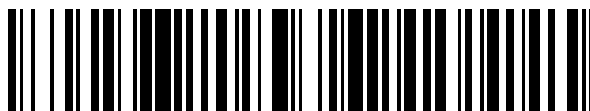


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 579 683**

51 Int. Cl.:

A01N 37/44 (2006.01)

A01N 37/46 (2006.01)

A01N 43/713 (2006.01)

A01N 43/90 (2006.01)

A01N 63/02 (2006.01)

C07K 7/64 (2006.01)

C07K 7/66 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.02.2013 E 13717558 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.04.2016 EP 2817323**

54 Título: **Composiciones de péptidos cíclicos antimicrobianas para plantas**

30 Prioridad:

22.02.2012 ZA 201201316

22.02.2012 ZA 201201317

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

16.08.2016

73 Titular/es:

STELLENBOSCH UNIVERSITY (100.0%)

**Admin B Victoria Street Stellenbosch
7600 Western Cape Province, ZA**

72 Inventor/es:

**RAUTENBACH, MARINA;
DE BEER, ABRÉ;
TROSKE, ANSCHA MARI y
VOSLOO, JOHAN ARNOLD**

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 579 683 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones de péptidos cíclicos antimicrobianas para plantas

Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones antimicrobianas para prevenir o controlar el crecimiento microbiano en plantas, partes de plantas o material de plantas.

Antecedentes de la invención

La mayor amenaza para el mercado de productos frescos es la reducción en el rendimiento y la calidad debido a las infecciones microbianas, especialmente patógenos fúngicos. La infección anterior a la cosecha por patógenos microbianos da como resultado una pérdida de aproximadamente un 16 % de la producción mundial de alimentos cada año, con una pérdida adicional de hasta un 50 % como consecuencia de infecciones posteriores a la cosecha, particularmente en los países en desarrollo. Esto tiene el potencial de amenazar la seguridad alimentaria mundial (Chakraborty y Newton, 2011, Plant Path. 60, 2-14, Montesinos y Bardaji, 2008, Chem. Biodivers. 5, 1225-1237).

Las infecciones posteriores a la cosecha, tales como las provocadas por *Penicillium* spp (moho azul), *Monilinia* spp (podredumbre parda) y, particularmente, *Botrytis cinerea* (moho gris) en uvas, fresas, cerezas y frutos de árboles como las peras y manzanas, son la primera causa de las principales pérdidas en los frutos comerciales (Lennox *et al.* 2003, Plant Dis. 87, 639-644; Wilson *et al.*, 1991 Crop Protection 10, 172-177; Romanazzi, 2010, Fresh produce 4, 111-115). Las medidas para limitar las pérdidas durante el almacenamiento incluyen almacenamiento a baja temperatura, control biológico y tratamientos con compuestos naturales, así como tratamientos químicos (Zheng *et al.* 2008, Food Control, 19, 470-474; Romanazzi, 2010, Fresh Produce 4, 111-115).

Otra preocupación importante en la industria agrícola son las pérdidas anteriores a la cosecha que están provocadas principalmente por un deterioro en la salud de la planta debido a la infección. Los *Fusarium* spp. transmitidos por el suelo están asociadas con el marchitamiento de la vid y la podredumbre de la raíz y afectan a muchas especies de plantas (Di Peitro *et al.* 2003, Mol. Plant Path 4, 315-325; Berrocal-Lobo y Molina, 2008, Trends Plant Sci. 13, 145-150, Highet y Nair, 1995, Aus. J. Grape Wine Res, 1 48-50). Las esporas fúngicas pueden persistir en el suelo durante años y los esquejes para la siembra o el desprendimiento de la hoja pueden fomentar la infección a través de heridas vasculares, aunque la infección en muchas plantas tiene lugar a través de las raíces (Berrocal-Lobo y Molina, 2008 Trends Plant Sci. 13, 145-150, Highet y Nair, 1995, Aus. J. Grape Wine Res, 1 48-50). Sin embargo, las dos enfermedades más destructivas asociadas con el deterioro de la vid son la enfermedad del pie negro, provocada por *Cylindrocarpon* spp., y el deterioro de la vid joven o enfermedad de Petri provocada por *Phaeomoniella* spp. y *Phaeoacremonium* spp. (Fourie y Halleen. 2001, Winelands, 12, 19-23; 2002, Aus. Plant Path. 31:425-426.). La enfermedad del pie negro y la enfermedad de Petri infectan principalmente al material de propagación de la vid y a las vides recién plantadas y son responsables individual o colectivamente del deterioro de las vides jóvenes, de la reducción o pérdida de productividad y de la muerte de la vid joven. Las vides más viejas que se han infectado con estas enfermedades muestran un fenotipo alterado y poco o incluso ningún potencial de sujeción del fruto. Como resultado, los viticultores se ven obligados a replantar viñas jóvenes infectadas con un coste y una pérdida de producción sustanciales. El problema, sin embargo, surge a menudo en los viveros que suministran el material de propagación. La investigación ha demostrado que la principal fuente de material infectado es el material de áreas de cultivo madre y los viveros, proporcionando menos de un 50 % del material de propagación plantas vendibles sanas (Fourie y Halleen, 2004, Aus. Plant Path. 33: 313-315; Halleen *et al.*, 2003, Aus. Plant Path.32: 47-52). Halleen *et al.* (2007, Plant Path. 56, 637-645) evaluaron 13 fungicidas, lo que representa 10 clases químicas diferentes para la inhibición micelial *in vitro* de *Cylindrocarpon* y *Campylocarpon* spp, los agentes causales de la enfermedad del pie negro. Solo cloruro de manganeso-procloraz, imazalil y benomilo pudieron reducir eficazmente el crecimiento micelial en todas las cepas fúngicas sometidas a prueba, pero no pudieron proteger la propagación contra la enfermedad del pie negro en condiciones de campo. Este estudio mostró que la mayoría de los tratamientos químicos eran ineficaces e inconsistentes en la protección de la vid contra la enfermedad del pie negro.

El cultivo de tejidos de plantas es una técnica importante en la industria de la vid y del fruto para el suministro de material de siembra sin virus ni patógenos para el establecimiento de nuevas viñas y huertos frutales. Una segunda técnica de cultivo de tejidos, a saber, el rescate de embriones, desempeña un papel importante en el cultivo de nuevas variedades cultivadas, especialmente variedades de uva sin semilla. Aunque se han establecido bien estas técnicas en el suministro de material de siembra de buena calidad, todavía hay una serie de aspectos que influyen en la tasa de éxito del establecimiento del material de campo, en un entorno *in vitro*. Uno de los factores más importantes es la calidad del explante, que puede verse afectada en gran medida por la población microbiana (hongos, bacterias y levaduras) presente en el material de planta en el campo (Cassells, 2001, Proc. IV IS on In Vitro Cult. & Hort. Breeding, Eds. S. Sorvari *et al.*, 353-350). El medio rico usado para establecer el material de explante *in vitro* también es un medio perfecto para el crecimiento de estos microbios, lo que hace que la estrategia de esterilización que se emplea sea una etapa crucial en el establecimiento exitoso del material de explante del campo de nuevo al cultivo *in vitro* (Cassells, 2001, Proc. IV IS on In Vitro Cult. & Hort. Breeding, Eds. S. Sorvari *et al.*, 353-353-350). La esterilización de material de explante por lo general implica una combinación de tratamiento con agua caliente, tratamientos con alcohol y NaOCl₂ (Cassells, 2000, Plant Cell Biology (Ed. Spier, RE), Wiley, Chichester,

- 577-586), pero esto solo elimina parte de los microbios de la superficie, mientras que las bacterias y hongos endófitos sobreviven, lo que da lugar a la contaminación cuando el explante se dispone en el medio de cultivo. Los laboratorios de cultivo de tejidos se basan en antibióticos para controlar ambas infecciones fúngicas y bacterianas, pero es raro el caso en el que un solo microbio esté presente en el material de explante, lo que requiere combinaciones de antibióticos, que pueden dar lugar a fitotoxicidad (Estopá, 2001, Plant Cell, Tissue & Organ Culture 65, 211-220). PPMTM, que contiene metilcloroisotiazolinona/metilisotiazolinona como ingredientes activos, es actualmente el único producto químico en el mercado que reivindica inhibir el crecimiento de ambos patógenos bacterianos y fúngicos, pero se ha informado de que interfiere con el desarrollo de la planta, especialmente en el cultivo de tejidos de la vid (Compton y Koch, 2001, In Vitro Cell Dev. Biol. Plant 37, 259-261).
- 10 Las alternativas a los microbicidas químicos, tales como agentes de control biológico, han dado a los productores un medio de protección respetuoso con el medio ambiente de sus productos, pero con un entorno en cambio constante, la eficacia del control biológico es impredecible y no se puede garantizar la protección contra patógenos microbianos.
- 15 Con los agentes antimicrobianos existentes (en su mayoría microbicidas químicos) que pierden potencia hacia muchos de los patógenos debido a la resistencia, el incremento en la oposición global al uso de control químico y el movimiento hacia prácticas agrícolas más naturales y ecológicas, existe la necesidad de obtener agentes de control biológico naturales con un amplio espectro de actividad que puedan garantizar el establecimiento del material de siembra de alta calidad y también proteger al producto durante el almacenamiento posterior a la cosecha.
- 20 Se ha demostrado que los péptidos antibióticos bioactivos aislados a partir de *Bacillus brevis* y *Bacillus polymyxa* son activos contra el moho gris *Botrytis* en fresas (Haggaga, 2008, Archives of Phytopathology and Plant Protection 41(7), 477-491).

Sumario de la invención

- De acuerdo con un primer modo de realización de la invención, se proporciona un procedimiento de prevención o control del crecimiento microbiano en plantas, material de plantas, partes de plantas o en medios usados para
- 25 mantener las plantas o el material de plantas, comprendiendo el procedimiento la etapa de aplicar una composición antimicrobiana a las plantas, material de plantas, partes de plantas o medios,
- en el que la composición antimicrobiana comprende un decapeptido cíclico producido a partir de *Bacillus aneurinolyticus* como agente activo, siendo el decapeptido cíclico una tirocidina, triptocidina o fenicidina o un análogo de las mismas que comprende una secuencia de aminoácidos de *ciclo*(valina-X₁-leucina-D-fenilalanina-prolina-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆) (SEQ ID NO: 1), en la que:
- 30 X₁ es ornitina o lisina;
- X₂ es valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano o tirosina;
- X₃ es el isómero D de valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano o tirosina;
- X₄ es asparagina o glutamina;
- 35 X₅ es glutamina o asparagina; y
- X₆ es tirosina, fenilalanina o triptófano.
- El decapeptido cíclico puede tener un aminoácido seleccionado de una cualquiera de SEQ ID NOS: 6-21, SEQ ID NOS: 22-37 o SEQ ID NOS: 38-59, una cualquiera de SEQ ID NOS: 60-75, SEQ ID NOS: 76-91 o SEQ ID NOS: 92-113, o una cualquiera de SEQ ID NOS: 114-129, SEQ ID NOS: 130-145, SEQ ID NOS: 146-161 o SEQ ID NOS:
- 40 162-167.
- La composición puede contener dos o más de los decapeptidos cíclicos descritos anteriormente.
- La composición también puede contener un organismo que produce de forma natural el/los decapeptido(s) cíclico(s).
- La composición puede ser una composición antifúngica para controlar el crecimiento de uno o más de los siguientes hongos: *Phaeoacremonium* spp. (tal como *Phaeoacremonium aleophilum*), *Phomopsis viticola*, *Fusarium* spp. (tal
- 45 como *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides*), *Cylindrocarpon* spp. (tal como *Cylindrocarpon lirioidendra*), *Botrytis cinerea*, *Talaromyces* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Monilinia* spp., *Trichoderma* spp., o *Phaeomoniella* spp.
- La composición puede ser una composición antibacteriana.
- La composición puede tratar o prevenir el moho azul, podredumbre parda, moho verde, marchitamiento de la vid y
- 50 podredumbre de la raíz, enfermedad del pie negro, deterioro de la vid joven o enfermedad de Petri.

Los decapeptidos cíclicos o mezcla de péptidos cíclicos o análogos/derivado(s) de los mismos se pueden modificar químicamente para mejorar la solubilidad, biodisponibilidad y/o bioactividad y/o para limitar la toxicidad. Los procedimientos de modificación pueden incluir oxidación, hidroxilación, acilación, amidación, acoplamiento de un resto orgánico, sustitución de un grupo hidroxilo, carbonilo, carboxilo, amino, metilo o azúcar/derivado de azúcar y modificación biosintética.

La composición se puede formular adecuadamente para mejorar la actividad, estabilidad y/o biodisponibilidad y/o para limitar la toxicidad. Las formulaciones pueden contener sales biológicas, lípidos o derivados lipídicos, polisacáridos o derivados polisacáridos, azúcares o derivados de azúcares, aditivos GRAS autorizados o biológicamente respetuosos.

La composición también puede incluir uno o más de otros compuestos antimicrobianos o antifúngicos, incluyendo péptidos, lipopéptidos o antibióticos naturales de origen animal, microbiano o vegetal o biocidas o antibióticos producidos químicamente.

La composición puede incluir una combinación de una o más tirocidinas y gramicidina S o derivados de las mismas.

Las plantas pueden ser plantas embrionarias, jóvenes o maduras, y pueden ser plantas productoras de frutos, plantas productoras de hortalizas, cultivos en hileras, cultivos de hortalizas, plantas ornamentales, hierbas o árboles. Por ejemplo, las plantas pueden ser vides, plantas de fresas, frutales de hueso (por ejemplo, ciruelas, cerezas, melocotones, nectarinas, albaricoques y almendras), manzanos, perales, cereales, tales como trigo, y similares.

El material de plantas o partes de plantas pueden ser esquejes de plantas, raíces, material de plantas para cultivo celular, explantes, flores, frutos, hortalizas, semillas o cereales. El material de plantas puede ser material de plantas seco, tal como se encuentra en el pienso seco. Los frutos pueden ser frutos que sean susceptibles a *B. cinerea* y otros patógenos de descomposición, infección y descomposición, tales como uvas y fresas, diversas bayas o cerezas y frutos de árboles como higos, peras, manzanas, melocotones, albaricoques o ciruelas. Las hortalizas incluyen todas las variedades de crecimiento aéreo y subterráneo.

De acuerdo con un segundo modo de realización de la invención, se proporciona un procedimiento de mejora del crecimiento de las plantas o del vigor de las plantas o de prolongación de la vida de las flores cortadas, comprendiendo el procedimiento la etapa de aplicar la composición descrita anteriormente a las plantas, al material de plantas, partes de plantas o medios de crecimiento, o al agua del jarrón para las flores cortadas.

Breve descripción de las figuras

Figura 1: Desarrollo del crecimiento fúngico después de 5 días de incubación en ausencia (controles, paneles de la izquierda) y presencia de gramicidina S (tratamiento, paneles de la derecha) con **A** *Cylindrocarpon* (20 mg/l de gramicidina S), **B** *Phomopsis* (10 mg/l de gramicidina S), **C** *Phaeoacremonium* (20 mg/l de gramicidina S).

Figura 2: El efecto de gramicidina S (GS) y una mezcla de tirocidina (Trc) a 15 mg/l sobre el desarrollo de una selección de plantas de cultivo de tejidos de la vid.

Figura 3: El efecto de gramicidina S (GS), una mezcla de tirocidina (Tyr) y una mezcla de tirocidina/gramicidina S a 30 mg/l usadas para la esterilización de brotes de uva sobre el desarrollo de plantas de vid.

Figura 4: Efecto del tratamiento de agua de jarrón sobre la absorción de agua de margaritas africanas pequeñas (*Gerbera ssp.*) (A) y la condición de la flor (B) durante 15 días. Los controles contenían únicamente agua corriente, los que contenían producto comercial recibieron la dosificación tal como se especifica por el proveedor y las flores de ensayo recibieron 35 mg/l de una mezcla de tirocidina, 35 mg/l de gramicidina S (GS) o una mezcla de gramicidina S y tirocidina (que contenía 35 mg/l de cada una).

Figura 5: Efecto del tratamiento de agua de jarrón sobre la vida en el jarrón de flores *Delphinium* durante 5 días, considerándose una condición de flor de 4 o 5 como flores usables. Los controles contenían únicamente agua corriente, los que contenían producto comercial recibieron la dosificación tal como se especifica por el proveedor y el ensayo peptídico contenía 25 mg/l de una mezcla de tirocidina, 25 mg/l de gramicidina S (GS) o una mezcla de gramicidina S y tirocidina (que contenía 25 mg/l de cada una).

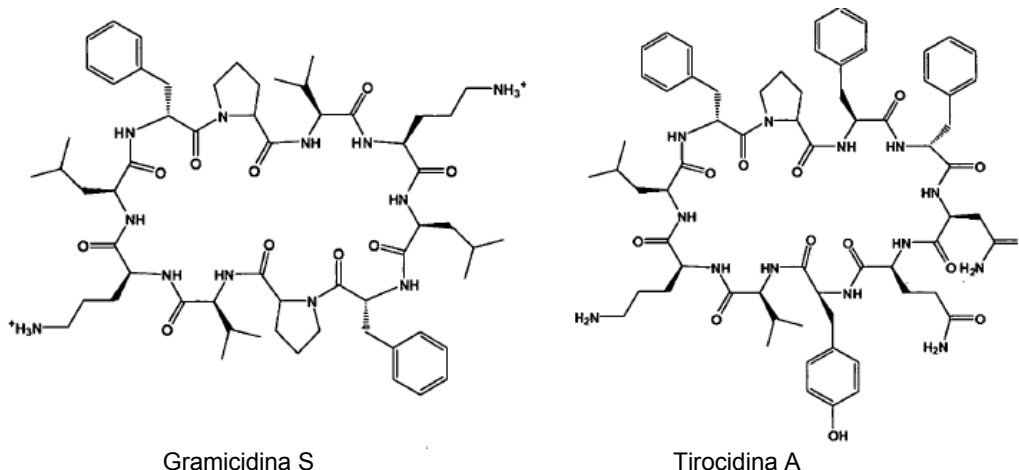
Descripción detallada de la invención

Los procedimientos para controlar o prevenir el crecimiento de patógenos microbianos, y, en particular hongos patógenos, en plantas, partes de plantas y material de plantas se describen en el presente documento. Los agentes activos usados para el control de estos patógenos son tirocidinas, triptocidinas, fenicidinas o análogos de las mismas.

Las tirocidinas, triptocidinas, fenicidinas y gramicidina S son una familia de decapeptidos cíclicos de lámina β naturales que adoptan conformaciones estructurales/topologías moleculares similares, están altamente conservados y tienen una identidad de secuencia alta. Se producen por *Bacillus* y *Brevibacillus* spp.

Las tirocidinas y gramicidina S contienen la secuencia pentapeptídica Val-Orn-Leu-D-Phe-Pro (SEQ ID NO: 4). Este resto pentapeptídico puede variar en su residuo catiónico, siendo reemplazable el residuo ornitina por lisina para ambas tirocidinas y gramicidina S, y siendo reemplazables también los residuos valina o leucina por leucina, isoleucina o valina por las tirocidinas.

- 5 La gramicidina S tiene una secuencia altamente conservada que es una repetición de la unidad pentapeptídica descrita anteriormente, es decir, *ciclo*(Val-Orn/Lys-Leu-D-Phe-Pro)₂ (SEQ ID NO: 3). En lugar de repetirse la unidad pentapeptídica, las tirocidinas comprenden un resto pentapeptídico variable de Phe-D-Phe-Asn-Gln-Tyr (SEQ ID NO: 5), o un derivado de la misma en donde los tres residuos aromáticos son independientemente reemplazables por triptófano, fenilalanina o tirosina.
- 10 Las estructuras químicas primarias de gramicidina S y una de las tirocidinas (tirocidina A) se muestran a continuación:



- 15 Los estudios sobre tirocidinas han demostrado que son activas contra *Neurospora crassa* (Mach y Slayman 1966, BBA 124, 351-36; Trevillyan y Pall, 1979, J. Bact. 397-403) y que el complejo tirocidina-gramicidina (las gramicidinas son péptidos 15-meros neutros lineales no relacionados con gramicidina S), tirotricina, es activo contra *Candida albicans* (Kretschmar *et al.*, 1996, Mycoses. 39, 45-50). La tirotricina fue el primer antibiótico que se usó en la práctica clínica, pero después cayó en el descrédito debido a su toxicidad hemolítica (Dubos y Cattaneo, 1939, J. Exp. Med. 70, 249; Hotchkiss y Dubos, 1941, J. Biol. Chem. 141, 155; Bradshaw, 2003 BioDrugs 17, 233-240). Sin embargo, el solicitante no tiene conocimiento de ningún estudio que se haya realizado sobre productores de tirotricina (por ejemplo, *Bacillus aneurinolyticus*, comúnmente denominada la cepa Dubos de *Bacillus brevis*) o tirocidinas en el control biológico de patógenos de plantas. Esto se debe posiblemente a la alta toxicidad percibida de estos péptidos, aunque parece que esta percepción es infundada (Rautenbach *et al.* 2007, BBA Biomembr. 1768, 1488-1497). El complejo tirotricina también se ha usado en pastillas para la garganta (1 mg de tirotricina por pastilla) bajo el nombre comercial Tyrozets, indicando su relativa seguridad para el consumo humano, pero este ya se ha interrumpido debido a una eficacia cuestionable.

Los decapeptidos cíclicos de la presente invención son tirocidinas, triptocidinas, fenicidinas o análogos de las mismas conocidos, que tienen una secuencia de aminoácidos altamente conservada que comprende Val-X₁-Leu-D-Phe-Pro-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆ (SEQ ID NO: 2), o un derivado o análogo de la misma, en la que X₁ es ornitina o lisina.

Los análogos adecuados de las tirocidinas, triptocidinas o fenicidinas pueden ser los que incluyen una o más de las siguientes sustituciones:

- el residuo valina sustituido con un residuo leucina o isoleucina o aminoácido hidrófobo o análogo/derivado;
- el residuo leucina sustituido con un residuo isoleucina o valina o aminoácido hidrófobo o análogo/derivado;
- 35 reemplazándose el residuo prolina por residuo hidroxiprolina o análogo/derivado del mismo;
- el residuo fenilalanina sustituido con un residuo triptófano o tirosina o análogo aromático/derivado del mismo;
- el residuo ornitina sustituido con una lisina o un aminoácido catiónico o un análogo/derivado de la misma;
- siendo X₂ valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano o tirosina o un aminoácido hidrófobo o análogo/derivado;

siendo X_3 un isómero D de valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano o tirosina o un aminoácido hidrófobo o análogo/derivado del mismo; o siendo alternativamente una ornitina, lisina o aminoácido catiónico o análogo/derivado del mismo;

siendo X_4 asparagina, glutamina o leucina o un análogo o derivado de la misma;

- 5 siendo X_5 glutamina o un aminoácido polar o análogo/derivado del mismo; o siendo alternativamente el isómero D de valina, leucina, isoleucina, o un aminoácido hidrófobo o análogo/derivado del mismo; y

siendo X_6 un residuo tirosina, fenilalanina o triptófano o prolina.

Más preferentemente, los derivados de decapeptidos cíclicos pueden ser uno o más de los péptidos seleccionados del grupo que consiste en:

- 10 Análogos de tirocidina:

Ciclo-(VKLfPWwNQY) (tirocidina C₁) (SEQ ID NO: 6)

Ciclo-(VOLfPWwNQY) (tirocidina C) (SEQ ID NO: 7)

Ciclo-(VKLfPWfNQY) (tirocidina B₁) (SEQ ID NO: 8)

Ciclo-(VOLfPWfNQY) (tirocidina B) (SEQ ID NO: 9)

- 15 *Ciclo*-(VKLfPFwNQY) (tirocidina B₁') (SEQ ID NO: 10)

Ciclo-(VOLfPFwNQY) (tirocidina B') (SEQ ID NO: 11)

Ciclo-(VKLfPFfNQY) (tirocidina A₁) (SEQ ID NO: 12)

Ciclo-(VOLfPFfNQY) (tirocidina A) (SEQ ID NO: 12)

Ciclo-(VKLfPYwNQY) (SEQ ID NO: 14)

- 20 *Ciclo*-(VOLfPYwNQY) (SEQ ID NO: 15)

Ciclo-(VKLfPYfNQY) (SEQ ID NO: 16)

Ciclo-(VOLfPYfNQY) (SEQ ID NO: 17)

Ciclo-(VKLfPFyNQY) (SEQ ID NO: 18)

Ciclo-(VOLfPFyNQY) (SEQ ID NO: 19)

- 25 *Ciclo*-(VKLfPWyNQY) (SEQ ID NO: 20)

Ciclo-(VOLfPWyNQY) (SEQ ID NO: 21)

Ciclo-(LKLfPWwNQY) (SEQ ID NO: 22)

Ciclo-(LOLfPWwNQY) (SEQ ID NO: 23)

Ciclo-(LKLfPWfNQY) (SEQ ID NO: 24)

- 30 *Ciclo*-(LOLfPWfNQY) (SEQ ID NO: 25)

Ciclo-(LKLfPFwNQY) (SEQ ID NO: 26)

Ciclo-(LOLfPFwNQY) (SEQ ID NO: 27)

Ciclo-(LKLfPFfNQY) (SEQ ID NO: 28)

Ciclo-(LOLfPFfNQY) (SEQ ID NO: 29)

- 35 *Ciclo*-(LKLfPYwNQY) (SEQ ID NO: 30)

Ciclo-(LOLfPYwNQY) (SEQ ID NO: 31)

Ciclo-(LKLfPYfNQY) (SEQ ID NO: 32)

Ciclo-(LOLfPYfNQY) (SEQ ID NO: 33)

- Ciclo*-(LKLfPFyNQY) (SEQ ID NO: 34)
Ciclo-(LOLfPFyNQY) (SEQ ID NO: 35)
Ciclo-(LKLfPWyNQY) (SEQ ID NO: 36)
Ciclo-(LOLfPWyNQY) (SEQ ID NO: 37)
5 *Ciclo*-(IKLfPWwNQY) (SEQ ID NO: 38)
Ciclo-(IOLfPWwNQY) (SEQ ID NO: 39)
Ciclo-(IKLfPWfNQY) (SEQ ID NO: 40)
Ciclo-(IOLfPWfNQY) (SEQ ID NO: 41)
Ciclo-(IKLfPFwNQY) (SEQ ID NO: 42)
10 *Ciclo*-(IOLfPFwNQY) (SEQ ID NO: 43)
Ciclo-(IKLfPFfNQY) (SEQ ID NO: 44)
Ciclo-(IOLfPFfNQY) (SEQ ID NO: 45)
Ciclo-(IKLfPYwNQY) (SEQ ID NO: 46)
Ciclo-(IOLfPYwNQY) (SEQ ID NO: 47)
15 *Ciclo*-(IKLfPYfNQY) (SEQ ID NO: 48)
Ciclo-(IOLfPYfNQY) (SEQ ID NO: 49)
Ciclo-(IKLfPFyNQY) (SEQ ID NO: 50)
Ciclo-(IOLfPFyNQY) (SEQ ID NO: 51)
Ciclo-(IKLfPWyNQY) (SEQ ID NO: 52)
20 *Ciclo*-(IOLfPWyNQY) (SEQ ID NO: 53)
Ciclo-(VKLfPLwNQY) (SEQ ID NO: 54)
Ciclo-(VOLfPLwNQY) (SEQ ID NO: 55)
Ciclo-(VKLfPLfNQY) (SEQ ID NO: 56)
Ciclo-(VOLfPLfNQY) (SEQ ID NO: 57)
25 *Ciclo*-(VKLfPLyNQY) (SEQ ID NO: 58)
Ciclo-(VOLfPLyNQY) (SEQ ID NO: 59)
Análogos de triptocidina:
Ciclo-(VKLfPWwNQW) (SEQ ID NO: 60)
Ciclo-(VOLfPWwNQW) (triptocidina C) (SEQ ID NO: 61)
30 *Ciclo*-(VKLfPWfNQW) (SEQ ID NO: 62)
Ciclo-(VOLfPWfNQW) (triptocidina B) (SEQ ID NO: 63)
Ciclo-(VKLfPFwNQW) (SEQ ID NO: 64)
Ciclo-(VOLfPFwNQW) (SEQ ID NO: 65)
Ciclo-(VKLfPFfNQW) (SEQ ID NO: 66)
35 *Ciclo*-(VOLfPFfNQW) (triptocidina A) (SEQ ID NO: 67)
Ciclo-(VKLfPYwNQW) (SEQ ID NO: 68)
Ciclo-(VOLfPYwNQW) (SEQ ID NO: 69)

- Ciclo*-(VKLfPYfNQW) (SEQ ID NO: 70)
Ciclo-(VOLfPYfNQW) (SEQ ID NO: 71)
Ciclo-(VKLfPFyNQW) (SEQ ID NO: 72)
Ciclo-(VOLfPFyNQW) (SEQ ID NO: 73)
5 *Ciclo*-(VKLfPWyNQW) (SEQ ID NO: 74)
Ciclo-(VOLfPWyNQW) (SEQ ID NO: 75)
Ciclo-(LKLfPWwNQW) (SEQ ID NO: 76)
Ciclo-(LOLfPWwNQW) (SEQ ID NO: 77)
Ciclo-(LKLfPWfNQW) (SEQ ID NO: 78)
10 *Ciclo*-(LOLfPWfNQW) (SEQ ID NO: 79)
Ciclo-(LKLfPFwNQW) (SEQ ID NO: 80)
Ciclo-(LOLfPFwNQW) (SEQ ID NO: 81)
Ciclo-(LKLfPFfNQW) (SEQ ID NO: 82)
Ciclo-(LOLfPFfNQW) (SEQ ID NO: 83)
15 *Ciclo*-(LKLfPYwNQW) (SEQ ID NO: 84)
Ciclo-(LOLfPYwNQW) (SEQ ID NO: 85)
Ciclo-(LKLfPYfNQW) (SEQ ID NO: 86)
Ciclo-(LOLfPYfNQW) (SEQ ID NO: 87)
Ciclo-(LKLfPFyNQW) (SEQ ID NO: 88)
20 *Ciclo*-(LOLfPFyNQW) (SEQ ID NO: 89)
Ciclo-(LKLfPWyNQW) (SEQ ID NO: 90)
Ciclo-(LOLfPWyNQW) (SEQ ID NO: 91)
Ciclo-(IKLfPWwNQW) (SEQ ID NO: 92)
Ciclo-(IOLfPWwNQW) (SEQ ID NO: 93)
25 *Ciclo*-(IKLfP(Wf)NQW) (SEQ ID NO: 94)
Ciclo-(IOLfP(Wf)NQW) (SEQ ID NO: 95)
Ciclo-(IKLfP(Fw)NQW) (SEQ ID NO: 96)
Ciclo-(IOLfP(Fw)NQW) (SEQ ID NO: 97)
Ciclo-(IKLfPFfNQW) (SEQ ID NO: 98)
30 *Ciclo*-(IOLfPFfNQW) (SEQ ID NO: 99)
Ciclo-(IKLfPYwNQW) (SEQ ID NO: 100)
Ciclo-(IOLfPYwNQW) (SEQ ID NO: 101)
Ciclo-(IKLfPYfNQW) (SEQ ID NO: 102)
Ciclo-(IOLfPYfNQW) (SEQ ID NO: 103)
35 *Ciclo*-(IKLfPFyNQW) (SEQ ID NO: 104)
Ciclo-(IOLfPFyNQW) (SEQ ID NO: 105)
Ciclo-(IKLfPWyNQW) (SEQ ID NO: 106)

- Ciclo*-(IOLfPWyNQW) (SEQ ID NO: 107)
- Ciclo*-(VKLfPLwNQW) (SEQ ID NO: 108)
- Ciclo*-(VOLfPLwNQW) (SEQ ID NO: 109)
- Ciclo*-(VKLfPLfNQW) (SEQ ID NO: 110)
- 5 *Ciclo*-(VOLfPLfNQW) (SEQ ID NO: 111)
- Ciclo*-(VKLfPLyNQW) (SEQ ID NO: 112)
- Ciclo*-(VOLfPLyNQW) (SEQ ID NO: 113)
- Análogos de fenicidina:
- Ciclo*-(VKLfPWwNQF) (SEQ ID NO: 114)
- 10 *Ciclo*-(VOLfPWwNQF) (fenicidina C) (SEQ ID NO: 115)
- Ciclo*-(VKLfPWfNQF) (SEQ ID NO: 116)
- Ciclo*-(VOLfPWfNQF) (fenicidina B) (SEQ ID NO: 117)
- Ciclo*-(VKLfPFwNQF) (SEQ ID NO: 118)
- Ciclo*-(VOLfPFwNQF) (SEQ ID NO: 119)
- 15 *Ciclo*-(VKLfPFfNQF) (SEQ ID NO: 120)
- Ciclo*-(VOLfPFfNQF) (fenicidina A o tirocidina E) (SEQ ID NO: 121)
- Ciclo*-(VKLfPYwNQF) (SEQ ID NO: 122)
- Ciclo*-(VOLfPYwNQF) (SEQ ID NO: 123)
- Ciclo*-(VKLfPYfNQF) (SEQ ID NO: 124)
- 20 *Ciclo*-(VOLfPYfNQF) (SEQ ID NO: 125)
- Ciclo*-(VKLfPFyNQF) (SEQ ID NO: 126)
- Ciclo*-(VOLfPFyNQF) (SEQ ID NO: 127)
- Ciclo*-(VKLfPWyNQF) (SEQ ID NO: 128)
- Ciclo*-(VOLfPWyNQF) (SEQ ID NO: 129)
- 25 *Ciclo*-(LKLfPWwNQF) (SEQ ID NO: 130)
- Ciclo*-(LOLfPWwNQF) (SEQ ID NO: 131)
- Ciclo*-(LKLfPWfNQF) (SEQ ID NO: 132)
- Ciclo*-(LOLfPWfNQF) (SEQ ID NO: 133)
- Ciclo*-(LKLfPFwNQF) (SEQ ID NO: 134)
- 30 *Ciclo*-(LOLfPFwNQF) (SEQ ID NO: 135)
- Ciclo*-(LKLfPYwNQF) (SEQ ID NO: 136)
- Ciclo*-(LOLfPYwNQF) (SEQ ID NO: 137)
- Ciclo*-(LKLfPYfNQF) (SEQ ID NO: 138)
- Ciclo*-(LOLfPYfNQF) (SEQ ID NO: 139)
- 35 *Ciclo*-(LKLfPFyNQF) (SEQ ID NO: 140)
- Ciclo*-(LOLfPFyNQF) (SEQ ID NO: 141)
- Ciclo*-(LKLfPWyNQF) (SEQ ID NO: 142)

Ciclo-(LOLfPWyNQF) (SEQ ID NO: 143)

Ciclo-(LKLfPFfNQF) (SEQ ID NO: 144)

Ciclo-(LOLfPFfNQF) (SEQ ID NO: 145)

Ciclo-(IKLfPWwNQF) (SEQ ID NO: 146)

5 *Ciclo*-(IOLfPWwNQF) (SEQ ID NO: 147)

Ciclo-(IKLfPWfNQF) (SEQ ID NO: 148)

Ciclo-(IOLfPWfNQF) (SEQ ID NO: 149)

Ciclo-(IKLfPFwNQF) (SEQ ID NO: 150)

Ciclo-(IOLfPFwNQF) (SEQ ID NO: 151)

10 *Ciclo*-(IKLfPYwNQF) (SEQ ID NO: 152)

Ciclo-(IOLfPYwNQF) (SEQ ID NO: 153)

Ciclo-(IKLfPYfNQF) (SEQ ID NO: 154)

Ciclo-(IOLfPYfNQF) (SEQ ID NO: 155)

Ciclo-(IKLfPFyNQF) (SEQ ID NO: 156)

15 *Ciclo*-(IOLfPFyNQF) (SEQ ID NO: 157)

Ciclo-(IKLfPWyNQF) (SEQ ID NO: 158)

Ciclo-(IOLfPWyNQF) (SEQ ID NO: 159)

Ciclo-(IKLfPFfNQF) (SEQ ID NO: 160)

Ciclo-(IOLfPFfNQF) (SEQ ID NO: 161)

20 *Ciclo*-(VKLfPLwNQF) (SEQ ID NO: 162)

Ciclo-(VOLfPLwNQF) (SEQ ID NO: 163)

Ciclo-(VKLfPLfNQF) (SEQ ID NO: 164)

Ciclo-(VOLfPLfNQF) (SEQ ID NO: 165)

Ciclo-(VKLfPLyNQF) (SEQ ID NO: 166)

25 *Ciclo*-(VOLfPLyNQF) (SEQ ID NO: 167)

donde las abreviaturas en mayúsculas estándar denotan los L-aminoácidos, con la excepción de O para ornitina, las abreviaturas en minúsculas denotan un D-residuo, y *Ciclo* indica una ciclación amino a carboxi-terminal por medio de un enlace amida.

30 Las referencias en lo sucesivo a "decapéptidos cíclicos" se refieren a las secuencias establecidas anteriormente y análogos o derivados de los mismos.

El solicitante ha descubierto que las tirocidinas y derivados de las mismas, y las composiciones que las contienen o sus productos, se pueden usar como agentes de control biológico para controlar o prevenir el crecimiento de patógenos antimicrobianos en plantas o material de plantas o medios de cultivo y entornos. Por ejemplo, se pueden usar:

35 (1) para prevenir el arrastre de patógenos fúngicos latentes a plantas propagadas en vivero y promover el crecimiento y la supervivencia;

(2) para controlar y prevenir las infecciones fúngicas en plantas embrionarias y jóvenes y promover el crecimiento y la supervivencia;

40 (3) para controlar y prevenir las infecciones fúngicas y microbianas en el material de plantas y medios para su uso en cultivos de células vegetales;

(4) para proporcionar protección contra patógenos fúngicos posteriores a la cosecha que infectan los frutos cosechados;

(5) para mejorar la conservación de flores cortadas mejorando la absorción de agua y previniendo/limitando las infecciones en el tallo de la flor.

- 5 Las plantas pueden ser plantas productoras de fruto, plantas productoras de hortalizas, cultivos en hileras, cultivos de hortalizas, plantas ornamentales, hierbas o árboles. Por ejemplo, las plantas pueden ser plantas de bayas tales como vides, plantas de fresas, manzanos, perales, frutales de hueso, cereales, tales como trigo, y similares.

El material de plantas incluye esquejes de plantas, raíces, explantes, material de plantas para cultivo celular, flores, frutos (tales como fresas, uvas, cerezas, manzanas, peras, melocotones y similares), semillas o cereales.

- 10 Los decapeptidos cíclicos se pueden producir por sus productores bacterianos naturales, modificando genéticamente un microorganismo adecuado o usando un sistema orgánico/semisintético. Los residuos de aminoácidos en los derivados o análogos se pueden reemplazar por separado o en combinación en la secuencia del decapeptido cíclico núcleo (ciclo(valina-oritina-leucina-D-fenilalanina-prolina-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆) (SEQ ID NO: 1) por producción bacteriana/microbiana o usando sistemas orgánicos/semisintéticos.

- 15 Los decapeptidos cíclicos se pueden modificar químicamente para mejorar la solubilidad, biodisponibilidad y/o bioactividad y/o para limitar la toxicidad. Los procedimientos de modificación incluyen oxidación, hidroxilación, acilación, amidación, acoplamiento de un resto orgánico, sustitución de un grupo hidroxilo, carbonilo, carboxilo, amino, metilo o azúcar/derivado de azúcar y modificación biosintética.

- 20 Los decapeptidos cíclicos, mezclas de los mismos o modificaciones de los mismos se pueden formular en una composición adecuada para su uso en plantas, partes de plantas o material de plantas, conservación de flores, en medios de cultivo, en instalaciones de cultivo o entornos de vivero, o en equipo de propagación de plantas. La composición se puede formular adecuadamente para mejorar la actividad, estabilidad y/o biodisponibilidad y/o para limitar la toxicidad. Las formulaciones pueden contener sales biológicas, lípidos o derivados lipídicos, polisacáridos o derivados polisacáridos, azúcares o derivados de azúcares, aditivos GRAS autorizados o biológicamente respetuosos.

La composición se puede formular en diversos tipos de formulaciones, tales como soluciones, polvos humectables, polvos solubles, comprimidos y gránulos solubles en agua o dispersables. La composición también se puede formular como una reserva concentrada (que se diluye en una solución acuosa antes de la aplicación por pulverización convencional) o como un producto listo para usar.

- 30 Un agente tensioactivo se puede usar como agente humectante, solubilizante y de penetración. Los tensioactivos adecuados incluyen tensioactivos derivados de péptidos (es decir, surfactina e iturina), tensioactivos no iónicos, tensioactivos aniónicos y tensioactivos anfóteros, tales como ácidos cíclicos, sales de sulfatos de alquilo, sales de ácidos alquilsulfónicos, sales de ácidos alquilarilsulfónicos, éteres alquilarílicos y sus derivados de polioxietileno, éteres de polietilenglicol, ésteres de polioles y derivados de alcoholes de azúcares.

- 35 Otros componentes de la formulación pueden incluir tensioactivos adicionales, disolventes, codisolventes, colorantes, protectores UV (ultravioleta), antioxidantes, antiespumantes, adhesivos, propagadores, agentes antiespumación, conservantes, humectantes, tampones, vehículos, emulsionantes, agentes humectantes, dispersantes, agentes de fijación, disgregantes, solubilizantes ácidos u otros componentes que faciliten la manipulación y el manejo del producto. Estos vehículos, diluyentes, agentes auxiliares, etc., se seleccionan preferentemente para optimizar la acción antifúngica en plantas o material de plantas.

- 40 Los vehículos sólidos pueden incluir, por ejemplo, los siguientes materiales en forma de polvo fino o granulada: medios de cultivo celular o medios de cultivo celular seco que contienen agarosa/agar; fertilizantes de tipo orgánico; arcillas (por ejemplo, caolinita, tierra de diatomeas, óxido de silicio hidratado sintético, arcilla de Fubasami, bentonita, arcilla ácida); talco y otros minerales inorgánicos (por ejemplo, sericita, cuarzo en polvo, azufre en polvo, carbón activado, carbonato de calcio); y fertilizantes químicos (por ejemplo, sulfato de amonio, fosfato de amonio, nitrato de amonio, cloruro de amonio, urea). Los vehículos líquidos pueden incluir, por ejemplo, medios de cultivo celular, agua; alcoholes (por ejemplo, metanol, etanol, isopropanol); cetonas (por ejemplo acetona, metiletilcetona, ciclohexanona); ésteres (por ejemplo, acetato de etilo, acetato de butilo); nitrilos (por ejemplo, acetonitrilo, isobutironitrilo); y amidas de ácido (por ejemplo, dimetilformamida, dimetilacetamida), así como bases diluidas (por ejemplo, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio y aminas).

- 45 Otros agentes auxiliares pueden incluir, por ejemplo, agentes adhesivos y agentes dispersantes, tales como caseína, gelatina, polisacáridos (por ejemplo, almidón en polvo, goma arábiga, derivados de celulosa, ácido alginico, quitina), derivados de lignina y polímeros solubles en agua sintéticos (por ejemplo de poli(alcohol vinílico), polivinilpirrolidona, poli(ácido acrílico)); sales (por ejemplo, sales de citrato, cloruro, sulfato, acetato, amonio, bicarbonato, fosfato, y similares) y estabilizantes tales como PAP (fosfato ácido de isopropilo), BHT (2,6-di-terc-butil-4-metilfenol), BHA (2-(2-/3-terc-butyl-4-metoxifenol), aceites vegetales, aceites minerales, fosfolípidos, ceras, ácidos grasos y ésteres de ácidos grasos.

Los reguladores del crecimiento de plantas convencionales, herbicidas, fungicidas, bactericidas, insecticidas, nematocidas, acaricidas, pesticidas bioquímicos, pesticidas producidos por plantas (productos botánicos), componentes de medios de cultivo celular o nutrientes de plantas, etc., también se pueden incorporar en la composición de la presente invención.

- 5 La composición también puede incluir uno o más de otros compuestos antimicrobianos o antifúngicos, incluyendo péptidos, lipopéptidos o antibióticos naturales de origen animal, microbiano o vegetal o fungicidas o antibióticos producidos químicamente. Por ejemplo, la composición puede incluir un complejo tirocidina-gramicidina (denominado tirotricina).

- 10 La composición se puede diluir en agua, mezcla orgánica con agua o con vehículo líquido, y pulverizar o aplicar en entornos controlados sobre la planta o material de plantas a tratar, o usar para lavar materiales de plantas o el entorno/sistemas/equipo o mezclar con medios de cultivo celular o medios de propagación de plantas. De forma alternativa, la composición se puede aplicar directamente en el suelo (en el que crecerá o está creciendo la planta) con o sin fertilizantes granulares o fertilizantes de tipo orgánico para la propagación de plantas cultivadas o la mejora en el crecimiento de plantas.

- 15 A continuación se demuestra que las tirocidinas, triptocidinas y fenicidinas y derivados/análogos de las mismas son microbicidas de amplio espectro que son activos contra la contaminación tanto bacteriana como fúngica. Los decapeptidos cíclicos análogos a las tirocidinas también muestran una baja fitotoxicidad. Todos los decapeptidos cíclicos son termoestables, funcionan en un amplio intervalo de pH y son relativamente insensibles a las sales minerales. Por otra parte, debido a que son péptidos cíclicos, son menos propensos a degradarse rápidamente como los péptidos lineales y, por lo tanto, son adecuados para ofrecer posibilidades de protección a largo plazo.

La invención se describirá ahora en más detalle por medio de los siguientes ejemplos no limitantes.

Ejemplos

Actividad antimicrobiana

- 25 Se analizaron las actividades antimicrobianas de una mezcla de tirocidina (mezcla Trc), así como tirocidinas purificadas, triptocidina C, fenicidina A y gramicidina S (GS). Típicamente, la mezcla Trc contenía TrcA/A₁ (30-35 %), TrcB/B₁ (30-35 %), TrcC/C₁ (20-25 %), TpcA/B/C (5-10 %) y PhcA y análogos secundarios (<5 %). La GS usada en ensayos *in vivo* contenía típicamente gramicidina S (> 90 %) y análogos de gramicidina S (<10 %).

- 30 Se usaron ensayos con caldo de microdilución y agar para evaluar la actividad antifúngica de los decapeptidos cíclicos en medio líquido y en medio sólido (gel), respectivamente. En medio de caldo y agar, la mezcla Trc mostró una actividad significativa contra patógenos fúngicos seleccionados, por ejemplo, *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phomopsis viticola*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. verticillioides*, *Cylindrocarpon liriodendri* y *Botrytis cinerea* (tabla 1). GS también mostró una actividad significativa contra estos patógenos fúngicos. La mezcla Trc y GS mostraron una actividad antibacteriana micromolar baja de amplio espectro, en particular contra el patógeno alimentario *L. monocytogenes*.

- 35 **Tabla 1:** Actividad antifúngica de la mezcla de tirocidina natural y gramicidina S contra organismos diana fúngicos y bacterianos seleccionados.

Diana microbiana	Mezcla Trc MIC + EEM		GS MIC + EEM	
	Caldo	Agar	Caldo	Agar
Especie fúngica				
<i>Fusarium solani</i>	9,3 ± 1,2	> 100	2,5 ± 0,1	5,5 ± 1,3
<i>Fusarium oxysporum</i>	10 ± 1,1	nd	2,6 ± 0,2	nd
<i>Fusarium verticillioides</i>	12 ± 2,9	nd	3,5 ± 0,3	nd
<i>Botrytis cinerea</i>	4,8 ± 0,7	7,6 ± 1,7	2,8 ± 0,3	2,5 ± 0,3
<i>Cylindrocarpon liriodendri</i>	2,9 ± 0,1	<10	2,3 ± 0,1	<10
<i>Aspergillus fumigatus</i> ATCC 204305	8,6 ± 0,5	nd	8,6 ± 0,7	nd
<i>Talaromyces ramulosus</i> (aislado de melocotón)	3,7 ± 0,4	nd	3,0 ± 0,1	3,6 ± 0,3
<i>Talaromyces mineoluteus</i> (aislado de melocotón)	3,3 ± 0,2	nd	4,2 ± 0,2	nd
<i>Penicillium expansum</i> (aislado de melocotón)	5,2 ± 0,3	nd	3,7 ± 0,3	nd
<i>Penicillium digitatum</i> (aislado de cítrico)	3,7 ± 0,2	>20	3-4	<20
<i>Penicillium glabrum</i> (aislado de madera)	9,8 ± 0,2	nd	4,0 ± 0,5	nd
<i>Trichoderma atroviride</i> (aislado de madera)	11 ± 0,4	nd	4,8 ± 0,3	nd
<i>Phomopsis viticola</i>	nd	<10	nd	<10
<i>Phaeoacremonium aleophilum</i>	nd	<10	nd	<10
Especie bacteriana				
<i>Bacillus subtilis</i> 168	12-20	nd	8-14	nd
<i>Bacillus subtilis</i> OKB105	25-30	nd	8-14	nd
<i>Bacillus subtilis</i> OKB120	12-20	nd	8-14	nd
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC21332	25-30	nd	8-14	nd

<i>Bacillus spizizenii</i> ATCC 6633	21 ± 3,9	nd	2,6 ± 0,2	nd
<i>Micrococcus luteus</i> NCTC 8340	5,7 ± 0,11	<10	28 ± 0,4	6
<i>Listeria monocytogenes</i> B73	23 ± 0,63	nd	9,9 ± 0,2	nd
<i>Listeria monocytogenes</i> B73-MR1	14 ± 0,30	nd	5,6 ± 0,1	nd
<i>Escherichia coli</i> HB101	>100	>100	44	40

En resumen, los ensayos muestran que 3-12 mg/l (3-12 ppm o partes por millón) de decapeptido cíclico elimina hasta 20 millones de esporas fúngicas por litro de medio de crecimiento. Del mismo modo, 15-25 mg/l (15-25 ppm) de decapeptido cíclico elimina 2×10^{11} /l de unidades formadoras de colonias del patógeno alimentario bacteriano *L. monocytogenes*. A partir de los resultados es evidente que la mezcla Trc y GS presentan actividad antimicrobiana y, en particular antifúngica, significativa contra un amplio espectro de patógenos.

Las actividades antifúngicas de los decapeptidos cíclicos purificados, GS, TrcA₁, TrcA, TrcB₁, TrcB, TrcC₁, TrcC, PhcA y TpcC se determinaron contra *F. solani* y *B. cinerea* tanto en caldo de triptona de soja modificada con extracto de levadura (medio con alto contenido en sal, YTSB, resultados no mostrados) como en caldo de dextrosa de patata (PDB de bajo contenido en sal) (tabla 2). Se descubrió una actividad en μ M baja en el medio de alto contenido en sal (YSTB) en comparación con el medio de bajo contenido en sal (PDB) para todos los péptidos, excepto para TpcC y PhcA. TpcC y PhcA estaban especialmente influenciados por su entorno, presentando TPCC una disminución en la actividad de aproximadamente dos veces contra *B. cinerea* y *F. solani* de YTSB a PDB y perdiendo PhcA una actividad de ± 2 veces y ± 5 veces respectivamente contra *B. cinerea* y *F. solani* de PDB a YTSB.

Tabla 2: Resumen de los decapeptidos cíclicos y su actividad antifúngica contra hongos que crecen en PDB. Se usan abreviaturas de una/tres letras estándar con la excepción de O para ornitina, letras minúsculas para D-aminoácidos, (+) para residuo de aminoácido catiónico, Ar para residuo de aminoácido aromático.

Identidad	Abr.	Secuencia	MIC contra <i>B. cinerea</i> en PDB (n)	MIC contra <i>F. solani</i> en PDB (n)
Mezcla de tirocidina	Mezcla Trc	Ciclo (Val-(+)-Leu-D-Phe- Pro-Ar-D-Ar-Asn-Gln-Ar) (SEQ ID NO: 178)	4,8±0,7 (6)	9,3±1,2 (3)
Tirocidina C ₁	TrcC ₁	Ciclo-(VKLfPWwNQY) (SEQ ID NO: 179)	8,9±1,5 (3)	32±2,8 (3)
Tirocidina C	TrcC	Ciclo-(VQLfPWwNQY) (SEQ ID NO:180)	3,5±0,2 (6)	4,3±0,4 (3)
Tirocidina B ₁ / B ₁ '	TrcB ₁ /B ₁ '	Ciclo-(VKLfP(W,f)NQY) (SEQ ID NO:) (SEQ ID NO: 181)	3,6±0,1 (6)	5,9±0,6 (3)
Tirocidina B/B'	TrcB/B'	Ciclo-(VQLfP(W,f)NQY) (SEQ ID NO:182)	5,1±1,0 (6)	11±4,0 (3)
Tirocidina A ₁	TrcA ₁	Ciclo-(VKLfPefNQY) (SEQ ID NO: 183)	4,1±0,7 (6)	7,9±0,7 (3)
Tirocidina A	TrcA	Ciclo-(VQLfPefNQY) (SEQ ID NO: 184)	5,2±0,6 (6)	4,0±0,4 (3)
Triptocidina C	TpcC	Ciclo-(VQLfPWwNQW) (SEQ ID NO: 185)	3,6±0,2 (6)	4,6±0,9 (3)
Fenicidina A	PhcA	Ciclo-(VQLfPefNQE) (SEQ ID NO: 186)	6,9±1,4 (5)	7,2±1,0 (3)
Gramicidina S	GS	Ciclo-(VQLfPVOIfP) (SEQ ID NO: 187)	1,8 ± 0,3	2,2 ± 0,1

En general, GS, TrcA y TrcC presentaron la mayor actividad con la mayor consistencia tanto contra *B. cinerea* como contra *F. solani* en YTSB y PDB. En general, las actividades antifúngicas potentes contra ambas especies en ambos medios son buenas indicaciones de actividad antifúngica tolerante a la sal que es necesaria para la protección del pienso. Además, la actividad del decapeptido cíclico en medio líquido es un prerrequisito para el control de patógenos fúngicos, por ejemplo, en depósitos de hidratación e hidropónicos que se usan en la propagación de plantas. También se descubrió una buena actividad tanto para la mezcla Trc como GS en agar para varios patógenos diana, lo que es una buena indicación de su potencial en la esterilización de la superficie. Esto se exploró adicionalmente y se analiza a continuación.

Actividad antifúngica en superficies

Las especies de hongos pueden ser patógenos de superficie. Por ejemplo, *B. cinerea* se puede encontrar en la superficie de las uvas (Ferreira, 1990 S. Afr. J. Enol. Vitic 11, 38-41) y fresas (Hang *et al*, 2005, Plant Pathol. J. 21, 59-63). De forma alternativa, los hongos patógenos, tales como *F. solani*, se pueden encontrar en el suelo (Booth, C. (Ed), 1971, The Genus Fusarium, Commonwealth Mycological institute, Surrey) o en el xilema de plantas (Alaniz *et*

al., 2007, Plant Dis. 91, 1187-1193). Por lo tanto, para proteger los frutos, semillas, cereales y preparados alimenticios secos, el agente antifúngico también debe ser activo en entornos de superficie.

Solo se proporcionó protección de superficie parcial por la mezcla Trc contra *F. solani*, que no es un importante patógeno de descomposición, mientras que GS permaneció altamente activa contra este patógeno que creció en medio de agar (tabla 3). Tanto la mezcla Trc como GS fueron altamente activas contra *B. cinerea*, tanto en los ensayos de gel de PDA (agar y dextrosa de patata) como de YTSA (agar y triptona de soja modificada con extracto de levadura), similares a los de los medios líquidos, mostrando actividad de superficie (tabla 3). Esto indica que la mezcla Trc y GS se podría usar como agentes protectores para frutos contra *B. cinerea*, un importante hongo patógeno en la descomposición del fruto.

Tabla 3: Resumen de la actividad contra *F. solani* y *B. cinerea* en PDA e YTSA de la mezcla Trc y GS.

		PDA (µg/ml)		YTSA (µg/ml)	
		CI ₅₀ ± EEM	MIC ± EEM	CI ₅₀ ± EEM	MIC ± EEM
<i>F. solani</i>	Mezcla Trc	8,3 ± 3,7	> 100	16,7 ± 0,8	>100
<i>B. cinerea</i>		5,0 ± 0,9	7,6 ± 1,7	7,44 ± 0,2	14,4 ± 1,5
<i>F. solani</i>	GS	4,9 ± 1,2	6,3 ± 1,5	9,6 ± 0,5	19,9 ± 1,2
<i>B. cinerea</i>		2,0 ± 0,3	2,8 ± 0,3	4,5 ± 1,1	8,2 ± 1,8

También se han observado resultados prometedores en ensayos preliminares en naranjas, con un 50 % y un 80 % menos de infecciones en heridas por *P. digitatum* usando 50 mg/l (50 ppm) de mezcla Trc y GS, respectivamente.

La mezcla Trc y GS mostraron una actividad antifúngica fuerte contra los tres patógenos fúngicos sometidos a prueba en presencia y ausencia de cortes en madera (tabla 4, figura 1). La mezcla Trc era altamente activa contra *Phomopsis* en presencia de material de tallo de vid. Sin embargo, la mezcla Trc mostró una actividad reducida contra *Cylindrocarpon* y menos aún contra esporas *Phaeoacremonium*, cuando se sometió a prueba a 10 mg/l contra estos patógenos (tabla 4). Esto sugeriría que la se une al material de madera, reduciendo así la concentración eficaz requerida para destruir ciertas esporas fúngicas en solución, pero protegiendo potencialmente la superficie de madera. Esta pérdida de actividad en solución se superó, sin embargo, incrementando la concentración de la mezcla Trx a 20 mg/l. También se debe destacar que la actividad de la mezcla Trc se sometió a prueba a 10 veces (10⁷ esporas/l) la concentración de esporas usada para las pruebas de fungicidas comerciales y a 100 veces la concentración de esporas observada normalmente en el material de vid contaminada (comunicación personal con el Department of Plant pathology, Stellenbosch University).

Tabla 4: La actividad antifúngica de la mezcla Trc y GS en presencia y ausencia de material de tallo de vid (gvs) en condiciones de depósito de hidratación simuladas. Se indica el porcentaje de esporas viables, determinado con un ensayo de viabilidad, en comparación con controles de crecimiento/supervivencia.

[Mezcla Trc]	<i>Cylindrocarpon</i>		<i>Phomopsis</i>		<i>Phaeoacremonium</i>	
	- gvs	+ gvs	- gvs	+ gvs	- gvs	+ gvs
10 µg/ml	0	40	0	0	0	8
20 µg/ml	0	0	ND	ND	0	0
[Gram S]	- gvs	+ gvs	- gvs	+ gvs	- gvs	+ gvs
10 µg/ml	0	0	0	0	0	0
20 µg/ml	0	0	ND	ND	0	0

Actividad antifúngica in vivo

La mezcla Trc y GS también se sometieron a prueba para determinar su uso en la esterilización de material de vid recogido en el campo para su uso en cultivos de plantas. Se descubrió que 20 mg/l de mezcla Trc o GS eran suficientes para eliminar los hongos patógenos en la etapa de lavado o en medio de crecimiento sin un importante efecto perjudicial para el material de plantas (resultados no mostrados). Sin embargo, en casos seleccionados, se descubrió que la eficacia antibacteriana de la mezcla Trc era inadecuada, y para mejorar la eficacia global tuvo que combinarse con GS, lo que mostró una buena actividad antibacteriana. Se descubrió además que 15 mg/l de mezcla Trc o GS eran suficientes para eliminar los hongos patógenos en el medio de crecimiento sin un importante efecto perjudicial para el material de plantas (figura 1). La mezcla Trc no solo potenció la supervivencia en el cultivo de plantas, sino que potenció significativamente el follaje, las raíces y el crecimiento global por encima de la de las

plantas de control. GS también potenció la supervivencia en el cultivo de plantas y el crecimiento de follaje, pero el crecimiento de las raíces se vio visiblemente afectado. Por lo tanto, la mezcla Trc muestra un gran potencial para la esterilización, protección y estimulación del crecimiento global de los explantes en el medio de crecimiento.

5 Los ensayos de campo en los que se trataron brotes de vid después del injerto con 30 mg/l de mezcla Trc, GS o una mezcla de GS y mezcla Trc mostraron que el tratamiento dio lugar a una supervivencia de un >15 % mayor de brotes de 2 meses en la viña (figura 3). Los brotes tratados también mostraron visiblemente más follaje, en correlación con los resultados de cultivos de plantas de uva. Esto demuestra que los decapeptidos cíclicos solos o en combinación también tienen eficacia en condiciones de vivero y también bajo condiciones agrícolas.

10 Los ensayos de flores cortadas en híbridos de la margarita africana (*Gerbera hybrid*) mostraron que tan solo 35 mg/l de mezcla Trc, GS o GS + mezcla Trc en agua corriente incrementan sustancialmente la absorción de agua (mejora de un >45 %) por encima de la de las flores en agua sola, lo que indica que se suprimen las infecciones oportunistas que bloquean el tallo de la flor. La absorción de agua fue inicialmente mejor que la observada para un producto comercial para la conservación de flores cortadas (figura 4A). Se descubrió que la supervivencia de la mayoría de las flores era de ± 2 días más cuando se trataron con la mezcla Trc que las flores en el control de agua no tratada, 15 GS o GS + mezcla Trc, aunque ligeramente menos flores que las del producto comercial optimizado todavía estaban en condición prístina (figura 4B). Sin embargo, GS a 35 mg/l sola o en GS + mezcla Trc no contribuyó a la supervivencia de la flor y puede haber dado lugar a cierta fitotoxicidad en la Gerbera.

20 Se realizaron ensayos con flores Delphinium y 25 mg/l y 50 mg de GS o mezcla Trc y GS + mezcla Trc (50 mg/l de concentración combinada). La mezcla Trc a 25 y 50 mg/ml no mostró fitotoxicidad y preservó las flores mejor que los controles en agua corriente. GS en 25 mg/l no mostró fitotoxicidad evidente, pero a 50 mg/l de nuevo se demostró que era fitotóxica. Sin embargo, GS + mezcla Trc, que contenía 25 mg/l de GS en comparación con 35 mg/ml en el ensayo de Gerbera, superó al producto comercial en la conservación de flores Delphinium (figura 5). Estos resultados indican que la mezcla Trc o una combinación óptima de GS + mezcla Trc tienen un buen potencial en formulaciones de productos para prolongar la vida en jarrón de flores cortadas tan diversas como *Gerbera* spp. y 25 *Delphinium* spp. en arreglos florales.

Materiales y procedimientos

Ensayos de actividad antifúngica y antibacteriana

30 La actividad antibacteriana de las tirocidinas y gramicidina S contra todas las bacterias se sometidas a prueba se determinó por los procedimientos descritos por Du Toit EA y Rautenbach M (2000) J. Microbiol. Methods, 42, 159-165. La actividad antifúngica de las tirocidinas contra todas las bacterias sometidas a prueba se determinó por los procedimientos descritos por Troskie AM, Vlok NM y Rautenbach M (2012) J. Microbiol. Methods, 91, 551-558.

Ensayos de depósito de hidratación

35 Las actividades de GS y mezcla Trc también se evaluaron en presencia y ausencia de material de tallo de vid en un entorno de depósito de hidratación simulado. Cada ensayo de 5,0 ml contenía esporas fúngicas a 10000 esporas/ml, péptido a 10 y 20 mg/ml y material de tallo de vid. El material de tallo de vid se lavó con etanol al 70 % y se aclaró con agua estéril antes de disponerlo en depósitos de hidratación inoculados, después de esto se añadió la mezcla Trc. Los controles contenían el péptido o bien material de tallo de vid. Los ensayos se incubaron a temperatura ambiente durante 16 horas, después de esto se sembraron tres alícuotas de 100 ml de cada ensayo en agar PDA y se dejaron crecer durante tres días a 25 °C. Algunas placas se tiñeron con tinción Brilliant Blue de Coomassie 40 (Coomassie al 0,025 %, isopropanol al 12,5 % y ácido acético al 10 %) para una mejor visualización de las colonias fúngicas. Se registró el número de colonias que se desarrollaron después de tres días y se expresó como porcentaje de esporas viables después de su comparación con las muestras de control que no contenían péptido.

Ensayos de cultivo de planta

45 Se transfirieron plantas de cultivo de tejido de vid a medio MS que contenía GS o mezcla Trc a una concentración de 15 µg/ml y se incubaron a 25 °C con un ciclo día noche 16 h/8 h. Se realizó un seguimiento del crecimiento y desarrollo de las plántulas de vid y se comparó con el conjunto de plantas de control que se mantuvieron en medio MS sin GS o mezcla Trc.

Ensayos de campo de brotes de uva

50 Se trataron brotes de uva después del injerto por inmersión de 2 x 500 brotes/cubo en 50 l de agua que contenía 30 mg/l de mezcla Trc o 30 mg/l de GS. La inmersión secuencial en 30 mg/l de mezcla Trc y 30 mg/l de GS también se realizó en 500 brotes. Se siguieron prácticas de vivero estandarizadas y se incubaron los brotes durante tres meses antes de plantarlos en una viña de vivero. Se contaron los brotes muertos y los brotes viables con follaje después de aproximadamente un mes de crecimiento y se compararon con los brotes de control que se sometieron a la práctica normal.

Ensayos de flores cortadas

- 5 Se realizaron ensayos de flores cortadas en híbridos pequeños de la margarita africana (*Gerbera hybrid*) y espuela de caballero azul (*Gerbera hybrid*) en flores de 3 días. Las flores se prepararon cortando 3-5 cm de cada tallo y se dispuso cada una por separado en un matraz aforado con 100 ml que, o bien no contenía aditivo o bien contenía mezcla Trc (35 mg/l para Gerbera y 25 mg/l para Delphinium), GS (35 mg/l para Gerbera y 25 mg/l para Delphinium), mezcla Trc + GS (70 mg/l combinados para Gerbera y 50 mg/l combinados para Delphinium) o aditivo comercial para la conservación de flores. Las flores (6-12 por ensayo) se mantuvieron en una habitación tanto con luz natural como fluorescente (16 horas de luz/día) a 22 ± 1 °C. Se realizó un seguimiento del volumen de agua cada 24 horas y se anotó para cada flor.
- 10 Se puntuó la condición de la flor de 0 a 5, siendo 0 = muerta, 1 = pétalos de flor deshidratados, cerrados y en caída, 2 = flor todavía parcialmente abierta pero deshidratada y en caída, 3 = comienza la caída de la flor, pétalos suaves, 4 = algunos pétalos se vuelven blandos, flor todavía en buenas condiciones y 5 = flor en condiciones prístinas con pétalos y tallo/hojas fuertes.

LISTADO DE SECUENCIAS

- <110> Stellenbosch University
- 5 <120> Composiciones de péptidos antimicrobianas para plantas
- <130> 4.121485
- 10 <150> EP13717558.4
<151> 22-02-2013
- <150> ZA 2012/01316
<151> 22-02-2012
- 15 <150> ZA 2012/01317
<151> 22-02-2012
- <160> 187
- 20 <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
<211> 10
<212> PRT
- 25 <213> Secuencia artificial
- <220>
<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
- 30 <220>
<221> VARIANTE
<222> (2) .. (2)
<223> X1 = O o K
- 35 <220>
<221> VARIANTE
<222> (6) .. (6)
<223> X2 = V, L, I, F, W o Y
- 40 <220>
<221> VARIANTE
<222> (7) .. (7)
<223> X3 = v, L, I, F, W, Y, O o K
- 45 <220>
<221> VARIANTE
<222> (8) .. (8)
<223> X4 = N, Q o L
- 50 <220>
<221> VARIANTE
<222> (9) .. (9)
<223> X5 = Q, v, L o I
- 55 <220>
<221> VARIANTE
<222> (10) .. (10)
<223> X6 = Y, F, W o P
- 60 <400> 1

Val Xaa Leu Phe Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

1

5

10

<210> 2
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 10 <221> VARIANTE
 <222> (2) .. (2)
 <223> X1 = O o K
 <220>
 15 <221> VARIANTE
 <222> (6) .. (6)
 <223> X7 = W o F
 <220>
 20 <221> VARIANTE
 <222> (7) .. (7)
 <223> X8 = w o f
 <220>
 25 <221> VARIANTE
 <222> (10) .. (10)
 <223> X9 = Y, W, o F
 <400> 2
 Val Xaa Leu Phe Pro Xaa Xaa Asn Gln Xaa
 1 5 10
 30 <210> 3
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 40 <221> VARIANTE
 <222> (2) .. (2)
 <223> X1 = O o K
 <220>
 45 <221> VARIANTE
 <222> (7) .. (7)
 <223> X1 = O o K
 <400> 3
 Val Xaa Leu Phe Pro Val Xaa Leu Phe Pro
 1 5 10
 50 <210> 4
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 60 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)

<223> Orn
 <400> 4
 Val Xaa Leu Phe Pro
 1 5

5 <210> 5
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <400> 5
 Pro Phe Asn Gln Tyr
 1 5

15 <210> 6
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus

20 <400> 6
 Val Lys Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Tyr
 1 5 10

 <210> 7
 <211> 10
 <212> PRT
 25 <213> Bacillus aneurinolyticus

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 30 <223> Orn
 <400> 7
 Val Xaa Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Tyr
 1 5 10

 <210> 8
 35 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus

40 <400> 8
 Val Lys Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Tyr
 1 5 10

 <210> 9
 <211> 10
 <212> PRT
 45 <213> Bacillus aneurinolyticus

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 50 <223> Orn
 <400> 9

	Val	Xaa	Leu	Phe	Pro	Trp	Phe	Asn	Gln	Tyr
	1				5					10
	<210>	10								
	<211>	10								
	<212>	PRT								
5	<213>	Bacillus aneurinolyticus								
	<400>	10								
	Val	Lys	Leu	Phe	Pro	Phe	Trp	Asn	Gln	Tyr
	1				5					10
	<210>	11								
10	<211>	10								
	<212>	PRT								
	<213>	Bacillus aneurinolyticus								
	<220>									
15	<221>	MOD_RES								
	<222>	(2) .. (2)								
	<223>	Orn								
	<400>	11								
	Val	Xaa	Leu	Phe	Pro	Phe	Trp	Asn	Gln	Tyr
	1				5					10
20	<210>	12								
	<211>	10								
	<212>	PRT								
	<213>	Bacillus aneurinolyticus								
25	<400>	12								
	Val	Lys	Leu	Phe	Pro	Phe	Phe	Asn	Gln	Tyr
	1				5					10
	<210>	13								
30	<211>	10								
	<212>	PRT								
	<213>	Bacillus aneurinolyticus								
	<220>									
35	<221>	MOD_RES								
	<222>	(2) .. (2)								
	<223>	Orn								
	<400>	13								
	Val	Xaa	Leu	Phe	Pro	Phe	Phe	Asn	Gln	Tyr
	1				5					10
40	<210>	14								
	<211>	10								
	<212>	PRT								
	<213>	Bacillus aneurinolyticus								
45	<400>	14								
	Val	Lys	Leu	Phe	Pro	Tyr	Trp	Asn	Gln	Tyr
	1				5					10
	<210>	15								
	<211>	10								
50	<212>	PRT								

<213> Bacillus aneurinolyticus
 <220>
 <221> MOD_RES
 5 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 <400> 15
 Val Xaa Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Tyr
 1 5 10
 10 <210> 16
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus
 15 <400> 16
 Val Lys Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Tyr
 1 5 10
 <210> 17
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> Bacillus aneurinolyticus
 <220>
 <221> MOD_RES
 25 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 <400> 17
 Val Xaa Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Tyr
 1 5 10
 30 <210> 18
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus
 35 <400> 18
 Val Lys Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Tyr
 1 5 10
 <210> 19
 <211> 10
 <212> PRT
 40 <213> Bacillus aneurinolyticus
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 45 <223> Orn
 <400> 19
 Val Xaa Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Tyr
 1 5 10
 50 <210> 20
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
	<400>	20
		Val Lys Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Tyr
5	1	5 10
	<210>	21
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
10	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
15	<220>	
	<221>	MOD_RES
	<222>	(2) .. (2)
	<223>	Orn
20	<400>	21
	Val Xaa Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Tyr	
	1	5 10
	<210>	22
	<211>	10
	<212>	PRT
25	<213>	Secuencia artificial
	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
30	<400>	22
	Leu Lys Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Tyr	
	1	5 10
	<210>	23
	<211>	10
	<212>	PRT
35	<213>	Secuencia artificial
	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
40	<220>	
	<221>	MOD_RES
	<222>	(2) .. (2)
45	<223>	Orn
	<400>	23
	Leu Xaa Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Tyr	
	1	5 10
50	<210>	24
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Bacillus aneurinolyticus
55	<400>	24

		Leu	Lys	Leu	Phe	Pro	Trp	Phe	Asn	Gln	Tyr
		1				5					10
		<210>	25								
		<211>	10								
		<212>	PRT								
5		<213>	Bacillus aneurinolyticus								
		<220>									
		<221>	MOD_RES								
10		<222>	(2) .. (2)								
		<223>	Orn								
		<400>	25								
		Leu	Xaa	Leu	Phe	Pro	Trp	Phe	Asn	Gln	Tyr
		1				5					10
15		<210>	26								
		<211>	10								
		<212>	PRT								
		<213>	Secuencia artificial								
20		<220>									
		<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico								
		<400>	26								
		Leu	Lys	Leu	Phe	Pro	Phe	Trp	Asn	Gln	Tyr
		1				5					10
25		<210>	27								
		<211>	10								
		<212>	PRT								
		<213>	Secuencia artificial								
30		<220>									
		<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico								
		<220>									
		<221>	MOD_RES								
35		<222>	(2) .. (2)								
		<223>	Orn								
		<400>	27								
		Leu	Xaa	Leu	Phe	Pro	Phe	Trp	Asn	Gln	Tyr
		1				5					10
40		<210>	28								
		<211>	10								
		<212>	PRT								
		<213>	Secuencia artificial								
45		<220>									
		<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico								
		<400>	28								
		Leu	Lys	Leu	Phe	Pro	Phe	Phe	Asn	Gln	Tyr
		1				5					10
50		<210>	29								
		<211>	10								
		<212>	PRT								
		<213>	Secuencia artificial								

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

5 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

10 <400> 29

Leu Xaa Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Tyr
1 5 10

 <210> 30
 <211> 10
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

20 <400> 30

Leu Lys Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Tyr
1 5 10

 <210> 31
 <211> 10
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

35 <400> 31

Leu Xaa Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Tyr
1 5 10

 <210> 32
 <211> 10
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

45 <400> 32

Leu Lys Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Tyr
1 5 10

 <210> 33
 <211> 10
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

55 <220>

<221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

5 <400> 33
Leu Xaa Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Tyr
1 5 10

<210> 34
 <211> 10
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

15 <400> 34
Leu Lys Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Tyr
1 5 10

<210> 35
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

30 <400> 35
Leu Xaa Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Tyr
1 5 10

<210> 36
 <211> 10
 <212> PRT
 35 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

40 <400> 36
Leu Lys Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Tyr
1 5 10

<210> 37
 <211> 10
 45 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

55

<400> 37
Leu Xaa Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Tyr
 1 5 10

5 <210> 38
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 38
Ile Lys Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Tyr
 1 5 10

15 <210> 39
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 39
Ile Xaa Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Tyr
 1 5 10

30 <210> 40
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus

<400> 40
Ile Lys Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Tyr
 1 5 10

35 <210> 41
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

45 <400> 41
Ile Xaa Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Tyr
 1 5 10

50 <210> 42
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 42

Ile Lys Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Tyr
1 5 10

<210> 43
 <211> 10
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

15 <400> 43

Ile Xaa Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Tyr
1 5 10

<210> 44
 <211> 10
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 25 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 44

Ile Lys Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Tyr
1 5 10

<210> 45
 <211> 10
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 35 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 40 <223> Orn

<400> 45

Ile Xaa Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Tyr
1 5 10

<210> 46
 <211> 10
 45 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 50 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 46

Ile Lys Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Tyr
1 5 10

<210> 47

<211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

5 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 <221> MOD_RES
 10 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 47
Ile Xaa Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Tyr
1 5 10

15 <210> 48
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 48
Ile Lys Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Tyr
1 5 10

25 <210> 49
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

30 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 <221> MOD_RES
 35 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 49
Ile Xaa Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Tyr
1 5 10

40 <210> 50
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 50
Ile Lys Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Tyr
1 5 10

50 <210> 51
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

55 <220>

<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>

<221> MOD_RES

5 <222> (2) .. (2)

<223> Orn

<400> 51

Ile Xaa Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Tyr

1 5 10

10 <210> 52

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15 <220>

<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 52

Ile Lys Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Tyr

1 5 10

20 <210> 53

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>

30 <221> MOD_RES

<222> (2) .. (2)

<223> Orn

<400> 53

Ile Xaa Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Tyr

1 5 10

35 <210> 54

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

40 <220>

<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 54

Val Lys Leu Phe Pro Leu Trp Asn Gln Tyr

1 5 10

45 <210> 55

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

50 <220>

<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

55 <220>

<221> MOD_RES

<222> (2) .. (2)

<223> Orn

<400> 55

Val	Xaa	Leu	Phe	Pro	Leu	Trp	Asn	Gln	Tyr
1				5					10

5 <210> 56
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus

10 <400> 56

Val	Lys	Leu	Phe	Pro	Leu	Phe	Asn	Gln	Tyr
1				5					10

<210> 57
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

20 <400> 57

Val	Xaa	Leu	Phe	Pro	Leu	Phe	Asn	Gln	Tyr
1				5					10

<210> 58
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

30 <400> 58

Val	Lys	Leu	Phe	Pro	Leu	Tyr	Asn	Gln	Tyr
1				5					10

<210> 59
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

45 <400> 59

Val	Xaa	Leu	Phe	Pro	Leu	Tyr	Asn	Gln	Tyr
1				5					10

<210> 60
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus

50

<400> 60
 Val Lys Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Trp
 1 5 10

5 <210> 61
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 61
 Val Xaa Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Trp
 1 5 10

15 <210> 62
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus

20 <400> 62
 Val Lys Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Trp
 1 5 10

25 <210> 63
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 63
 Val Xaa Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Trp
 1 5 10

35 <210> 64
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

40 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 64
 Val Lys Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Trp
 1 5 10

45 <210> 65
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 <221> MOD_RES

<222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 65
Val Xaa Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Trp
1 5 10

5

<210> 66
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 66
Val Lys Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Trp
1 5 10

15

<210> 67
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus

20

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

25

<400> 67
Val Xaa Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Trp
1 5 10

30

<210> 68
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

35

<400> 68
Val Lys Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Trp
1 5 10

40

<210> 69
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

45

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

50

<400> 69
Val Xaa Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Trp
1 5 10

<210> 70
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <400> 70
 Val Lys Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Trp
 1 5 10
 10
 <210> 71
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 20
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 <400> 71
 Val Xaa Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Trp
 1 5 10
 25
 <210> 72
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <400> 72
 Val Lys Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Trp
 1 5 10
 35
 <210> 73
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 45
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 <400> 73
 Val Xaa Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Trp
 1 5 10
 50
 <210> 74
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55
 <220>

<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 74

	Val	Lys	Leu	Phe	Pro	Trp	Tyr	Asn	Gln	Trp
	1				5					10

5 <210> 75
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 <221> MOD_RES
 15 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 75

	Val	Xaa	Leu	Phe	Pro	Trp	Tyr	Asn	Gln	Trp
	1				5					10

20 <210> 76
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 76

	Leu	Lys	Leu	Phe	Pro	Trp	Trp	Asn	Gln	Trp
	1				5					10

30 <210> 77
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 <221> MOD_RES
 40 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 77

	Leu	Xaa	Leu	Phe	Pro	Trp	Trp	Asn	Gln	Trp
	1				5					10

45 <210> 78
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 78

	Leu	Lys	Leu	Phe	Pro	Trp	Phe	Asn	Gln	Trp
	1				5					10

<210> 79
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 10 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 <400> 79
Leu Xaa Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Trp
1 5 10
 15
 <210> 80
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <400> 80
Leu Lys Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Trp
1 5 10
 25
 <210> 81
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 35 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 <400> 81
Leu Xaa Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Trp
1 5 10
 40
 <210> 82
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <400> 82
Leu Lys Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Trp
1 5 10
 50
 <210> 83
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 55

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <220>
 5 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

 <400> 83

Leu Xaa Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Trp
1 5 10
 10 <210> 84
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <400> 84

Leu Lys Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Trp
1 5 10
 20 <210> 85
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <220>
 30 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

 <400> 85

Leu Xaa Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Trp
1 5 10
 35 <210> 86
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <400> 86

Leu Lys Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Trp
1 5 10
 45 <210> 87
 <211> 10
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 55 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)

<223> Orn

<400> 87

Leu Xaa Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Trp
1 5 10

5 <210> 88
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 88

Leu Lys Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Trp
1 5 10

15 <210> 89
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 89

Leu Xaa Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Trp
1 5 10

30 <210> 90
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 90

Leu Lys Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Trp
1 5 10

40 <210> 91
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

50 <400> 91

Leu Xaa Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Trp
1 5 10

<210> 92
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <400> 92
Ile Lys Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Trp
 1 5 10
 10
 <210> 93
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 20 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 25 <400> 93
Ile Xaa Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Trp
 1 5 10
 <210> 94
 <211> 10
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 35 <400> 94
Ile Lys Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Trp
 1 5 10
 <210> 95
 <211> 10
 <212> PRT
 40 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 50 <400> 95
Ile Xaa Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Trp
 1 5 10
 <210> 96
 <211> 10
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 96

Ile Lys Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Trp
1 5 10

5 <210> 97
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 15 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 97

Ile Xaa Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Trp
1 5 10

20 <210> 98
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 98

Ile Lys Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Trp
1 5 10

30 <210> 99
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 40 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 99

Ile Xaa Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Trp
1 5 10

45 <210> 100
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 100

Ile Lys Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Trp
1 5 10

5 <210> 101
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 101

Ile Xaa Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Trp
1 5 10

20 <210> 102
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

25 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 102

Ile Lys Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Trp
1 5 10

30 <210> 103
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 103

Ile Xaa Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Trp
1 5 10

45 <210> 104
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

50 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 104

Ile Lys Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Trp
1 5 10

<210> 105
 <211> 10

	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
5	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
	<220>	
	<221>	MOD_RES
10	<222>	(2) .. (2)
	<223>	Orn
	<400>	105
		Ile Xaa Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Trp 1 5 10
15	<210>	106
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
20	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
	<400>	106
		Ile Lys Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Trp 1 5 10
25	<210>	107
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
30	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
	<220>	
	<221>	MOD_RES
35	<222>	(2) .. (2)
	<223>	Orn
	<400>	107
		Ile Xaa Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Trp 1 5 10
40	<210>	108
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
45	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
	<400>	108
		Val Lys Leu Phe Pro Leu Trp Asn Gln Trp 1 5 10
50	<210>	109
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
55	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 5
 <400> 109
 Val Xaa Leu Phe Pro Leu Trp Asn Gln Trp
 1 5 10
 <210> 110
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 15
 <400> 110
 Val Lys Leu Phe Pro Leu Phe Asn Gln Trp
 1 5 10
 <210> 111
 <211> 10
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 25
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 30
 <400> 111
 Val Xaa Leu Phe Pro Leu Phe Asn Gln Trp
 1 5 10
 <210> 112
 <211> 10
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 40
 <400> 112
 Val Lys Leu Phe Pro Leu Tyr Asn Gln Trp
 1 5 10
 <210> 113
 <211> 10
 45 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 50
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 55

<400> 113

Val Xaa Leu Phe Pro Leu Tyr Asn Gln Trp
1 5 10

<210> 114
 <211> 10
 5 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

10 <400> 114

Val Lys Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Phe
1 5 10

<210> 115
 <211> 10
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

25 <400> 115

Val Xaa Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Phe
1 5 10

<210> 116
 <211> 10
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

35 <400> 116

Val Lys Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Phe
1 5 10

<210> 117
 <211> 10
 40 <212> PRT
 <213> Bacillus aneurinolyticus

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

45 <400> 117

Val Xaa Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Phe
1 5 10

50 <210> 118
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
	<400>	118
	Val	Lys Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Phe
5	1	5 10
	<210>	119
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
10	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
	<220>	
15	<221>	MOD_RES
	<222>	(2) .. (2)
	<223>	Orn
	<400>	119
	Val	Xaa Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Phe
	1	5 10
20	<210>	120
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
25	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
	<400>	120
	Val	Lys Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Phe
	1	5 10
30	<210>	121
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Bacillus aneurinolyticus
35	<220>	
	<221>	MOD_RES
	<222>	(2) .. (2)
	<223>	Orn
40	<400>	121
	Val	Xaa Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Phe
	1	5 10
	<210>	122
	<211>	10
45	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
50	<400>	122
	Val	Lys Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Phe
	1	5 10

<210> 123
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 10 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 15 <400> 123
 Val Xaa Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Phe
 1 5 10
 <210> 124
 <211> 10
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 25 <400> 124
 Val Lys Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Phe
 1 5 10
 <210> 125
 <211> 10
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 40 <400> 125
 Val Xaa Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Phe
 1 5 10
 <210> 126
 <211> 10
 <212> PRT
 45 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 50 <400> 126
 Val Lys Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Phe
 1 5 10
 <210> 127
 <211> 10
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

5 <220>

<221> MOD RES

$$\langle 222 \rangle \quad (2) \dots (2)$$

<223> Orn

10 <400> 127

Val Xaa Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Phe
1 5 10

<210> 128

$\langle 210 \rangle$	120
$\langle 211 \rangle$	10

<212> PRT

15	<213>	Secuencia artificial
----	-------	----------------------

<220>

<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

20 <400> 128

Val Lys Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Phe
1 5 10

<210> 129

$\langle 211 \rangle$	10
-----------------------	----

<212> PRT

25	<213>	Secuencia artificial
----	-------	----------------------

$\langle 220 \rangle$

<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

30 <220>

<221> MOD_RES

<222> (2) .. (2)

<223> Orn

35 <400> 129

Val Xaa Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Phe
1 5 10

<210> 130

$\langle 210 \rangle$	100
$\langle 211 \rangle$	10

<212> PRT

40	<213>	Secuencia artificial
----	-------	----------------------

$\langle 220 \rangle$

<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

45 <400> 130

Leu Lys Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Phe
1 5 10

<210> 131

$\langle 210 \rangle$	10
$\langle 211 \rangle$	10

50 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

 $\langle 220 \rangle$

55 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 5 <400> 131

Leu Xaa Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Phe
1 5 10
 <210> 132
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 15 <400> 132

Leu Lys Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Phe
1 5 10
 <210> 133
 <211> 10
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 30 <400> 133

Leu Xaa Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Phe
1 5 10
 <210> 134
 <211> 10
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 40 <400> 134

Leu Lys Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Phe
1 5 10
 <210> 135
 <211> 10
 45 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 50 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 55 <400> 135

Leu Xaa Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Phe
1 5 10

5 <210> 136
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

10 <400> 136

Leu Lys Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Phe
1 5 10

15 <210> 137
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

20 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

25 <400> 137

Leu Xaa Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Phe
1 5 10

30 <210> 138
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

35 <400> 138

Leu Lys Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Phe
1 5 10

40 <210> 139
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

45 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

50 <400> 139

Leu Xaa Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Phe
1 5 10

<210> 140
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 5 <400> 140
Leu Lys Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Phe
1 5 10
 <210> 141
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 20 <400> 141
Leu Xaa Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Phe
1 5 10
 <210> 142
 <211> 10
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <400> 142
Leu Lys Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Phe
1 5 10
 <210> 143
 <211> 10
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 40 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 45 <223> Orn
 <400> 143
Leu Xaa Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Phe
1 5 10
 <210> 144
 <211> 10
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <400> 144

Leu Lys Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Phe
1 5 10

5 <210> 145
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

15 <400> 145

Leu Xaa Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Phe
1 5 10

20 <210> 146
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

25 <400> 146

Ile Lys Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Phe
1 5 10

30 <210> 147
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

35 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

40 <400> 147

Ile Xaa Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Phe
1 5 10

45 <210> 148
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

50 <400> 148

Ile Lys Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Phe
1 5 10

<210> 149
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 10
 <400> 149
Ile Xaa Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Phe
1 5 10
 <210> 150
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 20
 <400> 150
Ile Lys Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Phe
1 5 10
 <210> 151
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 25
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 30
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 35
 <400> 151
Ile Xaa Leu Phe Pro Phe Trp Asn Gln Phe
1 5 10
 <210> 152
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 40
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 45
 <400> 152
Ile Lys Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Phe
1 5 10
 <210> 153
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 50
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 55

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 5 <223> Orn

 <400> 153

Ile Xaa Leu Phe Pro Tyr Trp Asn Gln Phe
1 5 10

10 <210> 154
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 15 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <400> 154

Ile Lys Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Phe
1 5 10

20 <210> 155
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 25 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 30 <223> Orn

 <400> 155

Ile Xaa Leu Phe Pro Tyr Phe Asn Gln Phe
1 5 10

35 <210> 156
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 40 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <400> 156

Ile Lys Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Phe
1 5 10

45 <210> 157
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 50 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)

<223> Orn

<400> 157

Ile Xaa Leu Phe Pro Phe Tyr Asn Gln Phe
1 5 10

5 <210> 158
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

10 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 158

Ile Lys Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Phe
1 5 10

15 <210> 159
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

20 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 <221> MOD_RES
 25 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 159

Ile Xaa Leu Phe Pro Trp Tyr Asn Gln Phe
1 5 10

30 <210> 160
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

35 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<400> 160

Ile Lys Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Phe
1 5 10

40 <210> 161
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

45 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 50 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

<400> 161

	Ile Xaa Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Phe
	1 5 10
	<210> 162
	<211> 10
	<212> PRT
5	<213> Secuencia artificial
	<220>
	<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
10	<400> 162
	Val Lys Leu Phe Pro Leu Trp Asn Gln Phe
	1 5 10
	<210> 163
	<211> 10
	<212> PRT
15	<213> Secuencia artificial
	<220>
	<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
20	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (2) .. (2)
	<223> Orn
25	<400> 163
	Val Xaa Leu Phe Pro Leu Trp Asn Gln Phe
	1 5 10
	<210> 164
	<211> 10
	<212> PRT
30	<213> Secuencia artificial
	<220>
	<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
35	<400> 164
	Val Lys Leu Phe Pro Leu Phe Asn Gln Phe
	1 5 10
	<210> 165
	<211> 10
40	<212> PRT
	<213> Secuencia artificial
	<220>
	<223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
45	<220>
	<221> MOD_RES
	<222> (2) .. (2)
	<223> Orn
50	<400> 165
	Val Xaa Leu Phe Pro Leu Phe Asn Gln Phe
	1 5 10

<210> 166
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <400> 166
Val Lys Leu Phe Pro Leu Tyr Asn Gln Phe
1 5 10
 10
 <210> 167
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 15
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 20
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 <400> 167
Val Xaa Leu Phe Pro Leu Tyr Asn Gln Phe
1 5 10
 25
 <210> 168
 <211> 10
 <212> PRT
 30
 <213> Aneurinibacillus migulanus
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 35
 <223> Orn
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7) .. (7)
 40
 <223> Orn
 <400> 168
Val Xaa Leu Phe Pro Val Xaa Leu Phe Pro
1 5 10
 45
 <210> 169
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Aneurinibacillus migulanus
 <220>
 50
 <221> MOD_RES
 <222> (7) .. (7)
 <223> Orn
 <400> 169
Val Lys Leu Phe Pro Val Xaa Leu Phe Pro
1 5 10
 55
 <210> 170
 <211> 10

<212> PRT
 <213> Aneurinibacillus migulanus

 <400> 170
Val Lys Leu Phe Pro Val Lys Leu Phe Pro
1 5 10
 5
 <210> 171
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <220>
 15 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

 <220>
 20 <221> MOD_RES
 <222> (7) .. (7)
 <223> Orn

 <400> 171
Leu Xaa Leu Phe Pro Val Xaa Leu Phe Pro
1 5 10
 25
 <210> 172
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <220>
 35 <221> MOD_RES
 <222> (7) .. (7)
 <223> Orn

 <400> 172
Leu Lys Leu Phe Pro Val Xaa Leu Phe Pro
1 5 10
 40
 <210> 173
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <220>
 50 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn

 <400> 173
Leu Xaa Leu Phe Pro Val Lys Leu Phe Pro
1 5 10
 55
 <210> 174

	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
5	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
	<400>	174
	Leu Lys Leu Phe Pro Val Lys Leu Phe Pro 1 5 10	
10	<210>	175
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
15	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
	<220>	
20	<221>	MOD_RES
	<222>	(2) .. (2)
	<223>	Orn
	<220>	
25	<221>	MOD_RES
	<222>	(7) .. (7)
	<223>	Orn
	<400>	175
	Leu Xaa Leu Phe Pro Leu Xaa Leu Phe Pro 1 5 10	
30	<210>	176
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
35	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
	<220>	
40	<221>	MOD_RES
	<222>	(7) .. (7)
	<223>	Orn
	<400>	176
	Leu Lys Leu Phe Pro Leu Xaa Leu Phe Pro 1 5 10	
45	<210>	177
	<211>	10
	<212>	PRT
	<213>	Secuencia artificial
50	<220>	
	<223>	Construcción artificial; polipéptido cíclico
	<400>	177
	Leu Lys Leu Phe Pro Leu Lys Leu Phe Pro 1 5 10	
55	<210>	178
	<211>	10

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 5 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 <221> VARIANTE
 10 <222> (2) .. (2)
 <223> X = residuo aminoacídico catiónico
 <220>
 <221> VARIANTE
 15 <222> (6) .. (6)
 <223> X = residuo aminoacídico aromático
 <220>
 <221> VARIANTE
 20 <222> (7) .. (7)
 <223> X = residuo D-aminoacídico aromático
 <220>
 <221> VARIANTE
 25 <222> (10) .. (10)
 <223> X = residuo aminoacídico aromático
 <400> 178
 Val Xaa Leu Phe Pro Xaa Xaa Asn Gln Xaa
 1 5 10
 30 <210> 179
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <400> 179
 Val Lys Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Tyr
 1 5 10
 40 <210> 180
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 45 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 <220>
 <221> MOD_RES
 50 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 <400> 180
 Val Xaa Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Tyr
 1 5 10
 55 <210> 181
 <211> 10
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 5 <400> 181
 Val Lys Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Tyr
 1 5 10
 <210> 182
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 <223> Orn
 20 <400> 182
 Val Xaa Leu Phe Pro Trp Phe Asn Gln Tyr
 1 5 10
 <210> 183
 <211> 10
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 30 <400> 183
 Val Lys Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Tyr
 1 5 10
 <210> 184
 <211> 10
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico
 40 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 45 <223> Orn
 <400> 184
 Val Xaa Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Tyr
 1 5 10
 <210> 185
 <211> 10
 50 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 55 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 5 <223> Orn

 <400> 185

 Val Xaa Leu Phe Pro Trp Trp Asn Gln Trp
 1 5 10

 <210> 186
 10 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 15 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 20 <223> Orn

 <400> 186

 Val Xaa Leu Phe Pro Phe Phe Asn Gln Phe
 1 5 10

 <210> 187
 25 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

 <220>
 30 <223> Construcción artificial; polipéptido cíclico

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2) .. (2)
 35 <223> Orn

 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (7) .. (7)
 40 <223> Orn

 <400> 187

 Val Xaa Leu Phe Pro Val Xaa Leu Phe Pro
 1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento de prevención o control del crecimiento microbiano en plantas, material de plantas, partes de plantas o en medios usados para mantener las plantas o el material de plantas, comprendiendo el procedimiento la etapa de aplicar una composición antimicrobiana a las plantas, material de plantas, partes de plantas o medios,
 5 en el que la composición antimicrobiana comprende un decapeptido cíclico producido a partir de *Bacillus aneurinolyticus* como agente activo, siendo el decapeptido cíclico una tirocidina, triptocidina o fenicidina o un análogo de las mismas que comprende una secuencia de aminoácidos de *ciclo*(valina-X₁-leucina-D-fenilalanina-prolina-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆) (SEQ ID NO: 1), en la que:
 10 X₁ es ornitina o lisina;
 X₂ es valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano o tirosina;
 X₃ es el isómero D de valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano o tirosina;
 X₄ es asparagina o glutamina;
 15 X₅ es glutamina o asparagina; y
 X₆ es tirosina, fenilalanina o triptófano.
2. Un procedimiento de mejora del crecimiento de las plantas o vigor de las plantas o de prolongación de la vida de las flores cortadas, comprendiendo el procedimiento la etapa de aplicar una composición antimicrobiana a las plantas, al material de plantas, partes de plantas o medios de crecimiento, o al agua del jarrón para las flores cortadas.
 20 en el que la composición antimicrobiana comprende un decapeptido cíclico producido a partir de *Bacillus aneurinolyticus* como agente activo, siendo el decapeptido cíclico una tirocidina, triptocidina o fenicidina o un análogo de las mismas que comprende una secuencia de aminoácidos de *ciclo*(valina-X₁-leucina-D-fenilalanina-prolina-X₂-X₃-X₄-X₅-X₆) (SEQ ID NO: 1), en la que:
 25 X₁ es ornitina o lisina;
 X₂ es valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano o tirosina;
 X₃ es el isómero D de valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, triptófano o tirosina;
 X₄ es asparagina o glutamina;
 X₅ es glutamina o asparagina; y
 30 X₆ es tirosina, fenilalanina o triptófano.
3. Un procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el decapeptido cíclico esta seleccionado del grupo que consiste en las secuencias de aminoácidos mostradas en:
 35 (a) una cualquiera de las SEQ ID NOS: 6-59;
 (b) una cualquiera de las SEQ ID NOS: 60-113; o
 (c) una cualquiera de las SEQ ID NOS: 114-167.
4. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la composición antimicrobiana contiene más de un tipo de decapeptido cíclico de SEQ ID NO: 1.
5. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la composición antimicrobiana contiene un organismo que produce el decapeptido cíclico.
6. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el crecimiento microbiano que se controla es el crecimiento fúngico.
 40
7. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, que previene o controla el crecimiento de uno o más hongos seleccionados del grupo que consiste en *Phaeoacremonium* spp., *Phomopsis viticola*, *Fusarium* spp., *Cylindrocarpon* spp., *Botrytis cinerea*, *Talaromyces* spp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Monilinia* spp., *Trichoderma* spp. y *Phaeomoniella* spp.
 45
8. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el crecimiento

microbiano que se controla es el crecimiento bacteriano.

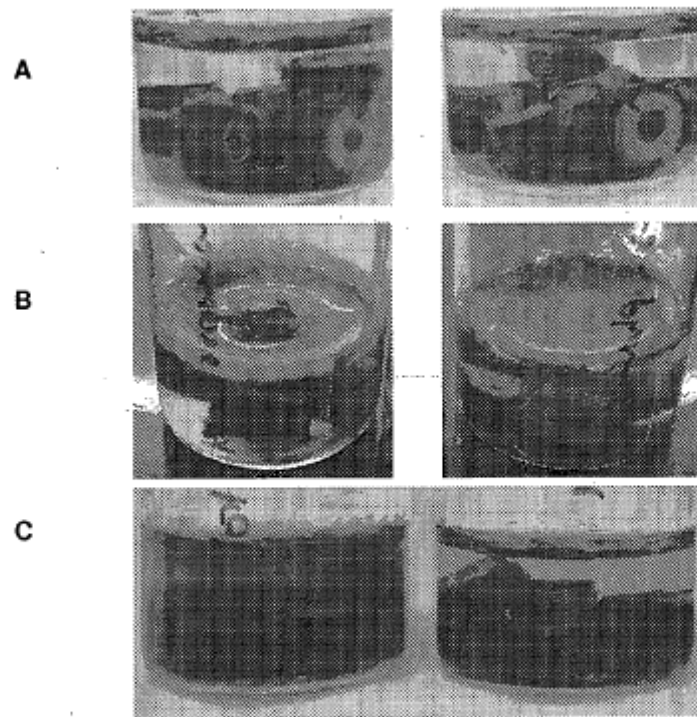


Figura 1

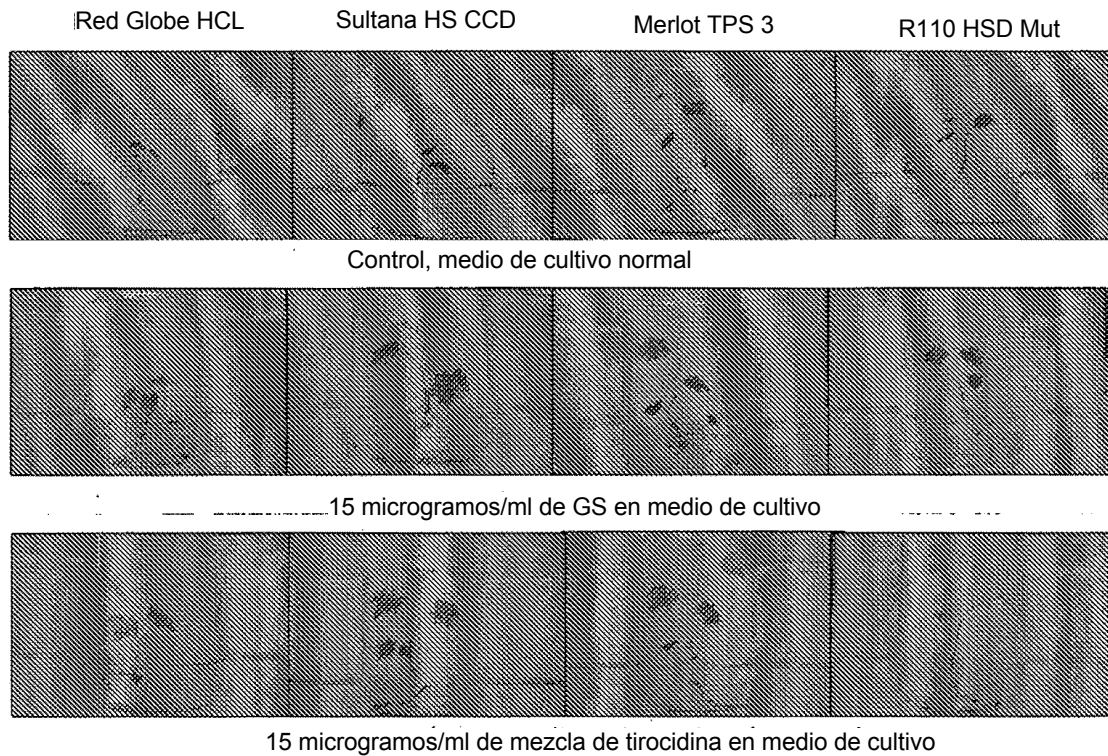


Figura 2

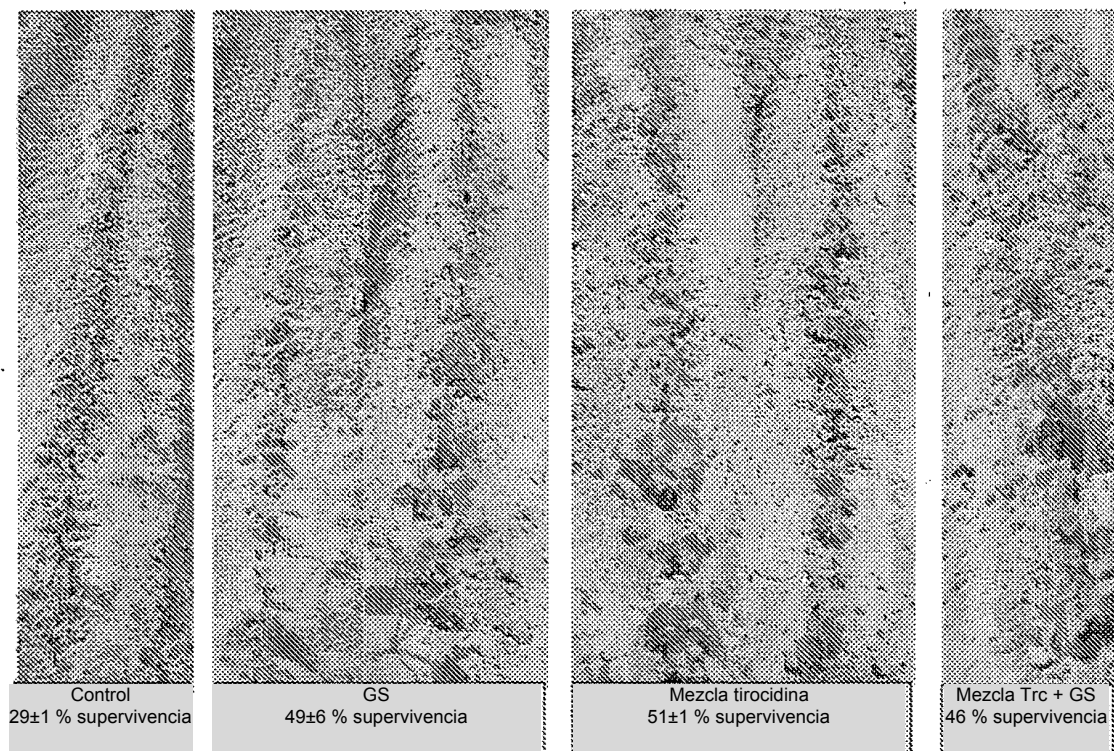


Figura 3

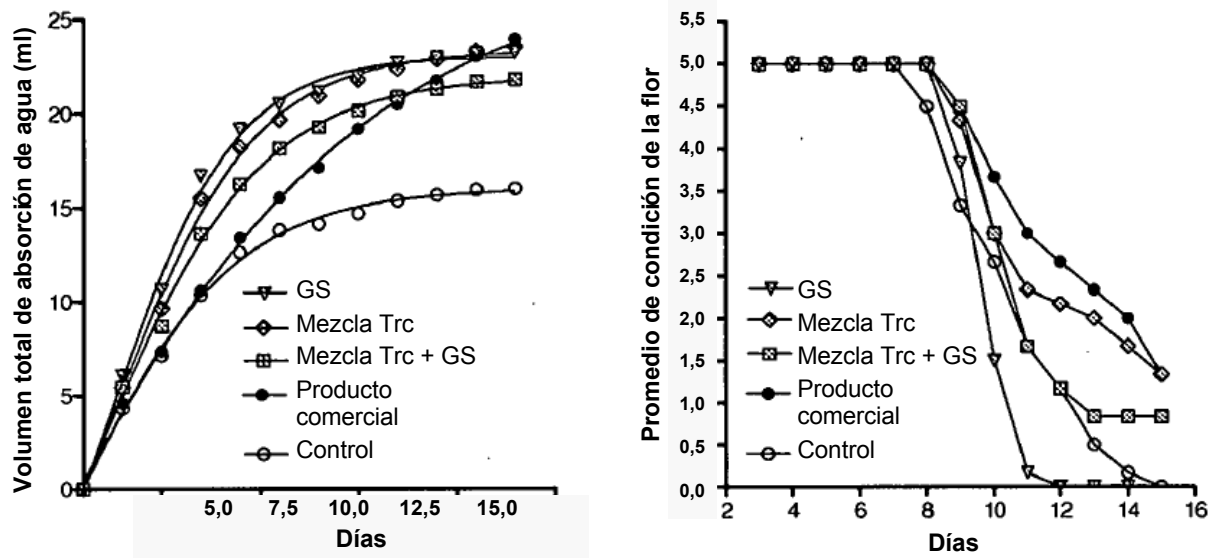


Figura 4

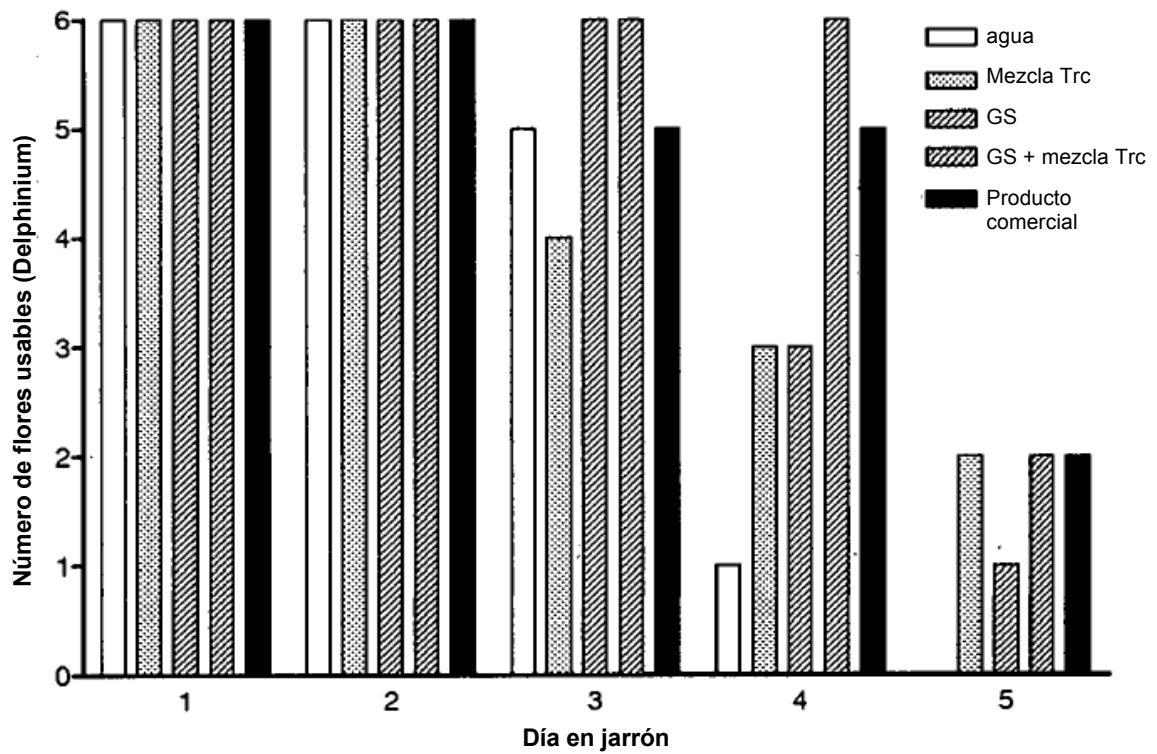


Figura 5