

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 995 407**

21 Número de solicitud: 202330672

51 Int. Cl.:

C12N 1/20 (2006.01)
A01N 63/22 (2010.01)
A01N 63/20 (2010.01)
A01P 1/00 (2006.01)
C12R 1/07 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

02.08.2023

43 Fecha de publicación de la solicitud:

10.02.2025

71 Solicitantes:

UNIVERSIDAD DE JAÉN (100.00%)
Campus Las Lagunillas
23710 Jaén (Jaén) ES

72 Inventor/es:

ABRIOUEL HAYANI, Hikmate;
MANETSBERGER, Julia;
BENOMAR EL BAKALI, Nabil y
CABALLERO GÓMEZ, Natacha

54 Título: **Uso de bacterias de la familia *Bacillaceae* para el control de *Xylella fastidiosa* en una planta y/o en un insecto vector**

57 Resumen:

Uso de bacterias de la familia Bacillaceae para el control de *Xylella fastidiosa* en una planta y/o en un insecto vector.

La presente invención se refiere al uso de i) una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*, ii) el sobrenadante de un cultivo de una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*, o una composición que comprende i) y/o ii) para el control de *Xylella fastidiosa* en una planta y/o en un insecto vector. Además, la presente invención se refiere a un método para el control de *X. fastidiosa* en una planta, y un método para el control de *X. fastidiosa* en un insecto vector. En la presente invención la cepa bacteriana que pertenece al género *Bacillus* se selecciona de entre *Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Bacillus mojavensis* CECT 30857, *Peribacillus simplex* CECT 30856 y *Bacillus mycoides* CECT 30855.

ES 2 995 407 A1

DESCRIPCIÓN

Uso de bacterias de la familia *Bacillaceae* para el control de *Xylella fastidiosa* en una planta y/o en un insecto vector

5

La presente invención pertenece al campo técnico de la biotecnología agrícola, y se refiere se refiere al uso de i) una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*, ii) el sobrenadante de un cultivo de una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*, o iii) una composición que comprende i) y/o ii) para el control de *Xylella fastidiosa* en una planta y/o en un insecto vector. Además, la presente invención se refiere a un método para el control de *X. fastidiosa* en una planta, y un método para el control de *X. fastidiosa* en un insecto vector.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

La región mediterránea es una de las zonas de producción agrícola más importantes del mundo. Sin embargo, esta región se enfrenta a una amenaza sin precedentes por la plaga vegetal emergente causada por *Xylella fastidiosa* la cual es capaz de causar la muerte de la planta que infecta. *X. fastidiosa* afecta a más de 600 especies vegetales entre las cuales se encuentran plantas de cultivo de gran interés económico tales como el olivo, la vid o los cítricos (Delbianco *et al.*, (2022) *EFSA Journal* 20; Sicard *et al.*, (2018) *Annu Rev Phytopathol* 56, 181–202).

20

Por lo tanto, se ha dedicado un esfuerzo considerable a la investigación para encontrar formas eficaces de luchar contra *X. fastidiosa*. para combatir los brotes de dicha bacteria en diferentes cultivos. Las estrategias actuales incluyen el uso de antibióticos, compuestos bioactivos para estimular la resistencia de las plantas, cepas bacterianas y/o cepas fúngicas, así como formulaciones basadas en metales (EFSA Panel on Plant Health, 2016). Estudios iniciales mostraron resultados prometedores para las formulaciones a base de minerales (por ejemplo, zinc, cobre, calcio) o compuestos químicos como ácido cítrico o nanocristales de fosetil-aluminio recubiertos, pero con un éxito finalmente limitado (Morelli *et al.*, (2021) *Microorganisms* vol. 9 Preprint; Scortichini *et al.*, (2018) *Phytopathol Mediterr* 57, 48–72). Otros tratamientos se centraron en el uso de compuestos naturales como mezclas de detergentes, aceites naturales y extractos (Bruno *et al.*, 2021) *L. Crop Protection* 139).

30

35

No obstante, hasta la fecha no se dispone de ningún tratamiento de campo eficaz para curar las plantas infectadas y eliminar *X. fastidiosa*, lo que pone de manifiesto la urgente necesidad de nuevas estrategias de control. Teniendo en cuenta el compromiso de la Unión Europea de avanzar hacia una estrategia alimentaria sostenible a través de iniciativas legislativas (tales como el “Green Deal” de la UE) enfocadas a la reducción del uso de plaguicidas químicos en la producción de alimentos, es necesario proporcionar nuevas estrategias efectivas, a la vez que respetuosas con el medio ambiente, para el control de *X. fastidiosa* en plantas.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

De acuerdo con los resultados obtenidos por los presentes inventores, la esporobiota cultivable del olivo comprende diferentes bacterias que pertenecen a la familia *Bacillaceae*, concretamente bacterias del género *Bacillus* y *Peribacillus* entre las que se encontró que ciertas cepas del clado de *B. subtilis*, de *P. simplex* y de *B. cereus* presentaban actividad antimicrobiana frente a *X. fastidiosa* (Fig. 1).

La esporobiota del olivo se refiere al conjunto de bacterias capaces de producir endosporas que se encuentran en los tejidos de plantas de olivo (ya sea en su superficie o dentro de los propios tejidos), o en el suelo donde crecen dichas plantas. Así, la esporobiota cultivable de olivo se refiere a aquellas bacterias de la esporobiota de olivo capaces de crecer en medios de cultivo.

Los presentes inventores encontraron que las cepas con actividad antimicrobiana frente a *X. fastidiosa* fueron *Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Bacillus mojavensis* CECT 30857, *Peribacillus simplex* CECT 30856, *Bacillus mycoides* CECT 30855, a diferencia de otras cepas bacterianas testadas también procedentes de la esporobiota cultivable del olivo. Por lo tanto, las cepas *Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Bacillus mojavensis* CECT 30857, *Peribacillus simplex* CECT 30856, *Bacillus mycoides* CECT 30855 comprenden una alternativa a pesticidas químicos para el control de *X. fastidiosa* en plantas.

Así, en un primer aspecto, la presente invención se refiere al uso de ahora en adelante “uso de la invención”, de:

- i) una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*,
- ii) un sobrenadante de un cultivo de una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*, o
- iii) una composición que comprende i) y/o ii),

5 para el control de *Xylella fastidiosa* en una planta y/o en un insecto vector, donde la cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae* en i) y ii) se selecciona de la lista que consiste en *Bacillus mojavenensis* CECT 30857, *Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Peribacillus simplex* CECT 30856 y *Bacillus mycoides* CECT 30855.

10 Las cepas bacterianas descritas en la presente invención se aislaron de la esporobiota cultivable de olivo. Las cepas *Bacillus subtilis* CECT 30859 y *Bacillus mojavenensis* CECT 30857 se aislaron de muestras endofíticas de hojas de olivo cultivados en el municipio de Linares en Jaén (España), y dichas cepas fueron recibidas con fecha 1 de junio de 2023 en la Colección Española de Cultivos Tipo, CECT (dirección: Parc Científic de la Universitat de València, Carrer del Catedràtic Agustín Escardino Benlloch, 9, 46980 Paterna, Valencia, España),
 15 siendo el depositante la Universidad de Jaén. Las cepas *Peribacillus simplex* CECT 30856 y *Bacillus mycoides* CECT 30855 se aislaron de muestras de suelo de cultivos de olivo en Málaga, España, mientras que la cepa *Bacillus velezensis* CECT 30858 se aisló de muestras de suelo de cultivo de olivo en el municipio de Linares en Jaén (España), y dichas cepas
 20 fueron recibidas con fecha 1 de junio de 2023 en la Colección Española de Cultivos Tipo, CECT (dirección: Parc Científic de la Universitat de València, Carrer del Catedràtic Agustín Escardino Benlloch, 9, 46980 Paterna, Valencia, España), siendo el depositante la Universidad de Jaén.

25 *Bacillus subtilis* CECT 30859 y *Bacillus mojavenensis* CECT 30857 son bacterias endofíticas o endosimbiontes que viven dentro de una planta durante al menos parte de su vida sin causar enfermedad aparente, y además comparten el mismo nicho ecológico que *X. fastidiosa*. Las bacterias endofíticas de las plantas han sido objeto de considerable atención por su capacidad para controlar las enfermedades y la infestación de insectos.

30 Los presentes inventores no sólo han demostrado la capacidad antimicrobiana de las cepas bacterianas citadas en la presente invención frente a *X. fastidiosa*, sino que además han demostrado la capacidad antimicrobiana del sobrenadante resultante del cultivo de las mismas frente a *X. fastidiosa*.

35

En la presente invención el término “sobrenadante de un cultivo” se refiere a la fracción líquida de un medio de cultivo líquido, preferiblemente líquido, donde se cultivan las bacterias, en donde la fracción líquida se separa de las bacterias por cualquier medio conocido por la persona experta en la materia como por ejemplo centrifugación o la filtración. El término “medio de cultivo” se refiere a solución acuosa que contiene los nutrientes necesarios para el crecimiento y/o supervivencia de células, el cual se puede usar para cultivar células durante un período de tiempo prolongado. Normalmente, los medios de cultivo celular incluyen los siguientes componentes: una fuente de energía, que normalmente será un compuesto de carbohidratos, preferiblemente glucosa, aminoácidos, preferiblemente el conjunto básico de aminoácidos, incluidos todos los aminoácidos esenciales y no esenciales, vitaminas y/o u otros compuestos orgánicos que se requieren en bajas concentraciones, ácidos grasos libres y compuestos inorgánicos que incluyen oligoelementos, sales inorgánicas, compuestos tamponadores y nucleósidos y bases.

Por tanto, tanto las cepas bacterianas de la familia *Bacillaceae* descritas en la presente invención como el sobrenadante de cultivos de las mismas, pueden ser usados en métodos de control de *X. fastidiosa* siendo una alternativa más respetuosa con el medio ambiente y más aceptada socialmente que el uso de pesticidas químicos.

En la presente invención, los términos “control de *X. fastidiosa*” o “biocontrol de *X. fastidiosa*”, usados de manera intercambiable, se refieren a la inhibición de formación de biofilms, reducción, inhibición, prevención de acumulación y/o eliminación de *X. fastidiosa* en una planta y/o en un insecto vector de *X. fastidiosa*. El control de *X. fastidiosa* en un insecto vector disminuye la transmisión entre plantas. Por tanto, el control de *X. fastidiosa* en una planta y/o insecto vector permite el tratamiento y/o prevención de una infección causada por *X. fastidiosa* en la planta.

Xylella fastidiosa es una bacteria patógena de plantas originaria de la región de California de los Estados Unidos. La transmisión entre plantas hospedadoras de *X. fastidiosa* se produce a través de insectos que se alimentan de xilema (por ejemplo, insectos hemípteros de la familia *Cercopidae*). Una vez se introduce en la planta, *X. fastidiosa* coloniza el xilema de la planta, provocando la obstrucción de los vasos, la quemadura de las hojas y finalmente la muerte de la planta.

Xylella fastidiosa es capaz de infectar una gran variedad de plantas. Así, en la presente

invención, el término "plantas(s)" se refiere a cualquier organismo vivo perteneciente al reino Plantae (es decir, cualquier género/especie del reino vegetal), donde dicho organismo es susceptible ser, o está, infectado por la bacteria *X. fastidiosa*. Asimismo, el término "planta" abarca las plantas que han sido modificadas por uno o más de los métodos de reproducción, mutagénesis e ingeniería genética, así como cualquier propágulo vegetal.

El control de *X. fastidiosa* es de especial interés en plantas de cultivo dado que dicho patógeno causa grandes pérdidas de plantas y por tanto, pérdidas económicas en el sector agrícola.

Así, en una realización preferida del uso de la invención, la planta es una planta de cultivo.

En la presente invención, el término "planta de cultivo" se refiere a cualquier planta que es cultivada por el ser humano con fines ornamentales o para la obtención de un producto interés de esta (por ejemplo, para la obtención de frutos, tubérculos o una parte de la planta como la flor o sus hojas).

Así, en una realización preferida del uso de la invención, la planta se selecciona de la lista que consiste en olivo, arroz, manzana, trigo, kiwi, maíz, cebada, mijo, sorgo, avena, soja, centeno, alfalfa, girasol, tabaco, patata, algodón, batata, yuca, café, coco, piña, cítricos, cacao, té, plátano, aguacate, higo, guayaba, mango, papaya, anacardo, macadamia, almendra, remolacha azucarera, caña de azúcar, tomate, lechuga, guisante, cucurbitáceas, cereza, vid, coníferas y césped.

Las plantas susceptibles de infección por *X. fastidiosa*, pueden ser inoculadas con dicha bacteria a través de los insectos vectores como hemípteros, los cuales se alimentan del xilema de dicha planta. Por tanto, la transmisión entre plantas se da cuando un insecto vector se alimenta de una planta infectada con *X. fastidiosa*, y posteriormente se alimenta de una segunda planta la cual es infectada. En la presente invención los términos "insecto vector" o "insecto vector de *X. fastidiosa*", usados de manera intercambiable, se refieren a un insecto que actúa como vehículo de transmisión de *X. fastidiosa* entre plantas. Los principales insectos vectores de *X. fastidiosa* entre plantas son hemípteros.

Así, en una realización preferida del uso de la invención, el insecto vector es un hemíptero.

Ejemplos de hemípteros que actúan como vectores de *X. fastidiosa* en plantas incluyen, sin

limitación, hemípteros que pertenecen a la familia *Cicadellidae*, *Cercopoidae*, *Aphrophoridae* o *Cicadidae*. Ejemplos no limitantes de hemíptero vectores de *X. fastidiosa* incluyen, sin limitación, *Homalodisca vitripennis*, *Philaenus spumarius* o *Neophilaenus campestris*

- 5 En una realización más preferida del uso de la invención, el insecto vector es un hemíptero que pertenece a una familia que se selecciona de entre *Cicadellidae*, *Cercopididae*, *Aphrophoridae* y *Cicadidae*.

- 10 En otra realización preferida del uso de la invención, *X. fastidiosa* se selecciona de entre *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT 9898 y *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* CECT 9899.

- 15 Tal y como conoce la persona experta en la materia, aquellos compuestos que son apropiados para el uso en agricultura en el control de plagas, pueden encontrarse incluidos en una composición que además comprende otros compuestos aceptables en agricultura. En la presente invención, el término “compuesto(s) aceptable(s) en agricultura” se refiere a todos aquellos compuestos que son adecuados para su uso en agricultura, donde en general dichos compuestos no son tóxicos para el ser humano ni la planta a la cual se administra y, preferiblemente, deben ser respetuosos con el medio ambiente. Ejemplos de compuestos aceptables en agricultura incluyen, sin limitación, atrayentes de insectos, protectores
- 20 osmóticos, nutrientes inorgánicos, nutrientes orgánicos, agentes humectantes, compuestos tamponadores, estabilizadores, antioxidantes, protectores osmóticos o filtros solares.

- 25 En una realización preferida del uso de la invención, la composición iii) que comprende la cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae* y/o el sobrenadante de un cultivo de la misma, además comprende uno o más compuestos aceptables en agricultura.

- 30 En una realización aún más preferida del uso de la invención, uno o más compuestos aceptables en agricultura se seleccionan de la lista que consiste en atrayentes de insectos, estabilizadores, protectores osmóticos, nutrientes inorgánicos, nutrientes orgánicos, agentes humectantes, compuestos tamponadores, antioxidantes, protectores osmóticos, filtros solares y cualquier combinación de los anteriores.

- 35 Tal y como conoce la persona experta en la materia, las composiciones destinadas a su uso en agricultura pueden encontrarse formuladas en forma líquida o sólida, incluyendo, sin limitación, formulaciones en forma de gránulos, concentrado en suspensión o polvo,

dependiendo del tipo de cultivo, la planta o la vía de administración a la planta.

Así, en una realización preferida del uso de la invención, la composición iii) que comprende la cepa que pertenece a la familia *Bacillaceae* y/o el sobrenadante de un cultivo de la misma, está formulada como formulación sólida, formulación líquida, gránulos, polvo, polvo humectable, concentrado en suspensión o concentrado emulsionable.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para el control de *X. fastidiosa* en una planta, de ahora en adelante “método de control en una planta de la invención”, donde dicho método comprende aplicar a la planta completa, a una parte de la planta o al suelo donde se cultiva la planta:

- i) una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*,
- ii) un sobrenadante de un cultivo de una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*, o
- iii) una composición que comprende i) y/o ii),

en donde la cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae* en i) y ii) se selecciona de la lista que consiste en: *Bacillus mojavenis* CECT 30857, *Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Peribacillus simplex* CECT 30856 y *Bacillus mycoides* CECT 30855.

Los términos “planta” y “control de *X. fastidiosa*” han sido descritos anteriormente en el uso de la invención, y dichos términos son aplicables en el presente aspecto, así como en sus realizaciones preferidas.

En una realización preferida del método de control en una planta de la invención, i), ii) o iii) se aplican en una cantidad efectiva.

En la presente invención, el término “cantidad efectiva” se refiere en la presente invención a la cantidad de cepa que pertenece a la familia *Bacillaceae* (*Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Bacillus mojavenis* CECT 30857, *Peribacillus simplex* CECT 30856, *Bacillus mycoides* CECT 30855) o el sobrenadante de un cultivo de la misma, que aplicado a la planta o ingerido por un insecto vector, produce el efecto previsto sin producir un efecto tóxico. En el contexto de la presente invención el efecto previsto es el control de *X.*

Fastidiosa en una planta y/o en un insecto vector. Como es evidente para un experto en la materia, las cantidades efectivas pueden variar dependiendo de varios factores como, por ejemplo, (a) el tipo de planta o insecto; (b) la condición fisiológica de la planta o insecto; (c) la concentración de patógenos que afectan a la planta o producto agrícola; (d) el tipo de enfermedad que afecta a la planta o producto agrícola; (e) las condiciones meteorológicas (por ejemplo, temperatura, humedad); y (f) la fase de la enfermedad de la planta. El experto en la materia sabe cómo calcular la cantidad efectiva que debe aplicarse en función de los factores mencionados.

10 En el contexto de la presente invención, el termino "aplicar" se refiere a poner en contacto (i) la cepa de la familia *Bacillaceae*, (ii) el sobrenadante de un cultivo de la misma o la composición que uno de los anteriores, con la planta, una parte de la planta, o al suelo donde se cultiva la planta.

15 En una realización preferida del método de control en una planta de la invención, la parte de la planta se selecciona de la lista que consiste en una hoja, un tallo, un callo, una flor, una raíz, un tubérculo y una semilla.

20 En otra realización preferida del método de control en una planta de la invención, la planta es una planta de cultivo. El término "planta de cultivo" ha sido descrito anteriormente en el uso de la invención, y dicho término es aplicable al método de la invención.

25 En una realización más preferida del método de control en una planta de la invención, la planta se selecciona de la lista que consiste en: olivo, arroz, manzana, trigo, kiwi, maíz, cebada, mijo, sorgo, avena, soja, centeno, alfalfa, girasol, tabaco, patata, algodón, batata, yuca, café, coco, piña, cítricos, cacao, té, plátano, aguacate, higo, guayaba, mango, papaya, anacardo, macadamia, almendra, remolacha azucarera, caña de azúcar, tomate, lechuga, guisante, cucurbitáceas, coníferas, cereza, vid y césped.

30 En otra realización preferida del método de control en una planta de la invención, la composición iii) que comprende la cepa que pertenece a la familia *Bacillaceae* y/o el sobrenadante de un cultivo de la misma, además comprende uno o más compuestos aceptables en agricultura.

35 En una realización aún más preferida del método de control en una planta de la invención,

uno o más compuestos aceptables en agricultura se seleccionan de la lista que consiste en atrayentes de insectos, estabilizadores, protectores osmóticos, nutrientes inorgánicos, nutrientes orgánicos, agentes humectantes, compuestos tamponadores, antioxidantes, protectores osmóticos, filtros solares y cualquier combinación de los anteriores.

5

En otra realización preferida del método de control en una planta de la invención, el insecto es un hemíptero, más preferiblemente un hemíptero que pertenece a una familia seleccionada de entre *Cicadellidae*, *Cercopididae*, *Aphrophoridae* y *Cicadidae*.

- 10 En otra realización preferida del método de control en una planta de la invención, *X. fastidiosa* se selecciona de entre *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT 9898 y *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* CECT 9899.

- 15 En otra realización preferida del método de control en una planta de la invención, la composición iii) que comprende la cepa que pertenece a la familia *Bacillaceae* y/o el sobrenadante de un cultivo de la misma, está formulada como formulación sólida, formulación líquida, gránulos, polvo, polvo humectable, concentrado en suspensión o concentrado emulsionable.

- 20 En el método control en una planta de la invención, la aplicación a la planta completa, a una parte de la planta o al suelo donde se cultiva la planta, se puede llevar a cabo por medio de cualquier técnica conocida, como por ejemplo, pero sin limitarse a, a través de hidroponía, goteo, pulverización, infiltración, inyección, rociado, revestimiento o fumigación.

- 25 En otro aspecto, la presente invenciones se refiere a una composición, de ahora en adelante "composición de la invención", que comprende:

- 30 i) una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*, y/o
ii) un sobrenadante de un cultivo de una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*,

en donde la cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae* en i) y ii) se selecciona de la lista que consiste en: *Bacillus mojavensis* CECT 30857, *Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Peribacillus simplex* CECT 30856, *Bacillus mycoides* CECT 30855.

35

En una realización preferida de la “composición de la invención”, dicha composición además comprende uno o más compuestos aceptables en agricultura.

5 En una realización preferida de la composición de la invención, uno o más compuestos aceptables en agricultura se seleccionan de la lista que consiste en atrayentes de insectos, estabilizadores, protectores osmóticos, nutrientes inorgánicos, nutrientes orgánicos, agentes humectantes, compuestos tamponadores, antioxidantes, protectores osmóticos, filtros solares y cualquier combinación de los anteriores; más preferiblemente la composición de la invención
10 comprende un atrayente para insectos.

En otra realización preferida de la composición de la invención, dicha composición está formulada como formulación sólida, formulación líquida, gránulos, polvo, polvo humectable, concentrado en suspensión o concentrado emulsionable.

15 En otra realización preferida, la composición de la invención comprende una cantidad efectiva de:

- i) la cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*, y/o
- ii) un sobrenadante de un cultivo de una cepa bacteriana que pertenece a la familia
20 *Bacillaceae*.

En otra realización preferida de la invención, la composición es un cebo para insectos.

25 La cepa bacteriana o el sobrenadante de un cultivo de una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae* o una composición que comprende los anteriores, puede estar comprendida en un dispositivo el cual se puede colocar en un entorno que comprende un insecto vector de *X. fastidiosa*.

30 Así, en otro aspecto la presente invención se refiere a un dispositivo, de ahora en adelante el “dispositivo de la invención”, que comprende al menos un contenedor, caracterizado porque el contenedor comprende:

- i) una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*,
- ii) un sobrenadante de un cultivo de una cepa bacteriana que pertenece a la
35 familia *Bacillaceae*, o

iii) una composición que comprende i) y/o ii),

en donde la cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae* en i) y ii) se selecciona de la lista que consiste en: *Bacillus mojaviensis* CECT 30857, *Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Peribacillus simplex* CECT 30856 y *Bacillus mycoides* CECT 30855.

En una realización preferida, el dispositivo de la invención está configurado para que un insecto vector pueda acceder al contenedor de dicho dispositivo y/o al contenido de dicho contenedor; preferiblemente el dispositivo y/o contenedor comprende una abertura con las dimensiones suficientes para que un insecto vector tenga acceso a su contenido.

En otra realización preferida, el material del cual está hecho el dispositivo de la invención es plástico, cristal, vidrio, cartón, metal y/o papel.

En otra realización preferida del dispositivo de la invención, la composición iii) además comprende uno o más compuestos aceptables en agricultura; más preferiblemente uno o más compuestos aceptables en agricultura se seleccionan de la lista que consiste en atrayentes de insectos, estabilizadores, protectores osmóticos, nutrientes inorgánicos, nutrientes orgánicos, agentes humectantes, compuestos tamponadores, antioxidantes, protectores osmóticos, filtros solares y cualquier combinación de los anteriores.

En otra realización preferida del dispositivo de la invención, la composición iii) está formulada como formulación sólida, formulación líquida, gránulos, polvo, polvo humectable, concentrado en suspensión o concentrado emulsionable.

En una realización más preferida del dispositivo de la invención, la composición iii) es la composición de la invención.

En otra realización preferida, el dispositivo de la invención es una trampa para insectos.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso del dispositivo de la invención para el control de *X. fastidiosa* en un insecto vector.

En una realización preferida del uso del dispositivo de la invención, el insecto vector es un

hemíptero.

En otra realización preferida del uso del dispositivo de la invención, el insecto vector es un hemíptero que pertenece a una familia que se selecciona de entre *Cicadellidae*, *Cercopididae*,
5 *Aphrophoridae* y *Cicadidae*.

En otra realización preferida del uso del dispositivo de la invención, *X. fastidiosa* se selecciona de entre *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT 9898 y *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* CECT 9899.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un método de control de *X. fastidiosa* en un insecto vector, de ahora en adelante “método de control en un insecto vector de la invención”, que comprende colocar la composición de la invención o el dispositivo de la invención en un entorno donde se encuentra el insecto vector.

La expresión “entorno donde se encuentra el insecto vector” se refiere a cualquier entorno, cerrado o abierto, en el que se encuentra un insecto vector de *X. fastidiosa* y donde realiza al menos alguna de sus funciones biológicas tales como alimentarse, crecer y/o reproducirse. El entorno en el que se encuentra un insecto vector de *X. fastidiosa* puede ser,
20 sin limitación, un campo en el que se cultivan plantas de cultivo o plantas ornamentales.

Así, en una realización preferida del método de control en un insecto de la invención, el entorno una planta susceptible de sufrir, o que sufre, una infección causada por *X. fastidiosa* transmitida por el insecto vector.

En otra realización preferida del método de control en un insecto de la invención, donde el insecto vector es un hemíptero.

En otra realización preferida del método de control en un insecto de la invención, el insecto vector es un hemíptero que pertenece a una familia que se selecciona de entre *Cicadellidae*,
30 *Cercopididae*, *Aphrophoridae* y *Cicadidae*.

En otra realización preferida del método de control en un insecto de la invención, *X. fastidiosa* se selecciona de entre *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT 9898 y *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* CECT 9899.

Tanto en los usos, métodos, composición con el dispositivo de la invención, también están contemplados aquellas bacterias que derivan de las cepas *Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Bacillus mojavensis* CECT 30857, *Peribacillus simplex* CECT 30856 y *Bacillus mycoides* CECT 30855, que conserven la capacidad antimicrobiana frente a *X. fastidiosa* y por tanto conserven la capacidad de control de dicha bacteria patógena en una planta. Las bacterias que derivan de las cepas mencionadas en el presente párrafo pueden ser mutantes que presentan variaciones en su genoma respecto al genoma de la cepa de la invención. En el presente documento, los términos “mutante” o “derivado”, utilizados indistintamente, se refieren a cualquier microorganismo resultante de una mutación o modificación en el ADN de un organismo que da como resultado un carácter (fenotipo) que no se encuentra en la cepa silvestre (“wild type” en inglés o “wt”) y que mantiene las características antimicrobianas frente a *X. fastidiosa*.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Fig. 1. Figura 1. Actividad antimicrobiana de aislados cultivables de esporobiota del olivo frente a *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT 9898 y *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* CECT 9899. Control: Solución salina (0,85% p/V); A) *Bacillus velezensis* CECT 30858; B) *Bacillus subtilis* CECT 30859; C) *Bacillus mojavensis* CECT 30857; D) *Peribacillus simplex* CECT 30856; E) *Bacillus mycoides* CECT 30855.

Fig. 2. Actividad antimicrobiana de sobrenadante de aislados cultivables de esporobiota del olivo frente a *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT 9898 y *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* CECT 9899. Control: Solución salina (0,85% p/V); A) *Bacillus velezensis* CECT 30858; B) *Bacillus subtilis* CECT 30859; C) *Bacillus mojavensis* CECT 30857; D) *Peribacillus simplex* CECT 30856; E) *Bacillus mycoides* CECT 30855.

EJEMPLOS

A continuación, se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que ponen de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

Ejemplo 1. Asilamiento de bacterias de la esporobiota de olivo.

Se aislaron un total de 417 de bacterias de muestras de suelo, la superficie foliar (epífita) y el interior foliar (endófito) de olivares en cinco lugares diferentes en Andalucía / España: Linares (LIN), Jimena (JP), Bedmar y Garciez (BG), La Guardia de Jaén (LGJ) y Málaga (MA).

- 5 Posteriormente se seleccionaron 45 teniendo en cuenta sus propiedades de seguridad y el uso establecido de las especies en entornos agrícolas, para evaluar su actividad antagonista frente a *X. fastidiosa*. Las bacterias seleccionadas para evaluar la actividad antimicrobiana frente a *X. fastidiosa* pertenecían a la familia *Bacillaceae*, concretamente pertenecían a los géneros *Peribacillus* (*Peribacillus simplex*), *Bacillus* (*Bacillus endophyticus*, *Bacillus*
- 10 *thuringiensis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus velenzensis*, *Bacillus mycooides*) y *Priestia* (*Priestia aryabhattai*, *Priestia megaterium*).

Ejemplo 2. Actividad antimicrobiana de bacterias de la esporobiota de olivo frente a *Xylella fastidiosa*.

- 15 La actividad antagonista de las cepas aisladas de las fuentes del ejemplo 1 se llevó a cabo por el método de doble cultivo en medios sólidos. Se procedió a cultivar las cepas *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa* con el número de depósito CECT 9898 y *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* con el número de depósito CECT 9899, en medio PD3 durante 5-7 días.
- 20 Después *X. fastidiosa* se cultivó por triplicado en placas PD3 y pasado 24 h, se añadieron 2,5 µl de una suspensión del aislado de esporobiota seleccionado o extracto de suelo en solución salina al 0,85 % (p/V) a 0,5 McFarland en la parte superior de cada carril. La actividad antagónica se evaluó después de una incubación adicional a 28°C durante 7-10 días, visible como inhibición del crecimiento en forma de un halo alrededor del cultivo de esporobiota (Fig.
- 25 1). En la Tabla 1 se describen los resultados obtenidos de aquellas cepas bacterianas del ejemplo 1 que presentaron actividad antimicrobiana frente a *X. fastidiosa*.

Tabla 1. Lista de aislados cultivables de esporobiota del olivo con actividad antimicrobiana frente a *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT 9898 y *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* CECT 9899.

Cepa aislada de esporobiota de olivo	Localización relativa	<i>Xylella fastidiosa</i> subsp. <i>fastidiosa</i> CECT 9898	<i>Xylella fastidiosa</i> subsp. <i>multiplex</i> CECT 9899
		Tamaño medio del halo (en mm)* ± SD	
<i>Bacillus velezensis</i> CECT 30858	Suelo	15.0 ± 1.3 ^a	12.0 ± 1.0 ^A
<i>Bacillus subtilis</i> CECT 30859	Endofítica	21.3 ± 0.4 ^b	18.2 ± 0.5 ^B
<i>Bacillus mojavensis</i> CECT 30857	Endofítica	21.8 ± 1.6 ^b	19.1 ± 0.2 ^B
<i>Peribacillus simplex</i> CECT 30856	Suelo	9.1 ± 0.2 ^c	9.7 ± 0.6 ^C
<i>Bacillus mycoides</i> CECT 30855	Suelo	11.7 ± 2.0 ^{ac}	10.0 ± 0.5 ^C

5 **Se indica la ubicación relativa del candidato, así como el tamaño medio del halo con su desviación estándar (SD). Los valores con letras distintas son estadísticamente diferentes con $P < 0,05$ según lo determinado por el análisis unidireccional de la varianza (ANOVA) seguido de test de Tukey.

10 **Ejemplo 3. Actividad antimicrobiana de sobrenadante de cultivo de bacterias de la esporobiota de olivo frente a *Xylella fastidiosa*.**

15 Aquellos aislados cultivables de sporobiota de oliva que mostraron efectos antagónicos en ensayos de cultivo dual se evaluaron más a fondo por su capacidad para producir compuestos antimicrobianos contra *X. fastidiosa* en caldo. Como anteriormente, todos los experimentos se realizaron contra *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT 9898 y *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* CECT 9899. Para ello, se inoculó una nueva colonia de la cepa productora de antimicrobianos que se iba a probar en 20 ml de PD3 y se cultivó a 37 °C durante 3 días. Luego, las células se eliminaron primero por centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos, seguida de filtración a través de un filtro de 0,22 µm. *X. fastidiosa* se cultivó por triplicado en placas PD3 como se

describió anteriormente y se incubó durante la noche a 28°C. Al día siguiente se creó un pozo en la parte superior de cada carril de cultivo de *X. fastidiosa* y se llenó con 75 µl de caldo filtrado. La actividad antimicrobiana se evaluó en base a la inhibición del crecimiento de *X. fastidiosa* en las proximidades del filtrado de cultivo después de 7-10 días de incubación a 28°C (Fig. 1).

5

REIVINDICACIONES

1. Uso de:

- 5 i) una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*,
 ii) un sobrenadante de un cultivo de una cepa bacteriana que pertenece a la familia
 Bacillaceae, o
 iii) una composición que comprende i) y/o ii),

10 para el control de *Xylella fastidiosa* en una planta y/o en un insecto vector, donde la cepa bacteriana que pertenece al género *Bacillus* en i) y ii) se selecciona de la lista que consiste en: *Bacillus mojavenensis* CECT 30857, *Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Peribacillus simplex* CECT 30856 y *Bacillus mycoides* CECT 30855.

15 2. Uso según la reivindicación 1, donde la planta es una planta de cultivo.

3. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde la planta se selecciona de la lista que consiste en: olivo, arroz, manzana, trigo, kiwi, maíz, cebada, mijo, sorgo, avena, soja, centeno, alfalfa, girasol, tabaco, patata, algodón, batata, yuca, café, coco, piña, cítricos,
20 cacao, té, plátano, aguacate, higo, guayaba, mango, papaya, anacardo, macadamia, almendra, remolacha azucarera, caña de azúcar, tomate, lechuga, guisante, cucurbitáceas, coníferas, cereza, vid y césped.

4. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde el insecto vector es un
25 hemíptero.

5. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde el insecto vector es un hemíptero que pertenece a una familia que se selecciona de entre *Cicadellidae*, *Cercopidae*, *Aphrophoridae* y *Cicadidae*.

30 6. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde *X. fastidiosa* se selecciona de entre *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT9898 y *Xylella fastidiosa* subsp. *Multiplex* CECT9899.

35 7. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde la composición iii) además

comprende uno o más compuestos aceptables en agricultura.

8. Uso según la reivindicación 7, donde uno o más compuestos aceptables en agricultura se seleccionan de la lista que consiste en atrayentes de insectos, estabilizadores, protectores osmóticos, nutrientes inorgánicos, nutrientes orgánicos, agentes humectantes, compuestos tamponadores, antioxidantes, protectores osmóticos, filtros solares y cualquier combinación de los anteriores.

9. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, donde la composición iii) está formulada como formulación sólida, formulación líquida, gránulos, polvo, polvo humectable, concentrado en suspensión o concentrado emulsionable.

10. Método para el control de *Xylella fastidiosa* en una planta, donde dicho método comprende aplicar a la planta completa, a una parte de la planta o al suelo donde se cultiva la planta:

- i) una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*,
- ii) un sobrenadante de un cultivo de una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*, o
- iii) una composición que comprende i) y/o ii),

en donde la cepa bacteriana que pertenece al género *Bacillus* en i) y ii) se selecciona de la lista que consiste en: *Bacillus mojavenensis* CECT 30857, *Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Peribacillus simplex* CECT 30856 y *Bacillus mycoides* CECT 30855.

11. Método según la reivindicación 10, donde la parte de la planta se selecciona de la lista que consiste en una hoja, un tallo, un callo, una flor, una raíz, un tubérculo y una semilla.

12. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 10 o 11, donde la planta es una planta de cultivo.

13. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, donde la planta se selecciona de la lista que consiste en: olivo, arroz, manzana, trigo, kiwi, maíz, cebada, mijo, sorgo, avena, soja, centeno, alfalfa, girasol, tabaco, patata, algodón, batata, yuca, café, coco, piña, cítricos, cacao, té, plátano, aguacate, higo, guayaba, mango, papaya, anacardo,

macadamia, almendra, remolacha azucarera, caña de azúcar, tomate, lechuga, guisante, cucurbitáceas, coníferas, cereza, vid y césped.

14. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, donde la composición iii) además comprende uno o más compuestos aceptables en agricultura.

15. Método según la reivindicación 14, donde uno o más compuestos aceptables en agricultura se seleccionan de la lista que consiste en atrayentes de insectos, estabilizadores, protectores osmóticos, nutrientes inorgánicos, nutrientes orgánicos, agentes humectantes, compuestos tamponadores, antioxidantes, protectores osmóticos, filtros solares y cualquier combinación de los anteriores.

16. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 15, donde *X. fastidiosa* se selecciona de entre *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT 9898 y *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* CECT 9899.

17. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 16, donde la composición iii) está formulada como formulación sólida, formulación líquida, gránulos, polvo, polvo humectable, concentrado en suspensión o concentrado emulsionable.

18. Una composición que comprende:

- i) una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*, y/o
- ii) un sobrenadante de un cultivo de una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*,

en donde la cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae* en i) y ii) se selecciona de la lista que consiste en: *Bacillus mojavensis* CECT 30857, *Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Peribacillus simplex* CECT 30856 y *Bacillus mycoides* CECT 30855; preferiblemente donde la composición además comprende uno o más compuestos aceptables en agricultura.

19. Composición según la reivindicación 18, donde uno o más compuestos aceptables en agricultura se seleccionan de la lista que consiste en atrayentes de insectos, estabilizadores, protectores osmóticos, nutrientes inorgánicos, nutrientes orgánicos, agentes humectantes,

compuestos tamponadores, antioxidantes, protectores osmóticos, filtros solares y cualquier combinación de los anteriores.

20. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 18 o 19, donde dicha
5 composición está formulada como formulación sólida, formulación líquida, gránulos, polvo, polvo humectable, concentrado en suspensión o concentrado emulsionable.

21. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 20, caracterizada porque
es cebo para insectos.

10

22. Un dispositivo que comprende al menos un contenedor, caracterizado porque el
contenedor comprende:

- i) una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*,
- 15 ii) un sobrenadante de un cultivo de una cepa bacteriana que pertenece a la familia *Bacillaceae*, o
- iii) una composición que comprende i) y/o ii),

en donde la cepa bacteriana que pertenece al género *Bacillus* en i) y ii) se selecciona de la
20 lista que consiste en: *Bacillus mojavenensis* CECT 30857, *Bacillus velezensis* CECT 30858, *Bacillus subtilis* CECT 30859, *Peribacillus simplex* CECT 30856 y *Bacillus mycoides* CECT 30855.

23. Dispositivo según la reivindicación 22, donde la composición iii) además comprende uno
25 o más compuestos aceptables en agricultura.

24. Dispositivo según la reivindicación 23, donde uno o más compuestos aceptables en
agricultura se seleccionan de la lista que consiste en atrayentes de insectos, estabilizadores,
30 protectores osmóticos, nutrientes inorgánicos, nutrientes orgánicos, agentes humectantes, compuestos tamponadores, antioxidantes, protectores osmóticos, filtros solares y cualquier combinación de los anteriores.

25. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 22 a 24, donde la composición
iii) está formulada como formulación sólida, formulación líquida, gránulos, polvo, polvo
35 humectable, concentrado en suspensión o concentrado emulsionable.

26. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 22 a 25, donde la composición iii) es la composición de acuerdo con las reivindicaciones 18 a 21.

5 27. Dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 22 a 26, donde el dispositivo es una trampa para insectos.

28. Uso del dispositivo de según una cualquiera de las reivindicaciones 22 a 27, para el control *X. fastidiosa* en un insecto vector.

10

29. Uso según la reivindicación 28 donde el insecto vector es un hemíptero.

30. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 28 o 29, donde el insecto vector es un hemíptero que pertenece a una familia que se selecciona de entre *Cicadellidae*, *Cercopididae*,
15 *Aphrophoridae* y *Cicadidae*.

31. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 28 a 30, donde *X. fastidiosa* se selecciona de entre *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT 9898 y *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* CECT 9899.

20

32. Un método de control de *X. fastidiosa* en un insecto vector que comprende colocar la composición según una cualquiera de las reivindicaciones 18 a 21 o el dispositivo según una cualquiera de las reivindicaciones 22 a 27, en un entorno donde se encuentra el insecto vector.

25 33. Método de control según la reivindicación 32, donde el entorno comprende una planta susceptible de sufrir, o que sufre, una infección causada por *X.fastidiosa* transmitida por el insecto vector.

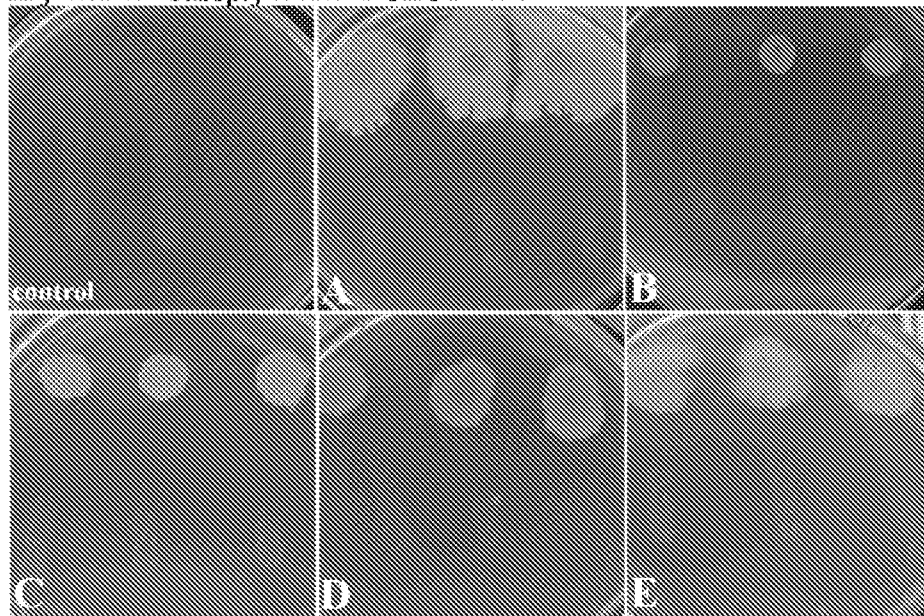
30 34. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 32 o 33, donde el insecto vector es un hemíptero.

35. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 32 a 34, donde el insecto vector es un hemíptero que pertenece a una familia que se selecciona de entre *Cicadellidae*, *Cercopididae*, *Aphrophoridae* y *Cicadidae*.

35

36. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 32 a 35, donde *X. fastidiosa* se selecciona de entre *X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT 9898 y *Xylella fastidiosa* subsp. *multiplex* CECT 9899.

X. fastidiosa subsp. *fastidiosa* CECT 9898



X. fastidiosa subsp. *multiplex* CECT 9899

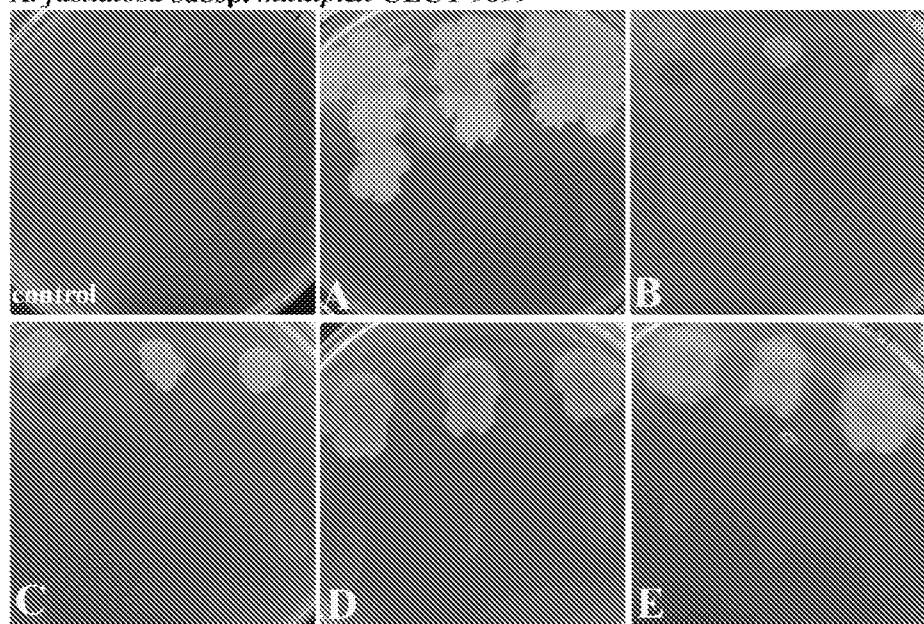
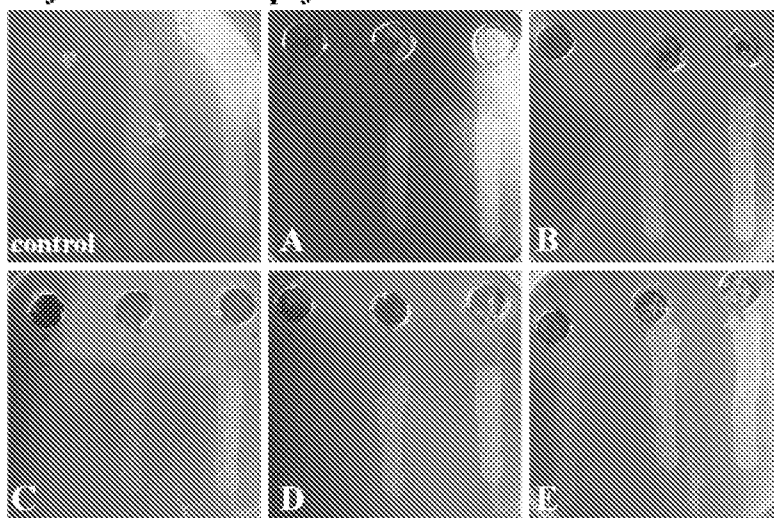


Fig. 1

***X. fastidiosa* subsp. *fastidiosa* CECT 9898**



***X. fastidiosa* subsp. *multiplex* CECT 9899**

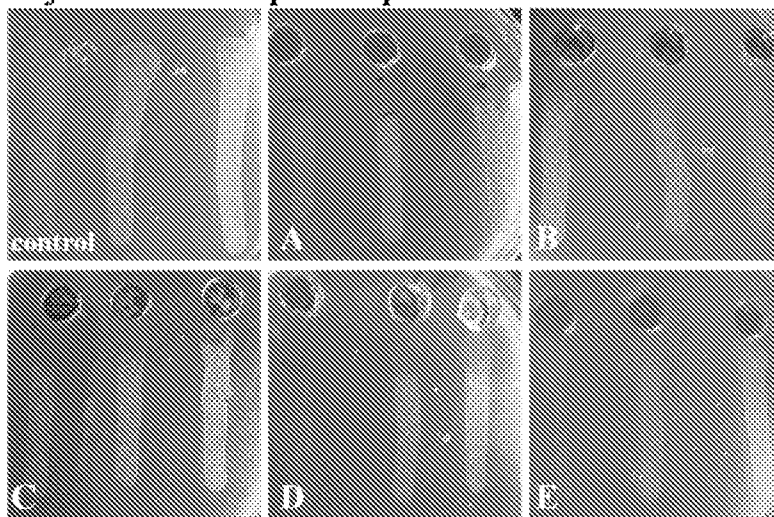


Fig. 2



- ②¹ N.º solicitud: 202330672
②² Fecha de presentación de la solicitud: 02.08.2023
③² Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤ ⁶ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ZICCA S. et al. Antagonistic activity of olive endophytic bacteria and of <i>Bacillus</i> spp. strains against <i>Xylella fastidiosa</i> . Microbiological Research, Junio 2020, vol. 236, artículo nº: 126467, ISSN 0944-5013(print) ISSN 1618-0623(electronic), DOI:10.1016/j.micres.2020.126467, tabla 2.	1-36
X	MOUROU M. et al. Antagonism and Antimicrobial Capacity of Epiphytic and Endophytic Bacteria against the Phytopathogen <i>Xylella fastidiosa</i> . Agronomy, Mayo 2022, vol. 12, nº 6, artículo nº1266, DOI: 10.3390/agronomy12061266, tabla 1.	1-36
A	POVEDA J. et al. Microorganisms as biocontrol agents against bacterial citrus diseases. Biological Control, Julio 2021, vol.158, nº: 104602, ISSN 1049-9644(print) ISSN 1090-2112(electronic), DOI: 10.1016/j.biocontrol.2021.104602	1-36
A	WO 2018144478 A1 (UNIV CALIFORNIA) 09/08/2018, reivindicaciones.	1-36
A	US 2012282233 A1 (ROLSHAUSEN PHILIPPE et al.) 08/11/2012, reivindicaciones.	1-36

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
09.05.2024

Examinador
A. I. Polo Diez

Página
1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C12N1/20 (2006.01)

A01N63/22 (2020.01)

A01N63/20 (2020.01)

A01P1/00 (2006.01)

C12R1/07 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C12N, A01N, A01P, C12R

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, INTERNET, CAPLUS, BIOSIS, COMPENDEX, BD-TXTE