını gerektiren), yavaş etki hızı (eğer bir haşere salgını bir ürün için acil bir tehdit ise, bunları uygunsuz hale getirmektedir), çeşitli biyotik ve abiyotik faktörlerin etkisine bağlı olarak değişken etkinlik (çünkü biyopestisitler, genellikle böcek haşere/patojen içinde çoğalarak haşere/patojen kontrolünü meydana getiren canlı organizmalardır) ve direnç geliştirme gibi dezavantajları mevcut olabilir.

Bu nedenle fitopatojenik mikroorganizmaları, özellikle mantarları antagonize eden, tüm fitopatojenik mantar sınıflarına karşı geniş bir aktivite spektrumuyla karakterize edilen başka bakteri suşları ve daha fazla antimikrobiyal metabolit için bir ihtiyaç vardır.

Burada kullanıldığı şekliyle «kültür ortamı» mikroorganizmanın söz konusu ortamda kültürlenmesi ile elde edilebilen bir ortam, tercih edilen şekliyle sıvı bir besiyeri, ve ortam içinde büyüyen hücreler çıkarıldığında kalanı, örn., bir sıvı besiyerinde büyütülen hücreler, santrifüjleme, süzme, çökeltme ya da teknikte iyi bilinen başka yollarla çıkarıldığında kalan süpernatanı ifade etmektedir; ve örneğin ilgili mikroorganizma tarafından üretilen ve kültür ortamına salgılanan metabolitleri içermektedir. Bazen "süpernatant" olarak da adlandırılan "kültür ortamı", örneğin yaklaşık 2 ila 30 °C sıcaklıkta (daha fazla tercih edilen şekliyle 4 ila 20 °C sıcaklıkta) yaklaşık 10 ila 60 dakika boyunca (daha tercih edilen şekliyle yaklaşık 15 ila 30 dakika) yaklaşık 5.000 ila 20.000 x g'de (daha tercih edilen şekliyle yaklaşık 15.000 x g'de)

burada

R 15-guanidino-3-hidroksipentadekanoik asit (GHPD) ve 12-guanidinododekanoik asit (12-GDA) arasından seçilmektedir;

5 X¹ treonindir;

X² izolösindir;

X³ tirozindir;

X⁴ treonindir;

X⁵ glutamin ve asparajin arasından seçilmektedir;

10 X⁶ alanindir; ve

burada bir ok R'nin karbonil kısmı ile amino asit X¹'in amino grubu arasında ya da bir amino asidin karbonil grubu ile komşu bir amino asidin amino grubu arasında tek bir (amid) bağı tanımlamaktadır, burada okun ucu sözü edilen amino asit X¹'in ya da sözü edilen komşu amino asidin amino grubuna bağlanmasını göstermektedir; ve

15 buradaki tek çizgi (ok başı olmadan), X⁶'nın karbonil grubu ve X¹'in hidroksil grubu arasında tek bir (ester) bağ tanımlamaktadır;

ve bunların tarımsal olarak kabul edilebilir tuzları, ve buluşa ait formül I bileşiklerini hazırlama yöntemleri, ki söz konusu yöntemler buluşun suşlarının kültürlenmesi ve formül I'e ait bileşiklerin bütün kültür besiyerinden izole edilmesini içermektedir.

Bir diğer düzenlemeye göre, buluş ayrıca formül I'e ait bileşikler

Mevcut buluş ayrıca suşlar, bütün kültür bütün kültür besiyeri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı ya da formül l'e ait bileşikler ve bunların buluşa ait tuzları ile, yanı sıra bitki patojenlerini kontrol etmek ya da bastırmak ya da bitki patojen enfeksiyonunu önlemek ya da materyallerin zararlı mikroorganizmalar tarafından istila tahribatına karşı korunmaları için kullanımı ile ve patojenlerin, habitatlarının ya da patojen saldırılarına karşı korunacak materyallerin ya da bitkilerin ya da toprak ya da çoğaltma materyalinin etkili bir miktarda kompozisyon, suş, bütün kültür suyu, hücre içermeyen özütler, kültür ortamı ile muamele edilmesini içeren ilgili yöntemlerle ya da formül I bileşikleri ve bunların buluşa ait tuzları ile ilgilidir.

10 Buluşun diğer düzenlemeleri, buluşun aşağıdaki detaylı tarifinde, istemlerde ve şekillerde de açıklanmaktadır.

Buluş, mikroorganizma suşları ile ilgilidir

1) DSMZ ile Erişim No. DSM 26969 altında saklanan *Paenibacillus* ssp. suşu Lu16774 DSM 26969,

15 2) DSMZ ile Erişim No. DSM 26970 altında saklanan *Paenibacillus* sp. suşu Lu17007, ve

3) DSMZ ile Erişim No. DSM 26971 altında saklanan *Paenibacillus* sp. suşu Lu17015.

Lu16774, Lu 17007 ve Lu17015 suşları, Almanya da dahil olmak üzere çeşitli Avrupa bölgelerindeki toprak örneklerinden izole edilmiştir ve 20 Şubat 2013 tarihinde BASF SE, 20 Almanya tarafından yukarıda belirtilen Erişim numaraları altında Deutsche Sammlung von Mikroorganismen ve Zellkulturen (DSMZ) ile Budapeşte Antlaşması kapsamında saklanmıştır.

Paenibacillus cinsi (eski adıyla rRNA grup 3 basili) fenotipik ve fizyolojik olarak aşağıdaki özelliklerle karakterize edilmiştir (Antonie van Leeuwenhoek 64, 253-260 (1993)):

- Gram-pozitif yapının çubuk şeklindeki hücreleri,
- 25 - Gram's boyası ile zayıf reaksiyon, hatta çoğunlukla negatif boyama,
- Sprangiumu (ana hücre) belirgin bir şekilde şişiren elipsoidal endosporlara farklılaşma,
- nitratın mevcut olup olmadığına bakılmaksızın, havasız ortamda kuvvetli büyüme sergileyen fakültatif anaerobik büyüme,
- çeşitli şekerlerin fermantasyonu,
- 30 - glukoz da dahil olmak üzere çeşitli şekerlerden asit ve gaz oluşumu,
- adonitol ve sorbitolden asit üretimi yok,
- Ureaz negatif (*P. validus* hariç),

- arginin dihidrolaz negatif,
- sitrat kullanımı yok,
- % 10 sodyum klorür varlığında büyüme yok,
- DNA, protein, nişastayı parçalayan çok sayıda hücre dışı hidrolitik enzimin salgılanması; ve/veya
- DNA'nın % 40 ila % 54 arasında G+C içeriği.

Paenibacillus cinsi (eski adıyla rRNA grup 3 basili) ayrıca 16S rDNA analizi ile de karakterize edilmiştir (Antonie van Leeuwenhoek 64, 253-260 (1993)):

- 16S rDNA'nın değişken bölgesi V5'te spesifik bir 22-baz sekansa sahip (5' ila 3'):
- 10 TCGATACCCTTGGTGCCGAAGT (Antonie van Leeuwenhoek 64, 253-260 (1993), belgedeki Tablo 3'e bakınız); ve/veya
- izole ya da PCR ile çoğaltılmış kromozomal DNA'nın BG3 probu (5'-TCGATACCCTTGGTGCCGAAGT-3 ') ile hibridizasyonu ile (bakınız Antonie van Leeuwenhoek 64, 253-260 (1993)).
- 15 Buluşun biriktirilen soyları Lu16774, Lu17007 ve Lu17015'in, aşağıdaki morfolojik ve fizyolojik gözlemlere dayalı olarak Paenibacillus cinsine ait olduğu belirlenmiştir (bakınız buradaki Örnek 2.3):
- çubuk şekilli hücreler
 - elipsoid sporlar
 - şişmiş sporangium
 - anaerobik büyüme
 - asit oluşumu ile birlikte glukoz, arabinoz, ksiloz, mannit, fruktoz, rafinoz, trehaloz ve gliserol gibi çeşitli şekerlerin fermantasyonu
 - glukozdan gaz üretimi
 - arginin dihidrolaz negatif
 - sitrat kullanımı yok
 - % 5 ya da daha fazla sodyum klorür varlığında büyüme yok
 - nişasta, jelatin, kazein ve eskülini parçalayan hücre dışı hidrolitik enzimlerin üretimi.

Buna ilaveten, buluşun saklanan suşları Lu16774, Lu17007 ve Lu17015'in, 16S rDNA'da (5' ten 3' e) Paenibacillus'a spesifik 22-baz sekansına sahip olarak 16S rDNA analizi ile Paenibacillus cinsine ait olduğu belirlenmiştir:

5'-TCGATACCCTTGGTGCCGAAGT-3'

(buradaki sekans listeleri SEKANS İD NO:1 (nükleotitler 840-861), SEKANS İD NO:2 (840-861), SEKANS İD NO:3 (844-865) ve SEKANS İD NO:4 (840-861)'e bakınız.

Buna ilaveten, 24 farklı *Paenibacillus* suşuna kıyasla bütün 16S rDNA'nın sekanslanması tip suşları *Paenibacillus brasiliensis*, *P. kribbensis*, *P. jamilae*, *P. peoriae*, ve *P. polymyxa*, daha tercih edilen şekliyle *P. peoriae*, özellikle *Paenibacillus peoriae* suşu BD-62 (bakınız buradaki Şekil 1 ve 2) ile saklanan suşlar Lu16774, Lu17007 ve Lu17015'in kümelenmesi ile sonuçlanmıştır. *P. polymyxa* ve *P. peoriae*'nin 16S rDNA sekans özdeşliği değerlerinin % 99.6 ila 99.7 arasında olduğu bilinmektedir (J. Gen. Appl. Microbiol. 48, 281-285 (2002)).

İki nükleotid sekansı arasındaki "Yüzde Özdeşlik" ya da "yüzde benzerlik» hizalanmış sekansların tam uzunluğu boyunca yüzde özdeşliği anlamına gelmektedir ve AE2 programının (Hizalama Düzenleyicisi 2) yardımı ile elle hizalandıktan sonra hesaplanan özdeşlik (oldukça benzer sekanslar için) gibi iki sekans arasındaki yerel hizalamanın uzunluğu ile tanımlanan bir karşılaştırma penceresi üzerinden optimal olarak yerel olarak dizilmiş iki sekansın karşılaştırılmasıyla belirlenmektedir. İki sekans arasındaki lokal hizalama sadece her bir sekansın, hizalamayı gerçekleştirmek için kullanılan algoritmaya bağlı olan kriterlere (örneğin, AE2, BLAST, rRNA molekülünün ikincil yapısı ya da benzerleri) bağlı olarak yeterince benzer olduğu düşünülen kısımlarını içermektedir. Yüzde özdeşlik miktarı aynı nükleik asidin her iki sekansta görüldüğü konumların sayısını belirleyerek eşleşen konumların sayısını belirleyerek, eşleşen pozisyonlarının sayısını, karşılaştırma penceresindeki toplam pozisyon sayısına bölerek ve ortaya çıkan sonucu da 100 ile çarparak hesaplanmaktadır.

İki nükleik asit sekansının (örneğin, Tablo I'deki nükleotid sekanslarından biri ve onun bir homoloğu) yüzde cinsinden sekans özdeşliğini belirlemek için sekanslar optimal karşılaştırma amacı ile hizalanmaktadır (örneğin diğer nükleik asitle en uygun şekilde hizalanma için bir nükleik asit sekansına boşluklar eklenebilir). Karşılık gelen pozisyonlardaki bazlar daha sonra karşılaştırılır. Bir sekanstaki bir pozisyon, diğer sekanstaki karşılık gelen pozisyon olarak baz tarafından işgal edildiğinde, moleküller bu pozisyonda özdeştir. Bir DNA sekansını bir RNA sekansı ile karşılaştırırken sekans kimliğini belirlemek amacıyla bir timidin nükleotidinin bir urasil nükleotide eşdeğer olduğu anlaşılmalıdır.

Hizalama için, sekans verisi AE2 programına(<http://iubio.bio.indiana.edu/soft/molbio/unix/ae2.readme>) yüklenmiş, ortaya çıkan rRNA molekülünün sekonder yapısına göre manuel olarak hizalanmış ve Firmicutes cinsine ait organizmaların temsili 16S rRNA gen sekansları ile karşılaştırılmıştır (Nucl. Acids Res. 27, 171-173, 1999). Çok sayıdaki sekans için % özdeşlik değerleri elde etmek için tüm sekanslar birbiri ile hizalanmıştır (çoklu sekans hizalaması). Buna ilaveten,

çoklu hizalama ile karşılaştırıldığında daha uzun hizalanmış sekanslar boyunca iki sekans arasında % özdeşlik değerleri elde etmek için, AE2 (ikili sekans hizalaması) kullanılarak yukarıda açıklandığı gibi bir manuel çift sekans hizalaması yapılmıştır.

- 5 Buna ilaveten, EcoRI kısıtlama enzimini kullanan ve her üç yeni suşun hepsinin 0.24 ile 0.5 arasında *P. peoriae* BD-62 ile benzerliği ile sonuçlanan *P. peoriae* BD-62'ye kıyasla EcoRI kısıtlama enziminin kullanılması her üç yeni suşun hepsinin 0.24 ile 0.5 arasında *P. peoriae* BD-62 ile benzerliği ile sonuçlanmıştır (Ornek 2.2 ve Şekil 12).

Ozet olarak, suşlar aşağıdaki taksonomik gruplara ayrılmaktadır

Paenibacillus suşları Lu16774 ve Lu17007'nin her ikisi de *Paenibacillus polymyxa* türüne aittir.

- 10 Bu nedenle de buluş, mikroorganizma suşları ile ilgilidir

1) DSMZ ile Erişim No. DSM 26969 altında saklanan *PPaenibacillus polymyxa* suşu Lu16774 DSM 26969,

2) DSMZ ile Erişim No. DSM 26970 altında saklanan *Paenibacillus polymyxa* suşu Lu17007, ve

- 15 3) DSMZ ile Erişim No. DSM 26971 altında saklanan *Paenibacillus* sp. suşu Lu17015.

Burada sunulan filogenetik analiz sonuçlarına (Şekil 12 ila 22) ve Profesör Borriss'in, (Almanya) yayınlanmamış sonuçlarına göre, heterojen tür *Paenibacillus polymyxa*'nın aşağıdaki iki alt türe ayrılacak şekilde yeni bir taksonomik sınıflandırmaya ihtiyacı olduğu önerilmiştir: 1) *Paenibacillus polymyxa* ssp. *polymyxa* ve 2) *Paenibacillus polymyxa* ssp. *plantarum*; ve 3) yeni bir tür *Paenibacillus* yeni tür *epiphyticus*.

- 20 *P. polymyxa* suşları SQR-21, CF05, CICC 10580, NRRL B-30509 ve A18 ile birlikte tip suşu *P. polymyxa* DSM 36 korunmuş beş referans gene için analiz edilen (DNA, *gyrB*, *recA*, *recN* ve *rpoA*) maksimum olasılık dendrogramlarının her birinde ayrı bir küme oluşturmaktadır (Şekil 17-21).

- 25 Bakteriyel türler arasında filogenetik ilişkinin belirlenmesinde sıkça kullanılan Ortalama Amino Asit Özdeşliği (AAI) tayini ile oldukça benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu yöntem, bir amino asit seviyesinde bir çekirdek genomun ortalama özdeşliğinin hesaplanmasına dayanmaktadır (Proc. Natl. Acad. USA 102, 2567-2572, 2005). Şekil 22'deki ortaya çıkan AAI matrisine göre, *P. polymyxa* DSM 36 *P. polymyxa* SQR-21 suşu ile birlikte burada gösterilen diğer iki alt kümeden farklı bir alt küme oluşturmaktadır.

P. polimiksa M-1, 1-43, SC2 ve Sb3-1 suşu ile birlikte Lu16674 ve Lu17007 suşları korunmuş beş referans gen (*dnaN*, *gyrB*, *recA*, *recN* ve *rpoA*) için analiz edilen maksimum benzerlik dendrogramlarının her birinde ikinci alt kümeyi oluşturmaktadır (Şekil 17-21). Çekirdek

genomun analizine dayanan Şekil 22'deki AAI-matrisine göre bu ikinci alt küme *P. polymyxa* M-1 ve SC2 suşları ile birlikte temsili soyları Lu16674 ve Lu17007 tarafından doğrulanmıştır.

İki alt küme arasındaki fark, yeni bir türü doğrulamak için yeterince önemli değildir ancak, her iki kümenin temsilcileri arasındaki AAI özdeşlik seviyeleri % 97.5'tir ki bu da iki ayrı alttüre

5 sınıflandırmayı haklı çıkarmaktadır.

Bu nedenle ilk alt kümenin *P. polymyxa* suşu tipi DSM 36^T *Paenibacillus polymyxa* ssp. *polymyxa*'ya göre isimlendirilmesi önerilmektedir. DSM 36 suşunun yanı sıra, *P. polymyxa* suşları SQR-21, CF05, CICC 10580, NRRL B-30509 ve A18 de *Paenibacillus polymyxa* ssp. *polymyxa* alt türüne ait olmalıdır.

10 Buna ilaveten, ikinci alt kümenin de yeni alt tür *Paenibacillus polymyxa* ssp. *plantarum* olarak isimlendirilmesi önerilmiştir. Lu16674 ve Lu17007 suşlarının yanı sıra, *P. polymyxa* suşları M-1, 1-43, SC2 ve Sb3-1 de *Paenibacillus polymyxa* ssp. *plantarum* alt türüne ait olacaktır.

Lu17015 suşu çekirdek genomun genleri arasında tip suşu *Paenibacillus polymyxa* DSM36 = ATCC 842 ile sadece % 94.9 özdeşliğe (AAI) sahiptir (Şekil 22). Bu nedenle Lu17015 suşu,

15 *Paenibacillus polymyxa* türüne ya da diğer herhangi bir bilinen *Paenibacillus* türüne atanmamış olabilir. E681 suşu (% 94.7) ve CR2 suşu (% 94.9) için benzer değerler bulunmuştur. Birbirleri arasında, bu üç suş en az % 98.1 özdeşliğe (AAI) sahiptir. Konstantinides ve Tiedje'nin (Proc Natl. Acad. Sci. USA. 102, 2567-2572, 2005) tür tanımına göre, Lu17015 suşu ve ayrıca E681 ve CR2 suşları yeni türler olarak tanımlanabilirler. Bu nedenle *Paenibacillus* türü yeni
20 *epiphyticus* yeni bir tür olarak burada önerilmektedir. Sonuç olarak, *Paenibacillus* suşu Lu17015, *Paenibacillus epiphyticus*'a aittir. Sözü edilen suşun, tip suşu olması önerilmektedir. Benzer bir biçimde, beş referans genin sekans karşılaştırmalarına dayanan dendrogramlar (Şekil 17-21) bu kümenin tüm diğer *P. polymyxa* suşlarından uzak olduğunu göstermektedir. Lu17015'in yanı sıra, *P. polymyxa* suşları E681, CR2 TD94, DSM 365 ve WLY78 de
25 *Paenibacillus spec. nov. epiphyticus*'a ait olacaktır.

Bu nedenle de buluş, mikroorganizma suşları ile ilgilidir

4) DSMZ ile Erişim No. DSM 26969 altında saklanan *Paenibacillus polymyxa* ssp. *plantarum* suşu Lu16774,

5) DSMZ ile Erişim No. DSM 26970 altında saklanan *Paenibacillus polymyxa* ssp. *plantarum* suşu Lu17007, ve

6) DSMZ ile Erişim No. DSM 26971 altında saklanan *Paenibacillus epiphyticus* suşu Lu17015;

Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 suşlarına ek olarak, mevcut buluş, depolanan *Paenibacillus* suşları Lu16774, Lu17007 ve Lu17015'in tanımlayıcı özelliklerinden en az birini korudukları

sürece Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 suşlarının herhangi birinin orijinal depolamalarından fiziksel olarak türetilmiş ya da bağımsız olarak izole edilmiş olsun, herhangi bir *Paenibacillus* suşu ile ilgilidir. Bu gibi *Paenibacillus* suşları, sözü edilen suşların mutantları da dahil olmak üzere, Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 suşlarının herhangi birinin soyunu içermektedir.

- 5 "Mutant" terimi, doğrudan mutant seçimi ile elde edilen bir mikroorganizma anlamına gelmekte olsa da ayrıca mutajene edilmiş ya da aksi halde manipüle edilmiş (örneğin bir plazmid eklenmesiyle) mikroorganizmaları da içermektedir. Buna göre düzenlemeler, hem doğal olarak oluşan hem de yapay olarak indüklenen mutantlar gibi ilgili mikroorganizmaların mutantlarını, varyantlarını ve/veya türevlerini içermektedir. Örneğin, mutantlar geleneksel yöntemler
- 10 kullanılarak mikroorganizmanın X-ışını, UV radyasyonu ya da N-metil-nitrosoguanidin gibi bilinen mutajenlere tabi tutulmasıyla indüklenebilir. Sözü edilen işlemlerden sonra, istenen özellikleri sergileyen mutant suşlar için bir tarama gerçekleştirilebilir.

Mutant suşlar, teknikte alanda bilinen, doğrudan mutant seçimi, kimyasal mutajenez ya da genetik manipülasyon (örneğin, bir plazmidin sokulması yoluyla) gibi herhangi bir yöntemle

15 elde edilebilir. Örneğin, bu tür mutantlar, X ışını, UV radyasyonu ya da N-metil-nitrosoguanidin gibi bilinen bir mutajen uygulanarak elde edilebilir. Sözü edilen işlemlerden sonra, istenen özellikleri sergileyen mutant suşlar için bir tarama gerçekleştirilebilir.

Bir *Paenibacillus* suşu özellikle Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 suşlarının 16S rDNA sekanslarının herhangi biri ile, yani SEKANS İD NO: 1, SEKANS İD NO: 2 ve SEKANS İD NO:

20 3 olan Sekans listesinde belirtilen nükleotid sekanslarının herhangi biri ile en az % 99,6, tercih edilen şekliyle en az % 99,8, daha da tercih edilen şekliyle en az % 99,9 ve özellikle % 100,0 oranında nükleotit sekansı özdeşliği sergileyen bir DNA sekansı içeren bir suş olabilir.

Bir *Paenibacillus* suşu özellikle Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 suşlarının 16S rDNA sekanslarının herhangi biri ile, yani SEKANS İD NO: 1, SEKANS İD NO: 2 ya da SEKANS İD

25 NO: 3 olan Sekans listesinde belirtilen nükleotid sekanslarının herhangi biri ile % 100 oranında nükleotit sekansı özdeşliği sergileyen bir DNA sekansı içeren bir suş olabilir.

Bir *Paenibacillus* suşu, hizalanmış sekans penceresi içinde optimum hizalamanın ardından 16S rDNA sekansının tamamı SEKANS İD NO: 1 ve SEKANS İD NO: 2 dizilerinin en az biri ile % 99,6 özdeşlik ya da SEKANS İD NO: 3 ile en az % 99,8 özdeşlik; SEKANS İD NO: 1,

30 SEKANS İD NO: 2 ve SEKANS İD NO: 3 sekanslarından en az biri ile tercih edilen şekliyle % 99,8 özdeşlik; SEKANS İD NO: 1, SEKANS İD NO: 2 ve SEKANS İD NO: 3 sekanslarından en az biri ile daha tercih edilen şekliyle % 99,9 özdeşlik; SEKANS İD NO: 1, SEKANS İD NO: 2 ve SEKANS İD NO: 3 sekanslarından en az biri ile daha da tercih edilen şekliyle % 99,9'dan büyük bir özdeşlik; SEKANS İD NO: 1, SEKANS İD NO: 2 ve SEKANS İD NO: 3

35 sekanslarından en az biri ile özellikle % 100 özdeşlik sergileyen bir suş olabilir.

Bir başka düzenlemeye göre, buluşun bir Paenibacillus suşu aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilmektedir:

a) DSMZ ile Erişim No. DSM 26969 altında saklanan suş Lu16774,

b) DSMZ ile Erişim No. DSM 26970 altında saklanan suş Lu17007;

5 DSMZ ile Erişim No. DSM 26971 altında saklanan suş Lu17015.

Bir Paenibacillus suşu SEKANS İD NO: 4 ya da SEKANS İD NO: 9'un DNA sekanslarına en az % 99.6 nükleotit sekans özdeşliği gösteren bir dnaN DNA sekansı içeren ya da SEKANS İD NO: 14 DNA sekansına en az % 99.8 nükleotit sekans özdeşliği sergileyen bir DNA sekansı içeren bir suş olabilir.

10 Bir Paenibacillus suşu, hizalanmış sekans penceresi içinde optimum hizalamanın ardından dnaN DNA sekansının tamamı SEKANS İD NO: 4 ve SEKANS İD NO: 9'un DNA sekanslarının en az birine en az % 99,6 özdeşlik ya da SEKANS İD NO: 14 ile en az % 99.8 özdeşlik; tercih edilen şekliyle SEKANS İD NO: 14 ile en az % 99.9 özdeşlik; SEKANS İD NO: 14 ile özellikle % 100 özdeşlik sergileyen bir suş olabilir.

15 Bir Paenibacillus suşu Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 suşlarının dnaN DNA sekanslarından herhangi biri, yani; bu DNA sekansları SEKANS İD NO: 4, SEKANS İD NO: 9 ve SEKANS İD NO: 14'ten herhangi biri ile en az % 99.8, özellikle de % 100 nükleotit sekans özdeşliği sergileyen bir DNA sekansı içeren bir suş olabilir.

20 Bir Paenibacillus suşu SEKANS İD NO: 5 ya da SEKANS İD NO: 10'nun DNA sekanslarına en az % 99.9 nükleotit sekans özdeşliği gösteren bir gyrB DNA sekansı içeren ya da SEKANS İD NO: 15 DNA sekansına en az % 99.2 nükleotit sekans özdeşliği sergileyen bir DNA sekansı içeren bir suş olabilir.

25 Bir Paenibacillus suşu, hizalanmış sekans penceresi içinde optimum hizalamanın ardından gyrB DNA sekansının tamamı SEKANS İD NO: 5 ve SEKANS İD NO: 10'nun DNA sekanslarının en az birine en az % 99,9 özdeşlik ya da SEKANS İD NO: 15 ile en az % 99.9 özdeşlik; tercih edilen şekliyle SEKANS İD NO: 15 ile en az % 99.9 özdeşlik; SEKANS İD NO: 15 ile özellikle % 100 özdeşlik sergileyen bir suş olabilir.

30 Bir Paenibacillus suşu Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 suşlarının gyrB DNA sekanslarından herhangi biri, yani; bu DNA sekansları SEKANS İD NO: 5, SEKANS İD NO: 10 ve SEKANS İD NO: 15'ten herhangi biri ile % 100.0 nükleotit sekans özdeşliği sergileyen bir DNA sekansı içeren bir suş olabilir.

Bir Paenibacillus suşu SEKANS İD NO: 6 ya da SEKANS İD NO: 11'in DNA sekanslarına en az % 99.2 nükleotit sekans özdeşliği gösteren bir recF DNA sekansı içeren ya da SEKANS İD

NO: 16 DNA sekansına en az % 99.8 nükleotit sekans özdeşliği sergileyen bir DNA sekansı içeren bir suş olabilir.

Bir *Paenibacillus* suşu, hizalanmış sekans penceresi içinde optimum hizalamanın ardından recF DNA sekansının tamamı SEKANS İD NO: 6 ve SEKANS İD NO: 11'in DNA sekanslarının en az birine en az % 99,2 özdeşlik ya da SEKANS İD NO: 16 ile en az % 99.8 özdeşlik; tercih edilen şekliyle SEKANS İD NO: 16 ile en az % 99.9 özdeşlik; SEKANS İD NO: 16 ile özellikle % 100 özdeşlik sergileyen bir suş olabilir.

Bir *Paenibacillus* suşu Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 suşlarının recF DNA sekanslarından herhangi biri, yani; bu DNA sekansları SEKANS İD NO: 6, SEKANS İD NO: 11 ve SEKANS İD NO: 16'dan herhangi biri ile en az % 99.8, özellikle de % 100 nükleotit sekans özdeşliği sergileyen bir DNA sekansı içeren bir suş olabilir.

Bir *Paenibacillus* suşu SEKANS İD NO: 7 ya da SEKANS İD NO: 12'nin DNA sekanslarına en az % 99.8 nükleotit sekans özdeşliği gösteren bir recN DNA sekansı içeren ya da SEKANS İD NO: 17 DNA sekansına en az % 99.3 nükleotit sekans özdeşliği sergileyen bir DNA sekansı içeren bir suş olabilir.

Buluşun bir *Paenibacillus* suşu, hizalanmış sekans penceresi içinde optimum hizalamanın ardından recNDNA sekansının tamamı SEKANS İD NO: 7 ve SEKANS İD NO: 12'nin DNA sekanslarının en az birine en az % 99,8 özdeşlik ya da SEKANS İD NO: 17 ile en az % 99.3 özdeşlik; tercih edilen şekliyle SEKANS İD NO: 17 ile en az % 99.6 özdeşlik; SEKANS İD NO: 17 ile özellikle % 100 özdeşlik sergileyen bir suş olabilir.

Bir *Paenibacillus* suşu Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 suşlarının recNDNA sekanslarından herhangi biri, yani; bu DNA sekansları SEKANS İD NO: 17, SEKANS İD NO: 12 ve SEKANS İD NO: 16'dan herhangi biri ile en az % 99.8, özellikle de % 100 nükleotit sekans özdeşliği sergileyen bir DNA sekansı içeren bir suş olabilir.

Bir *Paenibacillus* suşu SEKANS İD NO: 8 ya da SEKANS İD NO: 13'ün DNA sekanslarına en az % 100.0 nükleotit sekans özdeşliği gösteren bir rpoA DNA sekansı içeren ya da SEKANS İD NO: 18 DNA sekansına en az % 99.8 nükleotit sekans özdeşliği sergileyen bir DNA sekansı içeren bir suş olabilir.

Bir *Paenibacillus* suşu, hizalanmış sekans penceresi içinde optimum hizalamanın ardından rpoA DNA sekansının tamamı SEKANS İD NO: 8 ve SEKANS İD NO: 13'ün DNA sekanslarının en az birine en az % 100,0 özdeşlik ya da SEKANS İD NO: 18 ile en az % 99.8 özdeşlik; tercih edilen şekliyle SEKANS İD NO: 17 ile en az % 99.9 özdeşlik; SEKANS İD NO: 18 ile özellikle % 100 özdeşlik sergileyen bir suş olabilir.

Bir *Paenibacillus* suşu Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 suşlarının rpoA DNA sekanslarından herhangi biri, yani; bu DNA sekansları SEKANS İD NO: 8, SEKANS İD NO: 13 ve SEKANS İD NO: 18'den herhangi biri ile % 100.0 nükleotit sekans özdeşliği sergileyen bir DNA sekansı içeren bir suş olabilir.

5 Aşağıdaki suşlardan birinin tanımlayıcı özelliklerinden en az birine sahip olan *Paenibacillus* ailesinin bir üyesi olan izole edilmiş bir mikroorganizma açıklanmaktadır:

- 1) DSMZ ile Erişim No. DSM 26969 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu16774,
- 2) DSMZ ile Erişim No. DSM 26970 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu17007, ya da
- 10 3) DSMZ ile Erişim No. DSM 26971 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu17015.

Bir başka düzenleme de aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilen bir *Paenibacillus* suşu ile ilgilidir:

- 1) DSMZ ile Erişim No. DSM 26969 altında saklanan suş Lu16774,
- 2) DSMZ ile Erişim No. DSM 26970 altında saklanan suş Lu17007, ve
- 15 3) DSMZ ile Erişim No. DSM 26971 altında saklanan suş Lu17015,
- 4) sözü edilen suşlar Lu16774, Lu17007 ve Lu17015'ten birinin tanımlayıcı özelliklerinden en az birine sahip olan suşlar.

Aşağıdaki suşlardan seçilen izole edilmiş bir mikroorganizma açıklanmaktadır:

- 1) DSMZ ile Erişim No. DSM 26969 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu16774,
- 20 2) DSMZ ile Erişim No. DSM 26970 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu17007, ve
- 3) DSMZ ile Erişim No. DSM 26971 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu17015; en az bir bitki patojenine karşı antagonistik aktivite göstermektedir ve en az bir fusarisidin tipi bileşiği üretme kapasitesine sahiptir; ya da onun, sözü edilen kabiliyetini koruyan bir mutant suşu, yani bahsedilen antagonistik aktivitenin en az bir bitki patojene karşı
- 25 korunması ve bahsedilen en az bir fusarisidin tipi bileşik üretme kabiliyetinin korunması.

Bir başka düzenleme de aşağıdakilerden seçilen bir mikroorganizma ile ilgilidir:

- 1) DSMZ ile Erişim No. DSM 26969 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu16774,
- 2) DSMZ ile Erişim No. DSM 26970 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu17007, ve
- 3) DSMZ ile Erişim No. DSM 26971 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu17015;
- 30 Saklanan *Paenibacillus* suşları Lu16774, Lu17007 ve Lu17015'in bir tanımlayıcı özelliği tercih edilen şekilde formül 1A ve 1B'den seçilen en az bir formül I bileşiği üretme ve özellikle de ilgili

suşların metabolitleri ve bunların tarımsal olarak kabul edilebilir tuzları olan bileşik 1A ve 1B'yi üretme kapasitesine sahip olmalarıdır.

5 Bu nedenle, buluşun bir görüşüne göre, buluşun *Paenibacillus* suşları en az bir formül I bileşiği üretme, daha çok tercih edilen şekliyle 1A ya da 1B bileşiklerini üretme, özellikle 1A ve 1B bileşiklerini ve bunların tarımsal olarak kabul edilebilir tuzlarını üretme kapasitesine sahiptir.

10 Bu nedenle, buluşun bir görüşüne göre, buluşun *Paenibacillus* suşları, burada tanımlandığı gibi en az bir karbon kaynağı ve bir azot kaynağı içeren bir büyüme ortamında en az bir formül I bileşiği üretme, daha çok tercih edilen şekliyle 1A ya da 1B bileşiklerini üretme, özellikle 1A ve 1B bileşiklerini ve bunların tarımsal olarak kabul edilebilir tuzlarını üretme kapasitesine sahiptir.

Bu nedenle, buluşun bir görüşüne göre, buluşun *Paenibacillus* suşları, burada tanımlandığı gibi en az bir karbon kaynağı ve bir azot kaynağı içeren bir büyüme ortamında en az bir formül I bileşiği üretme, daha çok tercih edilen şekliyle 1A ya da 1B bileşiklerini üretme, özellikle 1A ve 1B bileşiklerini ve bunların tarımsal olarak kabul edilebilir tuzlarını üretmektedir.

15 Buluşun bir başka düzenlemesi, aşağıdakilerden seçilen bir izole edilmiş mikroorganizma ile ilgilidir

- 1) DSMZ ile Erişim No. DSM 26969 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu16774,
- 2) DSMZ ile Erişim No. DSM 26970 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu17007, ve
- 3) DSMZ ile Erişim No. DSM 26971 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu17015;

20 söz konusu mikroorganizmalar en az bir bitki patojenine karşı antagonistik aktivite göstermektedir ve Tercih edilen şekliyle 1A ve 1B bileşiklerinden seçilen en az bir fusarisidin tipi formül I bileşiği üretme, özellikle de 1A ve 1B bileşiklerini üretme kapasitesine sahiptir; ya da bu mikroorganizmaların söz konusu kabiliyeti koruyan, yani söz konusu antagonistik aktiviteyi en az bir bitki patojenine karşı koruyan ve tercih edilen şekliyle 1A ve 1B

25 bileşiklerinden seçilen en az bir fusarisidin tipi formül I bileşiğini üretme, özellikle de 1A ve 1B bileşiklerini üretmekte kapasitesini koruyan bir suşudur.

Buluşun bir başka düzenlemesi, aşağıdakilerden seçilen bir izole edilmiş mikroorganizma ile ilgilidir

- 1) DSMZ ile Erişim No. DSM 26969 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu16774,
- 30 2) DSMZ ile Erişim No. DSM 26970 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu17007, ve
- 3) DSMZ ile Erişim No. DSM 26971 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu17015;

söz konusu mikroorganizmalar en az bir bitki patojenine karşı antagonistik aktivite göstermektedir ve burada tanımlandığı gibi en az bir karbon kaynağı ve bir azot kaynağı içeren

bir büyüme ortamında tercih edilen şekliyle 1A ve 1B bileşiklerinden seçilen en az bir fusarisidin tipi formül I bileşiği üretme, özellikle de 1A ve 1B bileşiklerini üretme kapasitesine sahiptir; ya da bu mikroorganizmaların söz konusu kabiliyeti koruyan, yani söz konusu antagonistik aktiviteyi en az bir bitki patojenine karşı koruyan ve tercih edilen şekliyle 1A ve 1B bileşiklerinden seçilen en az bir fusarisidin tipi formül I bileşiğini üretme, özellikle de 1A ve 1B bileşiklerini üretmekte kapasitesini koruyan bir suşudur.

Buluşun bir başka düzenlemesi, aşağıdakilerden seçilen bir izole edilmiş mikroorganizma ile ilgilidir

1) DSMZ ile Erişim No. DSM 26969 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu16774,

2) DSMZ ile Erişim No. DSM 26970 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu17007, ve

3) DSMZ ile Erişim No. DSM 26971 altında saklanan *Paenibacillus* suşu Lu17015;

söz konusu mikroorganizmalar en az bir bitki patojenine karşı antagonistik aktivite göstermektedir ve Tercih edilen şekliyle 1A ve 1B bileşiklerinden seçilen en az bir fusarisidin tipi formül I bileşiği üretmekte, özellikle de 1A ve 1B bileşiklerini üretmektedir; ya da bu mikroorganizmaların söz konusu kabiliyeti koruyan, yani söz konusu antagonistik aktiviteyi en az bir bitki patojenine karşı koruyan ve tercih edilen şekliyle 1A ve 1B bileşiklerinden seçilen en az bir fusarisidin tipi formül I bileşiğini üretme, özellikle de 1A ve 1B bileşiklerini üretmekte kapasitesini koruyan bir suşudur.

Saklanan *Paenibacillus* suşları Lu16774, Lu17007 ve Lu17015'in ya da onların bir mutant suşunun başka bir tanımlayıcı özelliği tercih edilen şekliyle

Buluşun bir başka yönüne göre, buluşun *Paenibacillus* suşları tercih edilen şekliyle 1A ve 1B bileşiklerinden seçilmiş, formül I'in en az bir fusarisidini üretme, özellikle burada açıklandığı gibi 1A ve 1B bileşiklerini üretme ve fusarisidin A, fusarisidin B, fusarisidin C, fusarisidin D, LI-F06a, LI-F06b ve LI-F08b'den oluşan gruptan seçilen en az beş bileşiği üretme yeteneğine sahiptirler.

Buluşun bir başka yönüne göre, buluşun *Paenibacillus* suşları tercih edilen şekliyle 1A ve 1B bileşiklerinden seçilmiş, formül I'in en az bir fusarisidini üretme, özellikle burada açıklandığı gibi 1A ve 1B bileşiklerini üretme ve fusarisidin A, fusarisidin B, fusarisidin C, fusarisidin ve LI-F08b'yi üretme yeteneğine sahiptirler.

10 Saklanan (depolan) *Paenibacillus* suşlarının belirleyici bir başka özelliği, antifungal etkinlikleridir. Özellikle bu suşların *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* ve *Sclerotinia sclerotiorum*'u içeren bitki patojenleri ile enfeksiyona karşı etkili olduğu bulunmuş olup; burada *Alternaria* spp. tercih edilen şekliyle *A. solani* ve *A. alternata* arasından, özellikle de *A. solani*'den seçilmektedir.

15 Dolayısıyla, buluşun başka bir yönüne göre, buluşa ait *Paenibacillus* suşları özellikle *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* ve *Sclerotinia sclerotiorum*'dan oluşan gruptan seçilen bir bitki patojenine karşı antifungal aktiviteye sahip olup, burada *Alternaria* spp. tercih edilen şekliyle *A. solani* ve *A. alternata* arasından, özellikle de *A. solani*'den seçilmektedir. Daha özel olarak, buluşun *Paenibacillus* suşları, bahsedilen patojenlerin en az ikisine ya da
20 bütün dördüne karşı antifungal aktiviteye sahiptir.

Buluşun bir başka yönüne göre, buluşun *Paenibacillus* suşları, bitki patojenleri *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* ve *Sclerotinia sclerotiorum*'a karşı antifungal aktiviteye sahiptir.

Paenibacillus suşlarının bitki patojenlerine karşı antagonistik aktivitesi, *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* ve *Sclerotinia sclerotiorum* gibi arzu edilen fitopatogenik mantarlar kullanılarak yapılan bir in vitro konfrontrasyon deneyinde gösterilebilmekte olup burada *Alternaria* spp. tercih edilen şekliyle *A. solani* ve *A. alternata* arasından, özellikle de *A. solani*'den seçilmektedir.

Bu fitopatogenik mantarlar için büyüme ortamı olarak, litre başına aşağıdakileri içeren ISP2 ortamı kullanılmıştır: 10 g malt ekstraktı (Sigma Aldrich, 70167); 4 g Bacto mayası ekstraktı (Becton Dickinson, 212750); 4 g glukoz monohidrat (Sigma Aldrich, 16301); 20 g Agar (Becton Dickinson, 214510), yaklaşık 7 pH, Aq. bidest. PHYTIN için büyüme ortamı olarak, litre başına aşağıdakileri içeren V8 ortamı kullanılmıştır: 200 ml sebze suyu, 3 g kalsiyum karbonat (Merck Millipore, 1020660250); 30 g Agar (Becton Dickinson, 214510), pH 6.8, Aq. bidest.

Paenibacillus suşları bir agar plakasının bir tarafında nokta şeklinde aşılانmıştır. Aktif olarak büyüyen bir bitki patojeni içeren bir agar bloğu (yaklaşık 0.3 cm²) plakanın ortasına yerleştirilmiştir. 7-14 gün boyunca yaklaşık 25 °C'de inkübasyondan sonra, bitki patojenin büyümesi, özellikle inhibisyon bölgeleri açısından incelenmiştir. Aşağıdaki antagonistik etkiler değerlendirilebilir: Antibiyozis, mantarsız bölgenin çapının (inhibisyon bölgesinin) değerlendirilmesiyle skorlanmaktadır. Rekabet, fungal patojenin büyüme çapının bakteri suşları ile plakalarda kontrol plakalarına kıyasla karşılaştırılmasıyla puanlanmıştır. Bakterilerin fungal patojeni aşması ve ayrıca patojenleri mikoparazitləştirmesi durumunda mikoparazitizm belgelenebilir. Bu da mikroskop yardımı ile görülebilir.

10 Saklanan Paenibacillus suşları Lu16774, Lu17007 ve Lu17015'in tanımlayıcı bir başka özelliği ise; özellikle burada tanımlandığı gibi en az bir karbon kaynağı ve bir azot kaynağı içeren bir büyüme ortamında kitinaz, selüloz ve amilaz (bakınız Örnek 6), daha da tercih edilen şekliyle en az kitinaz ve selüloz arasından seçilen en az bir litik enzimi üretebilme ve salgılayabilme kapasitesine sahip olmalarıdır.

15 Bu nedenle, buluşun bir başka görüşüne göre, buluşun Paenibacillus suşları özellikle burada tanımlandığı gibi en az bir karbon kaynağı ve bir azot kaynağı içeren bir büyüme ortamında kitinaz, selüloz ve amilaz, daha da tercih edilen şekliyle en az kitinaz ve selüloz arasından seçilen en az bir litik enzimi üretebilme ve salgılayabilme kapasitesine sahiptir.

Daha spesifik olarak, mevcut buluş saklanan Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 suşları ile ilgilidir ve saklanan suşun tanımlayıcı özelliklerinden bir ya da daha fazlasına sahip olan herhangi bir Paenibacillus türü açıklanmaktadır, burada tanımlayıcı özellikler, aşağıdakilerden oluşan gruptan seçilmektedir:

(a) *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* ve *Sclerotinia sclerotiorum*'dan oluşan gruptan seçilen bir bitki patojenine karşı antifungal aktivite olup, burada *Alternaria* spp. tercih edilen şekliyle burada açıklandığı gibi *A. solani* ve *A. alternata* arasından, özellikle de *A. solani*'den seçilmektedir;

(b) burada açıklandığı gibi en az bir fusarisidin tipi formül I'e ait bileşik, özellikle 1A ve/veya 1B bileşiklerini üretme yeteneği;

(c) burada açıklandığı gibi fusarisidinler A, B, C, D, LI-F06a, LI-F06b ve LI-F08b'den oluşan gruptan seçilen en az bir bileşik üretme yeteneği; ve

(d) burada açıklandığı gibi kitinaz, selüloz ve amilazdan oluşan gruptan seçilen en az bir litik enzim üretme ve salgılama yeteneği.

Daha tercih edilen şekliyle, sözü edilen *Paenibacillus* suşu, burada tanımlandığı gibi en az bir karbon kaynağı ve bir azot kaynağı içeren bir büyüme ortamında (b), (c) ve (d) olarak belirtilen özelliklere sahiptir.

- 5 Özellikle, *Paenibacillus* suşları, en azından (a) ve (b) özelliklerine sahip olan ve özellikle tercih edilen suşlarla, saklanan suşun tanımlayıcı özelliklerinden iki ya da daha fazlasına sahiptir. Örneğin, tercih edilen bir düzenlemeye göre, buluşun suşları (a) *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* ve *Sclerotinia sclerotiorum*'dan oluşan gruptan seçilen bir bitki patojenine karşı antifungal aktiviteye sahip olup burada *Alternaria* spp. tercih edilen şekliyle *A. solani* ve *A. alternata* arasından, özellikle de *A. solani*'den seçilmektedir ve (b) en az bir formül I bileşiğini üretme, daha çok tercih edilen şekliyle 1B bileşiğini üretme kapasitesine sahiptir. 10 Tercih edilen bir düzenlemeye göre, buluşun suşları (a) *Alternaria* spp., *Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans* ve *Sclerotinia sclerotiorum*'dan oluşan gruptan seçilen bitki patojenlerinin üçüne ya da hepsine karşı bir antifungal aktiviteye sahiptir, burada *Alternaria* spp. tercih edilen şekliyle *A. solani* ve *A. alternata* arasından, özellikle de *A. solani*'den 15 seçilmektedir ve (b) en az bir formül I bileşiği üretme, daha çok tercih edilen şekliyle 1A ya da 1B bileşiklerini üretme, özellikle 1A ve 1B bileşiklerini üretme kapasitesine sahiptir.

Buluşun bir düzenlemesine göre, buluşun suşları izole ya da esasen saflaştırılmış formda sağlanmaktadır.

- 20 Buradaki «izole edilmiş» ya da «büyük ölçüde saflaştırılmış» terimleri, buluşa ait suşların, doğal bir ortamdan çıkarılmış ve izole edilmiş ya da ayrılmış olduğu ve doğal olarak ilişkili oldukları diğer bileşenleri en az % 60, tercih edilen şekliyle en az % 75 ve daha tercih edilen şekliyle en az % 90, daha da tercih edilen şekliyle en az % 95 ve en çok tercih edilen şekliyle en az % 99 oranında içermedikleri anlamına gelmektedir. Tek bir mikrobiyal koloni kültürlenerek elde edilen bir izolat, buluşun izole edilmiş bir suşuna bir örnektir.

- 25 Buluşun suşları, aktif ya da uykuda gibi herhangi bir fizyolojik durumda sağlanabilir. Hareketsiz suşlar örneğin dondurulmuş, kurutulmuş ya da liofilize edilmiş ya da kısmen kurutulmuş (kısmen kurutulmuş organizmaların üretilmesi için prosedürler «2008/002371» de belirtilmiştir) ya da spor şeklinde sağlanabilir.

Buluşun bir düzenlemesine göre, buluşun suşları spor şeklinde sağlanmaktadır.

- 30 Buluşun bir başka düzenlemesine göre, buluşun suşları buluşun bir suşunu içeren bir bütün kültür besiyeri şeklinde sağlanmaktadır.

Kültür tercih edilen şekliyle izole edilmiş ya da büyük oranda saflaştırılmış bir kültürdür.

Bir «izole edilmiş kültür» ya da «büyük ölçüde saflaştırılmış kültür», normal olarak suşların büyüdüğü ve/veya suşun normal olarak elde edilebildiği doğal habitatta bulunan önemli

miktarda başka materyali içermeyen buluşa ait suşların bir kültürünü belirtmektedir. Sonuç olarak, bu "izole edilmiş kültür" ya da "büyük ölçüde saflaştırılmış kültür» normal olarak türün büyüdüğü doğal ortamlarında bulunan ve/veya türün normal olarak elde edilebileceği diğer materyalleri en az % 60, tercih edilen şekliyle en az % 75 ve daha tercih edilen şekliyle en az % 90, daha da tercih edilen şekliyle en az % 95 ve en çok tercih edilen şekliyle en az % 99 oranında içermemektedir. Bu gibi bir "izole edilmiş kültür" ya da "büyük ölçüde saflaştırılmış kültür" normal olarak, buluşun suşunun replikasyonuna müdahale etmek için yeterli miktarlarda başka herhangi bir mikroorganizma içermemektedir. Ancak, buluşun izole edilmiş kültürleri, buluşa ait suşların karışık bir kültürünü ve bir başka biyopestisit, tercih edilen şekliyle bir mikrobiyal pestisit hazırlamak üzere birleştirilebilir.

Buluş, burada tarif edildiği gibi antipatojenik biyopestisitlerin fermantatif üretimine ilişkin yöntemlerle ilgilidir.

Buluşa uygun olarak kullanılan suşlar, seri prosesinde ya da beslenen seride ya da tekrarlanan beslenen seri prosesinde sürekli ya da süreksiz olarak yetiştirilebilir. Bilinen yetiştirme yöntemlerinin bir incelemesi, Chmiel (Bioprozesstechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1991))'e ait ders kitabında ya da Storhas (Bioreaktoren und periphere Einrichtungen (Vieweg Verlag, Braunschweig/Wiesbaden, 1994))'a ait ders kitabında bulunabilir.

Mikroorganizmanın yetiştirilmesi için kullanılacak ortam, belirli suşların gereksinimlerini uygun bir şekilde karşılamalıdır. Çeşitli mikroorganizmalar için kültür ortamının tarifleri "Manual of Methods for General Bacteriology" of the American Society for Bacteriology (Washington D. C., USA, 1981) el kitabında verilmektedir.

Buluşa göre kullanılabilen bu ortamlar genellikle bir ya da daha fazla karbon kaynağı, nitrojen kaynağı, inorganik tuzlar, vitaminler ve/veya eser elementleri içermektedir. Tercih edilen karbon kaynakları, mono-, di- ya da polisakaritler gibi şekerlerdir. Çok iyi karbon kaynakları örneğin glukoz, fruktoz, mannoz, galaktoz, riboz, sorboz, ribüloz, laktoz, maltoz, sukroz, rafinoz, nişasta ya da selülozdur. Şekerler ortama ayrıca melas gibi kompleks bileşikler ya da şekerin arıtılmasından elde edilen diğer yan ürünler vasıtasıyla ilave edilebilir. Ayrıca çeşitli karbon kaynaklarının karışımlarının eklenmesi de avantajlı olabilir. Diğer olası karbon kaynakları soya fasulyesi yağı, ayçiçeği yağı, yerfıstığı yağı ve hindistancevizi yağı gibi yağlar ve katı yağlar, palmitik asit, stearik asit ya da linoleik asit gibi yağ asitleri, gliserol, metanol ya da etanol gibi alkoller ve asetik asit ya da laktik asit gibi organik asitlerdir. Nitrojen kaynakları genellikle bu bileşikleri içeren organik ya da inorganik nitrojen bileşikler ya da materyalleridir. Nitrojen kaynaklarına örnekler amonyak gazı ya da amonyum sülfat, amonyum klorür, amonyum fosfat, amonyum karbonat gibi amonyum tuzları ya da amonyum nitrat, nitratlar, üre,

amino asitler ya da mısır dik likörü, soya fasulyesi unu, soya fasulyesi proteini, maya ekstresi, et ekstresi ve diğerleri gibi karmaşık azot kaynaklarını içermektedir. Nitrojen kaynakları ayrı olarak ya da bir karışım olarak kullanılabilir. Ortamda bulunabilecek inorganik tuz bileşikleri kalsiyum, magnezyum, sodyum, kobalt, molibden, potasyum, manganez, çinko, bakır ve demirin klorür, fosfat ya da sülfat tuzlarını içermektedir. İnorganik sülfür içeren bileşikler, örneğin sülfatlar, sülfidler, ditiyonitler, tetratyonatlar, tiyosülfatlar, sülfidler, fakat aynı zamanda merkaptanlar ve tiyoller gibi organik sülfür bileşikleri de sülfür kaynakları olarak kullanılabilir. Fosforik asit, potasyum dihidrojenfosfat ya da dipotasyum hidrojenfosfat ya da karşılık gelen sodyum içeren tuzlar fosfor kaynakları olarak kullanılabilir. Metal iyonlarını çözeltide tutmak için ortama şelatlama ajanları eklenebilir. Özellikle uygun şelatlama ajanları, katekol ya da protokateşat gibi dihidroksifenoller ya da sitrik asit gibi organik asitleri içermektedir. Buluşa göre kullanılan fermentasyon ortamı ayrıca, örneğin biotin, riboflavin, tiamin, folik asit, nikotinik asit, pantotenat ve piridoksin içeren vitaminler ya da büyüme destekleyicileri gibi başka büyüme faktörlerini de içerebilir. Büyüme faktörleri ve tuzlar genellikle, maya ekstraktı, melas, mısır maserasyon sıvısı ve benzerleri gibi ortamın karmaşık bileşenlerinden gelmektedir. Buna ilaveten ortama uygun prekürsörler de eklenebilir. Bileşiklerin ortam içindeki kesin kompozisyonu, belirli bir deney ile kuvvetli bir biçimde bağlantılıdır ve her özel durum için ayrı ayrı belirlenmelidir. Ortam optimizasyonuna ilişkin bilgi "Applied Microbiol. Physiology, A Practical Approach" (Publ. P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) p. 53-73, ISBN 0 19 963577 3) ders kitabında bulunabilir. Büyüme ortamı ayrıca Standart 1 (Merck) ya da BHI (Beyin kalbi infüzyonu, DIFCO) gibi ticari tedarikçilerden de elde edilebilir.

Buluşa göre kullanılabilecek tercih edilen büyüme ortamı, aşağıdakilerden seçilmiş bir ya da daha fazla karbon kaynağı içermektedir: L-arabinoz, N-asetil-D-glukozamin, D-galaktoz, L-aspartik asit, D-trehaloz, D-mannoz, gliserol, D-glukonik asit, D-ksiloz, D-mannitol, D-riboz, D-fruktoz, α -D-glukoz, maltoz, D-melibioz, timidin, α -metil-D-Galaktozit, α -D-laktoz, laktuloz, sukroz, üridin, α -hidroksi glutarik asit- γ -lakton β -metil-D-glukosit, adonitol, maltotrioz, 2-deoksiadenozin, adenosin, sitrik asit, musik asit, D-sellobiyoz, inosin, L-serin, L-alanil-glisin, D-galaktüronik asit, α -siklodekstrin, β -siklodekstrin, dekstrin, inulin, pektin, amigdalin, gentiobiyo, laktitol, D-melezitoz, α -metil-D-glukozit, β -metil-D-galaktosit, β -metil-D-ksilosit, palatin, D-rafinoz, stakioz, turanoz, γ -amino bütirik asit, D-glüosamin, D-laktik asit, L-lisin, 3-hidroksi 2-butanon; ve amonyak, nitrit, nitrat, L-alanini, L-asparagin, L-aspartik asit, L-glutamik asit, L-glutami, glisin, aminoasit dimleri arasından seçilen bir ya da daha fazla nitrojen kaynağı: Ala-Asp, AlaGln, Ala-Glu, Ala-His, Gly-Gln, Gly-Glu, Gly-Met ve Met-Ala; özellikle de nitrat. Bu ortam inorganik tuzlar ve vitaminler ve/veya eser elementlerle desteklenebilir. Suşlar, bu büyüme ortamlarında 1A ve 1B bileşiklerini üretme yeteneğine sahiptir.

Ortamın tüm bileşenleri ısıtma (2.0 bar ve 121 °C'de 20 dakika) ya da steril filtreleme yoluyla sterilize edilmiştir. Bileşenler birlikte ya da gerekirse ayrı ayrı sterilize edilebilir. Ortamın tüm bileşenleri büyümenin başlangıcında mevcut olabilir ya da isteğe bağlı olarak sürekli ya da toplu besleme ile eklenebilir.

- 5 Kültürün sıcaklığı normal olarak 15 °C ila 36 °C, tercih edilen şekliyle 25 °C ila 33 °C arasındadır ve sabit tutulabilir ya da deney sırasında değiştirilebilir. Ortamın pH değeri 5 ila 8.5, tercih edilen şekliyle 7.0 civarında olmalıdır. Büyüme için pH değeri büyüme sırasında sodyum hidroksit, potasyum hidroksit, amonyak ya da amonyak suyu gibi bazik bileşikler ya da fosforik asit ya da sülfürik asit gibi asit bileşikler ekleyerek büyüme sırasında kontrol edilebilir. Köpük önleyici ajanlar, örneğin yağ asidi poliglikol esterleri, köpüklenmeyi kontrol etmek için kullanılabilir. Plazmitlerin kararlılığını sağlamak üzere seçici etki gösteren uygun maddeler, örneğin antibiyotikler, ortama eklenebilir. Oksijen ya da oksijen içeren gaz karışımları, örneğin ortam havası, aerobik koşulları korumak üzere kültüre beslenmektedir. Kültürün sıcaklığı normal şartlar altında 20 °C ila 45 °C arasındadır. İstenen ürünün maksimum miktarı oluşana dek kültüre devam edilmektedir. Bu da normal şartlar altında 10 ila 160 saat arasında elde edilmektedir.

- Ozellikle, buluşun suşları Luria-Bertani Besiyeri (LB), triptikaz-soya besiyeri (TSB), maya ekstresi / malt ekstresi / glukoz suyu (YMG, ISP2) gibi çeşitli standart mikrobiyoloji materyallerine sahip bir ortamda, 15 °C ila 36 °C sıcaklıkta, 18 ila 360 saat boyunca, sıvı ortamda ya da bir petri kabındaki agar-katılaşmış ortamda kültüre alınabilirler. Havalandırma gerekli olabilir. Bakteriyal hücreler (bitkisel hücreler ve sporlar) yıkanabilir ve konsantre edilebilir (örneğin 7.000 x g'de yaklaşık 15 dakika boyunca yaklaşık 15 ila 30 °C sıcaklıkta santrifüjleme ile).

- Buluş ayrıca buluşun suşlarının bir ortamda kültüre alınması ve ortamı kültür besiyerinde, örneğin bir bütün kültür besiyerinin (bu nedenle, ortamda yetiştirilen hücreler bütün kültür besiyerinden alındığında kalanlar) süpernatantından (besiyeri içinde büyüyen hücreler ve diğer yığıntı santrifüjleme, filtrasyon, çökeltme ya da teknikte iyi bilinen diğer araçlar ile uzaklaştırıldığında geride kalan sıvı besiyeri) ayırarak elde edilebilen kültür ortamıyla ilgilidir. Süpernatant örneğin yaklaşık 2 ila 30 °C sıcaklıkta (daha fazla tercih edilen şekliyle 4 ila 20 °C sıcaklıkta) yaklaşık 10 ila 60 dakika boyunca (daha tercih edilen şekliyle yaklaşık 15 ila 30 dakika) yaklaşık 5.000 ila 20.000 x g'de (daha tercih edilen şekliyle yaklaşık 15.000 x g'de) santrifüjleme ile elde edilebilir.

Bu gibi bir kültür ortamı kültürlenmiş suş tarafından üretilen pestisidal metabolitleri içermektedir.

Buluş ayrıca buluşun suşlarının hücre içermeyen ekstraktları ile de ilgilidir. Hücre içermeyen bir ekstrakt üretmek için, buluşun suşları yukarıda tarif edildiği gibi üretilir. Hücreler aynı zamanda yüksek frekanslı ultrason, yüksek basınç, örn. bir Fransız basınç hücresinde, osmolisiz, deterjanların, litik enzimlerin ya da organik çözücülerin etkisiyle, homojenleştiriciler ya da listelenen yöntemlerin birkaçının bir kombinasyonu ile bozulabilirler. Ekstraksiyon işlemi tercih edilen şekliyle bir organik çözücü ya da çözücü karışımıyla, daha tercih edilen şekliyle bir alkolle (örneğin metanol, etanol, n-propanol, 2-propanol ya da benzeri), hatta daha da tercih edilen şekliyle 2-propanolle (örneğin kültür hacmine 1:1'lik bir oranda) gerçekleştirilebilir. Faz ayrımı, NaCl gibi tuzların eklenmesi ile artırılabilir. Organik faz toplanabilir ve çözücü ya da çözücü karışımı, geleneksel damıtma ve/veya kurutma ve ardından metanolde yeniden süspansiyon haline getirme ve süzme yoluyla uzaklaştırılabilir.

Bu gibi bir ekstrakt kültürlenmiş suş tarafından üretilen pestisidal metabolitleri içermektedir.

Buluşun suşlarına özgü olan pestisidal metabolitler, özellikle buluşun suşları yukarıda tarif edildiği gibi yetiştirildiğinde, geleneksel yöntemlere göre bu tür ortam ya da ekstraktan geri kazanılabilirler.

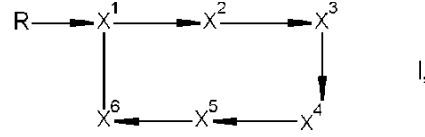
Mevcut buluşun metodolojisi ayrıca bireysel pestisit metabolitlerinin geri kazanılması aşamasını da içerebilir.

“Geri kazanım” terimi, bileşiğin kültür ortamından ya da hücre içermeyen ekstraktlardan ekstrakte edilmesini toplanmasını, izole edilmesini ya da arıtılmasını içermektedir. Bileşiğin geri kazanılması, bunlarla sınırlı olmamak üzere, teknik alanda bilinen herhangi bir geleneksel izolasyon ya da saflaştırma metodolojisine göre gerçekleştirilebilir: geleneksel bir reçine ile işlem (örneğin, anyon ya da katyon değişim reçinesi, iyonik olmayan adsorpsiyon reçinesi, vb.), geleneksel bir adsorbanla işlem (ör. aktif kömür, silisik asit, silika jeli, selüloz, alümina, vb.), pH'ın değiştirilmesi, çözücü ekstraksiyonu (örneğin, bir alkol, etil asetat, heksan ve benzeri gibi geleneksel bir çözücü ile), damıtma, diyaliz, filtrasyon, konsantrasyon, kristalleşme, yeniden kristalleşme, pH ayarlaması, liyofilizasyon ve benzerleri. Örneğin, metabolitler ilk olarak mikroorganizmaları çıkararak kültür ortamlarından geri kazanılabilir. Kalan besiyeri daha sonra istenmeyen katyonları çıkarmak için bir katyon değişim reçinesi içinden ya da üzerinden geçirilmekte ve daha sonra istenmeyen inorganik anyonları ve organik asitleri çıkarmak için bir anyon değişim reçinesi içinden ya da üzerinden geçirilmektedir.

Yeni *Paenibacillus* suşlarının bütün kültür besiyerinde çeşitli metabolitler bulunmuştur. Dokuz metabolit detaylı bir biçimde çalışılmış ve tanımlanmıştır (bakınız Örnek 7, Şekil 1). İki tanesinin yeni olduğu bulunmuştur (bileşik

bunlardan hiçbirini, ilgili *Paenibacillus peoriae* suşu NRRL BD-62'nin bütün kültür besiyerinde bulunamamıştır.

Bu nedenle mevcut buluş ayrıca formül I bileşikler ile de ilgilidir



5 burada

R 15-guanidino-3-hidroksipentadekanoik asit (GHPD) ve 12-guanidinododekanoik asit (12-GDA) arasından seçilmektedir;

X¹ treonindir;

X² izolösindir;

10 X³ tirozindir;

X⁴ treonindir;

X⁵ glutamin ve asparajin arasından seçilmektedir;

X⁶ alanindir; ve

15 burada bir ok R'nin karbonil kısmı ile amino asit X¹'in amino grubu arasında ya da bir amino asidin karbonil grubu ile komşu bir amino asidin amino grubu arasında tek bir (amid) bağı tanımlamaktadır, burada okun ucu sözü edilen komşu amino asidin amino grubuna bağlanmayı göstermektedir; ve

buradaki tek çizgi (ok başı olmadan), X⁶'nın karbonil grubu ve X¹'in hidroksil grubu arasında tek bir (ester) bağı tanımlamaktadır;

20 ve onun tarımsal olarak kabul edilebilir tuzları.

Bir diğer düzenlemeye göre formül I'deki X¹ tercih edilen şekliyle L-threonindir.

Bir diğer düzenlemeye göre formül I'deki X² tercih edilen şekliyle D-izolösün ya da D-allo-izolösün'dir.

Bir diğer düzenlemeye göre formül I'deki X³ tercih edilen şekliyle L-tirosindir.

25 Bir diğer düzenlemeye göre formül I'deki X⁴ tercih edilen şekliyle D-allo-treonindir.

Bir diğer düzenlemeye göre formül I'deki X⁵ tercih edilen şekliyle D-glutamin ya da D-asparagindir.

Bir diğer düzenlemeye göre formül I'deki R tercih edilen şekliyle GHPD'dir.

Formül I'in bileşikleri için formül I'in taslağı aşağıdaki gibi de gösterilebilir:

burada

X $-\text{NH}-(\text{C}=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-(\text{CH}_2)_{12}-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ ve $-\text{NH}-(\text{C}=\text{O})-(\text{CH}_2)_{11}-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$

5 arasında seçilmektedir;

R^1 1-hidroksietildir;

R^2 1-metilpropildir (sec-butil);

R^3 4-hidroksibenzildir;

R^4 1-hidroksietildir;

10 R^5 karbamoiletil ve karbamoilmetil arasından seçilmektedir;

R^6 metildir.

Benzer şekilde, formül I'in bu alternatif taslağına dayanarak tercih edilen düzenlemeler aşağıdaki gibidir:

Bu formül I'deki R^1 tercih edilen şekliyle (1S,2R)-1-hidroksietildir.

15 Bu formül I'deki R^2 tercih edilen şekliyle (1R,2R)-1-metilpropil ya da (1R,2S)-1-metilpropildir.

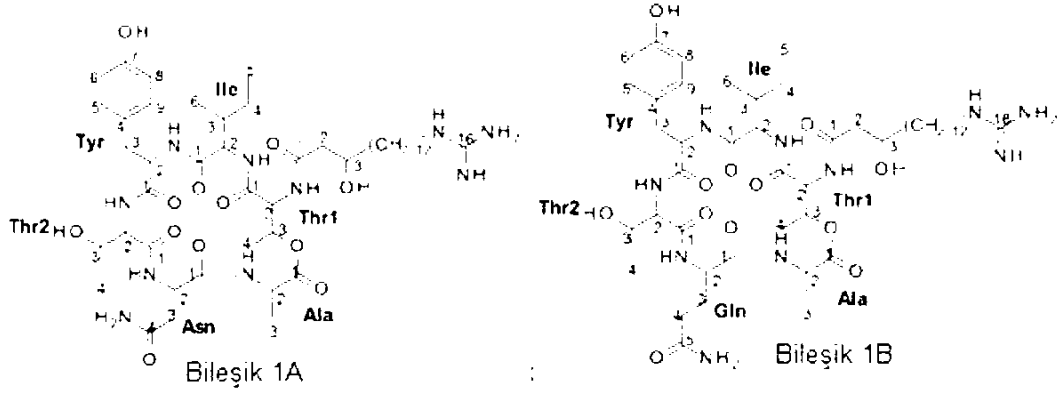
Bu formül I'deki R^3 tercih edilen şekliyle (S)-4-hidroksi-benzildir.

Bu formül I'deki R^4 tercih edilen şekliyle (1S,2R)-1-hidroksietildir.

Bu formül I'deki R^5 tercih edilen şekliyle (R) -karbamoiletil ve (R) -karbamoilmetildir.

20 Bu formül I'deki X tercih edilen şekliyle $-\text{NH}-(\text{C}=\text{O})-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{OH})-(\text{CH}_2)_{12}-\text{NH}-\text{C}(=\text{NH})\text{NH}_2$ dir.

Bir diğer düzenlemeye göre, buluş ayrıca formül I'e ait bileşikler



Buluşun suşlarından pestisit metabolitler tercih edilen şekliyle R'nin GHPD olduğu formül I'in bileşimlerinden seçilmekte, özellikle de buluşa ait suşların kültürlerinden, yani bütün kültür besiyerinden ekstraksiyon ve izolasyon yoluyla elde edilebilen bileşik 1A ve 1B'den

5 seçilmektedir.

Ayrıca, R'nin GHTD olduğu bileşikler de dahil olmak üzere formül I'e ait fusarisidin tipi bileşikler, teknik alanda bilinen yöntemlere benzer şekilde sentezlenebilir (Biopolymers 80(4), 541, 2005; J. Peptide Sci. 12S, 219, 2006; Tetrahedron Lett. 47(48), 8587-90, 2006; Biopolymers 88(4), 568, 2007; ChemMedChem 7, 871-882, 2012).

10 Buluş aynı zamanda tarımsal olarak kabul edilebilir tuzlarla, özellikle formül I'in söz konusu fusarisidin tipi bileşiklerinin asit ilaveli tuzlarıyla ilgilidir. Sözü edilen tuzlar, teknik alanda iyi bilinen geleneksel yöntemlerle elde edilebilir, örn. bir asit ekleme tuzu oluşturmak için buluşa

15 ait bileşiklerin uygun bir asit ile reaksiyona sokulması suretiyle. Yararlı asit ilave tuzlarının anyonları öncelikle klorür, bromür, florür, iyodür, hidrojensülfat, metilsülfat, sülfat, dihidrojenfosfat, hidrojen-fosfat, nitrat, bikarbonat, karbonat, hekzaflorosilikat, hekzaflorofosfat, benzoat ve ayrıca C₁-C₄-alkanoik asitlerin anyonları, tercih edilen şekliyle format, asetat, propiyonat ve bütiratır.

Sonuç olarak, buluş ayrıca tercih edilen şekliyle 1A ve 1B bileşikleri ya da bunların tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzu arasından seçilen en az bir formül I bileşiği ya da bunun tarımsal

20 olarak kabul edilebilir bir tuzunu içeren mikroorganizmanın bütün bir kültür besiyeri ile ilgilidir, özellikle söz konusu bütün kültür besiyeri, bileşik 1A ve 1B'yi ya da bunların tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içermektedir.

Başka bir düzenlemeye göre buluş ayrıca tercih edilen şekliyle 1A ve 1B bileşikleri ya da bunların tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzu arasından seçilen en az bir formül I bileşiği ya

25 da bunun tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içeren *Paenibacillus* cinsinin mikroorganizmasının bütün bir kültür besiyeri ile ilgilidir, özellikle söz konusu bütün kültür

besiyeri, bileşik 1A ve 1B'yi ya da bunların tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içermektedir.

Başka bir düzenlemeye göre buluş ayrıca tercih edilen şekliyle 1A ve 1B bileşikleri ya da bunların tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzu arasından seçilen en az bir formül I bileşiği ya da bunun tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içeren yukarıda belirlendiği ve tanımlandığı gibi buluşun en az bir Paenibacillus suşunun bütün bir kültür besiyeri ile ilgilidir, özellikle söz konusu bütün kültür besiyeri, bileşik 1A ve 1B'yi ya da bunların tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içermektedir.

Sözü edilen fusarisidin tipi bileşikler, onu üretme kabiliyetine sahip ilgili mikroorganizmanın kültür ortamına salgılanmaktadır.

Bunun sonucunda, buluş ayrıca formül I'in en az bir bileşiği ya da bunun tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzu, tercih edilen şekliyle bileşik 1A ve 1B'den seçilmiş olan ya da bunların tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içeren, kültür ortamı ve/veya organizmanın bir hücre içermeyen ekstraktı ile ilgili olup özellikle söz konusu kültür ortamı ve/veya hücre içermeyen bir ekstrakt, 1A ve 1B bileşiklerini ya da bunların tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içermektedir.

Bir başka düzenlemeye göre, buluş ayrıca formül I'in en az bir bileşiği ya da bunun tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzu, tercih edilen şekliyle bileşik 1A ve 1B'den seçilmiş olan ya da bunların tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içeren, kültür ortamı ve/veya Paenibacillus cinsinin bir organizmasının bir hücre içermeyen ekstraktı ile ilgili olup özellikle söz konusu kültür ortamı ve/veya hücre içermeyen bir ekstrakt, 1A ve 1B bileşiklerini ya da bunların tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içermektedir.

Bir başka düzenlemeye göre, buluş ayrıca formül I'in en az bir bileşiği ya da bunun tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzu, tercih edilen şekliyle bileşik 1A ve 1B'den seçilmiş olan ya da bunların tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içeren, yukarıda belirlendiği ve tanımlandığı gibi kültür ortamı ve/veya buluşun en az bir Paenibacillus suşunun bir hücre içermeyen ekstraktı ile ilgili olup özellikle söz konusu kültür ortamı ve/veya hücre içermeyen bir ekstrakt, 1A ve 1B bileşiklerini ya da bunların tarımsal olarak kabul edilebilir bir tuzunu içermektedir.

Buluş ayrıca, aşağıda tanımlandığı gibi bir yardımcı maddeyi ve sırasıyla suşların en az bir ya da daha fazlasını, bütün kültür besiyerlerini, hücre içermeyen ekstraktları, kültür ortamlarını ve buluşa ait formül I bileşiklerini içeren agrokimyasal kompozisyonlarla ilgilidir.

Burada kullanıldığı şekliyle, mevcut buluşun bir ürününe (mikrobiyal suş, ajan ya da formülasyon) referansla «kompozisyon» terimi içerik maddelerinin bir kombinasyonunu ifade etmekte olup burada "formüle etme", formülasyonu oluşturmak için eklenecek içerik

maddelerinin bir kombinasyonu için, bir tarif gibi, bir formülü kullanma prosesidir. Bu gibi bir kompozisyon burada ayrıca formülasyon olarak da ifade edilmektedir.

Suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül I'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar sırasıyla antifungal ajanlar ya da fungusitler olarak uygundur.

Bunlar geniş bir yelpazede, özellikle Plasmodiophoromycetes, Peronosporomycetes (syn. Oomycetes), Chytridiomycetes, Zygomycetes, Ascomycetes, Basidiomycetes ve Deuteromycetes (syn. Fungi imperfecti) sınıflarından türetilen toprak kaynaklı mantarlar dahil fitopatojenik mantarlara karşı olağanüstü bir etkinlik ile ayırt edilmektedir. Bunlardan bazıları sistematik olarak etkilidir ve bitki korumalarında yaprak fungusitleri, tohum hazırlama için fungusitler ve toprak fungusitleri olarak kullanılabilirler. Buna ilaveten, diğerlerinin yanı sıra ağaç ya da bitki köklerinde oluşan zararlı mantarları kontrol etmek için de uygundur.

Suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül I bileşikleri ve buluşa ait kompozisyonlar sırasıyla tahıllar, örneğin buğday, çavdar, arpa, tritikale, yulaf ya da pirinç; pancar, örneğin şeker pancarı ya da yem pancarı; elma, armut, erik, şeftali, badem, kiraz, çilek, ahududu, böğürtlen ya da bekaşi üzümü gibi pomp, çekirdekli meyveler ya da yumuşak meyveler gibi meyveler; mercimek, bezelye, yonca ya da soya fasulyesi gibi baklagiller; küçük şalgam, hardal, zeytin, ayçiçeği, hindistan cevizi, kakao çekirdeği, hint yağı bitkisi, yağ avuç içi, yer fıstığı ya da soya fasulyesi gibi yağ bitkileri; kabak, salatalık ya da kavun gibi kabakgiller; pamuk, keten, kenevir ya da hint keneviri gibi lifli bitkiler; portakal, limon, greyfurt ya da mandalina gibi turuncgiller; ıspanak, marul, kuşkonmaz, lahanas, havuç, soğan, domates, patates, salata ya da kırmızı biber gibi sebzeler; avokado, tarçın ya da kafur gibi lauraklı bitkiler; mısır, soya fasulyesi, kolza, şeker kamışı ya da hurma yağı gibi enerji ve hammadde bitkileri; mısır; tütün; fındık; kahve; çay; muz; asmalar (sofralık üzümler ve üzüm suyu üzüm asmaları); hop; çim; tatlı yaprak (ayrıca Stevia olarak da bilinir); doğal kauçuk bitkileri ya da çiçekler, çalılar, geniş yapraklı ağaçlar ya da herdem yeşilleri gibi süs ve orman bitkileri, örneğin kozalaklı bitkiler gibi çeşitli kültür bitkileri ve tohumlar ve bu bitkilerin mahsul materyali gibi bitki çoğaltma materyali üzerinde çok sayıda fitopatojenik mantarın kontrolünde özellikle önemlidir.

Tercih edilen şekliyle sırasıyla süşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül I'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar patates şeker pancarları, tütün, buğday, çavdar, arpa, yulaf, pirinç, mısır, pamuk, soya fasulyesi, kolza, baklagiller, ayçiçeği, kahve ya da şeker kamışı; meyveler; asmalar; süs bitkileri; ya da salatalık, domates, fasulye ya da kabak gibi sebzeler gibi tarla bitkileri üzerinde çok sayıda mantarı kontrol etmek için kullanılmaktadır.

"Bitki çoğaltma materyali" teriminin, tohumlar gibi bitkinin üreme parçalarını ve bitkinin çoğaltılması için kullanılabilecek çelik ve yumrular gibi bitkisel bitki materyallerini (örneğin patatesler) belirttiği anlaşılmalıdır. Bu, tohumlar, kökler, meyveler, yumrular, ampuller, rizomlar, sürgünler, filizler ve fideler ve çimlenmeden sonra ya da topraktan çıktıktan sonra nakledilecek olan fideler ve genç bitkiler dahil olmak üzere diğer bitki kısımlarını içermektedir. Bu genç bitkiler, transplantasyondan önce daldırma ya da dökme yoluyla tamamen ya da kısmen muamele ile de korunabilir.

Tercih edilen şekliyle bitki üreme materyallerinin sırasıyla suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler; ve buluşa ait kompozisyonlar ile işleme tabi tutulması buğday, çavdar, arpa ve yulaf, pirinç, mısır, pamuk ve soya fasulyesi gibi tahıllarda çok sayıda mantarı kontrol etmek için kullanılmaktadır.

"Kültür bitkileri" terimi, piyasada yer alan ya da geliştirilmekte olan tarımsal biyoteknoloji ürünlerini de içeren ancak bunlarla sınırlı olmayan, ıslah, mutajenez ya da genetik mühendisliği ile modifiye edilmiş bitkileri içerdiği şeklinde anlaşılmalıdır (cf. <http://cera-gmc.org/>, bkzn. GM oradaki mahsül veritabanı). Genetik olarak modifiye edilmiş bitkiler, doğal koşullar altında çapraz üreme, mutasyonlar ya da doğal rekombinasyon yoluyla kolayca elde edilemeyen rekombinant DNA teknikleri kullanılarak genetik materyalin bu kadar modifiye edildiği bitkilerdir. Tipik olarak, bitkinin belirli özelliklerini geliştirmek için genetik olarak modifiye edilmiş bir bitkinin genetik materyaline bir ya da birden fazla gen entegre edilmiştir. Bu tür genetik modifikasyonlar, bunlarla sınırlı olmamak üzere, protein (ler), oligo- ya da polipeptidlerin hedeflenmiş translasyon sonrası örneğin glikosilasyon ya da prenile edilmiş, asetillenmiş ya da farnesile edilmiş kısımlar ya da PEG kısımları gibi polimer ilaveleri ile modifikasyonunu da içermektedir.

Üreme, mutajenez ya da genetik mühendisliği ile değiştirilmiş bitkiler, dicamba ya da 2,4-D gibi oksin herbisitler; hidroksifenilpiruvat dioksijenaz (HPPD) inhibitörleri ya da fitoen desaturaz (PDS) inhibitörleri gibi ağartıcı herbisitler; sülfonil üreler ya da imidazolinonlar gibi asetolaktat sentaz (ALS) inhibitörleri; glifosat gibi enolpyruvylshikimate-3-fosfat sentaz (EPSPS) inhibitörleri; glufosinat gibi glutamin sentetaz (GS) inhibitörleri; protoporfirinojen-IX oksidaz inhibitörleri; asetil CoA karboksilaz (ACCase) inhibitörleri gibi lipit biyosentezi inhibitörleri; ya da geleneksel üreme yöntemleri ya da genetik mühendisliği yöntemlerinin bir sonucu olarak oksinil (yani, bromoksinil ya da iyoksinil) herbisitler gibi belirli herbisit sınıflarının uygulamalarına toleranslı olacak şekilde değiştirilmişlerdir. Ayrıca, bitkiler çoklu genetik modifikasyonlar yoluyla, hem glifosat hem de glufosinata direnç ya da ALS inhibitörleri, HPPD inhibitörleri, oksin herbisitler ya da ACCase inhibitörleri gibi başka bir sınıftan hem glifosat hem de bir herbisite direnç gibi bitkiler herbisit sınıflarına karşı dirençli hale getirilmiştir. Bu herbisit direnç teknolojileri örneğin Pest Managem. Sci. 61, 2005, 246; 61, 2005, 258; 61, 2005,

277; 61, 2005, 269; 61, 2005, 286; 64, 2008, 326; 64, 2008, 332; Weed Sci. 57, 2009, 108; Austral. J. Agricult. Res. 58, 2007, 708; Science 316, 2007, 1185; de tarif edilmektedir ve burada alıntı yapılan referanslar olarak verilmektedir. Bazı yetiştirilen bitkiler, geleneksel üretme yöntemleriyle (mutajenez) herbisitlere toleranslı hale getirilmiştir, örneğin imidazolinonlara toleranslı Clearfield® yaz kolzası (Kanola, BASF SE, Almanya), örneğin sülfonil ürelere toleranslı imazamox ya da ExpressSun® ayçiçeği (DuPont, ABD, örneğin tribenuron. Genetik mühendisliği yöntemleri bazıları RoundupReady® (glifosat toleranslı, Monsanto, ABD), Cultivance® (imidazolinon toleranslı, BASF SE, Almanya) ve LibertyLink® (glufosinat toleranslı, Bayer CropScience, Almanya) ticari markaları altında ticari olarak temin edilebilen glifosat ve glüfosinat gibi herbisitlere toleranslı soya fasulyesi, pamuk, mısır, pancar ve kolza gibi tarım bitkilerini değiştirmek için kullanılmıştır.

Ayrıca bir ya da daha fazla böcek öldürücü protein, özellikle bakteri cinsi Bacillus, özellikle de δ -endotoksinler gibi Bacillus thuringiensis'ten bilinenler, örn. CryIA (b), CryIA (c), CryIF, CryIF (a2), CryIIA (b), CryIIIA, CryIIIB (bl) ya da Cry9c; bitkisel böcek öldürücü proteinler (VIP), örneğin VIP1, VIP2, VIP3 ya da VIP3A; nematodları kolonize eden bakterilerin böcek öldürücü proteinleri, örn. Photorhabdus spp. ya da Xenorhabdus spp. ; akrep toksinleri, araknid toksinleri, yaban arısı toksinleri ya da diğer böceklere özgü nörotoksinler gibi hayvanlar tarafından üretilen toksinler; Streptomyces toksinleri gibi mantarlar tarafından üretilen toksinler, bezelye ya da arpa lektinleri gibi bitki lektinleri; aglutininler; tripsin inhibitörleri, serin proteaz inhibitörleri, patatin, sistatin ya da papain inhibitörleri gibi proteinaz inhibitörleri; ricin, mısır-RIP, abrin, luffin, saporin ya da bryodin gibi ribozomda inaktive edici proteinler (RIP); 3-hidroksisteroid oksidaz, ekdisteroid-IDP-glikosil-transferaz, kolesterol oksidazlar, ekdison inhibitörleri ya da HMG-CoA-redüktaz gibi steroid metabolizması enzimleri; sodyum ya da kalsiyum kanallarının bloke edicileri gibi iyon kanalı blokerleri; gençlik hormonu esterazı; diüretik hormon reseptörleri (helikokinin reseptörleri); stilben sentaz, bibenzil sentaz, chitinases ya da glukanları sentezleme kapasitesine sahip rekombinant DNA tekniklerinin kullanılması ile bitkiler de kapsanmaktadır. Mevcut buluş bağlamında, bu böcek öldürücü proteinler ya da toksinler, ayrıca açıkça ön-toksinler, hibrit proteinler, kesilmiş ya da aksi halde modifiye edilmiş proteinler olarak da anlaşılmalıdır. Hibrid proteinler protein alanlarının yeni bir kombinasyonu ile karakterizedir (örneğin bakınız WO 02/015701). Bu gibi toksinlere ya da bu gibi toksinleri sentezleme kapasitesine sahip olan genetik olarak modifiye edilmiş bitkilere daha başka örnekler örneğin EP-A 374 753, WO 93/007278, WO 95/34656, EP-A 427 529, EP-A 451 878, WO 03/18810 ve WO 03/52073'de açıklanmaktadır. Bu tür genetik olarak modifiye edilmiş bitkileri üretmek için yöntemler genel olarak teknik alanda uzman kişilerce bilinmekte ve örneğin yukarıda söz edilen yayınlarda tarif edilmektedir. Genetiği değiştirilmiş bitkilerde bulunan bu böcek öldürücü proteinler, bu proteinleri üreten bitkilere, tüm taksonomik

eklembacaklı gruplarından zararlı böceklerle, özellikle kın kanatlılar (Coeloptera), iki kanatlı böcekler (Diptera) ve güvelere (Lepidoptera) ve Nematodlara (Nematoda) karşı tolerans kazandırmaktadır. Bir ya da daha fazla böcek öldürücü proteini sentezleyebilen genetiği değiştirilmiş bitkiler, örneğin yukarıda belirtilen yayınlarda tarif edilmiştir ve bunlardan bazıları piyasadan satın alınabilir: YieldGard® (Cry1Ab toksini üreten mısır çeşitleri), YieldGard® Plus (Cry1Ab ve Cry3Bb1 toksinleri üreten mısır çeşitleri), Starlink® (Cry9c toksini üreten mısır çeşitleri), Herculex® RW (Cry34Ab1, Cry35Ab1 ve Fosfinotrisin-N-Asetiltransferaz [PAT] enzimini üreten mısır bitkileri); NuCOTN® 33B (Cry1Ac toksini üreten pamuk çeşitleri), Bollgard® I (Cry1Ac toksini üreten pamuk çeşitleri), Bollgard® II (Cry1Ac ve Cry2Ab2 toksinleri üreten pamuk çeşitleri); VIPCOT® (VIP-toksin üreten pamuklu çeşitler); NewLeaf® (Cry3A toksini üreten patates çeşitleri); Bt-Xtra®, NatureGard®, KnockOut®, BiteGard®, Protecta®, Bt11 (örneğin, Agrisure® CB) ve Syngenta Seeds SAS'tan Bt176, (Cry1Ab toksini ve PAT enzimini üreten mısır çeşitleri), Syngenta Seeds SAS, Fransa'dan MIR604 (Cry3A toksininin modifiye edilmiş bir versiyonunu üreten mısır tarımı, c.f. WO 03 / 018810), Monsanto Europe S.A.'dan MON 863, Belçika (Cry3Bb1 toksini üreten mısır ekili), Monsanto Europe S.A.'den IPC 531, Belçika (Cry1Ac toksininin modifiye edilmiş bir versiyonunu üreten pamuk tarımı) ve Pioneer Overseas Corporation, Belçika'dan 1507 (Cry1F toksin ve PAT enzimini üreten mısır çeşitleri).

Ayrıca, bitkilerin bakteri, virüs ya da mantar patojenlerine karşı direncini ya da toleransını arttırmak için bir ya da daha fazla proteini sentezleyebilen rekombinant DNA tekniklerinin kullanılması ile bitkiler de kapsamaktadır. Bu gibi proteinlerin örnekleri, "patogenez ile ilgili proteinler» (PR proteinleri, bakınız, örneğin, EP-A 392 225), bitki hastalığı direnç genleri (örneğin, meksika yabani patates Solanum bulbocastanum'dan türetilen Phytophthora infestans'a karşı etkili direnç genlerini ekspres eden patates çeşitleri) ya da T4-lizozimdir (örneğin, Erwinia amylovora gibi bakterilere karşı daha fazla direnç gösteren bu proteinleri sentezleyebilen patates çeşitleri). Bu tür genetik olarak modifiye edilmiş bitkileri üretmek için yöntemler genel olarak teknik alanda uzman kişilerce bilinmekte ve örneğin yukarıda söz edilen yayınlarda tarif edilmektedir.

Ayrıca, verimliliği (örneğin, biyo kitle üretimi, tane verimi, nişasta içeriği, yağ içeriği ya da protein içeriği), kuraklığa toleransı, tuzluluk ya da diğer büyüme sınırlayıcı çevresel faktörleri ya da bu bitkilerin zararlıları ve mantar, bakteriyel ya da viral patojenlerine toleransı arttırmak için rekombinant DNA teknikleri kullanılarak bir ya da daha fazla protein sentezleyebilen bitkiler de ayrıca kapsamıştır.

Ayrıca, özellikle insan ya da hayvan beslenmesini iyileştirmek için, rekombinant DNA teknikleri kullanılarak, değiştirilmiş miktarda içerik maddesi ya da yeni içerik maddeleri (örneğin sağlıklı teşvik eden uzun zincirli omega-3 yağ asitleri ya da doymamış omega-9 yağ asitleri üreten yağ

bitkileri (örneğin, Nexera® kolza, DOW Agro Sciences, Kanada)) içeren bitkiler de kapsamaktadır.

Ayrıca, özellikle ham madde üretimini iyileştirmek için, rekombinant DNA teknikleri kullanılarak, değiştirilmiş miktarda içerik maddesi ya da yeni içerik maddeleri (örneğin artan miktarda amilopektin üreten patatesler (örneğin, Amflora® patates, BASF SE, Almanya)) içeren bitkiler de kapsamaktadır.

Suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar aşağıdaki bitki hastalıklarını kontrol etmek için özellikle uygundur:

- 10 süs bitkileri, sebzeler (örn., *A. candida*) ve ayçiçeğinde (örneğin, *A. tragopogonis*) *Albugo* spp. (beyaz pas); sebzeler, küçük şalgam (*A. brassicola* ya da *brassicae*), şeker pancarı (*A. tenuis*), meyve, pirinç, soys, patates (örneğin *A. solani* ya da *A. alternata*), domates (örneğin *A. solani* ya da *A. alternata*) ve unda *Alternaria* spp. (*Alternaria* yaprak lekesi); şeker pancarı ve sebzelerde *Aphanomyces* spp.; tahıllar ve sebzelerde *Ascochyta* spp., örneğin buğdayda *A.*
- 15 *tritici* (antraknoz) ve arpada *A. hordei*; *Bipolaris* ve *Drechslera* spp. (Teleomorf: *Cochliobolus* spp.), örneğin mısırdaki Güney yaprak yanıklığı (*D. maydis*) ya da Kuzey yaprak yanıklığı (*B. zeicola*), örneğin tahıllar üzerinde nokta lekesi (*B. sorokiniana*) ve örneğin pirinç ve çimlerde *B. oryzae*; tahıllar (örneğin buğday ya da arpada) üzerinde *Blumeria* (eski adıyla *Erysiphe*) *graminis* (külleleme); meyve ve taneli ufak meyveler (ör. çilek), sebzeler (ör. marul, havuç,
- 20 kereviz ve lahana), kolza, çiçekler, üzüm, orman bitkileri ve buğday üzerinde *Botrytis cinerea* (teleomorf: *Botryotinia fuckeliana*; gri küf) marul üzerinde *Bremia lactucae* (tüylü küf); geniş yapraklı ağaçlar ve hep yeşil kalan bitkilerde *Ceratosist* (senk. *Ophiostoma*) spp. (çürüme ya da solgunluk), örneğin karaağaçta *C. ulmi* (Hollanda karaağaç hastalığı); mısır (ör., Gri yaprak lekesi: *C. zea-maydis*), pirinç, şeker pancarları (örneğin, *C. beticola*), şeker kamışı, sebzeler,
- 25 kahve, soya fasulyesi (örneğin, *C. soja* ya da *C. kikuchii*) ve pirinç üzerinde *Cercospora* spp. (*Cercospora* yaprak lekeleri); domatesler ve tahıllar üzerinde (örneğin, *C. fulvum*: yaprak kalıbı) *Cladosporium* spp., örneğin buğdayda *herbarum* (siyah kulak); tahıllar üzerinde *Claviceps purpurea* (çavdar mahmuzu); mısır (*C. carbonum*), tahıllar (örneğin, *C. sativus*, anamorf: *B. sorokiniana*) ve pirinç (örneğin, *C. miyabeanus*, anamorf: *H. oryzae*) üzerinde
- 30 *Cochliobolus* (anamorf: *Bipolaris Helminthosporium*) spp. (yaprak lekeleri); pamuk (örneğin, *C. gossypii*), mısır (örneğin, *C. graminicola*: Antraknoz sapı çürüklüğü), yumuşak meyveler, patatesler (örneğin, *C. kod kodları*: siyah nokta), fasulyeler (örneğin, *C. lindemuthianum*) ve soya fasulyesi (örneğin, *C. truncatum* ya da *C. gloeosporioides*) üzerinde *Colletotrichum* (teleomorf: *Glomerella*) spp. (antraknoz); *Corticium* spp., örneğin pirinçteki *C. sasakii* (kılıf
- 35 yanığı) pamuk (örneğin, *C. gossypii*), mısır (örneğin, *C. graminicola*: Antraknoz sapı çürüklüğü), yumuşak meyveler, patatesler (örneğin, *C. coccodes*: siyah nokta), fasulye

(örneğin, *C. lindemuthianum*) ve soya fasulyesi (örneğin, *C. truncatum* ya da *C. gloeosporioides*) üzerinde *Colletotrichum* (teleomorph: *Glomerella*) spp. (antraknoz); Soya fasülyeleri üzerinde *Dematophora* (teleomorph: *Rosellinia*) *necatrix* (kök ve dal çürümesi); *Diaporthe* spp., örneğin soya fasülyesi üzerinde *phaseolorum* (fide çökerten); mısırdaki ve arpa (örneğin, *D. teres*, net leke) ve buğday (ör. *D. tritici-repentis*: tan rengi nokta), pirinç gibi tahıllarda ve çimde *Drechslera* (syn. *Helminthosporium*, teleomorph: *Pyrenophora*) spp.; *Formitiporia* (syn. *Phellinus*) *punctata*, *F. mediterranea*, *Phaeomoniella chlamydospora* (erkenci *Phaeoacremonium chlamydosporum*), *Phaeoacremonium aleophilum* ve/veya *Botryosphaeria obtusa* sebebiyle asmalarındaki *Esca* (dieback, apoplexy); yumuşak çekirdekli meyveler (*E. pyri*), yumuşak meyveler (*E. veneta*: antraknoz) ve üzümler (*E. ampelina*: antraknoz) üzerinde *Elsinoe* spp.; Pirinç üzerinde *Entyloma oryzae* (yaprak lekesi); buğday üzerinde *Epicoccum* spp. (siyah küf); şeker pancarı (*E. betae*) ve kabakgiller (örneğin, *E. cichoracearum*), lahanalar, kolza (örneğin, *E. cruciferarum*) gibi sebzelerde (örneğin, *E. pisi*) *Erysiphe* spp. (külleme); meyve ağaçları, asmalar ve süs ağaçları üzerinde *Eutypa lata* (*Eutypa* canker ya da dieback, anamorf: *Cytosporina lata*, syn. *Libertella blepharis*); mısır üzerinde (örneğin *E. turcicum*) *Exserohilum* spp. (sen. *Helminthosporium*); çeşitli bitkilerde *Fusarium*(teleomorph: *Gibberella*) spp. (solgunluk, kök ya da gövde çürüklüğü), örneğin tahıllar üzerinde (örneğin buğday ya da arpa) *F. graminearum* ya da *F. culmorum* (kök çürüklüğü, kabuk ya da baş yanıklığı), domateslerde *F. oxysporum* *F. solani* (f. Sp. Glisinler şimdi syn. *F. virguliforme*) ve *F. tucumaniae* ve *F. brasiliense*, her biri soya fasulyelerinde ani ölüm sendromuna ve mısırdaki *F. verticillioides*'e neden olur; tahıllar (ör. buğday ya da arpa) ve mısır üzerinde *Gaeumannomyces graminis* (hepsini al); tahıllar (örneğin, *G. zeae*) ve pirinç (örneğin, *G. fujikuroi*: Bakanae hastalığı) üzerinde *Gibberella* spp.; üzüm, çekirdekli meyveler ve diğer bitkiler üzerinde *Glomerella cingulata* ve pamuk üzerinde *G. gossypii*; pirinç üzerinde Grainstaining kompleksi; şarapların üzerindeki *Guignardia bidwellii* (siyah çürüklük) gül bitkileri ve ardıçlar üzerinde *Gymnosporangium* spp., örneğin armutlarda *G. sabinae* (pas) mısır, tahıllar ve pirinçte üzerinde *Helminthosporium* spp. (syn. *Drechslera*, teleomorf: *Cochliobolus*) ; *Hemileia* spp., örneğin kahve üzerinde *H. vastatrix* (kahve yaprağı pası); asmalarındaki *Isariopsis clavispora* (syn. *Cladosporium vitis*); soya fasulyesi ve pamukta *Makrofomina phaseolina* (syn. *Phaseoli*) (kök ve gövde çürüklüğü); tahıllarda (örneğin, buğday ya da arpa) *Microdochium* (senk. *Fusarium*) *nivale* (pembe kar küf); soya fasulyesi üzerinde *Microsphaera diffusa* (külleme); çekirdekli meyveler ve diğer gül bitkilerinde *Monilinia* spp., örneğin *M. laxa*, *M. fructicola* ve *M. fructigena* (çiçek ve dal yanıklığı, kahverengi çürüklük); tahıllar, muzlar, yumuşak meyveler ve yer fıstığı üzerinde *Mycosphaerella* spp., örneğin buğdayda *M. graminicola* (anamorf: *Septoria tritici*, *Septoria leke*) ya da muzda *M. fijiensis* (siyah Sigatoka hastalığı); lahana (örneğin *P. brassicae*), kolza (örneğin, *P. parasitica*), soğan (örneğin, *P. yıkıcı*), tütün (*P. tabacina*) ve soya fasulyesi (örneğin, *P. manshurica*) üzerinde

Peronospora spp. (tüylü küf); soya fasulyesi üzerinde Phakopsora pachyrhizi ve P. meibomiae (soya pası); şarap (örneğin P. tracheiphila ve P. tetraspora) ve soya fasulyesi (P. gregata: kök çürüklüğü) üzerinde Phialophora spp.; kolza ve lahanada Phoma lingam (kök ve kök çürüklüğü) ve şeker pancarı üzerinde P. betae (kök çürüklüğü, yaprak lekesi ve 5 sönümlenmesi); ayçiçeklerinde, üzümelerde (örneğin, P. viticola: can ve yaprak lekesi) ve soya fasulyesinde (örneğin, kök çürüklüğü: P. phaseoli, teleomorph: Diaporthe phaseolorum) Phomopsis spp.; mısırdaki Physoderma maydis (kahverengi lekeler); kırmızı biber ve kabakgiller (örneğin, P. capsici), soya fasulyesi (örneğin, P. megasperma, syn. P. sojae), patatesler ve domatesler (örneğin, P. infestans: geç yanma) ve geniş yapraklı ağaçlar (örneğin, P. ramorum: 10 ani meşe ölümü) gibi çeşitli bitkilerde Phytophthora spp. (solgunluk, kök, yaprak, meyve ve gövde çürümesi); lahana, kolza, turp ve diğer bitkiler üzerinde Plasmodiophora brassicae (club kök); asmalar üzerinde Plasmopara spp., örneğin P. vinicola (üzümlü tüylü küf) ve ayçiçeği üzerinde P. halstedii; gül bitkileri, şerbetçi otu, elma ve yumuşak meyvelerde Podosphaera spp. (külleme), örneğin elmalarda P. leucotricha; örneğin arpa ve buğday (P. graminis) gibi 15 tahıllarda Polymyxa spp. ve şeker pancarları (P. beta) ve böylece bulaşan viral hastalıklar; tahıllar üzerinde, örneğin buğday ya da arpa üzerinde Pseudocercospora herpotrichoides (göz beneği, teleomorf: Tapesia yallundae); Çeşitli bitkilerde Pseudoperonospora (tüylü küf), örneğin Kabakgiller üzerindeki P. cubensis ya da şerbetçi otundaki P. humili; üzüm üzerinde Pseudopeziza tracheiphila (kırmızı ateş hastalığı ya da çürük 'anamorf: Phialophora); çeşitli bitkilerde Puccinia spp. (küfler) örneğin P. tritici (kahverengi ya da yaprak pas), P. striiformis (şerit ya da sarı pas), P. hordei (cüce pas), P. graminis (kök ya da siyah pas) ya da buğday, arpa ya da çavdar gibi tahıllarda P. recondita (kahverengi ya da yaprak pası), şeker kamışı üzerinde P. kuehnii (turuncu pas) ve kuşkonmazda P. asparagi; buğdayda Pyrenophora (anamorf: Drechslera) tritici-repentis (tan 25 spot) ya da arpada P. teres (net pas); pirinç üzerinde Pyricularia spp., E. g. P. oryzae (teleomorph: Magnaporthe grisea, pirinç patlaması) ve çim ve tahıllar üzerinde P. grisea; çim, pirinç, mısır, buğday, pamuk, kolza, ayçiçeği, soya fasulyesi, şeker pancarı, sebze ve diğer çeşitli bitkiler (örneğin P. ultimum ya da P. aphanidermatum) üzerinde Pythium spp. (fideçökerten); arpa üzerinde Ramularia spp., örneğin R. collo-cygni (Ramularia yaprak 30 lekeleri, Fizyolojik yaprak lekeleri) ve şeker pancarı üzerinde R. beticola: pamuk, pirinç, patates, çim, mısır, kolza, patates, şeker pancarı, sebze ve diğer çeşitli bitkilerde Rhizoctonia spp, örneğin soya fasulyesi üzerinde R. solani (kök ve gövde çürüklüğü), pirinçte R. solani (kılıf yanıklığı) ya da buğday ya da arpa üzerindeki R. cerealis (Rhizoctonia spring blight); çilek, havuç, lahana, üzüm ve domatesler üzerinde Rhizopus stolonifer (siyah küf, yumuşak 35 çürüklük) Arpa, çavdar ve tritikale üzerinde Rhynchosporium secalis (haşlanma); pirinçte Sarocladium oryzae ve S. attenuatum (kın çürümesi); kolza, ayçiçeği (örneğin, S. sclerotiorum) ve soya fasulyesi (örneğin, S. rolfsii ya da S. sclerotiorum) gibi sebze ve tarla bitkilerinde

Sclerotinia spp. (gövde çürüklüğü ya da beyaz küf); çeşitli bitkilerde Septoria spp., örneğin soya fasulyesinde *S. glycines* (kahverengi nokta), buğdayda *S. tritici* (Septoria leke) ve tahıllar üzerinde *S. (syn. Stagonospora) nodorum* (Stagonospora leke); üzümelerde *Uncinula (syn. Erysiphe) necator* (külleme, anamorf: *Oidium tuckeri*); mısır (örneğin, *S. turcicum*, syn. 5 *Helminthosporium turcicum*) ve çim üzerinde *Setosphaeria* spp. (yaprak yanıklığı); mısır, (örneğin, *S. reiliana*: kafa lekesi), sorgum ve şeker kamışı üzerinde *Sphacelotheca* spp. (is); Kabakgillerde *Sphaerotheca fuliginea* (külleme); patateslerde *Spongospora subterranea* (tozlu kabuk) ve böylece bulaştırılan viral hastalıklar; tahıllarda *Stagonospora* spp., örneğin buğdayda *S. Nodorum* (Stagonospora leke, teleomorf: *Leptosphaeria [syn. Phaeosphaeria]* 10 *nodorum*); patateslerde *Synchytrium endobioticum* (patates siğili hastalığı); *Taphrina* spp., örneğin şeftalilerde *T. deformans* (yaprak kıvrılması hastalığı) ve eriklerde *T. pruni* (erik cebi); tütün, nar meyveleri, sebzeler, soya fasulyesi ve pamukta *Thielaviopsis* spp. (siyah kök çürüklüğü), örneğin *T. basicola (syn. Chalara elegans)*; tahıllar üzerinde *Tilletia* spp. (ortak bunt ya da kokuşmuş kurum), örneğin buğday üzerinde örneğin *T. tritici (syn. T. çürüğü,* 15 *buğday bunt)* ve *T. controversa* (cüce bunt); arpa ya da buğday üzerinde *Typhula incarnata* (gri kar kalıbı); çavdar üzerinde *Urocystis* spp., örneğin *U. occulta* (kök lekesi); fasulyeler (örneğin, *U. apendiculatus*, syn. *U. phaseoli*) ve şeker pancarları (örneğin, *U. betae*) gibi sebzeler üzerinde *Uramices* spp. (pas); tahıllar (örneğin, *U. nuda* ve *U. avenae*), mısır (örneğin, *U. maydis*: mısır lekesi) ve şeker kamışı üzerinde *Ustilago* spp. (gevşek smut) ; elma 20 (örneğin *V. inaequalis*) ve armutlar üzerinde *Venturia* spp (kabuk); ve meyve ve süs bitkileri, asmalar, yumuşak meyveler, sebzeler ve tarla bitkileri gibi çeşitli bitkiler üzerinde *Verticillium* spp. (solma), örneğin çilek, kolza, patates ve domates üzerinde *V. dahliae*.

Suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar ayrıca saklanan ürünlerin ya da hasatın korunmasında 25 ve malzemelerin korunmasında zararlı patojenlerin, özellikle mantarların kontrol edilmesi için uygundur.

«Materyallerin korunması» terimi ile yapıştırıcılar, ahşap, kağıt ve karton, tekstil, deri, boya dispersiyonları, plastikler, soğutma lubrikanları, elyaf ya da kumaşlar gibi teknik ve cansız maddelerin mantar ve bakteri gibi zararlı mikroorganizmaların istila ve tahribata karşı 30 korunmasını belirttiği anlaşılmaktadır. Tahta ve diğer materyallerin korunmasına ilişkin olarak, aşağıdaki zararlı mantarlara özellikle dikkat edilmektedir: *Ophiostoma* spp., *Ceratocystis* spp., *Aureobasidium pullulans*, *Sclerophoma* spp., *Chaetomium* spp., *Humicola* spp., *Petriella* spp., *Trichurus* spp. gibi zararlı mantarlar; *Coniophora* spp., *Coriolus* spp., *Gloeophyllum*spp., *Lentinus* spp., *Pleurotus* spp., *Poria* spp., *Serpula* spp. ve *Tyromyces* spp. gibi basidiomisetler, 35 *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Trichorma* spp., *Alternaria* spp., *Paecilomyces* spp. gibi dötero mantarlar ve *Mucor* spp. gibi zigomantarlar; ve ek olarak

depolanan saklanan ürünlerin korunmasında ve hasat edilmesinde aşağıdaki maya mantarları dikkate değerdir: *Candida spp.* ve *Saccharomyces cerevisiae*.

Buluşa göre olan muamele yöntemi ayrıca depolanmış ürünlerin ya da hasadın mantar ve mikroorganizma saldırılarına karşı korunması alanında da kullanılabilir. Mevcut buluşa göre, «saklanmış ürün» terimi doğal yaşam döngüsünden alınmış ve uzun süreli korumanın istendiği doğal bitki ya da hayvansal kökenli maddeler ve bunların işlenmiş formları anlamına gelmektedir. Bitkiler ya da onların parçaları gibi kültür bitkilerinin depolanmış ürünleri, örneğin saplar, yapraklar, yumrular, tohumlar, meyveler ya da taneler, taze hasat edilmiş halde ya da önceden kurutulmuş, nemlendirilmiş, öğütülmüş, öğütülmüş, preslenmiş ya da kavrulmuş gibi işlenmiş formda korunabilir, ki bu işlem, hasat sonrası muamele olarak da bilinmektedir. Ayrıca depolanan ürünler tanımının altında ister elektrik direkleri ve bariyerleri gibi ham kereste ya da ister mobilya ya da ahşaptan yapılan nesneler gibi bitmiş ürünler şeklinde olsun kereste yer almaktadır. Depolanan hayvansal kökenli ürünler deri, kürk, tüy ve benzerleridir. Mevcut buluşa göre olan kombinasyonlar, çürüme, renk değişikliği ya da küf gibi dezavantajlı etkileri önleyebilir. Tercih edilen şekliyle depolanan ürünler terimi ile bitkisel kökenli doğal maddeler ve bunların işlenmiş formları, daha çok tercih edilen şekliyle meyveler ve örneğin, çekirdekli meyveler, yumuşak meyveler ve turunçgiller gibi işlenmiş formları ve bunların işlenmiş formları anlaşılmalıdır.

Suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar sırasıyla bitki sağlığını geliştirmek için kullanılabilirler. Buluş ayrıca, etkili miktarda suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'in bileşikleri ve kompozisyonlar ile bir bitki, çoğalma materyali ve/veya bitkinin büyüdüğü ya da büyüyeceği yeri işleme tabi tutarak bitki sağlığını geliştirmek için bir yöntemle de ilgilidir.

"Bitki sağlığı" terimi, bitkinin ve/veya bitki ürünlerinin tek başına ya da birbirleriyle kombinasyon halinde verim (örneğin, arttırılmış biyokütle ve/veya değerli bileşenlerin içeriğinin artması), bitki canlılığı (örneğin, geliştirilmiş bitki büyümesi ve/veya daha yeşil yapraklar ("yeşillendirme etkisi")), kalite (örneğin geliştirilmiş içerik ya da belirli bileşenlerin bileşimi) ve abiyotik ve/veya biyotik strese tolerans gibi çeşitli göstergelerle belirlenen bir durumdur. Bir bitkinin sağlık durumu için yukarıda belirtilen göstergeler birbirine bağlı olabilir ya da birbirlerinden kaynaklanabilir.

Daha sağlıklı bitkiler, diğerleri arasında, daha iyi verim ve/veya daha iyi bitki ve mahsul kalitesi, özellikle de hasat edilen bitki kısımlarının daha iyi kalitesi ile sonuçlandığı için arzu edilmektedir. Daha sağlıklı bitkiler ayrıca biyotik ve/veya abiyotik strese daha iyi direnç göstermektedir. Biyotik streslere karşı yüksek bir direnç, teknikte uzman kişinin, uygulanan

pestisit miktarını azaltmasını ve sonuç olarak, ilgili pestisitlere karşı direnç gelişimini yavaşlatmasını sağlamaktadır.

Burada vurgulanması gerekmektedir ki, suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül I'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonların yukarıda belirtilen etkileri, yani bitkinin artan sağlığı, ayrıca bitki biyotik stres altında değilken ve özellikle bitki haşere baskısı altında olmadığı zaman da mevcudiyetini sürdürmektedir.

Örneğin, tohum işleme ve toprak uygulamaları için bariz bir biçimde görülmektedir ki, mantar ya da insektisidal saldırıdan muzdarip bir bitki, azalmış bir çimlenme ve yüzeye çıkış sergilemektedir ve bu da zayıf bir bitki ve mahsul gelişimine ve bu da ilgili zararlılara karşı iyileştirici ya da önleyici tedaviye tabi tutulmuş ve biyotik stres faktörünün neden olduğu zarar olmadan büyüeyebilen bir bitki çoğalma materyaline kıyasla daha düşük bir verime sebebiyet vermektedir. Bununla birlikte, buluşa göre olan yöntemler, herhangi bir biyotik stresin yokluğunda bile gelişmiş bir bitki sağlığı sağlamaktadır. Bu, sırasıyla suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül I'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonların pozitif etkisinin sadece suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül I'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonların pestisidal faaaliyeti ile açıklanamayacağı, ayrıca söz konusu pozitif etkilerin daha fazla aktivite profiline de dayandığını göstermektedir. Buna göre suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül I'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonların sırasıyla uygulanması da haşere baskısı yokluğunda gerçekleştirilebilir.

Eşit oranda tercih edilen bir düzenlemede mevcut buluş, sözü edilen bitki üretim materyalinden yetiştirilen bitkilerin sağlığını geliştirmek için bir yöntemle ilgili olup, burada bitki üreme materyali, etkili bir miktarda en az bir suş, bütün kültür besiyeri, hücre içermeyen ekstrakt, kültür ortamı, formül I bileşiği ya da buluşa ait bir kompozisyon ile işlenmektedir.

Verim, bitki gücü, bitkinin abiyotik ve/veya biyotik strese toleransı, bitkisinin canlılığı, kalitesi ve toleransı içeren gruplardan seçilen aşağıda sıralanan her bir bitki sağlığı göstergesi, her biri kendi başına ya da tercih edilen şekliyle birbiriyle kombinasyon halinde olmak üzere mevcut buluşun tercih edilen bir uygulaması olarak anlaşılmalıdır.

Mevcut buluşa göre, bir bitkinin «artan verimi», aynı koşullar altında, ancak sırasıyla suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül I'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar uygulanmadan yetiştirilen bir bitkinin verimine kıyasla ilgili bitkinin bir ürününün veriminin ölçülebilir bir miktarda artması anlamına gelmektedir.

Tohum muamelesi için, örneğin aşılavıcı ve/veya yapraklı uygulama formları olarak, artan verim, diğerleri arasında bitkinin aşağıdaki gelişmiş özellikleri ile karakterize edilebilir: artan bitki ağırlığı; ve/veya artan bitki boyu; ve/veya daha yüksek toplam taze ağırlık (FW) gibi

arttırılmış biyokütle; ve/veya bitki başına artan çiçek sayısı; ve/veya daha yüksek tahıl ve/veya meyve verimi; ve/veya daha fazla eğici ya da yan sürgünler (dallar); ve/veya daha büyük yapraklar; ve/veya artan sürgün büyümesi; ve/veya arttırılmış protein içeriği; ve/veya arttırılmış yağ içeriği; ve/veya arttırılmış nişasta içeriği; ve/veya arttırılmış pigment içeriği; ve/veya artan klorofil içeriği (klorofil içeriği, bitkinin fotosentez hızı ile pozitif bir korelasyon gösterir ve buna göre, klorofil içeriği ne kadar yüksek olursa, bitkinin verimi de o kadar yüksek olur) ve/veya artan bitki kalitesi.

"Tahıl" ve "meyve", hasattan sonra da kullanılan herhangi bir bitki ürünü olarak anlaşılmalıdır, örneğin uygun anlamda meyveler, sebzeler, kuruyemişler, tahıllar, tohumlar, odun (örneğin, silvikültür bitkileri durumunda), çiçekler (örneğin bahçe bitkileri, süs bitkileri durumunda) v.b. yani bitki tarafından üretilen ve ekonomik değeri olan herhangi bir şeydir.

Mevcut buluşa göre verim en az % 4 oranında artmıştır. Genel olarak, verim artışı daha da yüksek olabilir, örneğin % 5 ila 10, daha tercih edilen şekliyle % 10 ila 20, hatta % 20 ila 30

Mevcut buluşa göre verim -haşere baskısı yokluğunda ölçüldüğünde en az % 2 oranında artmıştır. Genel olarak, verim artışı daha da yüksek olabilir, örneğin % 4 ila % 5 oranında ya da hatta daha da yüksek bir oranda.

Bitkinin durumu için bir başka gösterge bitkinin canlılığıdır. Bitki canlılığı, bitkinin genel görünümünü gibi çeşitli yönlerde kendini göstermektedir.

Yaprak uygulamaları için, iyileştirilmiş bitki canlılığı, diğerleri arasında bitkinin aşağıdaki gelişmiş özellikleri ile de tanımlanabilir: bitkinin canlılığında iyileşme; ve/veya geliştirilmiş bitki büyümesi; ve/veya iyileştirilmiş bitki gelişimi; ve/veya geliştirilmiş görünüm; ve/veya geliştirilmiş bitki duruşu (daha az yatma ve/veya daha büyük yaprak bıçağı; ve/veya daha büyük boyut ve/veya artan bitki boyu ve/veya artan yeke sayısı; ve/veya arttırılmış yan filiz sayısı; ve/veya bitki başına artan çiçek sayısı; ve/veya artan sürgün büyümesi; ve/veya arttırılmış fotosentetik aktivite (örneğin, artan stoma iletkenliği ve/veya artan CO₂ asimilasyon oranına bağlı olarak)); ve/veya daha erken çiçeklenme; ve/veya daha erken meyveler; ve/veya daha erken tahıl olgunluğu; ve/veya daha az üretken olmayan eğiciler; ve/veya daha az ölü bazal yaprakları; ve/veya daha az girdi ihtiyacı (gübreler ya da su gibi); ve/veya daha yeşil yapraklar; ve/veya daha kısa vejetasyon dönemlerinde tam olgunlaşma; ve/veya daha kolay hasat; ve/veya daha hızlı ve daha muntazam olgunlaşma; ve/veya daha uzun raf ömrü; ve/veya daha uzun salkımlar; ve/veya yaşlanma gecikmesi; ve/veya daha güçlü ve/veya daha verimli üretken kök filizleri; ve/veya bileşenlerin daha iyi ekstrakte edilebilirliği; ve/veya iyileştirilmiş tohum kalitesi (sonraki üretim mevsimlerinde tohum üretimi için tohumlanmış); ve/veya azaltılmış etilen üretimi ve/veya bitki tarafından alımının engellenmesi.

Bitkinin durumu için bir başka gösterge, bitkinin ve/veya ürünlerinin "kalitesidir». Mevcut buluşa göre geliştirilmiş kalite, suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar uygulanmadan aynı şartlar altında büyütülen bir bitkiye kıyasla belirli bileşenlerin içeriği ya da bileşimi gibi belirli bitki özelliklerinin ölçülebilir ya da gözle görülür miktarda artması ya da iyileşmesi anlamına gelmektedir. Gelişmiş kalite diğerlerinin yanı sıra bitkinin ya da ürününün gelişmiş özelliklerini izleyerek de karakterize edilebilir: artan besin içeriği; ve/veya arttırılmış protein içeriği; ve/veya arttırılmış yağ içeriği; ve/veya arttırılmış nişasta içeriği; ve/veya artmış yağ asidi içeriği; ve/veya artan metabolit içeriği; ve/veya arttırılmış karotenoid içeriği; ve/veya arttırılmış şeker içeriği; ve/veya arttırılmış miktarda esansiyel amino asitler; ve/veya geliştirilmiş besin bileşimi; ve/veya geliştirilmiş protein bileşimi; ve/veya geliştirilmiş yağ asitleri bileşimi; ve/veya geliştirilmiş metabolit kompozisyonu; ve/veya geliştirilmiş karotenoid bileşimi; ve/veya geliştirilmiş şeker bileşimi; ve/veya geliştirilmiş amino asit kompozisyonu; ve/veya geliştirilmiş ya da optimal meyve rengi; ve/veya geliştirilmiş yaprak rengi; ve/veya daha yüksek depolama kapasitesi; ve/veya hasat edilen ürünlerin daha iyi işlenebilirliği.

Bitkinin durumu için bir başka gösterge bitkinin biyotik ve/veya abiyotik stres faktörlerine toleransı ya da direncidir. Biyotik ve abiyotik stres, özellikle de uzun vadede bitkiler üzerinde zararlı etkilere neden olabilir.

Biyotik strese canlı organizmalar neden olurken, abiyotik stres örneğin çevresel ekstrem özelliklerden kaynaklanmaktadır. Mevcut buluşa göre, "biyotik ve/veya abiyotik stres faktörlerine karşı geliştirilmiş tolerans ya da direnç" şu anlamlara gelmektedir: (1.) aynı şartlara maruz kalan ancak sırasıyla suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar ile işleme tabi tutulmayan bitkilere kıyasla biyotik ve/veya abiyotik stresin neden olduğu bazı olumsuz faktörler ölçülebilir ya da gözle görülür miktarda azalmaktadır, ve (2.) negatif etkilerin, suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonların stresi etkileyen faktörlerin doğrudan etkisiyle azalmaması, örneğin mikroorganizmaları ya da zararlı böcekleri doğrudan tahrip eden mantar öldürücü ya da böcek öldürücü etkisi yerine bitkilerin, bahsedilen stres faktörlerine karşı kendi savunma tepkimelerini teşvik ederek.

Patojenler ve haşereler gibi biyotik stresin neden olduğu negatif faktörler yaygın olarak bilinmektedir ve rakip bitkiler (örneğin yabancı otlar), mikroorganizmalar (fitopatojenik mantarlar ve/veya bakteriler gibi) gibi canlı organizmalardan ve/veya virüslerden kaynaklanmaktadır.

Abiyotik stresin neden olduğu negatif faktörler de iyi bilinmektedir ve örneğin, bitki canlılığının azalması şeklinde gözlenebilir (yukarıya bakınız), örneğin:

daha az verim ve/veya daha az canlılık, her iki etki için de örnekler yanmış yapraklar, daha az çiçek, erken olgunlaşma, daha sonra mahsul olgunluğu ve diğerlerinin yanı sıra düşük besin değeridir.

Örneğin sıcak ya da soğuk gibi sıcaklıktaki aşırı uçlar (sıcaklık stresi / soğuk stresi); ve/veya sıcaklıktaki güçlü değişimler; ve/veya belirli mevsim için olağandışı sıcaklıklar; ve/veya kuraklık (kuraklık stresi); ve/veya aşırı ıslaklık; ve/veya yüksek tuzluluk derecesi (tuz stresi);ve/veya radyasyon (örneğin, azalan ozon tabakasına bağlı olarak artan UV radyasyonu); ve/veya artan ozon seviyeleri (ozon stresi); ve/veya organik kirlilik (örneğin fitotoksik miktarda pestisit); ve/veya inorganik kirlilik (örneğin ağır metal kirleticiler tarafından) abiyotik strese neden olabilir.

Biyotik ve/veya abiyotik stres faktörlerinin bir sonucu olarak, stres altındaki bitkilerin miktarı ve kalitesi düşmektedir. Kalite (yukarıda tanımlandığı şekilde) söz konusu olduğunda, üreme gelişimi genellikle meyveler ya da tohumlar için önemli olan mahsuller üzerindeki sonuçlardan ciddi şekilde etkilenmektedir. Proteinlerin sentezi, birikmesi ve depolanması çoğunlukla sıcaklıktan etkilenmektedir; büyüme neredeyse tüm stres tiplerinde yavaşlar; hem yapısal hem de depolama açısından polisakarit sentezi indirgenir ya da değiştirilir: bu etkiler biyokütlede (verimde) ve ürünün besin değerinde değişikliklere neden olur.

Yukarıda da belirtildiği gibi, bir bitkinin sağlık durumu için yukarıda belirtilen göstergeler birbirine bağlı olabilir ve birbirlerinden kaynaklanabilir. Örneğin, biyotik ve/veya abiyotik strese karşı artan bir direnç, daha iyi bir bitki canlılığına yol açabilir, örn. g. daha iyi ve daha büyük mahsullere ve böylece artan bir verime yol açabilir. Tersine, daha gelişmiş bir kök sistemi, biyotik ve/veya abiyotik strese karşı artan bir dirençle sonuçlanabilir. Bununla birlikte, bu karşılıklı bağımlılıklar ve etkileşimler ne tamamen bilinmemektedir ne de tam olarak anlaşılmamıştır ve dolayısıyla farklı göstergeler ayrı ayrı tanımlanmaktadır.

Bir düzenlemede, suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar sırasıyla bir bitkinin ya da ürününün veriminin artmasını sağlamaktadır. Bir başka düzenlemede, suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar sırasıyla bir bitkinin ya da ürününün canlılığının artmasını sağlamaktadır. Bir başka düzenlemede, suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar sırasıyla bir bitkinin ya da ürününün biyotik strese karşı toleransının ve/veya direncinin artmasını sağlamaktadır. Yine bir başka düzenlemede, suşlar, bütün kültür

besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar sırasıyla bir bitkinin ya da ürününün abiyotik strese karşı toleransının ve/veya direncinin artmasını sağlamaktadır.

5 Suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı ve formül l'e ait bileşikler sırasıyla fungisidal olarak etkin miktarda aktif madde ile mantar saldırısından korunacak bitkileri, tohum, toprak, yüzey, malzeme ya da oda gibi bitki üretim materyallerini işleme tabi tutarak, olduğu gibi ya da kompozisyonlar şeklinde kullanılabilir. Uygulama, bitkilerin, tohumlar gibi bitki üreme materyallerinin, toprağın, yüzeylerin, malzemelerin ya da odaların mantarlar tarafından enfekte edilmesinden önce ve sonra gerçekleştirilebilir.

10 «Etkili miktar» terimi yetiştirilen bitkiler üzerindeki zararlı mantarları kontrol etmek için ve materyallerin korunması için yeterli olan ve tedavi edilen bitkiye zarar vermeyen bir miktara karşılık gelmektedir. Böyle bir miktar geniş bir aralıkta değişebilir ve kontrol edilecek mantar türleri, işlenmiş ekili bitki ya da materyal, iklim koşulları ve sırasıyla kullanılan suşlar, bütün kültür besiyeri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı ve formül l'in bileşikleri ya da bunların
15 tuzları gibi çeşitli faktörlere bağlıdır.

Bitki üreme materyalleri sırasıyla suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar ile, profilaktik olarak ekimden önce ya da ekimden sonra işleme tabi tutulabilirler.

Buluşun suşları, bir bitki için bir aşılama olarak formüle edilebilir. «Aşılama» terimi, buluşun izole edilmiş bir suşunu ve isteğe bağlı olarak biyolojik olarak kabul edilebilir bir ortamı içerebilen bir taşıyıcı içeren bir kompozisyon anlamına gelmektedir.

Bu gibi aşılama ve diğer uygun kompozisyonlar etken maddelerin yanı sıra en az bir yardımcı maddeyi (inert içerik maddesi) olağan yollarla içeren kompozisyonlar olarak hazırlanabilir (bakınız örneğin H.D. Burges: Formulation of Microbial Biopesticides, Springer,
25 1998).

Kuru bir formülasyon üretmek için bakteri hücreleri, tercih edilen şekliyle sporlar uygun bir kuru taşıyıcıda (örneğin kil) süspanse edilebilirler. Sıvı bir formülasyon üretmek için hücreler, tercih edilen şekliyle de sporlar, uygun bir sıvı taşıyıcıda (örneğin su bazlı) istenen spor yoğunluğu elde edilene dek tekrar süspanse edilebilirler. MI başına sporların spor yoğunluğu sayısı, agar
30 besiyerinde koloni oluşturan birimlerin (CFU) sayısı tanımlanarak belirlenebilir, örneğin birkaç gün boyunca yaklaşık 20 ila yaklaşık 30 °C sıcaklıkta inkübasyondan sonra patates dek stroz agarı.

Bir düzenlemeye göre, bir kitin parçaları ya da ikili ya da üçlü karışımın parçaları gibi buluşa göre kompozisyonunun münferit bileşenleri kullanıcının kendisi tarafından bir püskürtme
35 tankında ya da uygulamalar için kullanılan başka bir kaptan (örn. tohum işleme davulları, tohum

peletleme makineleri, sırt çantası püskürtücü) karıştırılabilir ve uygun olması halinde ilave yardımcı maddeler eklenebilir. Buluşun *Paenibacillus* suşları gibi canlı mikroorganizmalar bu kitin bir parçasını oluşturduğunda, kitin diğer parçalarının (örneğin, kimyasal böcek öldürücü ajanlar) ve diğer yardımcı maddelerin seçiminin ve miktarlarının, kullanıcının karıştırdığı kompozisyondaki mikrobiyal pestisitlerin canlılığını etkilememesine dikkat edilmelidir. Özellikle bakterisitler ve çözücüler için, ilgili mikrobiyal pestisitler ile uyumluluk dikkate alınmalıdır.

Suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı ve/veya buluşun formülünün bileşikleri geleneksel tipte agrokimyasal kompozisyonlara, örneğin çözeltiler, emülsiyonlar, süspansiyonlar, tozlar, macunlar, granüller, presler, kapsüller ve bunların karışımlarına dönüştürülebilir. Kompozisyon türlerine örnekler süspansiyonlar (örneğin SC, OD, FS), emülsifiye edilebilir konsantreler (örneğin, EC), emülsiyonlar (örneğin, EW, EO, ES, ME), kapsüller (örneğin CS, ZC), macunlar, pastiller, ıslanabilir tozlar (örneğin WP, SP, WS, DP, DS), basılmışlar (örneğin BR, TB, DT), granüller (örneğin WG, SG, GR, FG, GG, MG), böcek öldürücü maddeler (örneğin LN) ve yanı sıra tohumlar gibi bitki yayılma malzemelerinin işlenmesi için jel formülasyonlarıdır (örneğin GF). Bu ve diğer kompozisyon tipleri «Pestisid formülasyon tipleri ve uluslararası kodlama sistemi kataloğu», Teknik Monograf No. 2, 6. Baskı Mayıs 2008, CropLife International'da tanımlanmaktadır.

Kompozisyonlar bilinen bir şekilde, örneğin Mollet and Grubemann, *Formulation technology*, Wiley VCH, Weinheim, 2001; ya da Knowles, *New developments in crop protection product formulation*, Agrow Reports DS243, T&F Informa, London, 2005 tarafından tarif edildiği gibi hazırlanmaktadır.

Uygun yardımcı maddeler solventler, sıvı taşıyıcılar, katı taşıyıcılar ya da dolgu maddeleri, yüzey aktif maddeleri, dağıtıcılar, emülgatörler, ıslatıcılar, adjuvanlar, çözüldürücüler, penetrasyon artırıcılar, koruyucu kolloidler, yapışma ajanları, koyulaştırıcılar, nemlendiriciler, kovucular, çekiciler, besleme uyarıcıları, bağdaştırıcılar, bakterisitler, donma önleyici maddeler, köpüklenme önleyici maddeler, renklendiriciler, yapışkanlaştırıcılar ve bağlayıcılardır.

Uygun çözücüler ve sıvı taşıyıcılar orta ila yüksek kaynama noktasına sahip mineral yağ fraksiyonları gibi su ve organik çözücüler, örneğin kerosen, dizel; bitkisel ya da hayvansal kaynaklı yağlar; alifatik, siklik ve aromatik hidrokarbonlar, örneğin toluen, parafin, tetrahidronaftalen, alkillenmiş naftalenler; alkoller, örneğin etanol, propanol, butanol, benzilalkol, sikloheksanol; glikoller; DMSO; ketonlar, örneğin sikloheksanon; esterler, örneğin laktatlar, karbonatlar, yağ asidi esterleri, gama-butirolakton; yağ asitleri; fosfonatlar; aminler; amitler, örneğin N-metilpirrolidon, yağ asidi dimetilamidleri; ve bunların karışımlarıdır.

Uygun katı taşıyıcılar ya da dolgu maddelerine örnekler arasında mineral toprakları, örneğin silikatlar, silika jeller, talk, kaolinler, kireçtaşı, kireç, tebeşir, killeri, dolomit, iki atomlu toprak, bentonit, kalsiyum sülfat, magnezyum sülfat, magnezyum oksit; polisakkaritler örneğin selüloz, nişasta; gübreler, örneğin amonyum sülfat, amonyum fosfat, amonyum nitrat, üre; bitkisel kökenli ürünler, örneğin tahıl unu, ağaç kabuğu unu, odun unu, fındık kabuğu unu ve bunların karışımları yer almaktadır.

Uygun yüzey aktif maddeler anyonik, katyonik, iyonik olmayan ve amfoterik yüzey aktif maddeler, blok polimerler, polielektrolitler ve bunların karışımları gibi yüzey aktif bileşiklerdir. Bu gibi yüzey aktif maddeler, emülgatör, dağıtıcı, çözündürücü, ıslatıcı, penetrasyon artırıcı, koruyucu kolloit ya da adjuvan olarak kullanılabilir. Yüzey aktif maddelere örnekler McCutcheon's, Vol.1: Emulsifiers & Detergents, McCutcheon's Directories, Glen Rock, USA, 2008'de (International Ed. or North American Ed.) listelenmektedir.

Uygun anyonik yüzey aktif maddeleri, alkali, alkalın toprak ya da sülfonatların amonyum tuzları, sülfatlar, fosfatlar, karboksilatlar ve bunların karışımlarıdır. Sülfonatlara örnekler alkilarsülfonatlar, difenilsülfonatlar, alfa-olefin sülfonatlar, lignin sülfonatlar, yağ asitlerinin ve yağlarının sülfonatları, etoksile edilmiş alkilfenollerin sülfonatları, alkoksilatlanmış arilfenollerin sülfonatları, yoğunlaştırılmış naftalenlerin sülfonatları, dodesil ve tridesilbenzenlerin sülfonatları, naftalenlerin ve alkilnaftalenlerin sülfonatları, sülfosüksinatlar ya da sülfosüksinamatlardır. Sülfatların örnekleri, yağ asitlerinin ve yağlarının, etoksile edilmiş alkilfenollerin, alkollerin, etoksile edilmiş alkollerin ya da yağ asidi esterlerinin sülfatlarıdır. Fosfat örnekleri fosfat esterlerdir. Karboksilat örnekleri alkil karboksilatlar ve karboksilatlı alkol ya da alkilfenol etoksilatlarıdır.

Uygun iyonik olmayan yüzey aktif maddeleri, alkoksilatlar, N-ikame edilmiş yağ asidi amidleri, amin oksitler, esterler, şeker bazlı yüzey aktif maddeler, polimerik yüzey aktif maddeler ve bunların karışımlarıdır. Alkoksilatların örnekleri, alkoller, alkilfenoller, aminler, amitler, arilfenoller, yağ asitleri ya da 1 ila 50 eşdeğer ile alkoksilatlanmış yağ asidi esterleri gibi bileşiklerdir. Alkoksilasyon için etilen oksit ve/veya propilen oksit, tercih edilen şekliyle etilen oksit kullanılabilir. N-ikameli yağ asidi amitlerinin örnekleri, yağ asidi glukamitleri ya da yağ asidi alkanolamitleridir. Esterlere örnekler, yağ asidi esterleri, gliserol esterleri ya da monogliseritlerdir. Şeker bazlı yüzey aktif maddelerin örnekleri sorbitanlar, etoksillenmiş sorbitanlar, sukroz ve glukoz esterleri ya da alkilpoliglukozitlerdir. Polimerik yüzey aktif maddelere örnekler vinilpirolidon, vinil alkoller ya da vinil asetatın home- ya da kopolimerleridir.

Uygun katyonik yüzey aktif maddeler kuaterner yüzey aktif maddeler, örneğin bir ya da iki hidrofobik grup içeren kuaterner amonyum bileşikleri ya da uzun zincirli primer amin tuzlarıdır.

Uygun amfoterik yüzey aktif maddeleri alkilbetainler ve imidazolinlerdir. Uygun blok polimerler

polietilen oksit ve polipropilen oksitin bloklarını ya da alkanol, polietilen oksit ve polipropilen oksit içeren A-B-C tipinin bloklarını içeren A-B ya da A-B-A tipi blok polimerlerlerdir. Uygun polielektrolitler, poliasitler ya da polibazlardır. Poliasitlere örnekler, poliakrilik asidin alkali tuzları ya da poliasit tarak polimerleridir. Polibazlara örnekler polivinil aminler ya da polietilenaminlerdir.

Uygun adjuvanlar ihmal edilebilir olan ya da zararlı böcek öldürücü bir faaliyet göstermeyen ve hedefteki hücre içermeyen ekstrakt, kültür ortamı ya da metabolitin biyolojik performansını geliştiren bileşiklerdir. Yüzey aktif maddelerin, minerallerin ya da bitkisel yağların ve diğer yardımcı maddelerin örnekleri. Daha başka örnekler Knowles, Adjuvants and additives, Agrow Reports DS256, T&F Informa UK, 2006, chapter 5 tarafından listelenmiştir.

Uygun koyulaştırıcılar polisakaritler (örneğin, ksantan zamkı, karboksimetil selüloz), inorganik killer (organik olarak değiştirilmiş ya da değiştirilmemiş), polikarboksilatlar ve silikatlardır.

Uygun bakterisitler, bronopol ve alkilizotiyazolinonlar ve benzisotiyazolinonlar gibi izotiyazolinon türevleridir. Uygun donma önleyici ajanlar etilen glikol, propilen glikol, üre ve gliserindir. Uygun köpüklenme önleyici maddeler silikonlar, uzun zincirli alkoller ve yağ asitlerinin tuzlarıdır. Uygun renklendiriciler (örneğin kırmızı, mavi ya da yeşil), suda çözünürlüğü düşük ve suda çözünür boya pigmentleridir. Örnekler inorganik renklendiriciler (örneğin, demir oksit, titan oksit, demir heksasiyanoferrat) ve organik renklendiricilerdir (örneğin, alizarin-, azo- ve fitalosiyanın renklendiriciler). Uygun yapışkanlaştırıcılar ya da bağlayıcılar polivinil pirolidonlar, polivinil asetatlar, polivinil alkoller, poliakrilatlar, biyolojik ya da sentetik mumlar ve selüloz eterlerdir.

Buluşun Paenibacillus suşları gibi mikroorganizmalar, hücreler ya da sporlar şeklinde yaşarken, kompozisyonun bir parçasını da oluştururlar, ki bu gibi kompozisyonlar etken maddelerin yanı sıra en az bir yardımcı maddeyi (inert içerik maddesi) olağan yollarla içeren kompozisyonlar olarak hazırlanabilir (bakınız örneğin H.D. Burges: Formulation of Microbial Biopesticides, Springer, 1998). Bu tip bileşimlerin uygun geleneksel tipleri süspansiyonlar, tozlar, macunlar, granüller, presler, kapsüller ve bunların karışımlarıdır. Kompozisyon türlerine örnekler süspansiyonlar (örneğin SC, OD, FS), kapsüller (örneğin CS, ZC), macunlar, pastiller, ıslanabilir tozlar (örneğin WP, SP, WS, DP, DS), basılmışlar (örneğin BR, TB, DT), granüller (örneğin WG, SG, GR, FG, GG, MG), böcek öldürücü maddeler (örneğin LN) ve yanı sıra tohumlar gibi bitki yayılma malzemelerinin işlenmesi için jel formülasyonlarıdır (örneğin GF). Burada, her formülasyon tipinin ya da yardımcı seçiminin, kompozisyonun depolanması sırasında ve nihayet toprağa, bitki ya da bitki çoğaltma malzemesine uygulandığında, mikroorganizmanın yaşayabilirliğini etkilememesi gerektiği dikkate alınmalıdır. Uygun formülasyonlardan örneğin WO 2008/002371, US 6,955,912, US 5,422,107'de söz edilmiştir.

Uygun yardımcı maddeler için örnekler, daha önce burada belirtilenler olup, burada, bu gibi yardımcı maddelerin seçimi ve miktarlarının, kompozisyondaki mikrobiyal pestisitlerin canlılığını etkilememesine dikkat edilmelidir. Özellikle bakterisitler ve çözücüler için, ilgili mikrobiyal pestisitlerin ilgili mikroorganizmaları ile uyumluluk dikkate alınmalıdır. Buna ilaveten,

5 mikrobiyal pestisitler içeren kompozisyonlar ayrıca stabilizatörler ya da besinler ve UV koruyucuları içerebilir. Uygun stabilizatörler ya da besinler örneğin alfa-tokoferol, trehaloz, glutamat, potasyum sorbat, glukoz, sukroz, laktoz ve maltodekstrin gibi çeşitli şekerlerdir (H.D. Burges: Formulation of Microbial Biopesticides, Springer, 1998). Uygun UV koruyucuları örneğin titanyum dioksit, çinko oksit ve demir oksit pigmentleri gibi inorganik bileşikler ya da

10 benzofenonlar, benzotriazoller ve feniltiazinler gibi organik bileşiklerdir. Burada bileşik l'i içeren kompozisyonlar için belirtilen yardımcı maddelere ek olarak kompozisyonlar isteğe bağlı olarak % 0.1-80 oranında stabilizatör ya da besin maddesi ve % 0.1-10 oranında UV koruyucu içerebilir.

Zirai ilaç kompozisyonları genellikle ağırlıkça % 0.01 ila 95 arasında, tercih edilen şekliyle %

15 0.1 ila 90 arasında ve özellikle % 0.5 ila 75 arasında etken madde içermektedir. Etken maddeler % 90 ila % 100, tercih edilen şekliyle % 95 ila % 100 arasındaki bir saflıkta kullanılmaktadır (NMR spektrumuna göre).

Kompozisyon tipleri ve bunların hazırlanmasına dair örnekler şu şekildedir:

Bütün bir kültür besiyeri, hücre içermeyen ekstre, kültür ortamı ya da buluşa ait metabolitin ağırlıkça % 5-40'ı ve emülsiyonlaştırıcıların (örneğin, kalsiyum dodesilbenzensülfonat ve hint yağı etoksilat) ağırlıkça % 1-10'u ağırlıkça % 20-40 suda çözünmeyen organik çözücü (örneğin, aromatik hidrokarbon) içinde çözülmüştür. Bu karışım, bir emülsifiye edici makine 5 vasıtasıyla ağırlıkça % 100'e tamamlanacak şekilde suya eklenir ve homojen bir emülsiyon haline getirilir. Su ile seyreltme bir emülsiyon vermektedir.

tamamlayacak oranda suyun eklenmesi ile ufalanmıştır. Su ile seyreltme, etken maddenin stabil bir süspansiyonunu vermektedir.

Bütün bir kültür besiyeri, hücre içermeyen ekstrakt, kültür ortamı ya da buluşa ait metabolitin ağırlıkça % 1-50'si ağırlıkça % 100'e tamamlanacak şekilde organik çözücü (örneğin, aromatik hidrokarbon) içinde çözülmüştür.

5 i) ila xiii) arasındaki kompozisyon türleri isteğe bağlı olarak ağırlık olarak % 0.1-1 oranında bakterisitler, ağırlık olarak % 5-15 oranında donma önleyici maddeler, ağırlık olarak % 0.1-1 oranında köpük önleyici ajanlar ve ağırlık olarak % 0.1-1 oranında renklendiriciler gibi daha başka yardımcı maddeler de içerebilir.

10 Tohum muamelesi için çözeltiler (LS), suspoemülsiyonlar (SE), akışkan konsantreler (FS), kuru muamele tozları (DS), bulamaç muamele için suda dağılıbilir tozlar (WS), suda çözünür tozlar (SS), emülsiyonlar (ES), emülsifiye edilebilir konsantreler (EC) ve jeller (GF) genellikle bitki yetiştirme materyallerinin, özellikle tohumların işlenmesi amacıyla kullanılmaktadır.

On karışım kompozisyonları için tercih edilen tohum işlem formülasyonu tipleri ya da toprak uygulaması örnekleri, WS, LS, ES, FS, WG ya da CS tipindedir.

15 Tipik olarak, tohum muamele uygulaması için ön karışım formülasyonu istenilen bileşenlerin yüzde 0,5 ila 99,9, özellikle yüzde 1 ila 95'ini ve katı ya da sıvı bir adjuvanın (örneğin, su gibi bir çözücü dahil) yüzde 99,5 ila 0,1, özellikle yüzde 99 ila 5'ini içermekte olup burada yardımcı maddeler, ön karışım formülasyonuna dayanarak yüzde 0 ila 50, özellikle yüzde 0,5 ila 40 miktarındaki bir yüzey aktif madde olabilir. Ticari ürünler tercih edilen şekliyle konsantre olarak formüle edilirken (örneğin ön karışım kompozisyonu (formülasyon)), son kullanıcı normalde 20 seyreltik formülasyonları kullanacaktır (örneğin, tank karışımı kompozisyonu).

Sırasıyla suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonları bitki üreme materyallerine, özellikle de tohumlara uygulamak için bitki işleme yöntemleri teknik alanda bilinmektedir ve üreme materyalinin soslanması, kaplanması, filmle kaplanması, peletlenmesini ve daldırılmasını 25 içermektedir. Bu tür yöntemler, buluşa göre olan kombinasyonlara da uygulanabilir. Tercih edilen bir düzenlemede, suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar sırasıyla bitki çoğaltma materyalinin üzerine, çimlenmenin olumsuz yönde etkilenmeyeceği bir yöntemle uygulanır ya da işlenir. Buna göre, bir tohum gibi bir bitki çoğaltma malzemesinin uygulanması (ya da 30 işlenmesi) için uygun yöntemlere örnekler, tohum sargılama, tohum kaplama ya da tohum peletleme ve benzerleridir.

Bitki üretim materyalinin bir tohum, tohum parçası (yani sap) ya da tohum soğanı olması tercih edilmektedir.

35 Her ne kadar mevcut yöntemin herhangi bir fizyolojik haldeki bir tohuma uygulanabileceğine inanılmasına rağmen, tohumun muamele işlemi esnasında zarar görmemesi için yeterince

dayanıklı bir durumda olması tercih edilmektedir. Tipik olarak tohum tarladan hasat edilen; bitkiden çıkarılan; ve herhangi bir koçan, sap, dış kabuk ve etrafındaki posa ya da diğer tohum içermeyen bitki materyallerinden ayrılmış bir tohum olabilir. Tohum tercih edilen şekliyle ayrıca, işlem tohumda biyolojik bir hasara neden olmayacak ölçüde biyolojik olarak kararlıdır. İşlemin, 5 tohumun hasadı ile tohum ekimi arasında ya da ekim işlemi sırasında (ekime yönelik uygulamalar) herhangi bir zamanda tohuma uygulanabileceğine inanılmaktadır. Tohum ayrıca tedaviden önce ya da sonra işleminden geçirilebilir.

Sırasıyla suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonların içindeki içerik maddelerinin homojen dağılımı ve 10 bunların tohumlara yapışabilmesi üreme materyalinin işleme tabi tutulması esnasında arzulanan bir şeydir. Muamele orijinal boyut ve/veya şekil bir ara duruma tanımlanabildiği (bir kaplama gibi) bir durumda bir tohum gibi bir bitki üreme materyali üzerinde örneğin aktif bileşen (ler) in bir karışımını içeren kombinasyonu içeren formülasyonun ince bir filminden (soslama) tohumun orijinal şekli ve/veya büyüklüğünün artık anlaşılamaz hale geldiği birçok farklı 15 malzemeden (taşıyıcılar, örneğin killer; diğer aktif bileşenler gibi farklı formülasyonlar; polimerler ve renklendiriciler) oluşan daha kalın bir filme (peletleme gibi) kadar değişebilir.

Mevcut buluşun bir yönü, hedeflenmiş bir şekilde bitki üreme materyali üzerine suşların, bütün kültür besiyerlerinin, hücre içermeyen ekstraktların, kültür ortamının, formül l'e ait bileşiklerin ve buluşa ait kompozisyonların uygulanmasını içermekte olup içerik maddelerinin, bütün bitki 20 çoğaltma materyali üzerine ya da bunların yalnızca bir kısmı üzerine, tek bir yanı ya da tek bir tarafının bir kısmı dahil, konumlandırılmasını içermektedir. Teknik alanda bilgi sahibi sıradan bir kişi bile EP954213 B1 ve WO06/112700'de sağlanan tarifnameden bu uygulama yöntemlerini anlayabilir.

Sırasıyla suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e 25 ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar bir "hap" ya da «pelet" formunda ya da bitki çoğaltma materyalinin yanına uygun bir substrat ve plasman, ya da ekim işlenmiş hap ya da substrat şeklinde kullanılabilir. Bu gibi teknikler, teknik alanda, özellikle de EP1124414, WO07/67042 ve WO 07/67044'de bilinmektedir. Suşların, bütün kültür besiyerlerinin, hücre içermeyen ekstraktların, kültür ortamının, burada tarif edilen formül l bileşikleri ve kompozisyonlarının bitki 30 üreme materyali üzerine uygulanması ayrıca pestisit muamele edilmiş bir tohumun yanına bir ya da daha fazla pestisit içeren parçacık yerleştirerek, mevcut buluşun kombinasyonu ile muamele edilmiş bitki çoğaltma malzemesini korumayı içermekte olup, buradaki pestisit miktarı pestisit muamele edilmiş tohum ve pestisit içeren parçacıklar birlikte bir pestisit Etkili Dozunu içerecek ve pestisit muamele edilmiş tohumdaki pestisit dozu, pestisit Maksimum 35 Pitotoksik Olmayan Dozuna eşit ya da daha az olacak şekildedir. Bu gibi teknikler, teknik alanda, özellikle de WO2005/120226'da bilinmektedir.

Suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonların sırasıyla tohuma uygulanması ayrıca tohum üzerindeki kontrollü salım kaplamalarını da içermekte olup burada kombinasyonların içerikleri, içeriği zaman içinde serbest bırakan malzemeler içine dahil edilmektedir. Kontrollü salımlı

5 tohum muamele teknolojilerinin örnekleri, teknik alanda genel olarak bilinmekte ve polimer filmleri, balmumlarını ya da diğer tohum kaplamalarını içermekte olup buradaki içerik maddeleri, kontrollü salım materyaline dahil edilebilir ya da materyal katmanları arasına ya da her ikisine birden uygulanabilir.

Tohumlar, sırasıyla, istenen herhangi bir dizilim ile ya da eř zamanlı olarak suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonların uygulanması ile işleme tabi tutulabilirler.

Tohum işlemi henüz dikilmemiş bir tohuma uygulanmaktadır ve «ekilmemiş tohum» terimi, tohumun hasadı ile bitkinin çimlenmesi ve yetişmesi amacıyla toprağa ekim arasındaki herhangi bir dönemdeki tohum anlamına gelmektedir.

15 Dikilmemiş bir tohumun işleme tabi tutulması, etken maddenin toprağa uygulandığı uygulamaları içerdiği anlamına gelmez, ancak ekim işlemi sırasında tohumu hedefleyecek herhangi bir uygulamayı içerebilir.

Tercih edilen şekliyle işlem tohumun ekilmesinden önce gerçekleştirilmektedir ki böylece ekilmiş olan tohum sırasıyla suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ve buluşa ait kompozisyonlar ile önceden işlenmiş olmaktadır. Özellikle, tohum kaplaması ya da tohum peletleme tercih edilmektedir. Tedavinin bir sonucu olarak, içerik maddeleri tohuma yapışmakta ve bu sayede haşere kontrolü için kullanılabilir.

25 Işleme tabi tutulmuş olan tohumlar, diğer etken maddelerle işlem görmüş herhangi bir tohum ile aynı şekilde saklanabilir, işlenebilir, ekilebilir ve sürülebilir.

Özellikle, mevcut buluş, bitki üreme materyalinin haşerelerden korunmasına ve/veya bahsedilen bitki çoğaltma materyalinden yetiştirilen bitkilerin sağlığının iyileştirilmesine yönelik bir yöntemle ilgili olup burada bitki üreme materyalinin gömülü olduğu toprak, sırasıyla, buluşa göre etkili miktarda bir suş, hücre içermeyen ekstrakt, kültür ortamı, metabolit ya da buluşun

30 kompozisyonu ile işleme tabi tutulmaktadır.

Özellikle, mevcut buluş, bitki üreme materyalinin haşerelerden korunmasına yönelik bir yöntemle ilgili olup burada bitki üreme materyalinin gömülü olduğu toprak, sırasıyla, buluşa göre etkili miktarda bir suş, hücre içermeyen ekstrakt, kültür ortamı, metabolit ya da buluşun kompozisyonu ile işleme tabi tutulmaktadır.

Özellikle, mevcut buluş, bitki üreme materyalinin zararlı mantarlardan korunmasına yönelik bir yöntemle ilgili olup burada bitki üreme materyalinin gömülü olduğu toprak, sırasıyla, buluşa göre etkili miktarda bir suş, hücre içermeyen ekstrakt, kültür ortamı, metabolit ya da buluşun kompozisyonu ile işleme tabi tutulmaktadır.

- 5 Özellikle, mevcut buluş, bitki üreme materyalinin hayvansal haşerelerden (böcekler, akaritler ya da nematodlar) korunmasına yönelik bir yöntemle ilgili olup burada bitki üreme materyalinin gömülü olduğu toprak, sırasıyla, buluşa göre etkili miktarda bir suş, hücre içermeyen ekstrakt, kültür ortamı, metabolit ya da buluşun kompozisyonu ile işleme tabi tutulmaktadır.

- 10 Kullanıcı, buluşun kompozisyonlarını genellikle bir ön dozajlama cihazından, bir sırt çantası püskürtücüsünden, bir püskürtme tankından, bir püskürtme uçağından ya da bir sulama sisteminden doğru uygulamaktadır. Genellikle, agrokimyasal bileşim, istenen uygulama konsantrasyonuna ulaşana kadar su, tampon ve/veya başka yardımcı maddelerle doldurulmakta ve kullanıma hazır sprey likör ya da buluşa göre olan agrokimyasal bileşim bu şekilde elde edilmektedir. Genellikle kullanıma hazır sprey ilacın 20 ila 2000 litresi, tercih edilen
15 şekliyle 50 ila 400 litresi, tarımsal açıdan kullanışlı arazinin hektarı başına uygulanmaktadır.

- Bitki üreme malzemesinin, özellikle tohumların işlenmesi söz konusu olduğunda, burada açıklanan bileşimler, iki ila on kat seyreltmeden sonra, kullanıma hazır preparatlarda ağırlıkça % 0.01 ila % 60, tercih edilen şekliyle % 0.1 ila % 40 arasında etken madde konsantrasyonları vermektedir. Uygulama ekimden önce ya da ekim sırasında yapılabilir. Bir suş, hücre
20 içermeyen ekstrakt, kültür ortamı, metabolit ya da buluşun kompozisyonunun sırasıyla bitki üretme materyali üzerine, özellikle tohumların üzerine uygulanmasına yönelik yöntemler üreme materyalinin soslanması, kaplanması, peletlenmesini, tozlanmasını, batırılmasını içermektedir. Tercih edilen şekliyle suşlar, bütün kültür besiyerleri, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, formül l'e ait bileşikler ya da buluşa ait kompozisyonlar sırasıyla
25 çimlenmenin indüklenmeyeceği bir yöntemle, örneğin tohum pansumanı, peletleme, kaplama ve tozlama ile bitki üreme materyali üzerine uygulanmaktadır.

- Buluşun suşları mahsul korumasında kullanıldığı zaman (burada suşlar yaprak tedavisi olarak ya da toprağa uygulanmaktadır) uygulama oranları genellikle yaklaşık 1×10^6 ila 5×10^{15} (ya da daha fazla) CFU/ha, tercih edilen şekliyle yaklaşık 1×10^7 ila yaklaşık 1×10^{13} CFU/ha, hatta daha tercih edilen şekliyle 1×10^9 ila 5×10^{12} CFU/ha arasında değişmektedir.
30

- Buluşun suşları tohum muamelesinde kullanıldığı zaman, bitki üretme materyaline kıyasla uygulama oranları genellikle yaklaşık 1×10^1 ila 1×10^{12} (ya da daha fazla) CFU/tohum, tercih edilen şekliyle yaklaşık 1×10^3 ila yaklaşık 1×10^{10} CFU/tohum ve hatta daha tercih edilen şekliyle yaklaşık 1×10^3 ila yaklaşık 1×10^6 CFU/tohum arasında değişmektedir. Alternatif olarak, bitki üretim materyaline göre uygulama oranları tercih edilen şekliyle 100 kg tohum
35

başına yaklaşık 1×10^7 ila 1×10^{16} (ya da daha fazla) CFU, 100 kg tohum başına tercih edilen şekliyle 1×10^9 ila yaklaşık 1×10^{15} CFU ve hatta daha tercih edilen şekliyle 100 kg tohum başına 1×10^{11} ila yaklaşık 1×10^{15} CFU arasında değişmektedir.

- 5 Hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı ve/veya formül l'in bileşikleri kullanıldığında katı madde (kuru madde) etken madde olarak kabul edilir, örn. sıvı formülasyonların durumunda ekstraksiyon ortamının ya da süspansiyon ortamının kurutulmasından ya da buharlaştırılmasından sonra elde edilen. Bitki koruma alanında kullanıldığında, uygulanan etken maddelerin miktarları, istenilen efekte bağlı olarak, hektar başına 0,001 ila 2 kg, tercih edilen şekliyle hektar başına 0,005 ila 2 kg, daha çok tercih edilen şekliyle hektar başına 0,05
- 10 ila 0,9 kg ve özellikle hektar başına 0,1 ila 0,75 kg arasındadır. Tohum gibi bitkinin üreme materyallerinin, örneğin tohumu tozlayarak, kaplayarak ya da batırarak işlenmesinde 100 kilogram bitki üretme materyali başına (tercih edilen şekliyle tohumlar) genellikle 0.1 ila 1000 g, tercih edilen şekliyle 1 ila 1000 g, daha çok tercih edilen şekliyle 1 ila 100 g ve en çok tercih edilen şekliyle 5 ila 100 g arasındaki etken madde miktarlarına ihtiyaç duyulmaktadır.
- 15 Malzemelerin ya da saklanan ürünlerin korunmasında kullanıldığında, uygulanan erken maddelerin miktarı, uygulama alanına ve istenen etkiye göre değişmektedir. Malzemelerin korunmasında geleneksel olarak uygulanan miktarlar, işlenen materyalin metre küpü başına 0.001 g ila 2 kg, tercih edilen şekliyle 0.005 g ila 1 kg aktif bileşendir.

- 20 Bir düzenlemeye göre, bir kitin parçaları ya da ikili ya da üçlü karışımın parçaları gibi buluşun kompozisyonunun münferit bileşenleri kullanıcının kendisi tarafından bir püskürtme tankında ya da uygulamalar için kullanılan başka bir kaptı (örn. tohum işleme davulları, tohum peletleme makineleri, sırt çantası püskürtücü) karıştırılabilir ve uygun olması halinde ilave yardımcı maddeler eklenebilir.

- 25 Buluşun suşları gibi canlı mikroorganizmalar bu kitin bir parçasını oluşturuyorsa, bileşenlerin (örneğin, kimyasal böcek öldürücü ajanlar) ve diğer yardımcı maddelerin seçiminin ve miktarlarının, kullanıcının karıştırdığı kompozisyondaki mikroorganizmaların canlılığını etkilememesine dikkat edilmelidir. Özellikle bakterisitler ve çözücüler için, ilgili mikroorganizmalarla ile uyumluluk dikkate alınmalıdır.

- 30 Çeşitli tipte yağlar, ıslatıcılar, adjuvanlar, gübre ya da mikro besinler ve daha başka pestisitler (örneğin, herbisitler, böcek öldürücüler, mantar öldürücüler, büyüme düzenleyicileri, koruyucu maddeler, biopestisitler) premiks olarak ya da uygunsa, kullanımın hemen öncesinde (tank karışımı) suşlar, hücre içermeyen ekstraktlar, kültür ortamı, metabolitler, formül l'in bileşikleri ve buluşun kompozisyonuna eklenebilirler. Bu ajanlar buluşa göre olan kompozisyonlarla 1:100 ila 100:1, tercih edilen şekliyle 1:10 ila 10:1'lik bir ağırlık oranında karıştırılabilirler.
- 35 Tercih edilen şekliyle, buluşun bir kompozisyonu bir başka biyopestisit içermektedir. Daha da

tercih edilen şekliyle, buluşun bir bileşimi bir yardımcı madde ve ayrıca formül I'in en az bir bileşiğinin yanı sıra bir mikrobiyal pestisit de içermektedir.

Bir pestisit genel olarak etkisiyle zararlıları engelleyen, iş göremez hale getiren, öldüren ya da aksi halde caydıran kimyasal ya da biyolojik bir ajandır (virüs, bakteri, antimikrobiyal ya da dezenfektan gibi). Hedeflenen haşereler böcekler, bitki patojenleri, yabani otlar, yumuşakçalar, kuşlar, memeliler, balıklar, nematodlar (yuvarlak kurtlar) ve ürüne zarar veren, rahatsızlığa neden olan, hastalık yayan mikroplar ya da hastalık için vektörleri içerebilir. Pestisit terimi ayrıca bitkilerin beklenen büyümesini, çiçeklenmesini ya da çoğalma hızını değiştiren bitki büyüme düzenleyicileri; genellikle hasadı kolaylaştırmak için yaprakların ya da diğer bitki örtüsünün bitkilerin üzerinden düşmesine neden olan yaprak dökücüler; istenmeyen bitki kısımları gibi canlı dokuların kurummasını destekleyen kurutucular; bazı zararlılara karşı savunma amacıyla bitki fizyolojisini aktive eden bitki aktivatörleri; pestisitlerin mahsul bitkileri üzerindeki istenmeyen herbisit etkisini azaltmak için safenerlar; ve bir mahsul bitkisinin hasat edilebilir ürünlerinin büyüme, biyokütle, verim ya da diğer herhangi bir kalite parametresini arttırmak için bitki fizyolojisini etkileyen bitki büyüme destekleyicilerini kapsamaktadır.

hizalamasını temel almaktadır. Çok sekanslı karşılaştırmalardan elde edilen daha yüksek özdeşlik değerleri, karşılaştırılmış sekansların sekans verilerinin daha kısa bir hizalamayla sonuçlanan farklı uzunluklarda olması probleminden kaynaklanmaktadır.

5 Üç yeni soy Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 arasındaki komple rDNA sekanslarının çiftli karşılaştırmalarından elde edilen % özdeşlik % 99,5 ile % 99,9 arasında idi (Tablo 3, ikili değerler).

Filogenetik dendrogramın yapımı için, ARB paketinin (Nucl. Acids Res. 35, 7188-7196, 2007) işlemleri kullanılmıştır: evrimsel mesafe değerlerine dayanarak filogenetik ağaç Jukes ve Cantor düzeltmesi (Mol. Biol. Evol. 4, 406-425, 1987) kullanılarak komşu birleştirme yöntemiyle (Jukes, T. H. & Cantor C. R. (1969). Evolution of protein molecules. In Mammalian protein metabolism, pp. 21-132. Edited by H. N. Munro. New York: Academic press) yapılmıştır. Ağacın kökü, *Cohnella thermotolerans*'ın 16S rRNA gen sekansını analize dahil ederek belirlenmiştir. Dendrogramın altındaki ölçek çubuğu, 100 nükleotid başına 1 nükleotid ikamesini göstermektedir. Sonuçlar Tablo 10'da verilmektedir.

Bu sekansların filogenetik dendrogramı (Şekil 10) üç yeni suş Lu16774, Lu17007 ve Lu17015'in birbirleriyle en yakından ilgili suşlar olduğunu ve her biri tarafından bilinen en yakın akrabalarının *Paenibacillus peoriae* suşu NRRL BD-62 olduğunu göstermektedir.

Suşlar, DSMZ'de Gordon, R.E., Haynes, W.C. & Pang. C.H.-N. (1973): The Genus *Bacillus*, Agriculture Handbook no. 427. Washington DC: US Department of Agriculture'da tarif edilen yöntemlere benzer şekilde karakterize edilmiştir. Sonuçlar Tablo 4'de verilmektedir.

DSMZ'de gerçekleştirilen hücresel yağ asitlerinin analizi, tüm suşların *Paenibacillus* spp. için tipik bir profil sergilediğini ortaya koymuştur.

Mevcut genetik, fizyolojik ve biyokimyasal veriler kullanılarak, Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 suşlarının *Paenibacillus* cinsine ait olduğu gösterilmiştir. Lu16774, Lu17007 ve Lu17015 ve

5 yanısıra BD-62 suşları glikozdan gaz ürettiğinden hiçbir *Paenibacillus* *jamilae*'ye ait değildir.

Paenibacillus *peoriae* ve *Paenibacillus* *polymyxa* arasında fenotipik bir farklılaşma öncelikle belirli substratlardan asit üretim özelliklerini kullanarak mümkündür (Int. J. Syst. Bacteriol. 43(2), 388-390, 1993; In. J. Syst. Bacteriol. 46(6), 988-1003, 1996). Yeni suşların hiçbir, Tablo

10 4'te belirtilen özellikleri ile bu iki türe hiçbir şekilde tamamen uyuşmamaktadır ancak mevcut genetiğin toplamı olarak, fizyolojik ve biyokimyasal veriler büyük olasılıkla *Paenibacillus* *peoriae* ve *P. polymyxa* türlerine ya da en azından *Paenibacillus* *peoriae* ve *P. polymyxa* ile çok yakından ilgili başka bir türe işaret etmektedir.

Şimdiye kadar açıklanan *Paenibacillus* türlerinin çokluğundan dolayı, Tablo 4'ten (Rainer Borriß, Humboldt University Berlin, yayınlanmamış sonuçlar) fizyolojik ve morfolojik kriterlere dayanarak test edilen üç izolatın doğru taksonomik türlerini belirlemek mümkün değildir.

15

Bununla birlikte, bu cins içindeki türlerin tam olarak belirlenmesi mümkün değildir. En yakın ilişkili tür ve suşun 16S-rDNA analizine dayanarak *Paenibacillus* *peoriae* BD-62 olduğu bulunmuştur (bakınız, örneğin Şekil 11).

Genom karşılaştırmaları Gießen Üniversitesi EDGAR yazılım paketi kullanılarak yapılmıştır (BMC Bioinformatics 10, 154, 2009; (<https://edgar.computational.bio.uni-giessen.de/cgi-bin/edgar.cgi>)). Çekirdek genomu, tüm genom sekansları temelinde filogenetik dendrogramlar ve AAI matris değerlerinin belirlenmesi EDGAR yazılım paketi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Şekil 22'de gösterilmektedir.

Dickinson, 214510), yaklaşık 7 pH, Aq. bidest. PHYTIN için büyüme ortamı olarak, litre başına aşağıdakileri içeren V8 ortamı kullanılmıştır: 200 ml sebze suyu, 3 g kalsiyum karbonat (Merck Millipore, 1020660250); 30 g Agar (Becton Dickinson, 214510), pH 6.8, Aq. bidest.

5 Paenibacillus suşları bir agar plakasının bir tarafında nokta şeklinde aşılanmıştır. Aktif olarak büyüyen bir bitki patojeni içeren bir agar bloğu (yaklaşık 0.3 cm²) plakanın ortasına yerleştirilmiştir. 7-14 gün boyunca 25 °C'de inkübasyondan sonra , bitki patojenin büyümesi, özellikle inhibisyon bölgeleri açısından incelenmiştir.

10 Daha sonra agar plakaları, değerlendirmeden önce yaklaşık 7-14 gün boyunca °C'de inkübe edilmiştir. Antibiyozis, mantarsız bölgenin çapının (inhibisyon bölgesinin) değerlendirilmesiyle skorlanmaktadır. Rekabet, fungal patojenin büyüme çapının bakteri suşları ile plakalarda kontrol plakalarına kıyasla karşılaştırılmasıyla puanlanmıştır. Bakterilerin fungal patojeni aşması ve ayrıca patojenleri parazitlemesi durumunda Mikoparazitizm belgelenebilir. Bu da mikroskop yardımı ile görülebilir.

15 Yeni Paenibacillus suşları test edilen tüm bitki patojenlerine karşı antifungal aktivite sergilemiştir.

içerisinde, yaklaşık 22 °C'lık bir sıcaklıkta serada büyütülmüştür. Nem oranı özel bir cihaz kullanılarak kontrol edilmiştir (~% 90 nem). Bitkiler bir sprey kabini kullanılarak, 6 günlük ilgili *Paenibacillus* suşu (düzenlemeye bağlı olarak) kültürlerinin ham/bütün kültür besiyeri ile üzerlerinden akacak şekilde spreylenecektir. Suşlar için kültür koşulları, Örnek 3'te tarif edilmektedir. Uygulamadan bir gün sonra işlem görmüş bitkiler *Phytophthora* infestans (PHYTIN)'ın spor keselerinin bir süspansiyonu ile aşılanmıştır. Aşılamadan sonra deneme bitkileri hızlı bir biçimde nemli bir odaya aktarılmıştır. Yapraklar üzerinde gerçekleşen mantar saldırısının kapsamı, aşılamadan 5-7 gün sonra görsel olarak değerlendirilmiştir. Tedavi edilmeyen kontrolde mantar saldırısı % 80-100 arasındaydı ve karşılaştırma amacı ile % 100'e ayarlandı.

Paenibacillus

aşıl原因miştir. Aşılamanın ardından deneme bitkileri hızlı bir biçimde nemli bir odaya aktarılmıştır. Yapraklar üzerinde gerçekleşen mantar saldırısının kapsamı, aşılamadan 21-28 gün sonra görsel olarak değerlendirilmiştir.

2 g/l NaNO₃, 1g/l K₂HPO₄, 0.5 g/l MgSO₄, 0.5 g/l KCl, 0.2 g/l pepton, 15 g/l agar, yengeç kabuklarından 10 g/l kitin (Sigma-Aldrich C7170).

- Katı test ortamı otoklavlanır ve 9 cm'lik Petri kaplarına doldurulmaktadır. *Paenibacillus* suşları plakaların ortasına aşılarmakta ve iki gün boyunca 27 °C'de inkübe edilmektedir. Bunun ardından plakalar 5 ila 10 dakika boyunca 1:3 seyreltilmiş Lugol çözeltisi (Carl Roth N052.2) ile boyandıktan sonra Lugol çözeltisi dökülmüş ve plakalar fotoğraflanmış ve değerlendirilmiştir. Farklı suşların büyümesi en fazla 5-10 mm'dir. Boyanmamış bölgeler (chitinaz aktivitesiyle ilişkili) 0 mm (aktivite yok; Tablo 11'de «-») ila birkaç cm (Tablo 11'de "+") arasında değişmektedir.

Fraksiyon 3: % 69 0.2 FA; % 31 ACN; üç pik tespit edilmiştir (3-1, 3-2 ve 3-3)

Fraksiyon 4/5: % 67 0.2 FA; % 33 ACN; bir pik tespit edilmiştir (4/5)

Fraksiyon 6: % 65 0.2 FA; % 35 ACN; iki pik tespit edilmiştir (6-1 ve 6-2)

Aşağıdaki numunelerin saflığı ve miktarı NMR analizi ve yapının aydınlatması için yeterliydi:

5 pikler 1-2, 2-1, 3-2, 4/5 ve 6-1.

5 δ 4.39'da α -metin protonunun sinyali ile δ 171.9'da bir karbonilin rezonansı arasında anahtar bir korelasyon gözlemlendiğinden bu siklodepsipeptit 1B, Thr1'e bağlı bir terminal guanidin β -hidroksi yağ asidi içermektedir; HMBC δ 171.9'daki karbonilden δ 2.35'teki α -metilen protonlarına temas etmektedir ve δ 3.77'deki β -metin protonu ayrıca δ 3.03'deki metilen protonları ve δ 157.2'deki guanidin karbonu arasında da gözlenmiştir. Yan zincirinin, m/z 256.2'de temel $[M+H]^+$ iyonunun APCI-MS-MS spektrumunda gözlenen fragman iyonunun temelinde, β -hidroksi ve guanidin grubu arasında on iki metilen grubu içerdiği sonucuna varılmıştır. Benzer şekilde, bu spektrum amino asitlerin bağlantı sekansını doğrulayan ve Şekil 1'de gösterildiği gibi bileşik 1B'nin yapısını aydınlatmaya neden olan bilgiyi (Şekil 4b)
 10 sağlamıştır.

Bir CH_2 grubunun 1D- ve 2D- spektrumlarında 2.80, 2.52/36.3'teki sinyalleri muhtemelen bileşik 1A'daki β - CH_2 asparagin grubuna (Asn) karşılık gelmektedir. Bu sonuç, m/z 961.6'daki ana pik noktasının MS/MS'sinden elde edilen parçalarla bağlantılı olarak raporlanan veriler (Heterocycles 53, 1533-1549, 2000) ile desteklenmiştir (Şekil 4a). Benzer şekilde, ikinci
 15 analizler her iki bileşikte de amino asitlerin bağlantı sekansını doğrulayan ve Şekil 1'de gösterildiği gibi bileşik 1A ve 1B'nin yapısını aydınlatmaya neden olan bilgiyi (Şekil 4a, 4b) sağlamıştır.

- karbonilin sekiz rezonansı ve δ 48.0 ve 59.5 arasında yer alan N-metinin altı sinyali. HMQC, COSY ve TOCSY spektrumlarının ayrıntılı bir analizi, Gln, iki ünite Thr, iki ünite Ile ve Ala içeren altı amino asidin varlığını ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, bu spektrumlar, aynı β -hidroksil yağ asidine, 1A, 1B ve fusarisidin C (2A) ve D (2B) bileşiklerinde olduğu gibi bir terminal guanidin ile atfedilebilecek kimyasal kaymalar sergilemiştir. Bu yan zincirin konumu Thr1'nin δ 4.44 değerinde yer alan N-metinin proton sinyali ve yağ asidinin δ 172.1 değerindeki yer alan karbonil sinyali arasındaki HMBC spektrumunda bulunan uzun menzilli bir korelasyon temelinde belirlenmiştir. Amino asitlerin sekansı NOESY etkileşimlerinden ve fragmentasyon şablonundan çıkarılmıştır (Şekil 6).
- 10 NMR verileri (Tablo 14) ve kütle spektrometresinin kombinasyonu ilk olarak Kuroda ve ark. (Heterosiklikler 53, 1533-1549, 2000) tarafından bildirilen ve burada ayrıca fusarisidin LI-F08b olarak da adlandırılan metabolit bileşiğinin LI-F08b olarak tanımlanmasını sağlamıştır.

5 içerisinde çözölmüş ve seyreltilmiştir. 60 µM ila 0.3 µM arasındaki farklı konsantrasyonlar, mikrotiter plakasına pipetlenmiştir. 10⁴ spor/ml'lik bir sulu süspansiyon ilave edilmiştir. Plakalar yaklaşık 18 °C'de inkübe edilmiştir. Mantar büyümesi, sporların aşılmasından 3 ve 7 gün sonra 600 nm'de bir mikrolaka okuyucusunda optik yoğunluğun ölçölmesi ve tedavi edilmemiş kontrol (DMSO) ile karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir. IC₅₀ (mantar büyümesinin % 50 inhibisyonu için gerekli olan ilgili metabolitin konsantrasyonu [µM]) bunun ardından belirlenmiştir.

Dikkate değeri bir biçimde, bileşik 1A ve 1B, 0.4-0.6 µM'lik IC₅₀ değeri ile (Tablo 18) en yüksek antifungal etkiyi sergilemiştir.

Ozellikle bileşik 1A ve 1B, 7.2 ppm kadar düşük doz seviyelerinde bile, tarımsal bitkilerde önemli mantar hastalıklarının kontrolünde etkilidir ve Fusarisidin A, B ve D'den daha yüksek antifungal etkinlik sergilemiştir (Tablo 19 ila 21).

Paenibacillus

Paenibacillus

Paenibacillus

- campinasensis 324; 8 = *Paenibacillus chibensis* JCM 9905; 9 = *Paenibacillus glucanolyticus* DSM 5162; 10 = *Paenibacillus hunanensis* FeL05; 11 = *Paenibacillus jamilae* CECT 5266; 12 = *Paenibacillus kribbensis* AM49; 13 = *Paenibacillus lactis* MB 1871; 14 = *Paenibacillus lautus* JCM 9073; 15 = *Paenibacillus macerans* IAM 12467; 16 = *Paenibacillus massiliensis* 2301065; 17 = *Paenibacillus pabuli* HSCC 492; 18 = *Paenibacillus peoriae* DSM 8320 (BD-57); 19 = *Paenibacillus pini* S22; 20 = *Paenibacillus polymyxa* IAM 13419; 21 = *Paenibacillus purispatii* ES_MS17; 22 = *Paenibacillus sediminis* GT-H3; 23 = *Paenibacillus terrae* AM141; 24 = *Paenibacillus terrigena* A35; 25 = *Paenibacillus timonensis* 2301032; 26 = *Paenibacillus turicensis* MOL722; 27 = *Paenibacillus uliginis* N3/975; 28 = *Cohnella thermotolerans* CCUG 47242. Suşlar 6 ila 28, ilgili türler için tip suşlarıdır.

Yeni suşların *Paenibacillus peoriae* (NRRL BD-62 ve DSM 8320) ile benzerlikleri koyu harflerle işaretlenmiştir.

§

- 12 = *P. polymyxa* M-1 (GenBank erişim no. HE577054.1; GenomeNet Ref Seq NC_017542.1);
 13 = *P. polymyxa* NRRL B-30509 (GenBank erişim no. JTHO000000000; Genome Announc.
 2015 Mar-Apr; 3(2): e00372-15); 14 = *P. polymyxa* SC2 (GenBank erişim no. CP002213; J.
 Bacteriol. 193 (1), 311-312, 2011); 15 = *P. polymyxa*SQR-21 (GenBank erişim no. CP006872;
 5 GenomeNet Ref Seq NZ_CP006872.1; Genome Announc. 2014 Mar-Apr; 2(2): e00281-14);
 16 = *P. polymyxa* Sb3-1 (GenBank erişim no. CP010268; Genome Announc. 2015 Mar-Apr;
 3(2): e00052-15); 17 = *P. polymyxa* TD94 (GenBank erişim no. ASSA000000000); 17 = *P.*
polymyxa WLY78 (GenBank erişim no. ALJV000000000); *P. terrae*HPL-003 (GenBank erişim
 no. CP003107; NCBI Ref Seq NC_016641.1); *P. polymyxa* CR1 (GenBank erişim no.
 10 CP006941; Genome Announc. 2014 Jan-Feb; 2(1): e01218-13).

§

\$

<220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1545

<223> /organism="Paenibacillus polymyxa ssp. plantarum" /note="Strain Lu17007 complete
5 16S rDNA" /mol_type="other DNA"

<220>

<221> unsure (kesin değil)

<222> 58, 60, 65, 82, 87, 645, 1020

<400> 2

```

tttgcctctg gctcaggacg aacgctggcg gctgcctaa tacatgcaag toagagcngn      60
ttatntagaa gcttgctttct anataandta gggcgggagc ggtgagtaac acgtaggtcaa      120
cctgccaca agacagggat aactaccgga aacggtagct aatacccgat acatcctttt      180
cctgcctggg agaaggagga aagacggagc aatctgtcac ttgtggatgg gctgcggcgg      240
cattagctag ttggtggggt aawggcctac caaggcgacg atgcgtagcc gaactgagag      300
ggtgatcggc caactggga ctgagcaca gcccagactc ctacgggagc cagcagcagg      360
gaatcttcag caatgggcga sagcctgacg gagcaacgac ggtgagtgta tgaagctttt      420
cggatcgtaa agctctgttg ccagggaaga acgtcttgta gactaacgac taacagagtg      480
acggtacctg agaagaaagc cccggtcac tacgtgccag cagccgcggt aatacgtagg      540
ggcaagagct tctccggcat tctggggtt aaagcgagcg caggcggttc ttaagctctg      600
ggtctcctca cagcgggctc actcagggta gttcaggaac ctggagagct taagctcaga      660
agcagcagct ggtctcctca ctctcaggtt gttcaggaac ctggagagct taagctcaga      720
taagctcaga gttcaggaac ctctcaggtt gttcaggaac ctggagagct taagctcaga      780
taagctcaga gttcaggaac ctctcaggtt gttcaggaac ctggagagct taagctcaga      840
taagctcaga gttcaggaac ctctcaggtt gttcaggaac ctggagagct taagctcaga      900

```

```

ogataccctt ggtgccgaag ttaacacatt aagcattcog cctggggagt acggtcgcaa      900
gactgasact caaaggaatt gacggggacc cgcacaagca gtggagtatg tggtttaatt      960
cgaagcaacy cgaagaacct taccaggtct tgacatccct ctgaccggtc tagagatagn    1020
cctttccttc gggacagagg agacaggtgg tgcataggtt tgcacagctc gtgtcgtgag    1080
atgttggggtt aagtcucgca acgagcgcaa cccttatgct taqttgcacg caggtcaagc    1140
tgggcactct aagcagactg ccggtgacaa acgggaggaa ygtggggatg acgtcaaato    1200
atcatgcccc ttatgacctg ggtacacac gtactacast ggcaggtaca acgggaagcg    1260
aagccgcgag gtggagccaa tccagaaaa gcgggtctca gtccggttg kaggctgcaa    1320
ctcgccctaca tgaagtcgga attgutaqta atcgcggatc agcatgcgcg ggtgatatcg    1380
ttcccggttc ttgtacacac cgcgcgtcac accacgagag tttaaacac ccgaagtcgg    1440
tgaggtaccc gcaaggagcc agccgcgcga gytggggtag atgattgggg tgaugtcgta    1500
acaaggtagc cgtatcgga ggtgcggctg gatcacctcc ttctct                        1545

```

<210> 3

<211> 1547

<212> DNA

5 <213> Paenibacillus sp.

<220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1547

<223> /organism="Paenibacillus epiphyticus" /note="Strain Lu17015 complete 16S rDNA"

10 /mol_type="other DNA"

<220>

<221> unsure (kesin değil)

<222> 68, 87, 1024

<400> 3

tgaatttggat cctgggtcag gacgaacgt ggcggcgtgc ctaatacatg caagtccagc 60
 ggggttgntt agaagcttgc ttctaancaa cctagoggug gacgggtgag taacacgtag 120
 gcacccctgcc caccagacag ggataactac cggaaacggt agctaatacc cgatacatcc 180
 ttttcttgcg taggagaagg aggaagagac gagcaatctg tcaattgttg atgggcctgc 240
 ggccgattag ctagtgtgtg gggtaaaagg ctaccaaggc gacgatgctg agccgacctg 300
 caaggttggat cggccacact gggcctggga cagggtccag actctacggg gaggcagcag 360
 tagggatctc tccgaattgg gggaaagcct gacggagcag cggcggctga gtgatgaagg 420
 ttttcggatc gtaagctct gttgcacggg aagaaagctc cgtatagtaa cggctacagg 480
 agtgcagcta ontgagaaga aagcccccga taactacgtg ccagcagccg aggtacacag 540
 tagggcgcaa ggttgtccg gaattattgg ggttaaggcg cggcagggcg gctctttcag 600

 tctggtgttt aatcccgagg ctcaacttcg ggtcgccctg gaaactgggg agcttgagtg 660
 cagaagagga gagtggatt ccacgtgtag cggtagaatg cgtagatatg tggaggaaca 720
 ccagtgccga aggcgactct ctgggctgta actgacgctg aggcgcgaaa gcgtggggag 780
 caaacaggat tagataccct ggtagtcacg gcgtaaacg atgaatgcta ggtgttaggg 840
 gtttcgatcc ccttggtgcc gaagttaaca catlaagcat tccgcttggg gactacggtc 900
 gctagactga aacccaaagg aattgagggg gacccgcccc agcagtggag tatgtgtttc 960
 aattcgagga aagcggaaga aacttaccag gttctgacat cactctgana ggtctagaga 1020
 tagnccttc cttcgggaaa gaggagcag gtcgctgctg gtcgttgtaa gctgtgttag 1080
 tgagatgttg ggttaagctc agcaacgagc gcaaccccta tgcctagttg ccagcaggtc 1140
 aagctgggca ccttaagcag actgcgggtg acaaacccga ggaaggtggc gatgaagtaa 1200
 aatcatctcg ccccttatga cctgggtcag acacgtata caatggcccg tacaacggga 1260
 agcgaaatcg caggtggag caatcctag aagagccggt ctcagttcgg attgtaggct 1320
 gcaactcgcc tacatgaagt cgggaattgt agtaatcgc gatcagcatg ccgcggtgaa 1380
 tacgttcccg ggtcttctac acacgcgccg tcacaccacg agactttaca acacccgaag 1440
 tcggtggggc aacccgcaag ggagccagcc gccgaaggtg gggtagatga ttggggtgaa 1500
 gtcttaacaa ggtagccgta tcggaagggt cggctggatc acctcct 1547

<210> 4

<211> 1143

5 <212> DNA

<213> *Paenibacillus* sp.

<220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1143

<223> /organism="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /note="Strain Lu16774 dnaN"

5 /mol_type="DNA"

<400> 4

```

atgaagatta qcattctgaa aaaggttttg aacgaggcca tacaacatgt atccaaugcg      60
atatccagtc gaacgacaaat tccaattttg agtgggtatta agctggatgt gaatcaccag      120
ggagtcacaa tgacccgcag agatanagaa atctctatct aatcctttat tccgatggag      180
gatggtgacc aaacggctgt tcaatctgaa caacccggca gtgtagtgtt acccggtaaa      240
ttctttgtcg aaattatcaa aaagttgcag tctcaggaga tccgtatgga gytaaaagac      300
caattccaaa cctttatctc atccgggtgt actgaatttc agatcgttgg tttggaccct      360
gaagaatttc cgttccttcc caacattgaa gaaaatcaag tgatctctgt gccaggtgat      420
ttgcttaaaa atatgattaa acagacggta ttctccatct ctaccatga aacgacaact      480
attttgactg gtgtattgtg gaatctggct gagggcgaat tgaattttgt cgcacccgac      540

cgccacccgc ttgccacccg cagcgctcat ttggagacgt ctgaaggctt gcgtttttagc      600
aatgttgtca ttgcaggcaa aacgctcaat gagctgagca gaattattcc ggatcaaaat      660
atgctttgtg atatcgttgt agcggacaat caggtattat ttaaggtgga tccggtgtta      720
ttttactctc gcattcttga cgcacactat cctgataact ctagaattat tccgaattcc      780
tacaaaacag aactgattgt ggacacaaaa agtttgagcg agtctattga ccgtgcttat      840
ttgctgtccc gtgaggaaaa aacgaatatt gtaaaaatgc aatcgttggc aaacggtgat      900
ctagagattt cctccagctc atctgaactt ggtaaagtgc gtgaggaagt aatgtatcc      960
aaatttgagg gagagccact caaatctcgc ttcaactcca aatatatgct cgaagtgctg      1020
aaggtaatly acagcgagca gctgacgatt gctttttacc gcattatgag cccattatt      1080
ttaaaaccgg cagattccag caatgcgctg tatatcatcc tgccatateg caacaaccaac      1140
tag                                                                 1143

```

<210> 5

<211> 1980

10 <212> DNA

<213> Paenibacillus sp.

<220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1980

<223> /organism="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /note="Strain Lu16774 gyrB"

5 /mol_type="DNA"

<400> 5

```

atggtcagaca aactcgaatt gtctgcggga gcttcaggta cacagaacgg agcttcagaa      60
tatggcgagg aagacattca agtgctcgaa gggcttgtyg cagttcgcaa acggccgggc      120
atgtacatcg ggagcaccag ttcttcggga ctgcctcatt tggtatggga aattgttagac      180
aacggggtgg atgascacat cgcacagttt tgcctctcgca ttgatatcac aatgcataag      240
gacgggtcty ttacagtatc agacaaaggg cgcgggtattc ctacgggaat gcacaaantg      300
ggaattccta cgcctcaagt tgtattcacc attttgcacg ccggaggtac gtttggcggt      360
tcgggatata aaaagtcagg gggctctgat ggggtaggty cgtctgtaac gaacgctctt      420
tcggaatggc ttgaagtggg aatctacogg gacggcaaga ttcaacgtca gcggtttgaa      480
tattggcagg acaagaaggg cgtggagcat gtgggtgaac agaccacagg ccttgaagtg      540
ctgggcacaa ctacaaagac gggctcgaaa attacattta aacgggatat tcaagttttt      600
cagtcaggaa ttcaatttaa ctacgatcgg ctggctgaac gcttcagga gattgcctt      660
ctgaattcgg gcttcgggat tcaagtttaa gacgaacgca ggggaagtc agatgaatat      720
tttatcgagg ctgagagcaag taagtttgtt tcttttttga atgaggttaa ggtgtactg      780
catgatgtha ttcaatttaa tgcagagaaa gaagacattg aagtggagat tgcattccaa      840

```

tacaatgcog gctacacaga gacgattgct tegttcgtta actccattcc gacacgtggc 900
 gggggtacgc atgaacacag cttcaaaacc gcttacactc gtatcatgaa cgactatgca 960
 cgcataacag cgtatgttgaa ggaaaaggat aaaaacctgg aaggtaacga tctgcgtgag 1020
 ggtatgatgg ctgtaatcag tgtcaagatg gccgaggttg aatttgtcgg tcgacaaaa 1080
 gatcagctgg gtagtgcttc ggcgcggagt acagtggatg ccacgtatc tgaacaaatg 1140
 cagcgttttt tggaggaaaa tccacagata gcgcaaacct tgatcagaaa ggcagttcaa 1200
 gcattcaaaag ccgctggaag tgcacgtaag gctcgggaag aaatgcgttc tggcaagaaa 1260
 cgcagtgaag gttctaattt gaatggcaaa ctgtcgcttg cgcagtataa ggattttaca 1320
 cgtaatgagt tatttatcgt ggaaggcgtat tcggctggag gatcggccaa acaaggacgg 1380
 gattccaaa tcaaggcaat ttgcgctta aagggaagc ccatgaatcc ggaataatca 1440
 aagttcgggg atctctctgaa aatctgtgag tctcgggaag tctcgggaag tctcgggaag 1500
 ggtatcggga atctctctgaa ggtcgggaag aatctgtgag tctcgggaag tctcgggaag 1560
 ggtatcggga atctctctgaa ggtcgggaag aatctgtgag tctcgggaag tctcgggaag 1620
 aatctgtgag tctcgggaag ggtatcggga atctctctgaa aatctgtgag tctcgggaag 1680
 aatctgtgag tctcgggaag ggtatcggga atctctctgaa aatctgtgag tctcgggaag 1740
 aatctgtgag tctcgggaag ggtatcggga atctctctgaa aatctgtgag tctcgggaag 1800
 atgaaccttg atcagttatg ggaacagaca atgaaccttg atcagttatg atcagttatg 1860
 gttcagattg aggtatgctg caaagctgaa cgcgtgtgtt caaagctgaa cgcgtgtgtt 1920
 gtcgattcac gtaagcgttg gtcgattcac caagctgatt caagctgatt caagctgatt 1980

<210> 6

<211> 1116

<212> DNA

5 <213> Paenibacillus sp.

<220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1116

<223> /organism="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /note="Strain Lu16774 recF"

10 /mol_type="DNA"

<400> 6

```

gtgtttgtga acaacattgt ttgacagcag tacgggaact ataacacagt ggaactgaat      60
gaattogggc cagttaattt gctgacgga caaatgggc aagcaaaaac gaatctggtt      120
gaggogattt ttgtatttagc cttaactaaa agtcacggaa cgtcccgta caaggaatta      180
atttctttcg gggctacttc cacacatcta gctgctgatg tggataagaa atacgggaaa      240
atcagattgg atctctggtt atccacacaa ggcaaaaaag caaagatcaa cgggctagag      300

cagcgaagc tgagagattt catgggttcg ttaacgctgg tcatgtttgc gcccgaggat      360
ctgggaattg tcaaggaac accgggggtt cgcgcgcgtt ttcttgacat ggaatttga      420
caagttgcgc caggtatatt gtatcatttg cagcaatata agaaagtgt ggttcagcgg      480
aataacctgc tcaagcagc ttgggggaaa gatatggcgt cagtgcagct gatgctggag      540
gtatggastg agcaacttgt tgagcatggt gttasaattg taasaagcg gaaacaattt      600
ataacaaagc tacaacagtg ggcccaagcc attcatgagc ggaattgacg tgggacagaa      660
gagttaaaac tagctatgtt tccctctttc ggtgagccag aggaagagaa tgaagctgtc      720
ttattggagc gatitctgat aagttctatc caaatgaggg aacaggaat cgcgcgtgac      780
atgaatttgg cgggaaccca tctgtatgat ttggcctttg caatkaagg cagagagtg      840
catacgtatg gctctcaggg gaagcagcgg aagaagggcc tctctttgaa gctgcccga      900
atagaattaa ttcattgagc aattggggag tatcctatcc tctgcttggc tcatgtattg      960
tcagagutgg accctatcg tcagactcag cgtatcgaga ctttccaaag caaggtatag      1020
acotttctca cggcaacogg gattgagcag ttgacgcag aacgaattaa ggtgcccct      1080
atttatcaag tcaagagcg gcatgtggaa cactaa      1116

```

<210> 7

<211> 1719

5 <212> DNA

<213> Paenibacillus sp.

<220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1719

10 <223> /organism="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /note="Strain Lu16774 recN"
/mol_type="DNA"

<400> 7

atgctgggtca ctttgtctat accgaatttg gcagtcgtag aagctgtcga tgttcatttt 60
 tataaaggat ttcatgtatt gagcggagaa actggtgctg gtaaatccat tattatcgac 120
 gcaattgggc tgattgcggg cggcagggga tctgctgac tagtgcgta cggatgtgat 180
 aaagccgaaa tggaaagcctt gtttgaattg ccggtcaaac atcccgtttg gaatacgttg 240
 gaggaacaag ggattaaggc taatccagaa gagcatttgc tgattcgtcg agaacttaca 300
 gticagggga aaagctcacc tcgaattaac ggtcagatgg ttaatttaac gatgctgogt 360
 gaggtaggty agcaactcgt taatatccac gggcagcatg agcatcaaaag ctgctgcgt 420
 ggggatcgcc atcttgccgt gctggatagc ttccgtgact ccgtcattgg tccagtcmaa 480
 ggcctttacc gggagcgtta caatgctttt gtcaaagcgg aaaaagaagt aagagaattg 540
 caaagctoca gtcaaaggc ttatcagcta ttggacatgt atcgcttcca attggaagag 600
 atcgctgcgg cggagttaa attggtgaa gatgaattat tggcagagga aagggtcaag 660
 ctatccata gtgcgaaat gatggtgga gtatcaggag natcagact gttcagtgga 720
 aggtggtga tggatcaggc caatcagggt ttgtcagact taatcagact tccaggtgaa 780
 ggggtgaaat ggttcaggga cctcagggtt ccgttcacat atgcttctca tccgttcagg 840
 ggtgaggtgt ttatcagggt cctcagggtt ggggtcaggt atctcagact ggggtcaggt 900
 tctcaggtgt aggtcaggtt ggtcaggtt ccgttcacat atgcttctca tccgttcagg 960
 ctatccata gtgcgaaat gatggtgga gtatcaggag natcagact gttcagtgga 1020
 aaagctgaga ggtcaggtgt ggtcaggtgt aaggtcaggt aggtcaggtt ggtcaggtgt 1080
 gagctgctg aaggtcaggt aggtcaggt ggtcaggtgt aggtcaggtt ggtcaggtgt 1140
 glagagcagg aattcaggtt tctcaggtt ggtcaggtgt aggtcaggtt ggtcaggtgt 1200
 caatcaggtt atcaggtgt atcaggtgt aaggtcaggt aggtcaggtt ggtcaggtgt 1260
 ggtcaggtgt atcaggtgt atcaggtgt aaggtcaggt aggtcaggtt ggtcaggtgt 1320
 ggtcaggtgt atcaggtgt atcaggtgt aaggtcaggt aggtcaggtt ggtcaggtgt 1380
 ggtcaggtgt atcaggtgt atcaggtgt aaggtcaggt aggtcaggtt ggtcaggtgt 1440
 cgtcaggtgt atcaggtgt atcaggtgt aaggtcaggt aggtcaggtt ggtcaggtgt 1500
 tccattactc attcaggtgt ggtcaggtgt atcaggtgt atcaggtgt ggtcaggtgt 1560
 aatgttcaggt aaggtcaggt cgtcaggtgt atcaggtgt atcaggtgt ggtcaggtgt 1620
 aaggtcaggt cgtcaggtgt ggtcaggtgt aaggtcaggt aaggtcaggt ggtcaggtgt 1680
 cgtcaggtgt tgaatttggc ggtcaggtgt aaggtcaggt 1740

<210> 8

<211> 945

<212> DNA

<213> Paenibacillus sp.

<220>

<221> source (kaynak)

5 <222> 1..945

<223> /organism="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /note="Strain Lu16774 rpoA"
/mol_type="DNA"

<400> 8

```

gtgatagaaa tcgaaagcc gaaaattgag acggttgacg tcaatgatga tggcacctat      60
ggaaaattcg tagtagaacc gctggaacgc ggatacggta cgaacgttgg gaactcgctt      120
cgccgtattc tgttatccctc gttaccgggg gcacgcagtc catcggttca gatcgatggg      180
gttctgcacg agtttgcaac ggttcccggt gtgaaggaag acgtaacgga gatcattctg      240
aacttgaagc ctttatcgct taaatccac tcagatgaag agaaagtact tgaatcgat      300
gaggaagcgc acggaagtcg ccaggaaggt gatacagtcg cgaatagaga cgaaggaact      360
ctcaatcagc cctttcaaac tgcataagtc cgaacgggtt cgaagatcaa catcgatcct      420
cttcgaacac caggttcagc ctaagtcacg caggaatcga ctaaacagga cgaacagcag      480
ctacgagtcac ttaacgtaga ctcaacatca acttcagatg cagcagtgaa ctacgagcgc      540
gaactataga gttataggaa agtttcagaa catgaaagac tgaacttga gttcttggat      600
caggaacata ttatgattga cgaagtcgta agaatcagga ccaaaatctt gacaaagcct      660
gttcagacac tgcagagcac ccaagctcga gaaacagtcg caggaatcct gttcagatca      720
gaggaagaca ccaacagaaa ggtatcttga cgtacagtcg caggaatcga tcaatcagtc      780
cgttcaacac caggaatcga cgaagtcgta ccaatcagga ccaacagaaa cgaagtcacac      840
tctcagagac cctcagtcga gttcagtcac caggaatcga cctcagtcga cgaagtcacac      900
caggaatcga cgaagtcac cctcagtcga cgaagtcac cctcagtcga cgaagtcac      960

```

10 <210> 9

<211> 1143

<212> DNA

<213> Paenibacillus sp.

<220>

15 <221> source (kaynak)

<222> 1..1143

<223> /organism="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /note="Strain Lu17007 dnaN"
/mol_type="DNA"

<400> 9

```

atgaagatta gcattctgaa aaacgttttg aacgaggcca tacaacatgt atccaaagcg      60
atatccagtc gaacgacaat tccaattttg agtgggtatta agctggatgt gaatcaccag      120
ggagtcacac tgaccgcccag ccatadagac atctctattc aaccctttat tccgatggag      180
gatggtgacc aacgggtcgt tcagatcgaa caaccggcca gtgtagtgtt acccgctaaa      240
ttctttgtcg aaattatcaa aaagttgccg tctcaggaga tccgtatgga ggtaaaagac      300
caattccaaa cctttatctc atcgggtcgt actgaattc agatcgttgg ttgggaacct      360
gaagaatttc cgttgcttcc caacattgaa gaaatcaag tcatctctgt gccaggtgat      420
ttgcttaaaa atatgattaa acagacggta tctctatct ctaccatga aacgaacct      480
attttgactg gtgtatttgc gaactcggct gaggggcaat tgaatttgt cgcacggac      540
cgccaccgcc ttgccaccgg cagcgcctat ttggagacgt ctgaaggctt gcgttttagc      600
aatgttgtcc ttgtaggcaa aacgtcact gactgagca gaattattcc ggtacaaaat      660
atgcttcttg atatcgttgt agcggacact caggtattat tttaggtgga tgcgtgttta      720
cttactctc gcattcttga cggacactat cctgatact ctagaattat tccgacttcc      780
tacaacacag aactgattgt ggaacaaaa agtttgagtg agtctactga cgtgctttat      840
ttgctgttcc gtgaggaaa aacgaatttt gtaaaaagtc atcgtttgga aaagggtgat      900

ctagagattt cctccagctc atctgaactt ggtaaagtgc gtgaggaagt aatgttatcc      960
aaatttgagg gagagccact caaatctctg ttcaactcca aatatatgtt cgaogtgcgt     1020
aaggtaattg acagcgagca gctgacgatt gcttttaccg gcattatgag cccatttatt     1080
ttaaaaccgg cagattccag caatgcgctg tatatcctcc tgcctatctg caaacccaac     1140
tag                                             1143

```

5

<210> 10

<211> 1980

<212> DNA

<213> Paenibacillus sp.

10 <220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1980

<223> /organism="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /note="Strain Lu17007 gyrB"
/mol_type="DNA"

<400> 10

```

atggtcgaca aaatcgactt gtctgcggya gcttcggtta cacagaacgy agcttcagaa      60
tatggcgcgq adgacattca agtgcctogaa gggcttggtg cagttcgcaa acggccggggc      120
atgtacatcg qgagcaccag ttcttoggga ctgcattcatt tggtagggga aattgttagac      180
aacggggttg atgaacatct cgcacaagtt tgcctctogaa ttgatatcac aatgcataag      240
gacgggttctg ttacagttac agacaacggg cgcggtatct ctacgggaat gcacaaatg      300
ggaattccta cgcctcaagt tgtattcacc attttgcaag ccggaggtaa gtttgcggt      360
tcgggatata aaaagtcagg ggtctgcatt ggggtaggtg cgtctgtaac gaacgctctt      420
tcggaatggc ttgaagtggg aatctacagg gacggcaaga ttacagttca gcggtttgaa      480
tattggcagg acaagaaggg cgtggagcat gtcggtgaac cgaccacagg ctttgaagtg      540
ctgggcacaa ctacaaagaa gggctcgaaa attacattta caccggatah tggggttttt      600
cagtagggaa ctacttttaa ctacgattag ctgggtcgaa gacttagga gattgacttt      660
atggtttcag gctctggtat tgggtctaat ggggaacgaa gggggaagta aggtgactat      720
tctctatggg ctggggaagg tgggttgggt ttttttttga ctggggttaa ggttctatgt      780
aaagctgtta ttaactttta tggggaagaa gggggaaggt aatgggaagt tggggtctaa      840
taaatggcg gctaacagg gactatggtt tgggtcgata acctacttca gacacgttgg      900
ggggttargt atgaacagg attctaaac gcttactctc gtatctgaa cgcctatgaa      960
cgcaaacag cgtctgttga ggaagagat aactacatgy aaggtaacga tctgcgtgaq      1020
gctatgtatg ctgtaacag tctcaagatg gcggaggttg aattgttogg taagacaaa      1080
gctcagatgy ctgtgctttt ggggtggagt aaagtgatg cactgtatc tgaacaaatg      1140

```

```

cagcgctttt tggaggaaaa tccacagata ggcgaacct tgatcagaaa ggcagttcaa      1200
gcattccaaag cgcgtgaagc tgcacgtaag gctcgggacg aaatgcgttc tggcaagaaa      1260
cgcagtgaag gttctaattt gaatggcaaa ctgtcgcttg cgcagttctaa ggattttaca      1320
cgtaatgagt tatttatcgt ggaagcgat tcggctggag gatcggcaca acaaggacgg      1380
gattccaaaa tccaggcaat ttgccgtta aagggcaagc cgatgaatcc ggaasaatca      1440
aagttggcgg stattatgaa aatgatgag tatcgtgcga ttacggcagc gattggcgcg      1500
ggggtaggaa ctgagttcac gctggaagac agcaattatt ccaaatcat cattatgacc      1560
gatgcagata caatgggcgc gcacattcaa gtactgttgc tgacgttctt ttatcggtag      1620
atgaasgaac tcattgatgc aggacgcata tttattgctc agccgccatt gtataaata      1680
aagcagcaga cgcgtcagca agcagcgttc agcagcagca ggcagcagca ggcagcagca      1740
aagcagcaga cgcgtcagca agcagcgttc agcagcagca ggcagcagca ggcagcagca      1800
aagcagcaga cgcgtcagca agcagcgttc agcagcagca ggcagcagca ggcagcagca      1860
aagcagcaga cgcgtcagca agcagcgttc agcagcagca ggcagcagca ggcagcagca      1920
aagcagcaga cgcgtcagca agcagcgttc agcagcagca ggcagcagca ggcagcagca      1980

```

<210> 11

<211> 1116

<212> DNA

5 <213> *Paenibacillus* sp.

<220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1116

<223> /organism="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /note="Strain Lu17007 recF"

10 /mol_type="DNA"

<400> 11

```

gtgttttgtg acaacattgt ttgtcagcag taccggaact ataacagct ggagctgaat      60
gaattcgggc ccgttaattt gctgatcgga caaatgcgc aaggcaaaac gaatctggtt      120
gaggcgattt ttgtattagc cttaactaaa agtcaccgaa cgtcccgta caaggaatta      180
atttcttttcg gggctacttc cacacatcta gctgctgatg tggataagaa atacgggaaa      240
atcagattgg atctctcggt atccacacaa ggczaaaaag caaagatcaa cgggctagag      300
cagcgaaagc tgagcgattt tatcggttcg ttaaacgtgg toatgtttgc gcccgaggat      360
ctggaaattg tcaaggauc aacgggggtt cgcgcgcgtt ttcttgacat ggaatttga      420
caagttgcgc caggatattt gtatcatttg cagcaatata agaagtgct ggttcagcgg      480
aataacctgc tcaagcaagc ttgggggaaa gatatggcgt ccgtgcgct gatgctggag      540
gtatggaatg agcaacttgt tgagcatggt gttaaaattg taaaaagcg gsaacaattt      600
atacaaaagc taaaaagtg ggcccaagc attcatgag ggattgcagg tgggacagaa      660

gagttaaaat tagcctatgt tccctctttc ggtgagcag aggaagaaga tgaagctgtc      720
ttattggagc gatitatgat aaagttatcc caatgaggg aacaggaat ccgcctggc      780
atgacttttg cgggacccca tegtgatgat ttggcctttg ccattacgg cagagaagtg      840
atcagcttgg gttccttggg gttgcttggg atcagcttgg tgaagcttgg gttgcttggg      900
atcagcttgg gttccttggg gttgcttggg atcagcttgg tgaagcttgg gttgcttggg      960
atcagcttgg gttccttggg gttgcttggg atcagcttgg tgaagcttgg gttgcttggg      1020
atcagcttgg gttccttggg gttgcttggg atcagcttgg tgaagcttgg gttgcttggg      1080
atcagcttgg gttccttggg gttgcttggg atcagcttgg tgaagcttgg gttgcttggg      1140

```

<210> 12

<211> 1719

<212> DNA

5 <213> Paenibacillus sp.

<220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1719

<223> /organism="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /note="Strain Lu17007 recN"

10 /mol_type="DNA"

<400> 12

atgctggtca	ctttgtctat	acggaatttg	gcagtcgtag	aagctgtcga	tgttcatttt	60
tataaaggat	ttcattgtatt	gagcggagaa	actggtgctg	gtaaatccat	tattatcgac	120
gcacttgggc	tgattgcggg	cggcagggga	tctgctgata	tagtgcgtta	cggatgtgat	180
aaagccgaaa	tggaaagcctt	gtttgaattg	ccggtcaaac	atcccgtttg	gaatacgttg	240
gaggaacsag	ggattaaggc	taatccagaa	gagcatttgc	tgattcgtcg	agaacttaca	300
gttcagggga	aaagctcctc	tcgaattaac	ggtcagatgg	ttaatttaac	gatgctgcgt	360
gaggtagggt	agcaactcgt	taatatccac	gggcagcatg	agcatcaaaq	cttgctgcgt	420
gaggatcgcc	atcttgccgt	gtcggatcag	ttcgggtgact	cggtoatttg	tcagtcacaa	480
gcgctttacc	gggagcgcta	caatgccttt	gtcaaaagcgg	aaaaagaagt	agagaatttg	540
caaagctcca	gtcaaaaaggc	ttatcagcta	ttggacatgt	atcgcttcca	attggaagag	600
atcgctgcgg	cgyagttaaa	attggygttaa	gatgaattat	tggcagagga	acggytcaag	660
ctatcccata	gtgagaaaat	gatggatgga	gtatcaggag	catacgagct	gttaagtggc	720
agaggtggtc	tggatacggc	caataacgtg	ttgtccagat	taattgatgt	tcagagttac	780
gacagtaaaa	gccttcagcc	cattgcggag	cagattcaat	ctgctttcta	tcagttggag	840
gatgcagcgt	ttcaattacg	ctcttatcgt	gaggatattg	aatttaactc	gggnaagctg	900
catgaggtgg	agcaacgttt	gaatcaaat	acggggttac	agcgaaata	tggatgaggt	960
atagagcaga	ttttggaata	ctatagccgt	attgagcagg	aaaccgatct	gttggaaaat	1020
aaagatgagc	ggttggaaca	gttcattgca	agcggggttg	agttgcttcc	gaatttgctg	1080
gagattgctg	aagagcttac	agaggcacgt	gaaatttgctg	ctgaagagct	tgcagagcaa	1140
gtagagcagg	sattaaaaga	tcttcaaatg	gaaagmacgt	cactcaaggt	gcgtattgat	1200
ccaattgaag	atccacgtgg	atatgaatat	aaaggtctaa	aggtacgacc	taccaagcaa	1260
gggatagata	atgcgggaatt	tctgatttcg	cccaatccag	gtgagccact	tcgccactc	1320
ggtaaaatcg	cttcgggtgg	tgagttatca	cgtatcatgt	tggcgatgaa	aaglattttt	1380
gcgcgtcatg	atcaaatcc	ggtgctcatt	tttgacgagg	tggataccgg	ggttaagtgt	1440
cgtgcagctc	agtcacatgc	cgagaagcct	tatcgtttgt	cttcggtttg	tcaggtgttt	1500
tccattactc	atttgccgca	ggtggcatgt	atggcagatc	atcagtaact	gattgagaaa	1560
aatgttcattg	acggacggac	catyactcaa	attgagggac	taacggagga	aggtcgtgtt	1620
aagggaattgg	cacggatgct	gggtggggtg	gaaattaccg	aaaaaacatt	gcatacagca	1680
caggaaatgc	tgaatttggc	ggaaggaaag	aaagcctga			1719

<210> 13

<211> 945

<212> DNA

<213> Paenibacillus sp.

<220>

<221> source (kaynak)

5 <222> 1..945

<223> /organism="Paenibacillus polymyxa spp. plantarum" /note="Strain Lu17007 rpoA"
/mol_type="DNA"

<400> 13

```

gtgatagaaa tcgaaaagcc gaaaattgag acggttgacg tcaatgatga tggcaactat      60
ggaaaatttcg tagtagaacc gctggagcgc ggatacggta cgaagcttgg gaactcgctt      120
cgccgtatctc tgttatccctc gttaccgggg gcagcagtcg catcggttca gatcgatggg      180
gttctgcacg agtttgcaac ggttcccggt gtgaaggaag acgtaacgga gatcattctg      240
aacttgaaag ctttatcgct taaaatccac tcagatgaag agaaagtact tgaatcgat      300
guggaaggcg aaggagttgt aaaggcaggt gatatccgtg cggatagtgz tytggaatt      360
cttaatcggg atcttcaaat tgcacgcctc ggacccgggt cgaagattca catcgctatt      420
tttgccaatc ggggtcgggg ttacgttaag caggatcgga ataaacgtga tgaaccgcgg      480
atcggcgtca ttcccgtcga ctccatctac aotccgattg cagcgctgaa ctacggcgta      540
gaaaatacgc gtgtcggcca ggttacgaat tatgacaagc tgacaattga ggtttggact      600
gacggaaacta ttccgtctga agaagctgtg agccttggag ccaaaatttt gacccagcat      660
gtgatgctat tcgtgggtct caccgatgaa gcasaagatg cagaatttat ggtcgaaaaa      720
gaagaagaca aaaaagaaa agttcttgaa atgacgatcg aagagctgga tctctccgtc      780
cgttccctata actgccttaa ggcgctgggt atcaatacgg tacaagaact caccactaaa      840
tctgaagaag atatgatgaa ggtccgtaac ttggytcgca aatctttgga agnagtacaa      900
gagaagctcg aggaacttgg tttaggactt cgtacggang attag      945

```

10 <210> 14

<211> 1143

<212> DNA

<213> Paenibacillus sp.

<220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1143

<223> /organism="Paenibacillus epiphyticus" /note="Strain Lu17015 dnaN" /mol_type="DNA"

<400> 14

```

atgaagatca gcattctgaa aaacgttttg aacgagguta tacaacatgt atccaaagcg      60
atatcaagtc ggaatacgaat tccattcttg agtggctatc agctggatgt gaatcaccag      120
ggagtaacgc tgaccgccag cgatacagac atctccattc aatcctttat tccgatggag      180
gatggtgacc aaactgttgt tcaggtcgaa caacccggca gtgttgtgtt gcttgccaaa      240
ttctttgtcg aaattatcaa aaagttgccg tcgcaggaga tccatctgga ggtaaaagac      300
caatttcaaa cttttatctc gtctggcgca actgasattc agattgttgg ctgggacct      360
gaagaattcc cgtgtcttcc caacattgaa gaaaatcaag tcctctctgt accaggagat      420
ttacttaaaa atatgattaa acagacggtc ttctccatct ccacccacga aacgacaccg      480
attttaactg gcgtgtttgt gaatctggct gagygtgaat tgaagtittg ggcaacggac      540
cgccaccgcc ttgccaccgc tagcgtctat ttggagacgt ctgaaggctt ggtttttagc      600
aatgttgtca ttgcgggcaa aacgtgtgat gagctgagca gaattattcc agatcaaat      660
atgcttgttg atatcgtagt agcggacact caggtattat tcaagctaga tgggtgtcta      720
tittattccc gcctcttggc cggcacctat cctgataact ctagaattat tccgacctcc      780
tccaaaacag aactgattgt ggtacaaaa agtttsagtg agtcaattga ccgtgcttat      840
ttgctgtccc gtgaggaaaa aacgaattat gtaaaaatgc agtcgctgga aactgcccgt      900
ttggagattt cctctagttc ctctgagctt ggcnaagtcg gtgaggaagt aactgtgtcc      960
aaatttgagg gagagccgct caaatatttg tttaactata aatacatgct cgaactgtct      1020
aaggtgattg acagcgagca gctgaagatt gcttttaacg gaattatgag cccattatt      1080
tcaaaacccg ctgathccag caatgogctg tatatcctcc tgcctatag cacaanccac      1140
tga                                                                 1143

```

5

<210> 15

<211> 1980

<212> DNA

<213> Paenibacillus sp.

10 <220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1980

<223> /organism="Paenibacillus epiphyticus" /note="Strain Lu17015 gyrB" /mol_type="DNA"

<400> 15

```

atggtcgcaca aaatcgactt gtctgcggga ggttcgggca cacaagcgg agcttcggaa      60
tatggcgccg acgacattca agtgcctcga gggcttggtg cagttcgcaa acggcggggc     120
atgtacatcg ggagcaccag ttcttcgggg ctgcctcatt tggtatggga aattgtagac     180
aacgcggtgg atgaacatct cgcgaagttt tgctctcgca ttgatattac aatgcataag     240
gacgggttcg ttacagttat agacaacggg cgcgggtatt ctacgggaat gcacaaaacy     300
ggaattccta cgcctcaggt tgtattcacc attttgcacg ccggaggtaa gtttggcggt     360
tcgggatata aaaaatccgg gggctcgcac ggtgtaggtg cgtctgtaac gaacgctcct     420
tcggaatggc ttgaagtaga aatttacogg gacggcaaga ttcaccgtca ggggtttgaa     480
tattgcgcgg acaagsaggg cgtggagcat gtccgggaac cgaccacagg ccttgaagtg     540
ctgggcaata ctaacaagac gggctcgcaa attacattta aaccggatat tcgtgttttt     600
caygcaggca ttcaatttaa ctacgatacg ttggctgaga gccttcaggc aattgccttt     660
ctaaattccg gccttcgtat taaactttaa gacgaacgca ggggaagtc agatgagtat     720
tttatgaggg gtggcgaaag taagtttgtt gattttctga atgagggcaa ggaatgtggtg     780
catgacgita ttcaatttaa tgcagagaa gaaagcattg aatgagagat tgccttcag     840
tacaatgctg gttatccaga gacgattgct tegttcgtta actccattcc gacacgttga     900
ggaggtacgc atgacccggg attcaaaacc gcttacactc gtgtcttgaa cgactatgcc     960
cggaaaacgg tgatgtttga agaaaagcat aaaaacttgg agggacacga tctacgtgag     1020
ggatgtatgg atgtatccag tgtacagatg gctgaggttg aatttgcgg ccagacaaag     1080
gatcaggttg gaaacgcttc ggcacggggt acagtggagt ccctcgtctc tgaacaggtg     1140
cagcgttttt tgaagagaa tccgcagata gacaaaactt tgaacaaaga ggcagttcaa     1200
gcctccagag cactggaagc tgcacgttaa gctcgggatg aattgcgttc cggtaaaaag     1260
cgcagtgaaa gttccaatit gaatggtaaa ctatcccttg ccacgtccaa ggaattttac     1320
cgtaatgagt tgtttattgt ggaaggcgat tcggctggag gatcagccaa gcaaggacgg     1380
gattccaaa ttacagccat attgcggcta aagggcagac cgatgaatcc ggaaaaatcc     1440
aaactggcgg atattatgan gaatgatgag taccgtgcta ctacagcagc tattgtgtcg     1500

```

```

ggagtaggaa cagagttttc gctggaagac agcaattatt ccaaaatcat cattatgacc      1560
gatgcagata cagatggtgc gcacattcaa gtgctgttgt tgacgttctt ttatcggtac      1620
atgaaagagc ttattgatgc aggacgcata tttattgctc aacggccatt gtataaata      1680
actcgaaagt cgggtaaagt cgaaacggtg cgttatgctt ggactgacga gcagcttgat      1740
aattatttaa aagaatttgg acaaatctt gagcttcagc gctataaagg acttggggaa      1800
atgaaccctg atcagttatg ggaacaaacg atgaatcccg attcacgcac cttgctacgc      1860
gttcagatag aggatgcagc caaggttgaa cgcagggtgt ccactttgat gggtagataag      1920
gtggatccgc gcaagcgtcg gatcgtgga aacgtagatt ttacggaata cgtagagtag      1980

```

<210> 16

<211> 1116

<212> DNA

5 <213> Paenibacillus sp.

<220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1116

<223> /organism="Paenibacillus epiphyticus" /note="Strain Lu17015 recF" /mol_type="DNA"

10 <400> 16

```

gtgttttgtga acaacattgt tttgcagcag taccggaact atgaacagct ggagctgaat      60
gaattttgggc ccgttaattt gctgatcgga caaatgccc agggcaaac gaatctggtt      120
gaggcaattt ttgtactggc tttaaccasa agtcacgaa cgtcccgca caaggagtta      180
atctctttcg gggtacttc cactcaccta gctgcggatg tggataaaa ataccggaaa      240
atcagactgg atctcgcggt atccacacaa ggcaaaaaag caaagatcaa cggactggag      300
atcagactgg atctcgcggt atccacacaa ggcaaaaaag caaagatcaa cggactggag      360
atcagactgg atctcgcggt atccacacaa ggcaaaaaag caaagatcaa cggactggag      420
atcagactgg atctcgcggt atccacacaa ggcaaaaaag caaagatcaa cggactggag      480
atcagactgg atctcgcggt atccacacaa ggcaaaaaag caaagatcaa cggactggag      540
atcagactgg atctcgcggt atccacacaa ggcaaaaaag caaagatcaa cggactggag      600
atcagactgg atctcgcggt atccacacaa ggcaaaaaag caaagatcaa cggactggag      660
gagttasaat taactatgt tccctccttc agtgagcag aggaagaag tgaagctgtc      720
ttattggagc gatttatgat aaagttatcc caaatgaggg aacaggaat ccgccgtggc      780
atgaactttg cgggaccca tegtgaagat ttggcctttg ccattaacgg cagagaagtg      840
catacgtatg gctctcaggg gcagcagcgg acgacggccc tgtccttgaa gttggccgaa      900
atagagttaa ttcatgagga aattggtgaa tatcctgtct tctgcttga tcatgtcttg      960
tccgagctgg accctatctg tcagaccag ctgatcgaga ctttccaaag caaggtacag      1020
acctttatca cggcaaccgg ggttgagact ttgaacgcag aacgactcaa ggtgccaat      1080
atztatcag tccacgacgg gcatgtgga cactaa      1116

```

<210> 17

<211> 1719

5 <212> DNA

<213> Paenibacillus sp.

<220>

<221> source (kaynak)

<222> 1..1719

10 <223> /organism="Paenibacillus epiphyticus" /note="Strain Lu17015 recN" /mol_type="DNA"

<400> 17

atgctggtca	ctttgtctat	acggaatttg	gcggtcgtag	aggecgtcga	tggttcatttt	60
tataaagggt	ttcatgtctt	gagcggggaa	acaggtgctg	gtaaatccat	tattatcgat	120
gcgcttgccc	tgattgcagg	cggtaggggc	tctgctgata	tagtgcgta	cggttgat	180
aaagcagaga	tggaagcctt	gtttgagctg	cgggtaaaac	atccagtttg	gaaaacactt	240
gaggaacaag	ggattiaaggc	caatgcggag	gagcatttgc	tgattcgtcg	cgaacttacg	300
gttcagggga	aaagctcttc	togaattaac	ggtcagatgg	ttaatttaac	gatgctgcgt	360
gaggtaggtg	agcagctcgt	caatctccac	gggcaacatg	agcatcaaa	cctgctacgt	420
gcagatogcc	atctggcgct	gctggatagc	ttcgggtgatt	cggtgatcgg	tccagtcas	480
acgctttacc	gtgagcgcta	caatgctttt	gtcaaaaggg	aaagaaggt	aaagaaactg	540
caaagctcca	gtcaaaaaggc	ttatcagctt	ttggatatgt	accgatttca	attagaagag	600
atcgctgcgg	cggagttgaa	attgggagaa	gatgaattat	tggcagagga	acgggtcaag	660
ctatcccata	gtgagaaat	gatggatggg	atatcaggag	catacgaact	gctaagcggc	720
agaggtgggc	tggatagcat	caatacgtta	ttgtctagat	tgaacgatgt	ccaaagctat	780
gacagcaaaa	gctttuagcc	cattgcggag	cagatttcgt	ctgcttttta	ccagttagag	840
gaggaagcat	tccaattacg	ttcttatcgt	gaggatattg	aatttaaccc	aggaagctg	900
catgaagtgg	agcaacgttt	gaatcaaat	acggatttac	agcgaataa	tgtgtatagt	960
atagagccga	ttttggata	ctatagccgt	attgagcagg	aaacggatct	gctggaaat	1020
aaagatgagc	ggtgagagca	gtcatttcca	aaacgggatg	agttgctttc	cgatttgctg	1080
gagatttcag	aaagccttac	agaagcaagt	gaaatttggt	ctgaagagct	tgcagagcaa	1140
gtggagcagg	agttaaaaga	cctgcagatg	gaaagaacgt	cactcaaggt	gcgcattgat	1200
ccaattgaag	atccacgggg	atatgagtat	aaaggtctga	aggttaaggcc	taaccaagcaa	1260
ggaattgata	atggggcaat	tcttatttca	ccaatccag	gtgagccact	acgtccactt	1320
ggtlaagatcg	cttuaggccg	tgagctatca	cgtatcatgt	tggcgatgaa	aagtattttt	1380
gcgcttcgtg	atcaaatctc	agtactcatt	tttgacgagg	tggataccgg	ggtgagtggt	1440
cgtgcagctc	aatccattgc	cgagaagcta	tatcgtttat	cttcggtttg	tcaggtgttt	1500
tccattactc	atttgccaca	ggtggcatgt	atggcagatc	atcagtacct	tattgagaaa	1560
aatgttcattg	atggacggac	catgactcaa	attgagggac	ttacggagga	cggtcgctgc	1620
aaaggaattgg	caaggatgct	gggcggcggtg	gaaattaccg	aaaaaacatt	gcacacgca	1680
caggaaatgc	tgaatttggc	ggaagggaag	aaagcctga			1719

<210> 18

<211> 945

<212> DNA

<213> Paenibacillus sp.

<220>

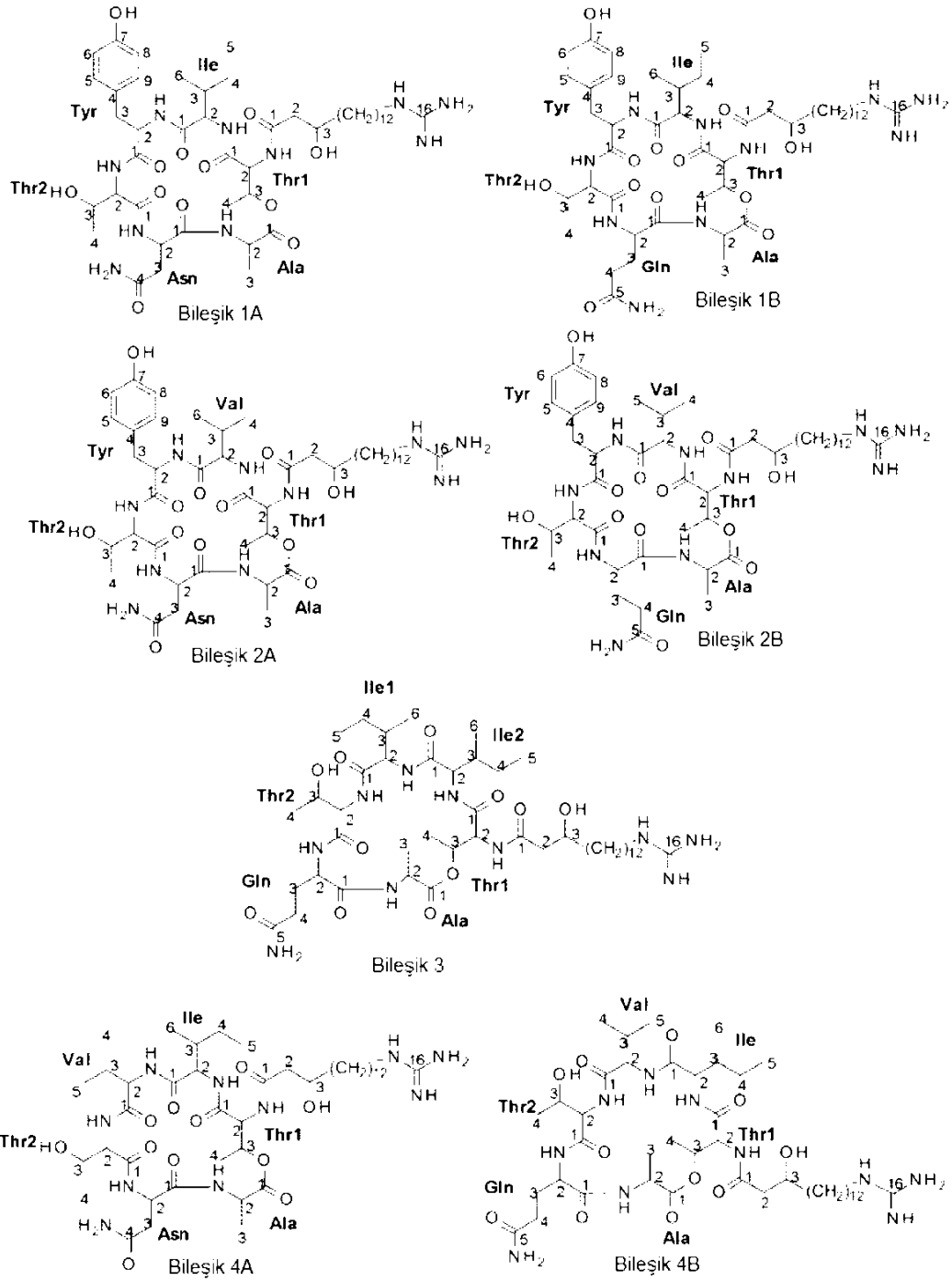
<221> source (kaynak)

5 <222> 1..945

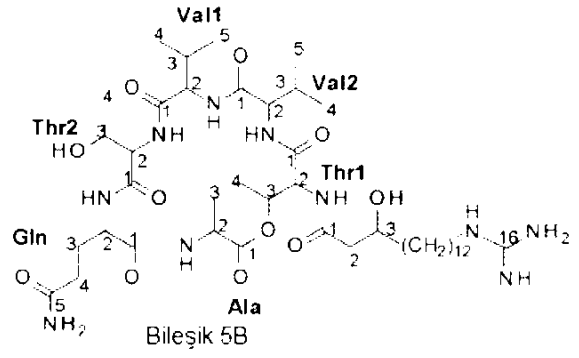
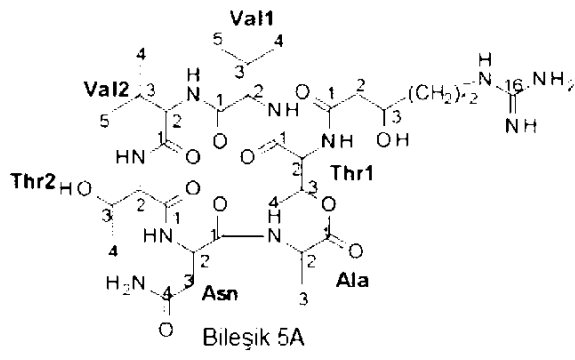
<223> /organism="Paenibacillus epiphyticus" /note="Strain Lu17015 rpoA" /mol_type="DNA"

<400> 18

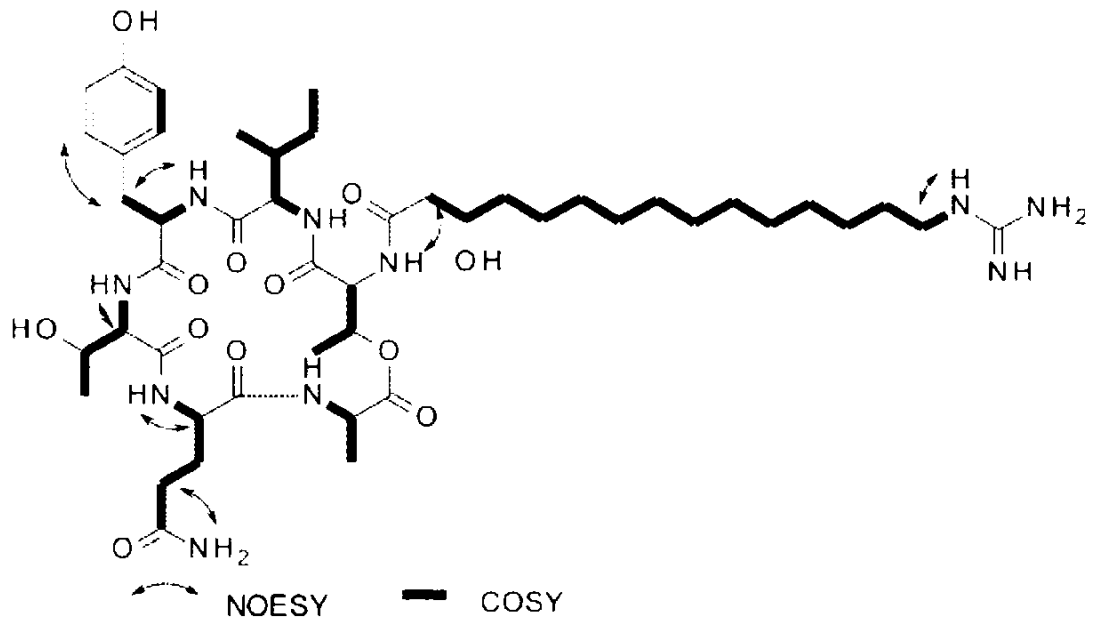
Şekil 1



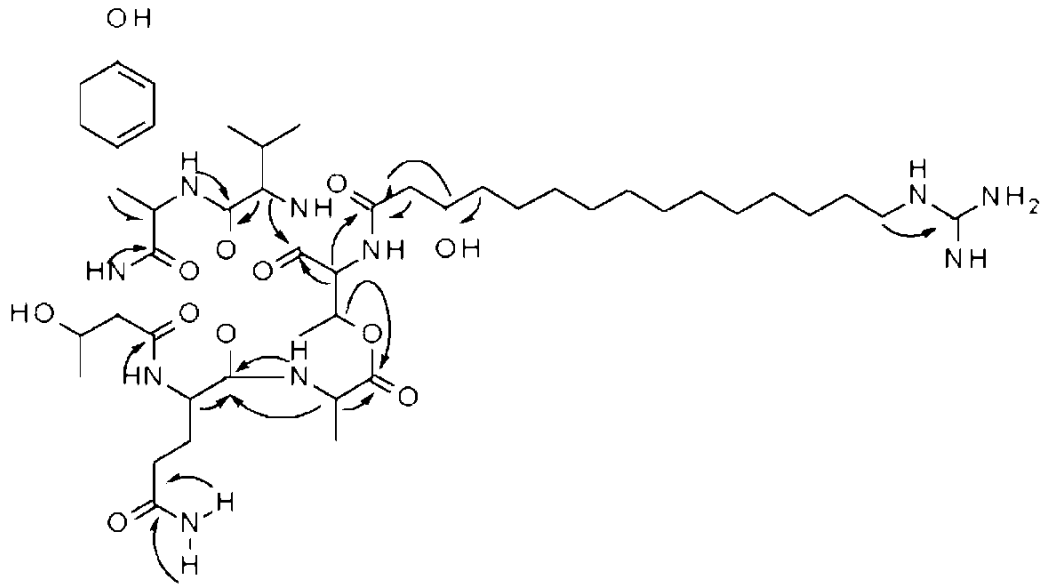
Şekil 1 devamı



Şekil 2

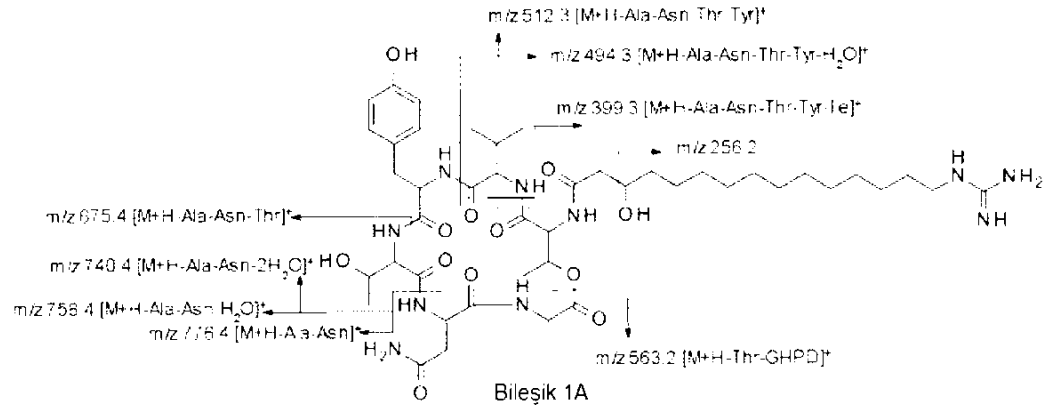


Şekil 3

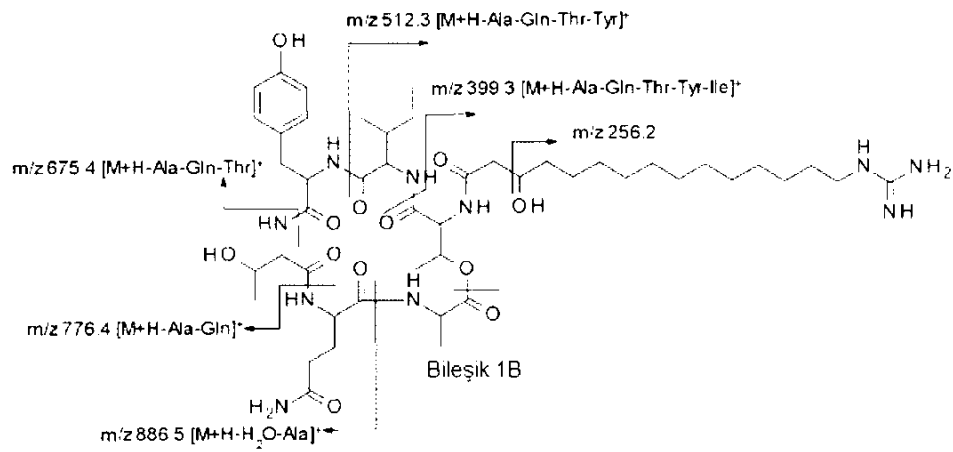


Şekil 4

a)

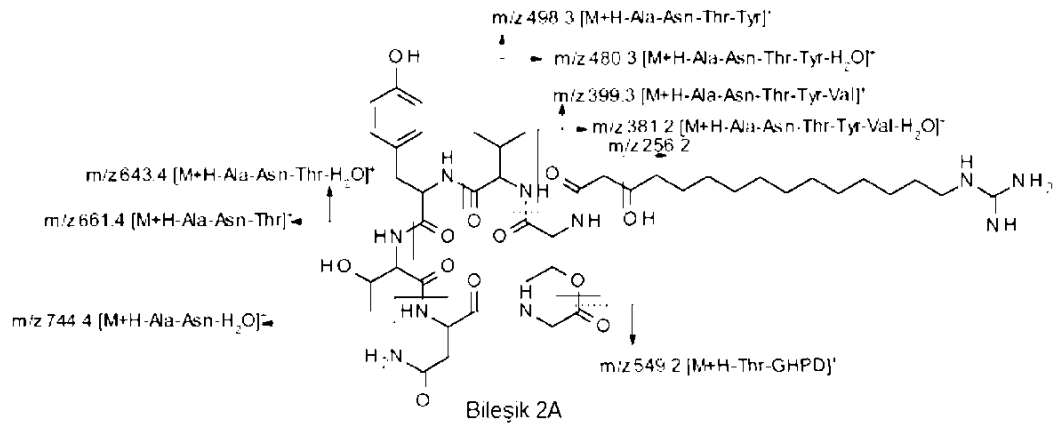


b)

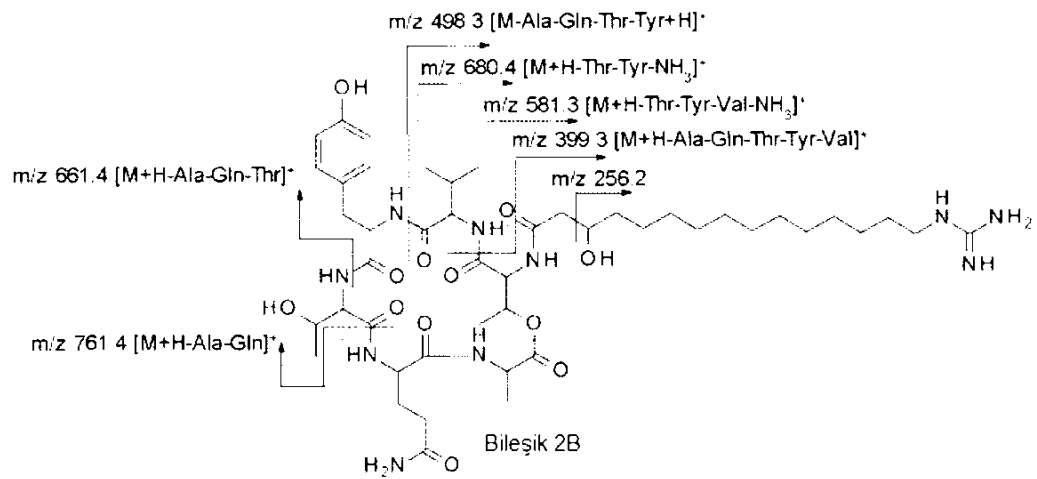


Şekil 5

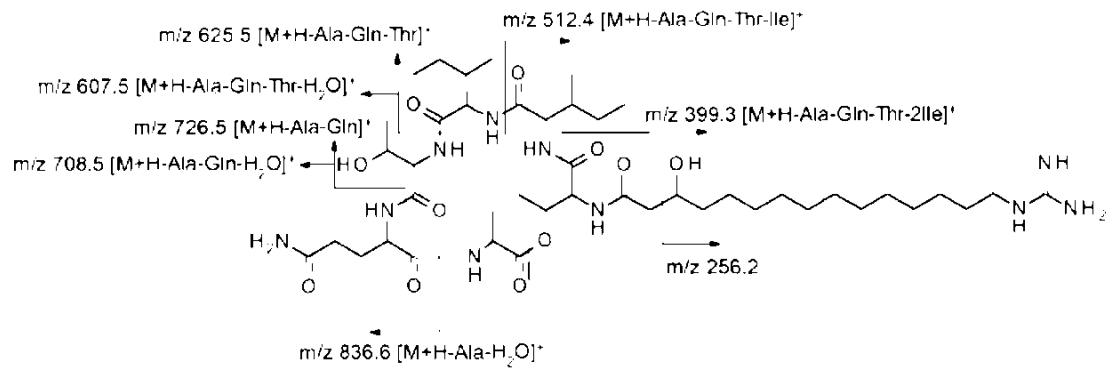
a)



b)

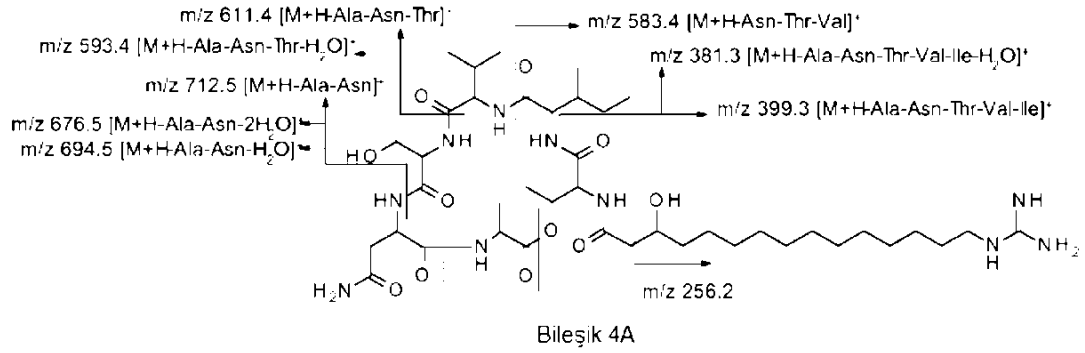


Şekil 6

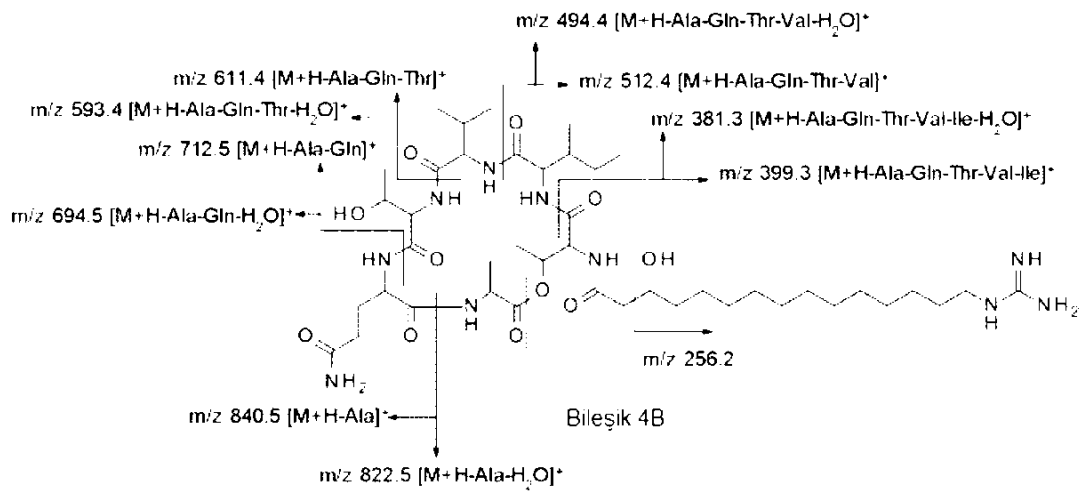


Şekil 7

a)

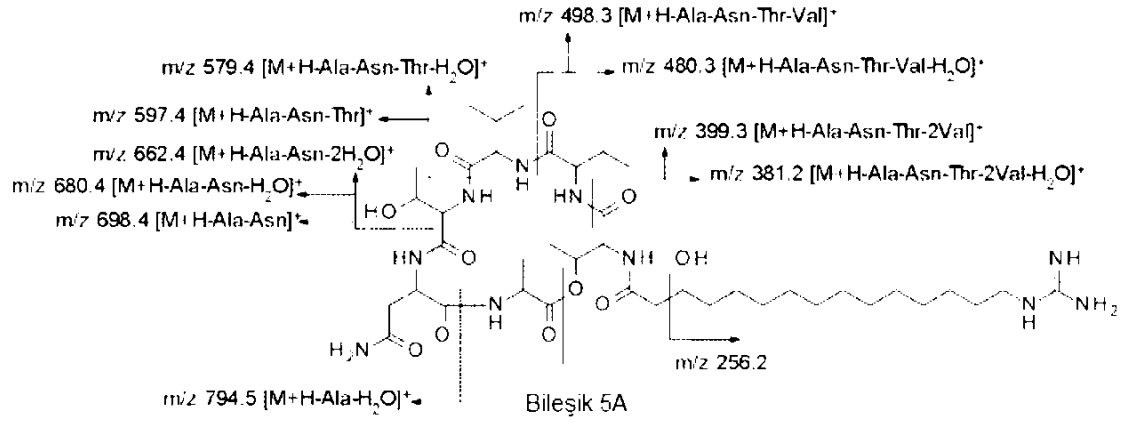


b)

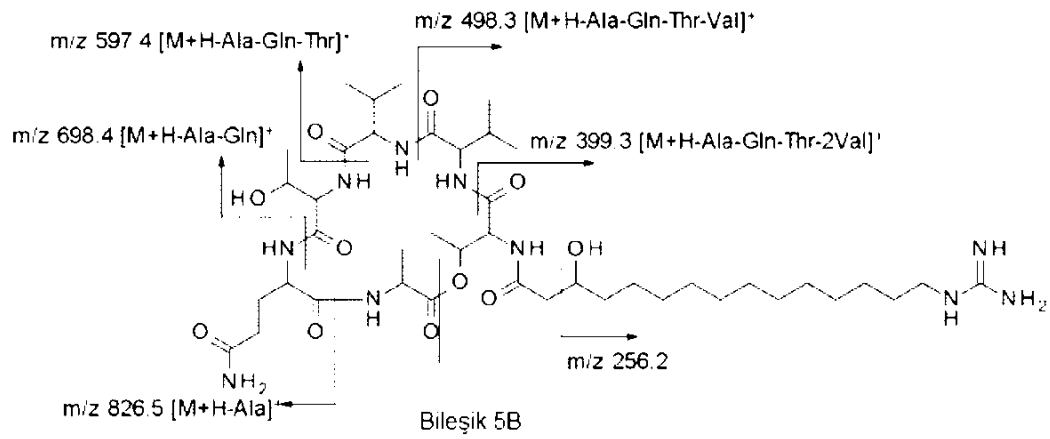


Şekil 8

a)



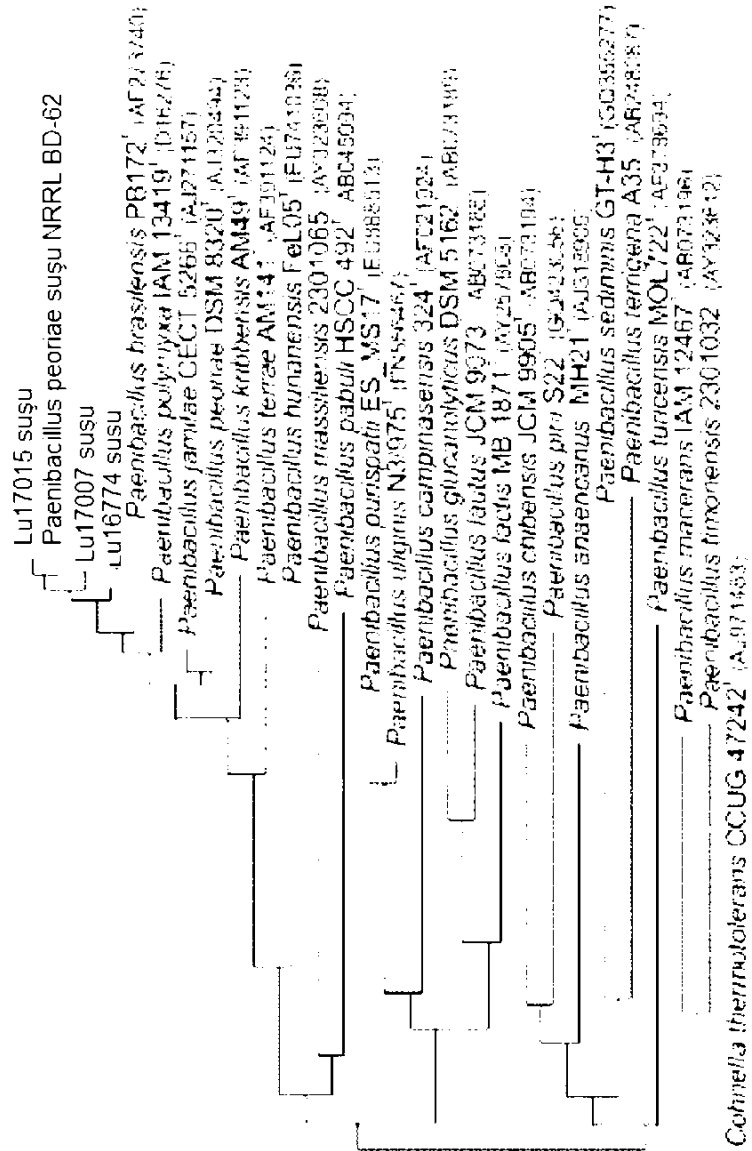
b)



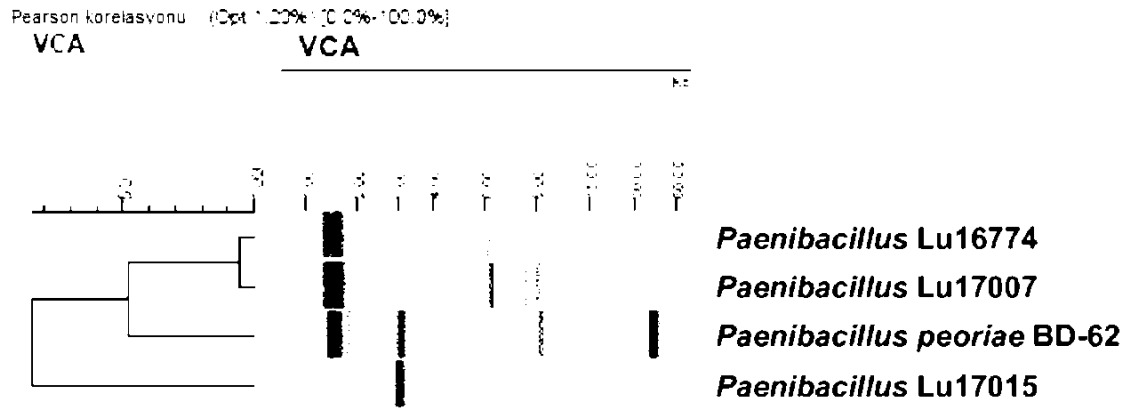
<i>Paenibacillus</i> suşlarının tam 16S rDNA sekansının çoklu sekans hizalamasından sonra ilgili taksonlarla özdeşliği (%)																											
Suş no. *	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27
16	94.4	94.2	94.3	94.1	94.6	94.2	94.4	94.0	94.2	95.2	94.3	93.7	94.7	94.7	94.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
17	94.7	94.8	94.7	94.9	94.0	94.7	94.7	94.4	94.3	94.6	94.7	95.5	94.4	94.6	94.4	94.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
18	99.8	99.8	99.8	100.0	94.7	99.4	95.8	93.8	94.4	96.1	99.8	99.3	95.8	95.5	95.4	94.1	94.9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
19	93.8	93.9	93.8	93.8	96.8	93.7	93.9	96.1	94.5	93.7	93.8	93.6	94.7	95.1	95.1	94.0	94.4	93.8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	99.3	99.2	99.3	99.2	94.6	98.8	95.5	93.6	94.2	95.9	99.3	98.5	95.5	95.2	95.0	93.8	94.4	99.2	93.7	-	-	-	-	-	-	-	-
21	96.0	96.1	96.0	95.9	96.4	95.9	97.4	95.1	95.4	95.5	96.0	96.3	96.3	96.1	95.7	95.4	95.5	95.9	94.6	95.5	-	-	-	-	-	-	-
22	93.2	93.1	93.2	93.1	94.8	93.1	93.6	93.9	92.8	93.6	93.2	93.3	93.6	92.9	94.2	93.1	92.4	93.1	94.2	92.9	93.9	-	-	-	-	-	-
23	92.8	92.8	92.8	92.8	94.7	92.7	93.5	93.7	92.7	93.9	92.8	93.2	93.5	93.2	93.6	93.2	93.4	92.8	95.1	92.6	93.9	94.5	-	-	-	-	-
24	98.8	98.9	98.8	98.6	94.9	98.8	95.5	93.9	94.3	96.4	98.8	97.9	95.5	95.2	95.3	94.4	94.7	98.6	94.2	98.2	95.9	93.2	92.8	-	-	-	-
25	96.0	95.9	96.0	95.9	96.2	96.0	95.5	95.4	95.7	94.9	96.0	95.3	95.8	95.6	97.6	95.3	94.7	95.9	95.8	95.5	96.1	94.3	94.4	96.4	-	-	-
26	94.3	94.2	94.3	94.4	95.5	94.3	94.4	94.3	93.8	94.7	94.3	94.0	94.8	94.1	94.6	94.3	93.8	94.4	94.7	94.0	95.3	93.6	94.1	94.5	95.5	-	-
27	95.5	95.6	95.5	95.4	96.0	95.5	97.1	95.1	95.5	95.1	95.5	95.8	96.2	96.3	95.5	95.4	95.6	95.4	94.4	95.1	99.3	93.6	93.8	95.2	96.2	94.9	-
28	91.5	91.4	91.5	91.5	91.4	91.3	92.6	91.5	91.6	90.2	91.5	91.9	92.4	92.1	92.1	90.9	91.6	91.5	91.2	91.1	91.6	91.3	90.9	91.0	91.8	91.1	91.6

Şekil 9 devamı

Şekil 10



Şekil 11



Şekil 12

[illegible]

Şekil 13

[illegible]

Şekil 14

[illegible]

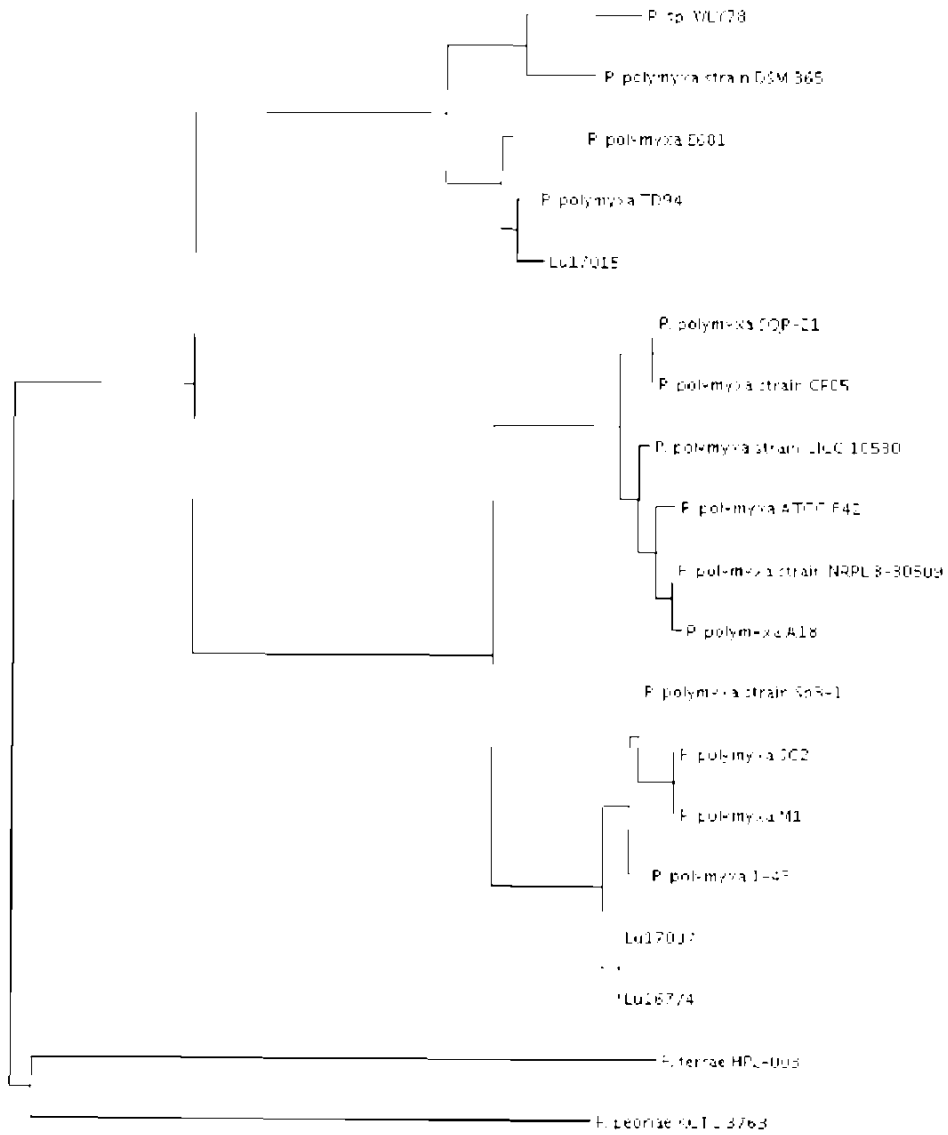
Şekil 15

[illegible]

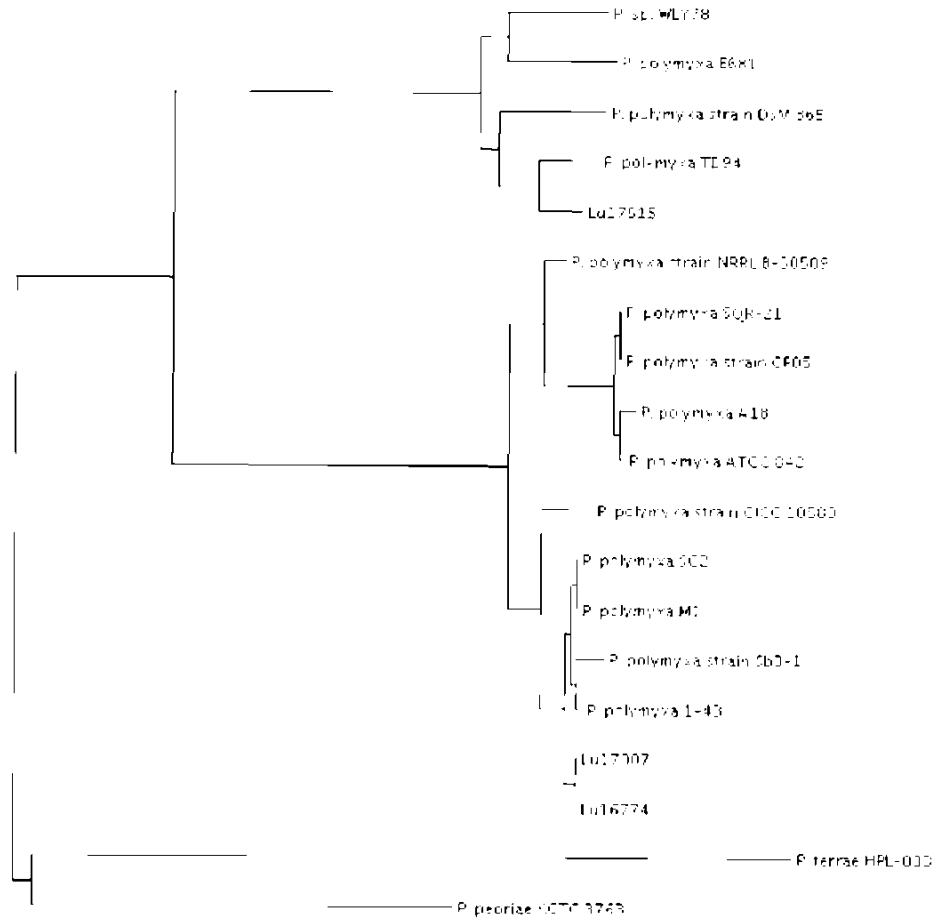
Şekil 16

[illegible]

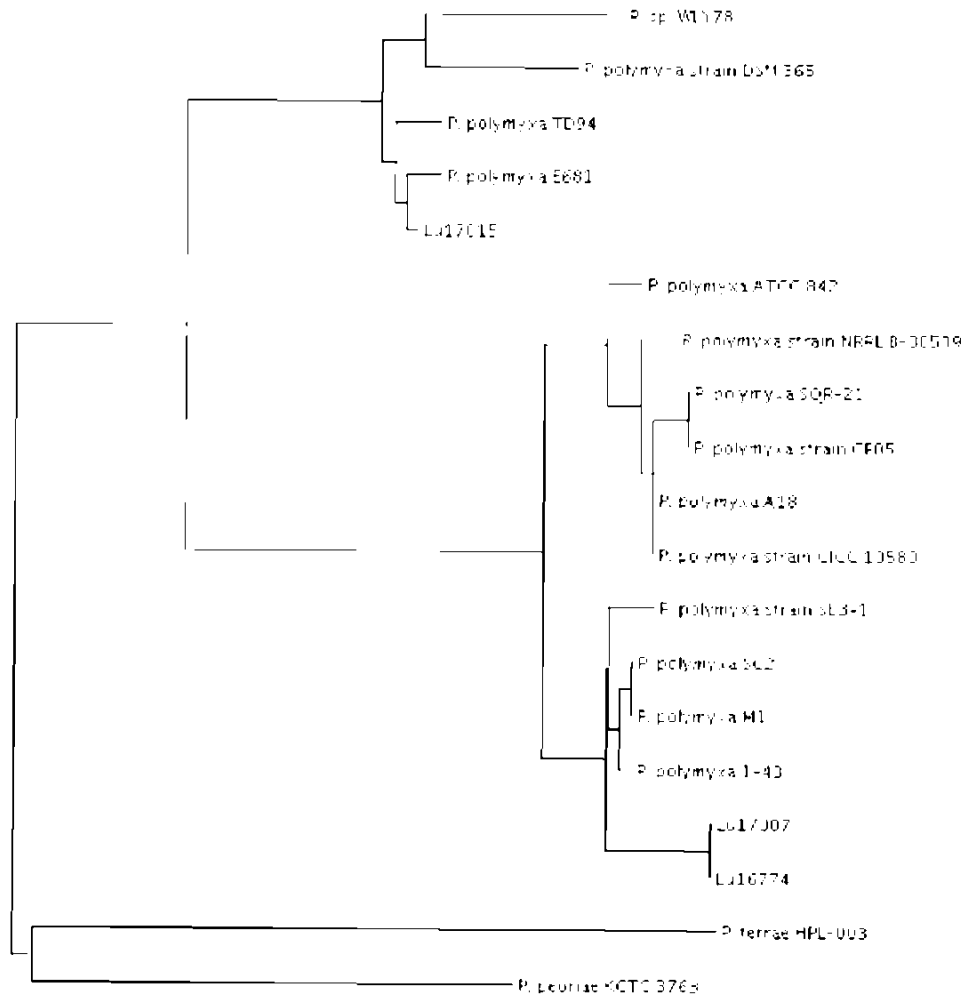
Şekil 17



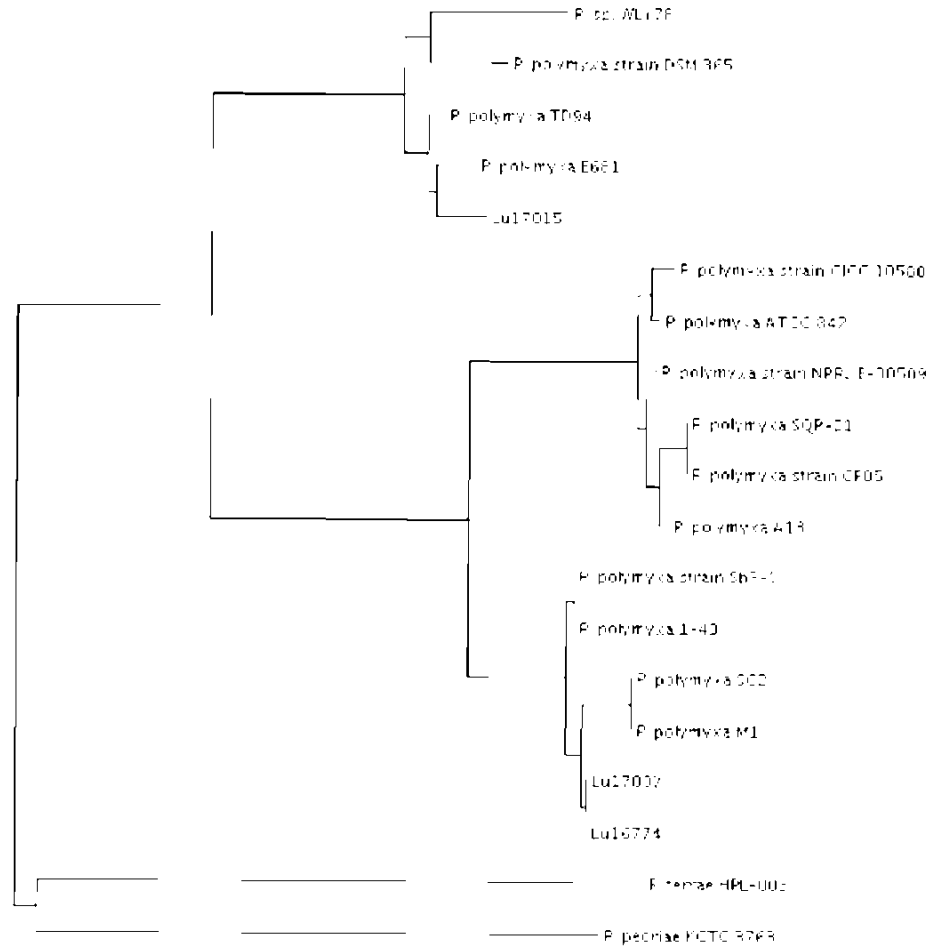
Şekil 18



Şekil 19

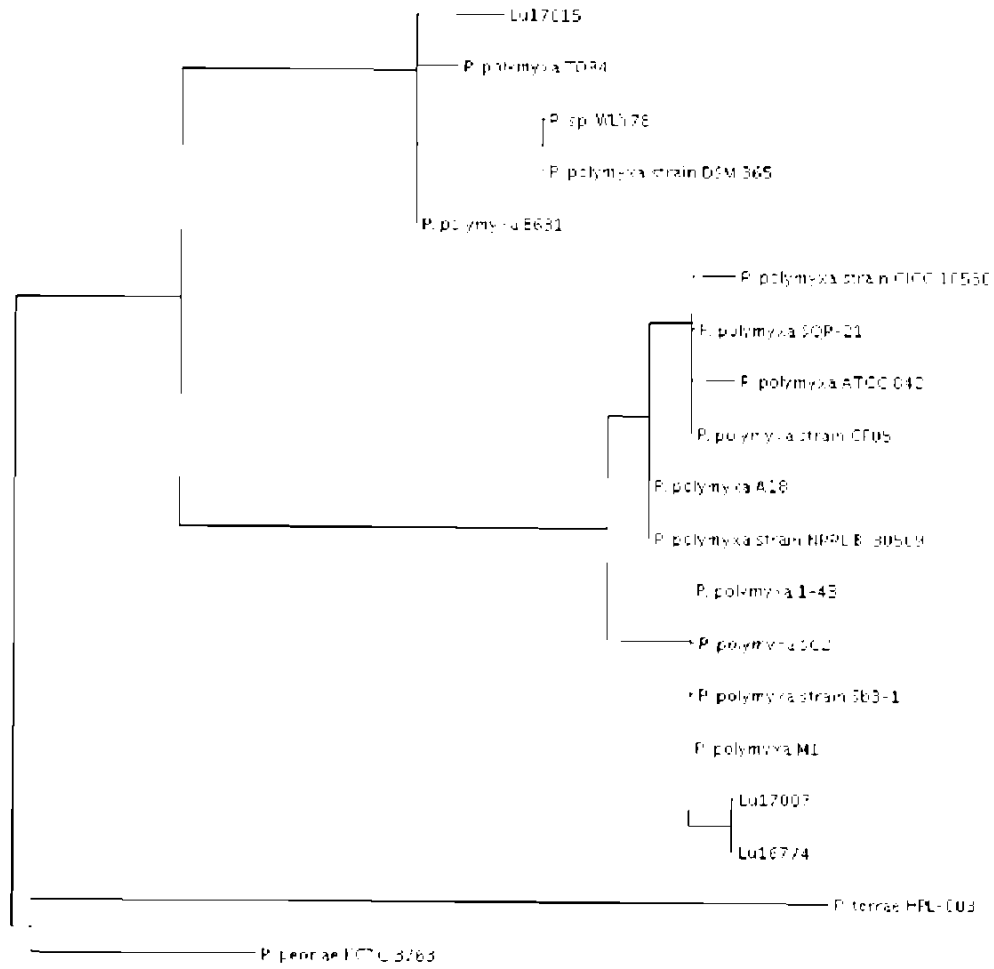


Şekil 20



100 bootstrap

Şekil 21



Şekil 22

Suş (No.)	(1)	(2)	(12)	(14)	(7)	(15)	(3)	(11)	(20)	(4)	(19)
Lu16774 (1)	100	99.99	99.2	99.3	97.50	97.6	94.82	94.59	94.8	91.78	91.73
Lu 17007 (2)	99.99	100	99.2	99.3	97.51	97.61	94.83	94.60	94.8	91.79	91.74
M-1 (12)	99.22	99.23	100	99.9	97.45	97.52	94.81	94.60	94.8	91.79	91.67
SC2 (14)	99.26	99.27	99.9	100	97.45	97.54	94.84	94.63	94.8	91.81	91.72
ATCC 842 = DSM 36 (7)	97.50	97.51	97.4	97.4	100	99.12	94.90	94.64	94.8	91.79	91.72
SQR-21 (15)	97.60	97.61	97.5	97.5	99.12	100	94.88	94.60	94.8	91.74	91.69
Lu17015 (3)	94.82	94.83	94.8	94.8	94.90	94.89	100	98.18	99.5	92.53	92.67
E681 (11)	94.63	94.64	94.6	94.6	94.68	94.65	98.18	100	98.1	92.34	92.51
CR2 (20)	94.79	94.80	94.8	94.8	94.88	94.84	99.52	98.14	100	92.52	92.71
<i>P. peoriae</i> DSM 8320 (4)	91.78	91.79	91.8	91.8	91.82	91.77	92.53	92.28	92.5	100	91.89
<i>P. terrae</i> HPL- 003 (19)	91.73	91.74	91.7	91.7	91.74	91.72	92.67	92.48	92.7	91.88	100