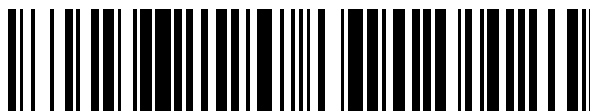


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 788 631**

51 Int. Cl.:

A01N 63/02 (2006.01)

A01P 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.12.2014** **PCT/US2014/068611**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.09.2015** **WO15142393**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2014** **E 14886191 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.02.2020** **EP 3119204**

54 Título: **Composiciones y métodos de mejora de la producción de tomate**

30 Prioridad:

17.03.2014 US 201461954390 P

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

22.10.2020

73 Titular/es:

**NEWLEAF SYMBIOTICS, INC. (100.0%)
BRDG Park 1005 North Warson Road
St. Louis, Missouri 63132, US**

72 Inventor/es:

**FLORO, RACHEL DIDONATO;
LEE, JUSTIN;
BOGOSIAN, GREGG y
BRYANT, DOUG**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 788 631 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 y métodos de mejora de la producción de tomate

ANTECEDENTES

Los compuestos orgánicos de un carbono tales como el metano y el metanol se encuentran ampliamente en la naturaleza y son utilizados como fuentes de carbono por bacterias clasificadas como metanotrofas y metilotrofas. Las bacterias metanotrofas incluyen especies en los géneros *Methylobacter*, *Methylomonas*, *Methylomicrobium*, *Methylococcus*, *Methylosinus*, *Methylocystis*, *Methylosphaera*, *Methylocaldum* y *Methylocella* (Lidstrom, 2006). Los metanotrofos poseen la enzima metano monooxigenasa, que incorpora un átomo de oxígeno del O₂ en el metano, formando metanol. Todos los metanotrofos son utilizadores de un carbono estrictos que son incapaces de usar compuestos que contienen enlaces carbono-carbono. Los metilotrofos, por otra parte, también pueden utilizar compuestos orgánicos más complejos, tales como ácidos orgánicos, alcoholes superiores, azúcares y similares. Así, las bacterias metilotróficas son metilotrofos facultativos. Las bacterias metilotróficas incluyen especies en los géneros *Methylobacterium*, *Hyphomicrobium*, *Methylophilus*, *Methylobacillus*, *Methylophaga*, *Aminobacter*, *Methylorhabdus*, *Methylopila*, *Methylosulfonomonas*, *Marinosulfonomonas*, *Paracoccus*, *Xanthobacter*, *Ancylobacter* (también conocidas como *Microcycclus*), *Thiobacillus*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodobacter*, *Acetobacter*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Arthobacter* y *Nocardia* (Lidstrom, 2006).

La mayoría de las bacterias metilotróficas del género *Methylobacterium* están pigmentadas de rosa. Se denominan convencionalmente bacterias PPFM, que son metilotrofos facultativos pigmentados de rosa. Green (2005, 2006) identificó doce especies validadas en el género *Methylobacterium*, específicamente *M. aminovorans*, *M. chloromethanicum*, *M. dichloromethanicum*, *M. extorquens*, *M. fujisawaense*, *M. mesophilicum*, *M. organophilum*, *M. radiotolerans*, *M. rhodesianum*, *M. rhodinum*, *M. thiocyanatum* y *M. zatmanii*. Sin embargo, *M. nidulans* es una *Methylobacterium* fijadora de nitrógeno que no es una PPFM (Sy et al., 2001). Las *Methylobacterium* son ubicuas en la naturaleza, siendo encontradas en la tierra, el polvo, agua dulce, sedimentos y superficies de hojas, así como en entornos industriales y clínicos (Green, 2006).

La publicación de solicitud de patente PCT WO2013/181610 desvela métodos para la producción de *Methylobacterium* donde se usan medios de cultivo bifásicos que comprenden una fase sólida y una fase líquida. También se desvela la estimulación del crecimiento de la raíz nodal del maíz por *Methylobacterium*.

Joe, M.M. et al. (J. Applied Microbiology 116(2):408-423, 2013) desvelan estudios en cámaras de tratamiento *in vitro* donde plantas de semillero de tomate germinadas se cultivaron bajo estrés acuoso en presencia y ausencia de las cepas de *Methylobacterium* CBMB20 y CBMB110 para proporcionar una reducción en el estrés acuoso.

Madhaiyan et al. (Chemosphere 69(2): 220-228, 2007) desvelan reducciones en la toxicidad del níquel y el cadmio, así como la estimulación del crecimiento de plantas de semillero de tomate en condiciones gnotobióticas y la longitud de la raíz del tomate en un invernadero por la cepa de *Methylobacterium* CBMB20.

Ryu, J. et al. (J. Microbiol. Biotechnol. 16 (1): 1622-1628, 2006) desvelan la estimulación de la germinación de semillas de tomate y el crecimiento de raíces en ensayos *in vitro* por las cepas de *Methylobacterium* CBMB20 y CBMB110. La publicación de solicitud de patente PCT WO2015/085063 desvela las cepas de *Methylobacterium* NLS0017 (NRRL B-50931), NLS0037 (NRRL B-50941) y NLS0066 (NRRL B-50940), así como composiciones que comprenden las cepas y plantas o partes de la planta tratadas con las cepas.

La publicación de solicitud de patente PCT WO2015/085063 desvela las cepas de *Methylobacterium* NLS0017 (NRRL B-50931), NLS0037 (NRRL B-50941) y NLS0066 (NRRL B-50940), así como composiciones que comprenden las cepas y plantas o partes de la planta tratadas con las cepas.

Sumario

En un primer aspecto, la invención se refiere a un método de aumento de la velocidad de crecimiento de la raíz del tomate, crecimiento de hojas, crecimiento de plantas de semillero o disminución del tiempo de ciclo desde la siembra de la semilla de tomate hasta la producción del fruto de tomate cuando se compara con una planta de tomate de control no tratada o planta de tomate de control cultivada a partir de una semilla no tratada, que comprende aplicar una composición que comprende *Methylobacterium* a una planta de tomate, una parte de la misma o a una semilla de tomate, en donde dicha composición comprende una cepa de *Methylobacterium* seleccionada del grupo que consiste en NLS0017 (NRRL B-50931), NLS0037 (NRRL B-50941) y NLS0066 (NRRL B-50940).

En otro aspecto, la invención se refiere a una planta de tomate o semilla de tomate que está recubierta o parcialmente recubierta con una composición que comprende una *Methylobacterium* seleccionada del grupo que consiste en NLS0017 (NRRL B-50931), NLS0037 (NRRL B-50941) y NLS0066 (NRRL B-50940) o que se sumerge o sumerge parcialmente en la composición.

Descripción

Definiciones

Como se usa en el presente documento, las expresiones "adherido a la misma" y "adherente" se refieren a *Methylobacterium* que se asocia con una sustancia sólida creciendo, o habiendo crecido, sobre una sustancia sólida.

5 Como se usa en el presente documento, la expresión "adyuvante agrícolamente aceptable" se refiere a una sustancia que potencia el rendimiento de un agente activo en una composición para el tratamiento de plantas y/o partes de la planta. En ciertas composiciones, un agente activo puede comprender un mono-cultivo o co-cultivo de *Methylobacterium*.

10 Como se usa en el presente documento, la expresión "excipiente agrícolamente aceptable" se refiere a una sustancia esencialmente inerte que se puede usar como diluyente y/o vehículo para un agente activo en una composición para el tratamiento de plantas y/o partes de la planta. En ciertas composiciones, un agente activo puede comprender un mono-cultivo o co-cultivo de *Methylobacterium*.

15 Como se usa en el presente documento, el término "*Methylobacterium*" se refiere a bacterias que son metilótrofos facultativos del género *Methylobacterium*. El término *Methylobacterium*, como se usa en el presente documento, entonces no engloba incluye especies en los géneros *Methylobacter*, *Methylomonas*, *Methylomicrobium*, *Methylococcus*, *Methylosinus*, *Methylocystis*, *Methylosphaera*, *Methylocaldum* y *Methylocella*, que son metanótrofos estrictos.

20 Como se usa en el presente documento, la expresión "co-cultivo de *Methylobacterium*" se refiere a un cultivo de *Methylobacterium* que comprende al menos dos cepas de *Methylobacterium* o al menos dos especies de *Methylobacterium*.

Como se usa en el presente documento, la expresión "microorganismo contaminante" se refiere a microorganismos en un cultivo, caldo de fermentación, producto de caldo de fermentación o composición que no se identificaron antes de la introducción en el cultivo, caldo de fermentación, producto de caldo de fermentación o composición.

25 Como se usa en el presente documento, la expresión "derivados de la misma", cuando se usa en el contexto de una cepa de *Methylobacterium*, se refiere a cualquier cepa que se obtiene de la cepa de *Methylobacterium*. Los derivados de una cepa de *Methylobacterium* incluyen, pero no se limitan a, variantes de la cepa obtenidas por selección, variantes de la cepa seleccionadas por mutagénesis y selección, y cepas aisladas genéticamente transformadas obtenidas de la cepa de *Methylobacterium*.

30 Como se usa en el presente documento, el término "emulsión" se refiere a una mezcla coloidal de dos líquidos inmiscibles en donde un líquido es la fase continua y el otro líquido es la fase dispersa. En ciertos aspectos, la fase continua es un líquido acuoso y la fase dispersa es un líquido que no es miscible, o parcialmente miscible, en el líquido acuoso.

35 Como se usa en el presente documento, la expresión "esencialmente libre de microorganismos contaminantes" se refiere a un cultivo, caldo de fermentación, producto de fermentación o composición donde al menos aproximadamente 95 % de los microorganismos presentes por cantidad o tipo en el cultivo, caldo de fermentación, producto de fermentación o composición son los microorganismos de *Methylobacterium* u otros microorganismos deseados de identidad predeterminada.

40 Como se usa en el presente documento, la expresión "sustancia sólida inanimada" se refiere a una sustancia que es insoluble o parcialmente soluble en agua o disoluciones acuosas y que es o inerte o que no es una parte de un organismo aún vivo del que se obtuvo.

Como se usa en el presente documento, la expresión "mono-cultivo de *Methylobacterium*" se refiere a un cultivo de *Methylobacterium* que consiste en una única cepa de *Methylobacterium*.

Como se usa en el presente documento, el término "péptido" se refiere a cualquier polipéptido de 50 restos de aminoácidos o menos.

45 Como se usa en el presente documento, el término "tomate" se refiere a cualquier híbrido de *Solanum lycopersicum* o variedad que tiene o un hábitat de crecimiento determinante o indeterminante.

Como se usa en el presente documento, la expresión "plantas de semillero de tomate" incluye plantas de tomate desde la etapa de germinación hasta todas las etapas vegetativas.

50 Como se usa en el presente documento, la expresión "plantas de tomate" incluye plantas de semillero de tomate desde la etapa de germinación hasta todas las etapas vegetativas y plantas de tomate en todas las etapas reproductivas.

Como se usa en el presente documento, la expresión "planta de tomate" incluye tanto plantas de semillero de tomate como plantas de tomate en todas las etapas reproductivas.

Como se usa en el presente documento, el término "proteína" se refiere a cualquier polipéptido que tiene 51 o más restos de aminoácidos.

- 5 Como se usa en el presente documento, un "pesticida" se refiere a un agente que es insecticida, fungicida, nematocida, bactericida, o cualquier combinación de los mismos.

Como se usa en el presente documento, la expresión "agente bacteriostático" se refiere a agentes que inhiben el crecimiento de bacterias, pero no matan las bacterias.

- 10 Como se usa en el presente documento, la expresión "pesticida no inhibe sustancialmente el crecimiento de dicha *Methylobacterium*" se refiere a cualquier pesticida que cuando se proporciona en una composición que comprende un producto de fermentación que comprende una sustancia sólida en donde un mono-cultivo o co-cultivo de *Methylobacterium* se adhiere a la misma, da como resultado no más de 50 % de inhibición del crecimiento de *Methylobacterium* cuando la composición se aplica a una planta o parte de la planta en comparación con una composición que carece del pesticida. En ciertos aspectos, el pesticida da como resultado no más de 40 %, 20 %, 15 10 %, 5 %, o 1 % de inhibición del crecimiento de *Methylobacterium* cuando la composición se aplica a una planta o parte de la planta en comparación con una composición que carece del pesticida.

Como se usa en el presente documento, el término "bacteria PPFM" se refiere sin limitación a especies bacterianas en el género *Methylobacterium* distintas de *M. nodulans*.

- 20 Como se usa en el presente documento, la expresión "sustancia sólida" se refiere a una sustancia que es insoluble o parcialmente soluble en agua o disoluciones acuosas.

Como se usa en el presente documento, la expresión "fase sólida que se puede suspender en su interior" se refiere a una sustancia sólida que se puede distribuir en un líquido por agitación.

Como se usa en el presente documento, el término "no regenerable" se refiere o a una parte de la planta o producto de la planta procesado que no se puede regenerar en una planta completa.

- 25 Como se usa en el presente documento, la expresión "sustancialmente toda la fase sólida se suspende en la fase líquida" se refiere a medios en donde al menos 95 %, 98 %, o 99 % de sustancia(s) sólida(s) que comprenden la fase sólida se distribuyen en el líquido por agitación.

- 30 Como se usa en el presente documento, la expresión "sustancialmente toda la fase sólida no se suspende en la fase líquida" se refiere a medios donde menos de 5 %, 2 %, o 1 % del sólido está en una forma de partícula que se distribuye en los medios por agitación.

Como se usa en el presente documento, la expresión "microorganismo residente" se refiere a bacterias, hongos o levaduras residentes.

- 35 Como se usa en el presente documento, la expresión "sustancia que promueve el crecimiento de microorganismos residentes en una planta o semilla" se refiere a una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, una fuente de fósforo y combinaciones de las mismas.

Composiciones que contienen *Methylobacterium* agotadas de sustancias que promueven el crecimiento de bacterias residentes en una planta o semilla, métodos de su uso y métodos de preparación

- 40 Se describen en el presente documento composiciones que comprenden *Methylobacterium* que están agotadas de sustancias que promueven el crecimiento de bacterias residentes en una planta o semilla, métodos de uso de las composiciones para mejorar la producción de tomates y métodos de preparación de las composiciones. En ciertos aspectos de cualquiera de las composiciones anteriormente mencionadas, la composición comprende una sustancia sólida en donde un mono-cultivo o co-cultivo de *Methylobacterium* se adhiere a la misma. En ciertos aspectos donde la *Methylobacterium* se adhiere a una sustancia sólida, la composición comprende un coloide formado por la sustancia sólida en donde un mono-cultivo o co-cultivo de *Methylobacterium* se adhiere a la misma y un líquido. En 45 ciertos aspectos, el coloide es un gel. En ciertos aspectos de ciertas composiciones anteriormente mencionadas, la composición es una emulsión que no contiene una sustancia sólida.

- 50 Se describen composiciones que comprenden una sustancia sólida con *Methylobacterium* adherente cultivada encima. En ciertos aspectos, la *Methylobacterium* adherente puede ser un título de al menos aproximadamente 5×10^8 UFC/g a al menos aproximadamente 5×10^{13} UFC/g o aproximadamente 1×10^{14} UFC/g y la composición está agotada de sustancias que promueven el crecimiento de microorganismos residentes en una planta o semilla.

En ciertos aspectos, las composiciones que contienen *Methylobacterium* descritas o usadas en el presente documento están agotadas de sustancias que promueven el crecimiento de los microorganismos residentes cuando una o más de las sustancias están ausentes o están esencialmente ausentes. En ciertos aspectos, la composición

- está agotada de sustancias que promueven el crecimiento de los microorganismos residentes cuando las sustancias están presentes a un porcentaje de no más de aproximadamente 5 %, 2 %, 1 %, 0,5 %, 0,2 % o 0,1 % de la masa total, masa/ volumen total o volumen total de la composición. En ciertos aspectos, la sustancia que promueve el crecimiento de microorganismos residentes en una planta o semilla se selecciona del grupo que consiste en una
- 5 fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, una fuente de fósforo, una fuente de azufre, una fuente de magnesio y combinaciones de las mismas. Las fuentes de carbono incluyen, pero no se limitan a, alcoholes, monosacáridos, disacáridos, polisacáridos, lípidos, ácidos grasos y similares. Los alcoholes que están agotados incluyen, pero no se limitan a, metanol, etanol, glicerol y similares. Las fuentes de nitrógeno incluyen, pero no se limitan a, amoníaco y diversos compuestos que contienen grupos amino que se pueden metabolizar por microorganismos. En ciertos
- 10 aspectos, la sustancia que está agotada es una fuente de dos o más de una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, una fuente de fósforo, una fuente de azufre y una fuente de magnesio. Por ejemplo, la composición que está agotada de aminoácidos o péptidos y carece de otras fuentes de carbono o de nitrógeno está agotada de tanto una fuente de carbono como una de nitrógeno. En ciertos aspectos, la composición comprende un adyuvante y/o
- 15 Los microorganismos residentes en la planta o semilla incluyen, pero no se limitan a, bacterias, hongos y levaduras. Las sustancias que promueven el crecimiento de dichos microorganismos se pueden identificar por métodos que incluyen, pero no se limitan a, ensayo de la superficie de la planta o semilla para la cantidad o número de microorganismos presentes antes de la exposición de la planta o semilla a la sustancia (o a una composición que contiene la sustancia), exposición de la planta o semilla ensayada a la sustancia o composición en paralelo con una
- 20 composición de control que carece de la sustancia, y luego re-ensayo de la superficie de la planta o semilla para la cantidad o número de microorganismos presentes después de un intervalo de tiempo adecuado y en condiciones adecuadas de temperatura para permitir el crecimiento de los microorganismos residentes. Los ensayos para los números de microorganismos incluyen, pero no se limitan a, determinaciones de unidades formadoras de colonias por una cantidad de planta o semilla expuesta a la sustancia y el control.
- 25 Sin pretender estar limitado por la teoría, se cree que las composiciones que contienen *Methylobacterium* descritas o usadas en el presente documento que están agotadas de sustancias que promueven el crecimiento de los microorganismos residentes pueden dar como resultado resultados superiores en comparación con otras composiciones que contienen dichas sustancias cuando se aplican a las plantas, partes de la planta o semillas. Se cree que dichos resultados superiores incluyen, pero no se limitan a, rendimiento mejorado de las plantas,
- 30 resistencia a patógenos, resistencia a insectos, maduración de frutos y similares. Aunque no se busca estar limitado por la teoría, se cree que las composiciones que contienen *Methylobacterium* que están agotadas de sustancias que promueven el crecimiento de los microorganismos residentes permiten una colonización más eficiente y o amplia de la planta, parte de la misma o semilla, ya que se reduce la competición por uno o más del espacio o nutrientes por los microorganismos residentes.
- 35 Como la invención en el presente documento se proporcionan aquí los métodos para aumentar la velocidad de crecimiento de la raíz del tomate, crecimiento de hojas, crecimiento de plantas de semillero o disminución del tiempo de ciclo desde la siembra de la semilla de tomate hasta la producción del fruto de tomate cuando se compara con una planta de tomate de control no tratada o planta de tomate de control cultivada a partir de una semilla no tratada, que comprende aplicar una composición que comprende *Methylobacterium* a una planta de tomate, una parte de la
- 40 misma o a una semilla de tomate, en donde dicha composición comprende una cepa de *Methylobacterium* seleccionada del grupo que consiste en NLS0017 (NRRL B-50931), NLS0037 (NRRL B-50941) y NLS0066 (NRRL B-50940). En ciertas realizaciones, la composición recubre o recubre parcialmente la planta de tomate, parte de la planta o semilla. La planta de tomate tratada o planta cultivada a partir de la semilla presenta una elevada velocidad de crecimiento de plantas de semillero, elevada velocidad de crecimiento de raíces, una elevada velocidad de crecimiento de hojas, elevada producción de semillas, un tiempo de ciclo reducido (desde la siembra de la semilla hasta la producción de semillas, rizomas, vástagos o frutos) y/o elevada biomasa total en comparación con una planta de tomate de control no tratada o planta de tomate de control cultivada a partir de semilla no tratada, obteniéndose así producción mejorada de tomates. En ciertas realizaciones, la aplicación de la composición proporciona al menos aproximadamente un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % o 40 % de aumento en la velocidad de
- 50 crecimiento de raíces, velocidad de crecimiento de hojas, velocidad de producción de semillas, rizomas, vástagos o frutos, y/o elevada biomasa total en la planta de tomate, parte de la planta de tomate o una planta de tomate derivada de la misma en comparación con una planta de tomate de control no tratada o planta de tomate de control cultivada a partir de una semilla no tratada. En ciertas realizaciones, la aplicación de la composición proporciona al menos aproximadamente un 5 % o 10 % a aproximadamente un 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 60 % o
- 55 70 % de aumento en la velocidad de crecimiento de raíces, velocidad de crecimiento de hojas, velocidad de crecimiento de plantas de semillero, producción de semillas, producción de frutos y/o elevada biomasa total en la planta, parte de la planta o una planta derivada de la misma en comparación con una planta de tomate de control no tratada o planta de tomate de control cultivada a partir de una semilla no tratada. En ciertas realizaciones, la aplicación de la composición proporciona al menos aproximadamente un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 30 % o 40 % de
- 60 disminución en el tiempo de ciclo (es decir, tiempo desde la semilla hasta la progenie de la semilla, hasta rizoma utilizable, hasta vástago, injerto o fruto utilizable) en la planta de tomate tratada o una planta de tomate cultivada a partir de una semilla tratada en comparación con la planta de tomate de control no tratada o planta de tomate de control cultivada a partir de una semilla no tratada. En ciertas realizaciones, la aplicación de la composición

proporciona aproximadamente un 5 % o 10 % a aproximadamente un 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, o 50 % de disminución en el tiempo de ciclo en la planta de tomate tratada o una planta de tomate cultivada a partir de una semilla tratada en comparación con una planta de tomate de control no tratada o planta de tomate de control cultivada a partir de una semilla no tratada. En ciertas realizaciones, la parte de la planta de tomate es una hoja, un tallo, una flor, una raíz, un tubérculo o una semilla.

También se describen métodos de preparación de una planta de tomate o composición de tratamiento de una semilla de planta de tomate que comprende *Methylobacterium* y está agotada de sustancias que promueven el crecimiento de bacterias residentes en una planta o semilla. Dicho método comprende (i) cultivar un mono-cultivo o co-cultivo de *Methylobacterium* en medio que comprenden una fase acuosa, una fase líquida y una fase sólida, o una emulsión, obteniendo así medio que contiene *Methylobacterium*; (ii) separar la *Methylobacterium* de al menos otra porción del medio que contiene *Methylobacterium*; y (iii) reconstituir la *Methylobacterium* en una matriz que carece de sustancias que promueven el crecimiento de bacterias residentes en una planta o semilla. En ciertos aspectos, la etapa de separación se efectúa por centrifugación, filtración o sedimentación del medio que contiene *Methylobacterium* y retirada del exceso de líquido o emulsión del mismo. En ciertos aspectos, la sustancia que promueve el crecimiento de bacterias residentes en una planta o semilla se selecciona del grupo que consiste en una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, una fuente de fósforo y combinaciones de las mismas. En ciertos aspectos, la matriz es un líquido, una emulsión o uno o más sólidos, y comprende un adyuvante y/o excipiente agrícolamente aceptable. Aún en ciertos aspectos, la *Methylobacterium* se cultiva en medios que comprenden una fase líquida y una sustancia sólida con *Methylobacterium* adherente cultivada encima. La sustancia sólida se separa de la fase líquida del medio que contiene *Methylobacterium*, y la sustancia sólida con *Methylobacterium* adherente cultivada encima se reconstituye en la matriz anteriormente mencionada. En ciertos aspectos de los métodos, *Methylobacterium* sp. se selecciona del grupo que consiste en *M. aminovorans*, *M. extorquens*, *M. fujisawaense*, *M. mesophilicum*, *M. radiotolerans*, *M. rhodesianum*, *M. nodulans*, *M. phyllosphaerae*, *M. thiocyanatum* y *M. oryzae*. En ciertos aspectos de los métodos, *Methylobacterium* no es *M. radiotolerans* ni *M. oryzae*. En ciertos aspectos de los métodos, la *Methylobacterium* se adhiere a una sustancia sólida. En ciertos aspectos de los métodos, la *Methylobacterium* adherida a la sustancia sólida se combina con un líquido para formar una composición que es un coloide. En ciertos aspectos de los métodos, el coloide es un gel. En ciertos aspectos de los métodos, la *Methylobacterium* adherida a la sustancia sólida se proporciona cultivando la *Methylobacterium* en presencia de la sustancia sólida. En ciertos aspectos de los métodos, la composición comprende una emulsión. En ciertos aspectos de los métodos, la *Methylobacterium* se proporciona cultivando la *Methylobacterium* en una emulsión.

Se ha encontrado que los métodos donde *Methylobacterium* se cultiva en medios bifásicos que comprenden una fase líquida y una sustancia sólida aumentan significativamente el rendimiento resultante de *Methylobacterium* con respecto a los métodos donde la *Methylobacterium* se cultiva en medios líquidos solo. En ciertos aspectos, los métodos pueden comprender cultivar *Methylobacterium* en medios líquidos con una sustancia sólida en partículas que se puede suspender en el líquido por agitación en condiciones que proporcionan el crecimiento de *Methylobacterium*. En ciertos aspectos donde se usan sustancias sólidas en partículas, al menos sustancialmente toda la fase sólida se puede suspender en la fase líquida tras la agitación. Dichas sustancias sólidas en partículas pueden comprender materiales que tienen aproximadamente 1 milímetro o menos de longitud o diámetro. En ciertos aspectos, el grado de agitación es suficiente para proporcionar la distribución uniforme de la sustancia sólida en partículas en la fase líquida y/o niveles óptimos de aireación del cultivo. Sin embargo, en otros aspectos descritos en el presente documento, al menos sustancialmente toda la fase sólida no se suspende en la fase líquida, o porciones de la fase sólida se suspenden en la fase líquida y porciones de la fase sólida no se suspenden en la fase líquida. Se pueden usar sustancias sólidas no en partículas en ciertos medios bifásicos donde la fase sólida no se suspende en la fase líquida. Dichas sustancias sólidas no en partículas incluyen, pero no se limitan a, materiales que son mayores de aproximadamente 1 milímetro de longitud o diámetro. Dichas sustancias sólidas en partículas y no en partículas también incluyen, pero no se limitan a, materiales que son porosos, fibrosos o configurados de otro modo para proporcionar elevadas áreas superficiales para el crecimiento adherente de la *Methylobacterium*. Los medios bifásicos donde porciones de la fase sólida se suspenden en la fase líquida y porciones de la fase sólida no se suspenden en la fase líquida pueden comprender una mezcla de sustancias sólidas en partículas y no en partículas. Dichas sustancias sólidas en partículas y no en partículas usadas en cualquiera de los medios bifásicos anteriormente mencionados también incluyen, pero no se limitan a, materiales que son porosos, fibrosos o configurados de otro modo para proporcionar elevadas áreas superficiales para el crecimiento adherente de *Methylobacterium*. En ciertos aspectos, el medio comprende un coloide formado por una fase sólida y una líquida. Se puede formar previamente un coloide que comprende un sólido y un líquido y añadir a medio líquido o se puede formar en medio que contiene un sólido y un líquido. Los coloides que comprenden un sólido y un líquido se pueden formar sometiendo ciertas sustancias sólidas a un cambio químico y/o térmico. En ciertos aspectos, el coloide es un gel. En ciertos aspectos, la fase líquida del medio es una emulsión. En ciertos aspectos, la emulsión comprende un líquido acuoso y un líquido que no es miscible, o solo parcialmente miscible, en el líquido acuoso. Los líquidos que no son miscibles, o solo parcialmente miscibles, en agua incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los siguientes: (1) líquidos que tienen una miscibilidad en agua que es igual o inferior a la de pentanol, hexanol o heptanol a 25 °C; (2) líquidos que comprenden un alcohol, un aldehído, una cetona, un ácido graso, un fosfolípido o cualquier combinación de los mismos; (3) alcoholes seleccionados del grupo que consiste en alcoholes alifáticos que contienen al menos 5 carbonos y esteroides; (4) un aceite animal, aceite microbiano, aceite sintético, aceite vegetal o combinación de los mismos; y/o, (5) un aceite vegetal se selecciona del grupo que consiste en maíz, soja, algodón,

cacahuete, girasol, oliva, lino, coco, palma, colza, semilla de sésamo, alazor y combinaciones de los mismos. En ciertos aspectos, el líquido inmiscible o parcialmente inmiscible puede comprender al menos aproximadamente 0,02 % a aproximadamente 20 % de la fase líquida en masa. En ciertos aspectos, los métodos pueden comprender obtener un medio bifásico de cultivo que comprende el líquido, el sólido y *Methylobacterium* e incubar el cultivo en condiciones que proporcionan el crecimiento de la *Methylobacterium*. Los medios bifásicos de cultivos que comprenden el líquido, el sólido y *Methylobacterium* se pueden obtener mediante una variedad de métodos que incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de: (a) inocular un medio bifásico que comprende el líquido y la sustancia sólida con *Methylobacterium*; (b) inocular la sustancia sólida con *Methylobacterium* y luego introducir la sustancia sólida que comprende la *Methylobacterium* en el medio líquido; (c) inocular la sustancia sólida con *Methylobacterium*, incubar la *Methylobacterium* en la sustancia sólida y luego introducir la sustancia sólida que comprende *Methylobacterium* en el medio líquido; o (d) cualquier combinación de (a), (b) o (c). Los métodos y composiciones para el cultivo de *Methylobacterium* en medios bifásicos que comprenden un líquido y un sólido se desvelan en la solicitud de patente de EE. UU. de cesión común US 2013-0324407 A1 presentada el 31 de mayo de 2013 y en la solicitud de patente internacional de cesión común WO 2013/181610 presentada el 31 de mayo de 2013.

También se ha encontrado que métodos donde *Methylobacterium* se cultiva en medios que comprenden una emulsión aumentan significativamente el rendimiento resultante de *Methylobacterium* con respecto a métodos donde *Methylobacterium* se cultiva en medio líquido solo. En cierta PCT/US13/43722, los métodos para la preparación de las composiciones proporcionadas en el presente documento pueden comprender cultivar el agente de *Methylobacterium* en una emulsión en condiciones que proporcionan el crecimiento de *Methylobacterium*. Se pueden obtener medios que comprenden la emulsión y *Methylobacterium* mediante una variedad de métodos que incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de: (a) inocular un medio que comprenden la emulsión con *Methylobacterium*; (b) inocular el líquido acuoso con *Methylobacterium*, introducir el líquido no acuoso y mezclar para formar una emulsión; (c) inocular el líquido acuoso con *Methylobacterium*, introducir el líquido no acuoso y mezclar para formar una emulsión; o (d) cualquier combinación de (a), (b) o (c). En cierta PCT/US13/43722, la emulsión comprende un líquido acuoso y un líquido que no es miscible, o solo parcialmente miscible, en el líquido acuoso. Líquidos no acuosos que no son miscibles, o solo parcialmente miscibles, en el agua incluyen, pero no se limitan a, cualquiera de los siguientes: (1) líquidos que tienen una miscibilidad en agua que es igual o inferior a la del n-pentanol, n-hexanol, o n-heptanol a 25 °C; (2) líquidos que comprenden un alcohol, un aldehído, una cetona, un ácido graso, un fosfolípido, o cualquier combinación de los mismos; (3) alcoholes que están seleccionados del grupo que consiste en alcoholes alifáticos que contienen al menos 5, 6 o 7 carbonos y esteroides; (4) un aceite animal, aceite microbiano, aceite sintético, aceite vegetal, o combinación de los mismos; y/o, (5) un aceite vegetal que está seleccionado del grupo que consiste en maíz, soja, algodón, cacahuete, girasol, oliva, lino, coco, palma, semilla de colza, semilla de sésamo, alazor y combinaciones de los mismos. En cierta PCT/US13/43722, el líquido inmiscible o parcialmente inmiscible no acuoso puede comprender al menos aproximadamente 0,02 % a aproximadamente 20 % de la emulsión en masa. En cierta PCT/US13/43722, el líquido inmiscible o parcialmente inmiscible no acuoso puede comprender al menos aproximadamente cualquiera de aproximadamente 0,05 %, 0,1 %, 0,5 % o 1 % a aproximadamente 3 %, 5 %, 10 % o 20 % de la emulsión en masa.

En ciertos aspectos, el caldo de fermentación, producto de caldo de fermentación, o composiciones que comprenden *Methylobacterium* sp., pueden comprender además uno o más microorganismos introducidos de identidad predeterminada distintos de *Methylobacterium*. Otros microorganismos que se pueden añadir incluyen, pero no se limitan a, microorganismos que son biopesticidas o proporcionan algún otro beneficio cuando se aplican a una planta o parte de la planta. Los microorganismos biopesticidas o de otro modo beneficiosos incluyen así, pero no se limitan a, diversos *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Coniothyrium* sp., *Pantoea* sp., *Streptomyces* sp. y *Trichoderma* sp. Los biopesticidas microbianos pueden ser una bacteria, hongo, virus o protozoo. Los microorganismos biopesticidas particularmente útiles incluyen diversas cepas de *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus pumilis*, *Pseudomonas syringae*, *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma virens* y *Streptomyces lydicus*. Otros microorganismos que se añaden pueden estar genéticamente manipulados o ser cepas aisladas que existen de forma natural que están disponibles como cultivos puros. En ciertos aspectos, se tiene previsto que el microorganismo bacteriano o fúngico se pueda proporcionar en el caldo de fermentación, producto de caldo de fermentación o composición en forma de una espора.

En ciertos aspectos, el medio de cultivo líquido se prepara a partir de componentes económicos y fácilmente disponibles que incluyen, pero no se limitan a, sales inorgánicas tales como fosfato de potasio, sulfato de magnesio y similares, fuentes de carbono tales como glicerol, metanol, ácido glutámico, ácido aspártico, ácido succínico y similares, y mezclas de aminoácidos tales como peptona, triptona y similares. Medios líquidos a modo de ejemplo que se puede usar incluyen, pero no se limitan a, medio de sales minerales de amonio (AMS) (Whittenbury et al., 1970), medio de cultivo mínimo de Vogel-Bonner (VB) (Vogel y Bonner, 1956) y caldo de LB ("caldo de Luria-Bertani").

En general, la sustancia sólida usada en los métodos y las composiciones que proporcionan el crecimiento eficiente de *Methylobacterium* puede ser cualquier sustancia sólida adecuada que sea insoluble o solo parcialmente soluble en agua o disoluciones acuosas. Dichas sustancias sólidas adecuadas también son no bactericidas o no bacteriostáticas con respecto a *Methylobacterium* cuando las sustancias sólidas se proporcionan en el medio de cultivo líquido. En ciertos aspectos, dichas sustancias sólidas adecuadas también son sustancias sólidas que se

obtienen fácilmente en forma estéril o se convierten en estériles. Las sustancias sólidas usadas en el presente documento se pueden esterilizar por cualquier método que proporcione eliminación de microorganismos contaminantes y así incluyen, pero no se limitan a, métodos tales como esterilización en autoclave, irradiación, tratamiento químico y cualquier combinación de los mismos. Estas sustancias sólidas incluyen sustancias naturales de origen animal, vegetal, microbiano, fúngico, o mineral, sustancias artificiales, o combinaciones de sustancias naturales y artificiales. En ciertos aspectos, las sustancias sólidas son sustancias sólidas inanimadas. Las sustancias sólidas inanimadas de origen animal, vegetal, microbiano o fúngico se pueden obtener de animales, plantas, microbios u hongos que son inviables (es decir, que ya no viven) o que ya se han convertido en inviables. Las conchas de las diatomeas son así sustancias sólidas inanimadas cuando se han quitado las algas diatomeas previamente asociadas o de otro modo se han convertido en inviables. Como las conchas de las diatomeas son sustancias sólidas inanimadas, no se considera que sean organismos fotosintéticos o microorganismos fotosintéticos. En ciertos aspectos, las sustancias sólidas incluyen, pero no se limitan a, arena, limo, tierra, arcilla, ceniza, carbón vegetal, tierra de diatomeas y otros minerales similares, vidrio molido o perlas de vidrio, materiales cerámicos molidos, perlas cerámicas, bentonita, caolín, talco, perlita, mica, vermiculita, sílices, polvo de cuarzo, montmorillonita y combinaciones de los mismos. En ciertos aspectos, la sustancia sólida puede ser un polímero o perlas poliméricas. Los polímeros que se pueden usar como una sustancia sólida incluyen, pero no se limitan a, diversos polisacáridos tales como polímeros celulósicos y polímeros quitinosos que son insolubles o solo parcialmente solubles en agua o disoluciones acuosas, agar (es decir, galactanos) y combinaciones de los mismos. En ciertos aspectos, la sustancia sólida puede ser un cristal de sal insoluble o solo parcialmente soluble. Los cristales de sales que se pueden usar incluyen, pero no se limitan a, carbonatos, cromatos, sulfitos, fosfatos, hidróxidos, óxidos y sulfuros insolubles o solo parcialmente solubles. En ciertos aspectos, la sustancia sólida puede ser una célula microbiana, célula fúngica, espora microbiana, o espora fúngica. En ciertos aspectos, la sustancia sólida puede ser una célula microbiana o espora microbiana en donde la célula microbiana o espora microbiana no es un microorganismo fotosintético. En ciertos aspectos, la célula microbiana o espora microbiana no es un microorganismo fotosintético, donde el microorganismo fotosintético está seleccionado del grupo que consiste en algas, cianobacterias, diatomeas, *Botryococcus braunii*, *Chlorella*, *Dunaliella tertiolecta*, *Gracilaria*, *Pleurochrysis carterae*, *Sargassum* y *Ulva*. En aún otros aspectos, la sustancia sólida puede ser una célula microbiana, célula fúngica, espora microbiana o espora fúngica inactivada (es decir, inviable). En aún otros aspectos, la sustancia sólida puede ser una célula microbiana, célula fúngica, espora microbiana o espora fúngica quiescente (es decir, viable pero no activamente divisora). En aún otros aspectos, la sustancia sólida puede ser residuo celular de origen microbiano. En aún otros aspectos, la sustancia sólida puede ser materia en partículas de cualquier parte de una planta. Las partes de la planta que se pueden usar para obtener la sustancia sólida incluyen, pero no se limitan a, mazorcas, cascarillas, vainas, hojas, raíces, flores, tallos, cortezas, semillas y combinaciones de los mismos. También se pueden usar los productos obtenidos de partes de la planta procesados que incluyen, pero no se limitan a, bagazo, salvado de trigo, sémola de soja, torta de semillas trituradas, hojas y tallos, y similares. Se pueden moler dichas partes de la planta, plantas procesadas y/o partes de la planta procesadas para obtener el material sólido en una forma en partículas que se pueda usar. En ciertos aspectos, se puede usar madera o un producto de madera que incluye, pero no se limitan a, pulpa de madera, serrín, virutas y similares. En ciertos aspectos, la sustancia sólida puede ser una materia en partículas de un animal(s), que incluye, pero no se limitan a, harina de huesos, gelatina, conchas molidas o en polvo, pelo, cuero macerado y similares.

En ciertos aspectos, la sustancia sólida se proporciona en una forma en partículas que proporciona distribución de la sustancia sólida en los medios de cultivo. En ciertos aspectos, la sustancia sólida comprende partículas de aproximadamente 2 micrómetros a aproximadamente 1000 micrómetros en longitud promedio o diámetro promedio. En ciertos aspectos, la sustancia sólida comprende partículas de aproximadamente 1 micrómetro a aproximadamente 1000 micrómetros de longitud promedio o diámetro promedio. En ciertos aspectos, la sustancia sólida es una partícula de aproximadamente 1, 2, 4, 10, 20 o 40 micrómetros a cualquiera de aproximadamente 100, 200, 500, 750 o 1000 micrómetros en longitud promedio o diámetro promedio. Características deseables de partículas usadas en los métodos y composiciones descritos en el presente documento incluyen humectabilidad adecuada de forma que las partículas se puedan suspender en todo los medios con agitación.

En ciertos aspectos, la sustancia sólida se proporciona en el medio como coloide en donde la fase continua es un líquido y la fase dispersa es el sólido. Sólidos adecuados que se pueden usar para formar coloides en medios líquidos usados para cultivar *Methylobacterium* incluyen, pero no se limitan a, diversos sólidos que se denominan hidrocoloideos. Dichos hidrocoloideos usados en los medios, métodos y composiciones proporcionadas en el presente documento pueden ser polímeros hidrófilos, de origen vegetal, animal, microbiano o sintético. Los polímeros de hidrocoloide usados en los métodos pueden contener muchos grupos hidroxilo y/o puede ser polielectrolitos. Los polímeros de hidrocoloide usados en las composiciones y métodos proporcionados en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, agar, alginato, arabinoxilano, carragenina, carboximetilcelulosa, celulosa, curdlano, gelatina, gellan, β -glucano, goma guar, goma arábica, goma de semilla de algarrobo, pectina, almidón, goma xantana y mezclas de los mismos. En ciertos aspectos, el coloide usado en los medios, métodos y composiciones descritos en el presente documento puede comprender un polímero de hidrocoloide y una o más proteínas.

En ciertos aspectos, la sustancia sólida puede ser una sustancia sólida que proporciona crecimiento adherente de *Methylobacterium* sobre la sustancia sólida. Las *Methylobacterium* que se adhieren a una sustancia sólida son *Methylobacterium* que no se pueden eliminar sustancialmente lavando simplemente la sustancia sólida con la

Methylobacterium adherente con medios de crecimiento, mientras que la *Methylobacterium* no adherente puede ser eliminada sustancialmente lavando la sustancia sólida con medio de crecimiento líquido. En este contexto, "eliminar sustancialmente" significa que al menos aproximadamente 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 % u 80 % de la *Methylobacterium* presente se elimina cuando la sustancia sólida se lava con tres volúmenes de medio de crecimiento líquido. Dicho lavado se puede efectuar mediante una variedad de métodos que incluyen, pero no se limitan a, decantar líquido de una fase sólida lavada o pasar líquido a través de una fase sólida sobre un filtro que permite el flujo a través de las bacterias en el líquido. En ciertos aspectos, las *Methylobacterium* adherentes que están asociadas al sólido pueden incluir o *Methylobacterium* que están directamente unidas al sólido y/o *Methylobacterium* que están indirectamente unidas a la sustancia sólida. *Methylobacterium* que están indirectamente unidas a la sustancia sólida incluyen, pero no se limitan a, *Methylobacterium* que están unidas a otra *Methylobacterium* o a otro microorganismo que está unido a la sustancia sólida, *Methylobacterium* que están unidas a la sustancia sólida uniéndose a otra sustancia que está unida a la sustancia sólida, y similares. En ciertos aspectos, al menos 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 %, 99,5 % o 99,9 % de *Methylobacterium* en el caldo de fermentación, producto de caldo de fermentación, o composiciones, son *Methylobacterium* que están adheridas a la sustancia sólida. En ciertos aspectos, las *Methylobacterium* adherentes pueden estar presentes sobre la superficie de la sustancia sólida en el caldo de fermentación, producto de caldo de fermentación o composición a una densidad de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/20 micrómetros cuadrados, de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/10 micrómetros cuadrados, de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/10 micrómetros cuadrados, de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/5 micrómetros cuadrados, de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/2 micrómetros cuadrados, o de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/micrómetro cuadrado. En ciertos aspectos, las *Methylobacterium* adherentes pueden estar presentes sobre la superficie de la sustancia sólida en el caldo de fermentación, producto de caldo de fermentación, o composición, a una densidad de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/20 micrómetros cuadrados a aproximadamente 1 *Methylobacterium*/micrómetro cuadrado, de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/10 micrómetros cuadrados a aproximadamente 1 *Methylobacterium*/micrómetro cuadrado, de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/10 micrómetros cuadrados a aproximadamente 1 *Methylobacterium*/micrómetro cuadrado, de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/5 micrómetros cuadrados a aproximadamente 1 *Methylobacterium*/micrómetro cuadrado, o de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/2 micrómetros cuadrados a aproximadamente 1 *Methylobacterium*/micrómetro cuadrado. En ciertos aspectos, las *Methylobacterium* adherentes pueden estar presentes sobre la superficie de la sustancia sólida en el caldo de fermentación, producto de caldo de fermentación, o composición, a una densidad de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/20 micrómetros cuadrados a aproximadamente 1 *Methylobacterium*/2 micrómetros cuadrados, de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/10 micrómetros cuadrados a aproximadamente 1 *Methylobacterium*/2 micrómetros cuadrados, de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/10 micrómetros cuadrados a aproximadamente 1 *Methylobacterium*/2 micrómetros cuadrados, o de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/5 micrómetros cuadrados a aproximadamente 1 *Methylobacterium*/micrómetro cuadrado, o de al menos aproximadamente 1 *Methylobacterium*/2 micrómetros cuadrados. Los caldos de fermentación bifásicos descritos en el presente documento pueden comprender una fase líquida que contiene *Methylobacterium* no adherente. En ciertos aspectos, los títulos de *Methylobacterium* no adherente en la fase líquida pueden ser inferiores a aproximadamente 100.000, 10.000 o 1.000 UFC/mL.

Los métodos de cultivo bifásico proporcionados pueden dar caldos de fermentación con *Methylobacterium* a un título superior a aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro, a un título superior a aproximadamente 1×10^9 unidades formadoras de colonias por mililitro, a un título superior a aproximadamente 1×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro, a un título de al menos aproximadamente 3×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro. En ciertos aspectos, los caldos de fermentación descritos en el presente documento pueden comprender *Methylobacterium* a un título de al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro a al menos aproximadamente 3×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro, o al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro. En ciertos aspectos, los caldos de fermentación descritos en el presente documento pueden comprender *Methylobacterium* a un título de al menos aproximadamente 1×10^9 unidades formadoras de colonias por mililitro a al menos aproximadamente 3×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^9 unidades formadoras de colonias por mililitro a al menos aproximadamente 4×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro, o al menos aproximadamente 1×10^9 unidades formadoras de colonias por mililitro a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro. En ciertos aspectos, los caldos de fermentación descritos en el presente documento comprenderán *Methylobacterium* a un título de al menos aproximadamente 1×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro a al menos aproximadamente 3×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro, o al menos aproximadamente 4×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro, o al menos aproximadamente 1×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro. En ciertos aspectos, los caldos de fermentación descritos en el presente documento comprenderán *Methylobacterium* a un título de, al menos aproximadamente 3×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro a al menos aproximadamente 4×10^{10} unidades formadoras de colonias por

mililitro, o al menos aproximadamente 3×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro.

Se pueden obtener sustancias sólidas con *Methylobacterium* adherente como productos de fermentación que se pueden usar para preparar diversas composiciones útiles para tratar plantas o partes de la planta para mejorar el rendimiento de la planta, resistencia a insectos de la planta, resistencia a enfermedades fúngicas de la planta y/o para mejorar la producción de tomate. En ciertos aspectos, la composición comprende *Methylobacterium* y está agotada en sustancias que promueven el crecimiento de bacterias residentes. Las composiciones descritas en el presente documento que comprenden *Methylobacterium*, sustancias sólidas con *Methylobacterium* cultivado encima, o que comprenden emulsiones con *Methylobacterium* cultivado en su interior, se pueden usar para tratar plantas o partes de la planta. Así se describen plantas, partes de la planta y, en particular, semillas de la planta que han sido al menos recubiertas parcialmente o recubiertas con los productos del caldo de fermentación o composiciones que comprenden *Methylobacterium*. También se describen productos de la planta procesados que contienen los productos del caldo de fermentación o composiciones con *Methylobacterium* o *Methylobacterium* adherente. Se pueden usar sustancias sólidas con *Methylobacterium* adherente para preparar diversas composiciones que son particularmente útiles para tratar semillas de la planta. Así se describen semillas que han sido al menos parcialmente recubiertas con los productos del caldo de fermentación o composiciones. También se describen productos de semilla procesados, que incluyen, pero no se limitan a, maicena, harina, comida y copos que contienen los productos del caldo de fermentación o composiciones descritas en el presente documento. En ciertos aspectos, el producto de la planta procesado no será regenerable (es decir, será incapaz de desarrollarse dentro de una planta). En ciertos aspectos, la sustancia sólida usada en el producto de fermentación o composición que recubre al menos parcialmente la planta, parte de la planta o semilla de planta, o que está contenida en la planta procesada, parte de la planta o producto de semilla, comprende una sustancia sólida y *Methylobacterium* asociado o adherente que se puede identificar fácilmente comparando una planta tratada y una no tratada, parte de la planta, semilla de planta o producto procesado de la misma. El recubrimiento parcial de una planta, una parte de la planta, o una semilla incluye, pero no se limita a, recubrimiento de al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o aproximadamente 99,5 % del área superficial de la planta, parte de la planta o semilla de la planta.

También se describen en el presente documento métodos de preparación de una composición de tratamiento de planta o de semilla de planta que comprende *Methylobacterium* y está agotada en sustancias que promueven el crecimiento de bacterias residentes en una planta o semilla. Dichos métodos pueden comprender (i) cultivar un mono-cultivo o co-cultivo de *Methylobacterium* en medios que comprenden: (a) una fase acuosa; (b) una fase líquida y una fase sólida; o (c) una emulsión, obteniéndose así un medio que contiene *Methylobacterium*; (ii) separar la *Methylobacterium* de al menos otra porción del medio que contiene *Methylobacterium*; y (iii) reconstituir la *Methylobacterium* en una matriz que carece de sustancias que promueven el crecimiento de bacterias residentes en una planta o semilla. En ciertos aspectos, la etapa de separación se efectúa por centrifugación, filtración o sedimentación del medio que contiene *Methylobacterium* y eliminación del exceso de líquido o emulsión de los mismos. En ciertos aspectos donde la *Methylobacterium* se cultiva en presencia de una sustancia sólida, la separación proporcionará una fracción que contiene *Methylobacterium* con crecimiento adherente a la sustancia sólida y algunos *Methylobacterium* no adherentes que se pueden reconstituir en la matriz. En ciertos aspectos, la sustancia que promueve el crecimiento de bacterias residentes en una planta o semilla está seleccionada del grupo que consiste en una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, una fuente de fósforo, una fuente de azufre, una fuente de magnesio y combinaciones de las mismas. En ciertos aspectos, la matriz es un líquido, una emulsión, o uno o más sólidos, y comprende un adyuvante y/o excipiente agrícolamente aceptable. En ciertos aspectos, la *Methylobacterium* se cultiva en medios que comprenden una fase líquida y una sustancia sólida con *Methylobacterium* adherente cultivada encima. La sustancia sólida se separa de la fase líquida del medio que contiene *Methylobacterium*, y la sustancia sólida con *Methylobacterium* adherente cultivada encima se reconstituye en la matriz anteriormente mencionada. En ciertos aspectos, la matriz puede ser un líquido que incluye, pero no se limitan a, agua y tampón acuoso agotado de sustancias que promueven el crecimiento de bacterias residentes en una planta o semilla, o una disolución acuosa agotada de sustancias que promueven el crecimiento de bacterias residentes en una planta o semilla.

En ciertos aspectos, las *Methylobacterium sp.* que mejoran la producción de tomate se pueden identificar probando *Methylobacterium sp.* candidatas recientemente aisladas para la presencia de secuencias de ácidos nucleicos polimórficas que están presentes en las *Methylobacterium sp.* a modo de ejemplo proporcionadas en el presente documento que mejoran las velocidades de crecimiento de plantas de semillero de tomate y que están ausentes de *Methylobacterium sp.* que no mejoran las velocidades de crecimiento de plantas de semillero de tomate. En ciertos aspectos, las secuencias de ácidos nucleicos polimórficas que están presentes en las *Methylobacterium sp.* identificadas que mejoran la producción de tomate también están presentes en una o más de las cepas aisladas NLS0037 de *Methylobacterium sp.* a modo de ejemplo proporcionadas en el presente documento que mejoran la velocidad de crecimiento de plantas de semillero de tomate, pero están ausentes de una o más de las cepas aisladas de *Methylobacterium sp.* que no mejoran las velocidades de crecimiento de plantas de semillero de tomate. Dichos polimorfismos de ácido nucleico que se producen en las *Methylobacterium sp.* que mejoran la producción de tomate pueden incluir, pero no se limitan a, polimorfismos de un solo nucleótido, RFLP, AFLP y/u otras variaciones de ADN tales como secuencias repetitivas, secuencias de inserción, transposones e islas genómicas que se

producen como resultado de inserciones, deleciones y sustituciones (Indel) en el genoma bacteriano que incluyen tanto el ADN cromosómico, además de cualquier elemento de ácido nucleico extracromosómico que pueda estar presentes en las *Methylobacterium* sp. que mejora la producción de tomate. Dichos elementos de ácido nucleico extracromosómico incluyen, pero no se limitan a, plásmidos, ADN o ARN de bacteriófago y similares. Los métodos

- 5 usados para identificar dichos polimorfismos de nucleótidos incluyen, pero no se limitan a, técnicas de extensión de una sola base (SBE), hibridación específica de alelo (ASH), detección por PCR en tiempo real (por ejemplo, TaqMan™; las patentes de EE. UU. N° 5.804.375; 5.538.848; 5.487.972; y 5.210.015), combinaciones de ASH y RT-PCR (sistemas de detección KASP™, LGC Genomics, Middlesex, RU) y técnicas de secuenciación profunda (solicitud de patente de EE. UU. N° 20120264632).
- 10 En el presente documento también se describen composiciones, métodos de preparación de las composiciones y según la invención se proporcionan métodos de uso de las composiciones para aumentar la velocidad de crecimiento de la raíz del tomate, crecimiento de hojas, crecimiento de plantas de semillero o disminución del tiempo de ciclo desde la semilla de tomate hasta la producción del fruto de tomate en comparación con una planta de tomate de control no tratada. Según la invención, los métodos comprenden o usan cualquiera de las siguientes
- 15 cepas de *Methylobacterium*, NLS0017, NLS0037 o NLS0066.

Tabla 1. Cepas aisladas de *Methylobacterium* sp.

CEPA AISLADA N°	NLS N°	USDA ARS NRRL N° ¹
ISO01	NLS0046	NRRL B-50929
ISO02	NLS0020	NRRL B-50930
ISO03	NLS0017	NRRL B-50931
ISO04	NLS0042	NRRL B-50932
ISO05	NLS0089	NRRL B-50933
ISO06	NLS0068	NRRL B-50934
ISO07	NLS0065	NRRL B-50935
ISO08	NLS0069	NRRL B-50936
ISO09	NLS0062	NRRL B-50937
ISO10	NLS0064	NRRL B-50938
ISO11	NLS0021	NRRL B-50939
ISO12	NLS0066	NRRL B-50940
ISO13	NLS0037	NRRL B-50941
ISO14	NLS0038	NRRL B-50942

¹ Número de depósito de la cepa que se va a depositar en el AGRICULTURAL RESEARCH SERVICE CULTURE COLLECTION (NRRL) del National Center for Agricultural Utilization Research, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, 1815 North University Street, Peoria, Illinois 61604, EE. UU., bajo los términos del Tratado de Budapest sobre el Reconocimiento Internacional del Depósito de Microorganismos a los fines del Procedimiento en Materia de Patentes. Sujeto al Título 37 del CFR párrafo 1.808(b), todas las restricciones impuestas por el depositario sobre la disponibilidad al público del material depositado se eliminarán irrevocablemente tras la concesión de cualquier patente de la presente la solicitud de patente.

- 25 Las solicitudes de patente de cesión común que desvelan usos específicos adicionales de las cepas de *Methylobacterium* de la Tabla 1 tales como: (1) aumento del rendimiento de maíz (solicitud internacional WO2015085115A1 presentada el 04/12/2014); (2) aumento del rendimiento de soja (solicitud internacional WO2015/085116A1 presentada el 04/12/2014); (3) mejora del cultivo de lechuga (solicitud de patente internacional WO2015/088063 presentada el 04/12/2014); (4) proporciona resistencia a enfermedades fúngicas. La solicitud
- 30 internacional WO 2015/085063 A1 presentada el 04/12/2014 y que reivindica beneficio del documento de patente US 61/954840, presentado el 18/03/2014, y el documento de patente US 61/911516, presentado el 04/12/2013, desvela las secuencias genómicas de ácidos nucleicos de NLS017, NLS020, NLS037, NLS042, NLS065 y NLS066. Dichas secuencias genómicas de ácidos nucleicos se pueden usar para identificar composiciones, partes de la

planta, semillas de la planta o productos de la planta procesados que comprenden NLS017, NLS020, NLS037, NLS042, NLS065 y NLS066.

En el presente documento también se describen *Methylobacterium* sp. que proporcionan la producción de tomate mejorada donde las *Methylobacterium* sp. tienen cualquiera de: (i) al menos un gen que codifica al menos una proteína que es ortóloga a una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1-4594; o (ii) al menos un gen que codifica al menos una proteína que es ortóloga a una proteína de referencia de la Tabla 4. Una *Methylobacterium* sp. tiene al menos un gen que es ortólogo a una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos de al menos una de SEQ ID NO: 1-4594, o a la SEQ ID NO correspondiente de una proteína de referencia de la Tabla 4, cuando un cromosoma y/o cualquier ADN extracromosómico en esa *Methylobacterium* sp. contiene un gen que codifica una proteína que tiene al menos 50 %, al menos 60 %, al menos 70 %, al menos 80 %, al menos 90 %, al menos 95 %, al menos 97 %, al menos 98 %, al menos 99 % o 100 % de identidad de secuencias a través de la longitud entera de la secuencia de aminoácidos de al menos una de SEQ ID NO: 1-4594. Las *Methylobacterium* sp. también pueden tener al menos dos, tres, cuatro, seis, ocho, 10, 15 o 20 genes que codifican proteínas que son ortólogas a proteínas que tienen una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1-4594 o que codifican proteínas que son ortólogas a la SEQ ID NO correspondiente de una proteína de referencia de la Tabla 4. En ciertos aspectos, las *Methylobacterium* sp. pueden contener al menos un gen que codifica una proteína que es ortóloga a una proteína de referencia que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1-2684 de la Tabla 4. En ciertos aspectos, las *Methylobacterium* sp. pueden contener al menos un gen que codifica una proteína que es ortóloga a una proteína de referencia que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2585-4594 de la Tabla 4. En ciertos aspectos, las *Methylobacterium* sp. pueden contener al menos un gen que codifica una proteína que es ortóloga a una proteína de referencia que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 2969 o 212 de la Tabla 4. Ejemplos de proteínas que son ortólogas a SEQ ID NO: 2969 incluyen, pero no se limitan a, las proteínas ortólogas identificadas como proteínas de la familia XRE de reguladores de la transcripción de SEQ ID NO: 2969 y 399 que se proporcionan en la Tabla 4. Ejemplos de proteínas que son ortólogas a SEQ ID NO: 212 incluyen, pero no se limitan a, proteínas que tienen la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 212 y 2828 que son similares a proteínas identificadas como miembros de los reguladores de la transcripción de la familia LysR. También se describen composiciones que comprenden cualquiera de las *Methylobacterium* sp. anteriormente mencionadas y un excipiente agrícolamente aceptable, adyuvante, o combinación de los mismos, junto con semillas u hojas de tomate que están al menos parcialmente recubiertas con dichas composiciones y métodos de uso de dichas composiciones como tratamientos de semilla o foliares.

Se puede determinar que una *Methylobacterium* sp. contiene un gen que codifica una proteína que es ortóloga a una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1-4594 mediante una variedad de técnicas diferentes. En ciertos aspectos, se puede determinar que una *Methylobacterium* sp. contiene un gen que codifica una proteína que es ortóloga a una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1-4594 por ensamblaje de una secuencia genómica electrónica completa que comprende secuencias de ADN cromosómico y extracromosómico presentes en esa *Methylobacterium* sp. con un ordenador y software asociado, y determinar si cualquiera de los marcos de lectura abiertos (ORF) presentes en esa secuencia de ADN codifica una proteína que tiene el porcentaje de identidad de secuencias anteriormente mencionado. En dichos aspectos, el ORF se puede identificar realizando una traducción de seis vías de la secuencia electrónicamente ensamblada y buscando la traducida con una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1-4594 o la SEQ ID NO: correspondiente de una proteína de referencia de la Tabla 4. En otros aspectos, la presencia o ausencia de una secuencia dada dentro de una *Methylobacterium* sp. de una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 1-4594 o la SEQ ID NO: correspondiente de una proteína de referencia de la Tabla 4 se puede determinar por un análisis de ácidos nucleicos o técnica de análisis de proteínas. Ejemplos de secuencias de ácidos nucleicos que codifican las proteínas de SEQ ID NO: 1-4594 incluyen, pero no se limitan a, SEQ ID NO: 4595-9188, respectivamente. Dichos análisis de ácidos nucleicos incluyen, pero no se limitan a, técnicas basadas en hibridación de ácidos nucleicos, reacciones en cadena de la polimerasa, espectroscopía de masas, detección basada en nanoporos, análisis de ADN ramificado, combinaciones de los mismos y similares. Técnicas de análisis de proteínas incluyen, pero no se limitan a, inmunodetección, espectroscopía de masas, combinaciones de los mismos y similares.

Las composiciones descritas en el presente documento que son útiles para tratar plantas de tomate o partes de la planta que comprenden *Methylobacterium*, y/o están agotadas de sustancias que promueven el crecimiento de bacterias residentes en una planta o semilla, contienen una sustancia sólida con *Methylobacterium* adherente cultivado encima, o que comprenden emulsiones con *Methylobacterium* cultivado en su interior también pueden comprender además un adyuvante agrícolamente aceptable o un excipiente agrícolamente aceptable. Un adyuvante agrícolamente aceptable o un excipiente agrícolamente aceptable normalmente es un componente que no produce excesiva fitotoxicidad u otros efectos adversos cuando se expone a una planta o parte de la planta. En ciertos aspectos, la sustancia sólida puede ser ella misma un adyuvante agrícolamente aceptable o un excipiente agrícolamente aceptable, mientras que no sea bactericida o bacteriostático para la *Methylobacterium*. En otros aspectos, la composición comprende además al menos uno de un adyuvante agrícolamente aceptable o un excipiente agrícolamente aceptable. Cualquiera de las composiciones anteriormente mencionadas también puede comprender además un pesticida. Los pesticidas usados en la composición incluyen, pero no se limitan a, un insecticida, un fungicida, un nematocida y un bactericida. En ciertos aspectos, el pesticida usado en la composición es un pesticida que no inhibe sustancialmente el crecimiento de *Methylobacterium*. Como *Methylobacterium* son

bacterias Gram-negativas, bactericidas adecuados usadas en las composiciones pueden incluir, pero no se limitan a, bactericidas que presentan actividad contra bacterias Gram-positivas, pero no bacterias Gram-negativas. Las composiciones descritas en el presente documento también pueden comprender un agente bacteriostático que no inhibe sustancialmente el crecimiento de *Methylobacterium*. Los agentes bacteriostáticos adecuados para su uso en las composiciones descritas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, aquellos que presentan actividad contra bacterias Gram-positivas, pero no bacterias Gram-negativas. Cualquiera de las composiciones anteriormente mencionadas también puede ser un producto esencialmente seco (es decir, que tiene aproximadamente 5 % o menos de contenido de agua), una mezcla de la composición con una emulsión, o una suspensión. Cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento se puede usar para recubrir o recubrir parcialmente una planta, parte de la planta o semilla de la planta. El recubrimiento parcial de una planta, una parte de la planta, o una semilla, incluye, pero no se limita a, recubrimiento de al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o aproximadamente 99,5 %, del área superficial de la planta, parte de la planta o semilla de la planta.

Adyuvantes agrícolamente aceptables usados en las composiciones que comprenden *Methylobacterium* incluyen, pero no se limitan a, componentes que potencian la eficacia de los productos y/o productos que potencian la facilidad de aplicación del producto. Adyuvantes que potencian la eficacia de los productos pueden incluir diversos humectantes/agentes de extensión que promueven la adhesión a y extensión de la composición sobre partes de la planta, adhesivos que promueven la adhesión a la parte de la planta, penetrantes que pueden promover el contacto del agente activo con tejidos interiores, sustancias de relleno que aumentan la semivida del agente activo inhibiendo la degradación medioambiental, y humectantes que aumentan la densidad o tiempo de secado de las composiciones pulverizadas. Los humectantes/agentes de extensión usados en las composiciones pueden incluir, pero no se limitan a, tensioactivos no iónicos, tensioactivos aniónicos, tensioactivos catiónicos, tensioactivos anfóteros, tensioactivos de organosilicato y/o tensioactivos acidificados. Los adhesivos en las composiciones pueden incluir, pero no se limitan a, sustancias basadas en látex, terpeno/pinoleno y sustancias basadas en pirrolidona. Los penetrantes pueden incluir aceite mineral, aceite vegetal, aceite vegetal esterificado, tensioactivos de organosilicato y tensioactivos acidificados. Las sustancias de relleno usadas en las composiciones pueden incluir, pero no se limitan a, sulfato de amonio, o sustancias basadas en menteno. Los humectantes usados en las composiciones pueden incluir, pero no se limitan a, glicerol, propilenglicol y dietilglicol. Los adyuvantes que mejoran la facilidad de aplicación del producto incluyen, pero no se limitan a, agentes acidificantes/de tamponamiento, agentes antiespumantes/despumantes, agentes de compatibilidad, agentes reductores de la deriva, colorantes y acondicionadores del agua. Los agentes antiespumantes/despumantes usados en las composiciones pueden incluir, pero no se limitan a, dimetopolisiloxano. Los agentes de compatibilidad usados en las composiciones pueden incluir, pero no se limitan a, sulfato de amonio. Los agentes reductores de la deriva usados en las composiciones pueden incluir, pero no se limitan a, poliacrilamidas y polisacáridos. Los acondicionadores del agua usados en las composiciones pueden incluir, pero no se limitan a, sulfato de amonio.

También se describen en el presente documento métodos de tratamiento de plantas y/o partes de la planta con los caldos de fermentación, productos del caldo de fermentación y composiciones que comprenden *Methylobacterium*. Las plantas tratadas, y las partes de la planta tratadas obtenidas a partir de las mismas, incluyen, pero no se limitan a, una planta de tomate. Las partes de la planta que se tratan incluyen, pero no se limitan a, hojas, tallos, flores, raíces, semillas, fruto, tubérculos, coleóptilos y similares. Se pueden tratar semillas u otras propágulas de cualquiera de las plantas anteriormente mencionadas con los caldos de fermentación, productos del caldo de fermentación, productos de fermentación y/o composiciones descritas en el presente documento.

En ciertos aspectos, las plantas y/o las partes de la planta se tratan aplicando los caldos de fermentación, productos del caldo de fermentación, productos de fermentación y composiciones que comprenden *Methylobacterium* como una pulverización. Dichas aplicaciones por pulverización incluyen, pero no se limitan a, tratamientos de una única parte de la planta o cualquier combinación de partes de la planta. La pulverización se puede lograr con cualquier dispositivo que distribuirá los caldos de fermentación, productos del caldo de fermentación, productos de fermentación y composiciones a la planta y/o parte(s) de la planta. Dispositivos de pulverización útiles incluyen un pulverizador de barras, un pulverizador manual o de mochila, aviones fumigadores (por ejemplo, pulverización aérea) y similares. También se pueden usar dispositivos de pulverización y o métodos que proporcionan la aplicación de los caldos de fermentación, productos del caldo de fermentación, productos de fermentación y composiciones a tanto una como a ambas de la superficie adaxial y/o superficie abaxial. También se describen en el presente documento plantas y/o partes de la planta que son al menos parcialmente recubiertas con cualquiera de un caldo de fermentación bifásico, un producto de caldo de fermentación, producto de fermentación, o composiciones que comprenden una sustancia sólida con *Methylobacterium* adherido a ella. En el presente documento también se proporcionan productos de la planta procesados que comprenden una sustancia sólida con *Methylobacterium* adherido a ella. Cualquiera de las composiciones descritas en el presente documento se puede usar para recubrir o recubrir parcialmente una planta, parte de la planta o semilla de la planta. El recubrimiento parcial de una planta, una parte de la planta, o una semilla, incluye, pero no se limita a, recubrimiento de al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o aproximadamente 99,5 % del área superficial de la planta, parte de la planta o semilla de la planta.

En ciertos aspectos, las semillas de tomate se tratan exponiendo las semillas a los caldos de fermentación, productos del caldo de fermentación, productos de fermentación y composiciones que comprenden

Methylobacterium. Las semillas se pueden tratar con los caldos de fermentación, productos del caldo de fermentación y composiciones descritas en el presente documento por métodos que incluyen, pero no se limitan a, imbibición, recubrimiento, pulverización y similares. En ciertos aspectos, las semillas esterilizadas en la superficie se tratan con una composición que comprende *Methylobacterium*. En ciertos aspectos, las semillas no esterilizadas (es decir, semillas que no se han sometido a esterilización superficial) se tratan con una composición que comprende *Methylobacterium* que está agotado en sustancias que promueven el crecimiento de microorganismos residentes en la semilla. El tratamiento de semillas se puede efectuar con o tratadores de semillas continuos y/o discontinuos. En ciertos aspectos, se pueden preparar semillas recubiertas suspendiendo las semillas con una composición de recubrimiento que contiene un caldo de fermentación, producto de caldo de fermentación o composiciones que comprenden la sustancia sólida con *Methylobacterium* y secando al aire el producto resultante. El secado al aire se puede llevar a cabo a cualquier temperatura que no sea perjudicial para la semilla o la *Methylobacterium*, pero normalmente no será superior a 30 grados centígrados. La proporción de recubrimiento que comprende una sustancia sólida y *Methylobacterium* incluye, pero no se limita a, un intervalo de 0,1 a 25 % en peso de la semilla, 0,5 a 5 % en peso de la semilla y 0,5 a 2,5 % en peso de la semilla. El recubrimiento parcial de una semilla puede incluir, pero no se limita a, recubrimiento de al menos aproximadamente 5 %, 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 98 %, 99 % o aproximadamente 99,5 % del área superficial de la semilla. En ciertos aspectos, una sustancia sólida usada en el recubrimiento o tratamiento de semillas tendrá *Methylobacterium* adherido sobre ella. En ciertos aspectos, una sustancia sólida usada en el recubrimiento o tratamiento de semillas se asociará a *Methylobacterium* y será un caldo de fermentación, producto de caldo de fermentación o composición obtenida por los métodos descritos en el presente documento. Se pueden adaptar diversas composiciones y métodos de tratamiento de semillas para el tratamiento de semillas descrito en las patentes de EE. UU. N° 5.106.648, 5.512.069 y 8.181.388 para su uso con un agente activo que comprende los caldos de fermentación, productos del caldo de fermentación o composiciones proporcionadas en el presente documento. En ciertos aspectos, la composición usada para tratar la semilla puede contener excipientes agrícolaemente aceptables que incluyen, pero no se limitan a, harinas de madera, arcillas, carbono activo, tierra de diatomeas, sólidos inorgánicos de grano fino, carbonato cálcico y similares. Las arcillas y sólidos inorgánicos que se pueden usar con los caldos de fermentación, productos del caldo de fermentación o composiciones descritas en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, bentonita de calcio, caolín, arcilla de China, talco, perlita, mica, vermiculita, sílices, polvo de cuarzo, montmorillonita y mezclas de los mismos. Los adyuvantes agrícolaemente aceptables que promueven la adherencia a la semilla que se pueden usar incluyen, pero no se limitan a, poli(acetatos de vinilo), copolímeros de poli(acetato de vinilo), poli(acetatos de vinilo) hidrolizados, copolímero de polivinilpirrolidona-acetato de vinilo, poli(alcoholes vinílicos), copolímeros de poli(alcohol vinílico), polivinil metil éter, copolímero de polivinil metil éter-anhídrido maleico, ceras, polímeros de látex, celulosas que incluyen etilcelulosas y metilcelulosas, hidroximetilcelulosas, hidroxipropilcelulosa, hidroximetilpropilcelulosas, polivinilpirrolidonas, alginatos, dextrinas, malto-dextrinas, polisacáridos, grasas, aceites, proteínas, goma karaya, goma Jaguar, goma tragacanto, gomas de polisacárido, mucílago, gomas arábicas, Shellacs, polímeros y copolímeros de cloruro de vinilideno, polímeros y copolímeros de proteína basada en soja, lignosulfonatos, copolímeros acrílicos, almidones, poli(acrilato de vinilo), zeínas, gelatina, carboximetilcelulosa, quitosano, poli(óxido de etileno), polímeros y copolímeros de acrilamida, poli(acrilato de hidroxietilo), monómeros de metilacrilamida, alginato, etilcelulosa, policloropreno y jarabes o mezclas de los mismos. Otros adyuvantes agrícolaemente aceptables útiles que pueden promover el recubrimiento incluyen, pero no se limitan a, polímeros y copolímeros de acetato de vinilo, copolímero de polivinilpirrolidona-acetato de vinilo y ceras solubles en agua. Se pueden adaptar diversos tensioactivos, dispersantes, agentes antiapelmazamiento, agentes de control de la espuma y colorantes descritos en el presente documento y en la patente de EE. UU. N° 8.181.388 para su uso con un agente activo que comprende los caldos de fermentación, productos del caldo de fermentación o composiciones descritas en el presente documento.

En ciertos aspectos, los PPFM que se usan para aumentar la producción de tomate también se podrían aplicar en una disolución hidropónica como una adición al conjunto hidropónico. Dichas disoluciones hidropónicas son disoluciones que comprenden al menos minerales necesarios para el crecimiento de las plantas de tomate. Las disoluciones hidropónicas adecuadas para el crecimiento de plantas de tomate y plantas de semillero incluyen, pero no se limitan, a aquellas descritas en las patentes de EE. UU. N° 8.091.275 y U.S. 7.818.916.

En el presente documento se proporcionan métodos que comprenden la aplicación de composiciones que comprenden las cepas de *Methylobacterium* NLS0017, NLS0037 o NLS0066 que proporcionan el aumento de la producción de fruto de tomate, esquejes o de rizomas, y el aumento del crecimiento de plantas de semillero de tomate con respecto a las plantas no tratadas que no se han expuesto a las composiciones. En ciertos aspectos, las partes de la planta, que incluyen, pero no se limitan a, una semilla, una hoja, un fruto, un tallo, una raíz, un tubérculo o un coleóptilo, se pueden tratar con las composiciones para aumentar la producción de tomate. Tratamientos o aplicaciones pueden incluir, pero no se limitan a, pulverización, recubrimiento, recubrimiento parcial, inmersión y/o empapar la planta o partes de la planta con las composiciones proporcionadas en el presente documento. En ciertos aspectos, una semilla, una hoja, un fruto, un tallo, una raíz, un tubérculo o un coleóptilo se puede sumergir y/o empapar con un líquido, semilíquido, emulsión o suspensión de la composición. Dicha inmersión o empapamiento de semillas puede ser suficiente para proporcionar la producción de tomate mejorada en una planta tratada o parte de la planta en comparación con una planta no tratada o parte de la planta. La producción de tomate mejorada incluye, pero no se limita a, aumento del crecimiento de plantas de semillero, crecimiento de raíces, aumento del crecimiento de hojas, aumento de la producción de semillas, esquejes o de rizomas, y/o aumento de la biomasa total en

comparación con plantas de control no tratadas. En ciertos aspectos, las semillas de la planta se pueden sumergir y/o empapar durante al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 horas. Dicha inmersión y/o empapamiento se pueden realizar, en ciertos aspectos, a temperaturas que no son perjudiciales para la semilla de la planta o la *Methylobacterium*. En ciertos aspectos, las semillas se pueden tratar a aproximadamente 15 a aproximadamente 30 grados centígrados o a aproximadamente 20 a aproximadamente 25 grados centígrados. En ciertos aspectos, el empapamiento y/o la inmersión de las semillas se pueden realizar con agitación suave.

Por tanto, se espera que las composiciones descritas en el presente documento que comprenden *Methylobacterium* sean útiles en mejorar la producción de tomate. En ciertos aspectos, una cantidad de una composición proporcionada en el presente documento que es suficiente para proporcionar la producción de tomate mejorada puede ser una composición con *Methylobacterium* a un título de al menos aproximadamente 1×10^6 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 5×10^6 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^9 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro, o al menos aproximadamente 3×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro. En ciertos aspectos, una cantidad de una composición descrita en el presente documento que es suficiente para proporcionar la mejora de la producción de tomate puede ser una composición con *Methylobacterium* a un título de aproximadamente al menos aproximadamente 1×10^6 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 5×10^6 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por mililitro, o al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro de un líquido o una emulsión. En ciertos aspectos, una cantidad de una composición descrita en el presente documento que es suficiente para proporcionar la mejora de la producción de tomate puede ser un producto de caldo de fermentación con un título de *Methylobacterium* de una fase sólida de ese producto que es al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro a al menos aproximadamente 5×10^{13} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por gramo de la fase sólida. En ciertos aspectos, una cantidad de una composición descrita en el presente documento que es suficiente para proporcionar la mejora de la producción de tomate puede ser una composición con un título de *Methylobacterium* de al menos aproximadamente 1×10^6 unidades formadoras de colonias por gramo, al menos aproximadamente 5×10^6 unidades formadoras de colonias por gramo, al menos aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por gramo, o al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por gramo a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por gramo de partículas en la composición que contiene las partículas que comprenden una sustancia sólida en donde un mono-cultivo o co-cultivo de *Methylobacterium* está adherido a ella. En ciertos aspectos, una cantidad de una composición que es suficiente para proporcionar la mejora de la producción de tomate puede ser una composición con un título de *Methylobacterium* de al menos aproximadamente 1×10^6 unidades formadoras de colonias por mL, al menos aproximadamente 5×10^6 unidades formadoras de colonias por mL, al menos aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por mL, o al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mL a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por mL en una composición que comprende una emulsión en donde un mono-cultivo o co-cultivo de una *Methylobacterium* adherida a una sustancia sólida se proporciona en su interior o se cultiva en su interior. En ciertos aspectos, una cantidad de una composición que es suficiente para proporcionar la mejora de la producción de tomate puede ser una composición con un título de *Methylobacterium* de al menos aproximadamente 1×10^6 unidades formadoras de colonias por mL, al menos aproximadamente 5×10^6 unidades formadoras de colonias por mL, al menos aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por mL, o al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mL a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por mL en una composición que comprende una emulsión en donde un mono-cultivo o co-cultivo de una *Methylobacterium* se proporciona en su interior o se cultiva en su interior.

En ciertos aspectos, una cantidad de una composición que es suficiente para proporcionar la producción de tomate mejorada puede ser una composición con una *Methylobacterium* sp. a un título de al menos aproximadamente 1×10^4 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^5 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^6 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 5×10^6 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^9 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro, o al menos aproximadamente 3×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro. En ciertos aspectos, una cantidad de una composición que es suficiente para proporcionar la producción de tomate mejorada puede ser una composición con *Methylobacterium* sp. a un título de al menos aproximadamente 1×10^4 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^5 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^6 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 5×10^6 unidades formadoras de colonias por mililitro, al menos aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por mililitro, o al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mililitro a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias por mililitro de un líquido o una emulsión. En ciertos aspectos, una cantidad de una composición que es suficiente para proporcionar la producción de tomate mejorada puede ser un producto de caldo de fermentación con un título de *Methylobacterium*

5 *sp.* de una fase sólida de ese producto que es al menos aproximadamente 1×10^4 unidades formadoras de colonias por gramo, al menos aproximadamente 1×10^5 unidades formadoras de colonias por gramo, al menos aproximadamente 1×10^6 unidades formadoras de colonias por gramo, al menos aproximadamente 5×10^6 unidades formadoras de colonias por gramo, al menos aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por gramo, al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por gramo, al menos aproximadamente 1×10^9 unidades formadoras de colonias por gramo, o al menos aproximadamente 5×10^9 unidades formadoras de colonias por gramo a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por gramo, al menos aproximadamente 1×10^{11} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por gramo, al menos aproximadamente 1×10^{12} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por gramo, al menos aproximadamente 1×10^{13} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por gramo, o al menos aproximadamente 5×10^{13} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por gramo de la fase sólida. En ciertos aspectos, una cantidad de una composición que es suficiente para proporcionar la producción de tomate mejorada puede ser una composición con un título de *Methylobacterium* de al menos aproximadamente 1×10^6 unidades formadoras de colonias por gramo, al menos aproximadamente 5×10^6 unidades formadoras de colonias por gramo, al menos aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por gramo, al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por gramo, al menos aproximadamente 1×10^9 unidades formadoras de colonias por gramo, o al menos aproximadamente 5×10^9 unidades formadoras de colonias por gramo a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por gramo, al menos aproximadamente 1×10^{11} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por gramo, al menos aproximadamente 1×10^{12} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por gramo, al menos aproximadamente 1×10^{13} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por gramo, o al menos aproximadamente 5×10^{13} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por gramo de partículas en la composición que contiene las partículas que comprenden una sustancia sólida en donde un mono-cultivo o co-cultivo de *Methylobacterium sp.* está adherido a ella. En ciertos aspectos, una cantidad de una composición que es suficiente para proporcionar la producción de tomate mejorada puede ser una composición con un título de *Methylobacterium* de al menos aproximadamente 1×10^6 unidades formadoras de colonias por mL, al menos aproximadamente 5×10^6 unidades formadoras de colonias por mL, al menos aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por mL, o al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mL a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por mL en una composición que comprende una emulsión en donde un mono-cultivo o co-cultivo de una *Methylobacterium sp.* adherida a una sustancia sólida se proporciona en su interior o se cultiva en su interior. En ciertos aspectos, una cantidad de una composición que es suficiente para proporcionar la producción de tomate mejorada puede ser una composición con un título de *Methylobacterium* de al menos aproximadamente 1×10^6 unidades formadoras de colonias por mL, al menos aproximadamente 5×10^6 unidades formadoras de colonias por mL, al menos aproximadamente 1×10^7 unidades formadoras de colonias por mL, o al menos aproximadamente 5×10^8 unidades formadoras de colonias por mL a al menos aproximadamente 6×10^{10} unidades formadoras de colonias de *Methylobacterium* por mL en una composición que comprende una emulsión en donde un mono-cultivo o co-cultivo de una *Methylobacterium sp.* se proporciona en su interior o se cultiva en su interior.

EJEMPLOS

40 Los siguientes ejemplos están incluidos para demostrar aspectos preferidos de la divulgación. Se apreciará por los expertos en la técnica que las técnicas descritas en los siguientes ejemplos representan técnicas descubiertas por los solicitantes que funcionan bien en la práctica de la invención, y así se puede considerar que constituyen modos preferidos para su práctica.

45 **Ejemplo 1. Cultivo de cepas de PPFM en un medio de crecimiento líquido complementado con una sustancia sólida**

El medio de crecimiento líquido usado para cultivar los cultivos de PPFM fue un medio de sales básicas complementado con glicerol, peptona y tierra de diatomeas. El medio de sales básicas usado fue medio de sales minerales de amonio (AMS). El medio AMS contiene, por litro, 700 miligramos de fosfato de potasio dibásico anhidro, 540 miligramos de fosfato de potasio monobásico anhidro, un gramo de sulfato de magnesio heptahidratado, 500 miligramos de cloruro de amonio anhidro y 200 miligramos de cloruro de calcio dihidratado.

Se preparó medio de base de AMS a partir de tres disoluciones madre, enumeradas a continuación:

Disolución madre I: para un litro a 50X concentración

fosfato de potasio dibásico, anhidro	35 gramos
fosfato de potasio monobásico, anhidro	27 gramos

Disolución madre II: para un litro a 50X concentración

sulfato de magnesio heptahidratado 50 gramos

cloruro de amonio, anhidro 25 gramos

Disolución madre III: para un litro a 50X concentración

cloruro de calcio dihidratado 10 gramos

Las disoluciones madre I, II y III se esterilizaron en autoclave por separado.

- 5 Para preparar un litro de medio AMS líquido con glicerol, peptona y tierra de diatomeas, se añadieron los siguientes a 920 mL de agua destilada:

20 mL de disolución madre I

20 mL de disolución madre II

20 mL de disolución madre III

- 10 20 mL de una disolución madre al 50 % de glicerol

10 gramos de peptona

2 gramos de tierra de diatomeas

La disolución resultante con tierra de diatomeas suspensa se esterilizó en autoclave.

- 15 Se dispusieron dos litros del medio de AMS anterior dentro de un matraz de cuatro litros. Se añadieron dos mililitros de PPFM de cultivo líquido al medio para la inoculación. El matraz se dispuso entonces en un agitador incubador a 240 rpm y 30 grados Celsius. Los cultivos se cultivaron durante seis días y luego se guardaron a 4 grados Celsius para uso futuro.

Ejemplo 2. Inoculación de semilla de tomates

- 20 Se trataron semillas de tomate Sweet Olive™ comerciales con la cepa NLS0037 de PPFM, y a continuación se cultivaron durante un periodo de tiempo de aproximadamente 12-14 días. El título de la cepa NLS0037 fue $2,0 \times 10^7$ UFC/mL. Se cultivaron inicialmente dos litros del cultivo en medio AMS-GP líquido más tierra de diatomeas a 2 gramos/litro (véase el Ejemplo 1). Se centrifugaron 100 mL de los medios de cultivo en una centrífuga para formar un sedimento. A continuación, el sobrenadante se drenó y se añadió agua de grifo a temperatura ambiente para llevar la disolución de nuevo a su volumen inicial de 100 mL. Las semillas se sembraron en hojas Horticube de 100 células (un medio de crecimiento artificial) y se trataron con 1 mL de disolución aplicada directamente a la semilla por pipeta en el momento de la siembra. Los medios de crecimiento y las prácticas de riego simulan un tratamiento hidropónico. Cada unidad experimental (control y tratada) contuvo 100 plantas de semillero de tomate. Se midió el peso húmedo de cada planta de semillero, informándose las medias en la Tabla 2.

Tabla 2. Pesos en húmedo de las plantas de semillero de tomate de control y tratadas con PPFM

Cepa	Peso en húmedo de control (mg)	Peso en húmedo de tratadas (mg)	Aumento porcentaje en	Intervalo de confianza
NLS0037, prueba Nº 1	159	225	42	>95 %
NLS0037, prueba Nº 2	170	226	33	>95 %
NLS0037, prueba Nº 3	156	194	24	>95 %

30

Ejemplo 3. Identificación de polimorfismos de ácido nucleico presentes en *Methylobacterium* que mejoran la producción de tomate

- 35 Se generan bibliotecas de secuenciación del genoma completo para la plataforma de secuenciación de ultra-lectura Illumina™ para las cepas aisladas de *Methylobacterium* sp. proporcionadas en la Tabla 1 usando los kits de preparación de muestra de ADN Illumina TRUSEQ™ o NEXTERA™ (descritos en los sitios de internet res.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_truseq_dna_sample_prep_kits.pdf y res.illumina.com/documents/products/datasheets/datasheet_nextera_dna_sample_prep.pdf) usando los métodos

descritos por el fabricante. Las bibliotecas resultantes se someten entonces a pirosecuenciación (Siqueira JF et al. J Oral Microbiol. 2012; 4: 10.3402/jom.v4i0.10743).

Los datos sin procesar de la secuencia genómica generados por pirosecuenciación se someten a recorte basado en adaptador y en calidad para el control de calidad. El ensamblaje de secuencias aleatorias del genoma completo (1) se logra ensamblando datos basados en la calidad usando el ensamblador *de novo* Velvet (2). Para el hallazgo y la anotación génica, se hace uso de los datos de aprendizaje de referencia de TIGRFAM (9), Pfam, COG (10) y UniRef100 (11). Los ARNr se identifican con RNAmmer (5), los genes codificantes de proteína se identifican con Glimmer (3) o Maker (6), y los ARNt se identifican con tRNAscan-SE (4). Las funciones génicas se asignan con blastx (7), blastp (7), HMMER (8) e InterProScan contra bases de datos de proteínas completas descritas anteriormente (datos de referencia).

La detección de polimorfismos (SNP u otras variaciones de ADN que se producen como resultado de inserciones, deleciones y sustituciones (Indel)) en las cepas aisladas de *Methylobacterium* sp. de la Tabla 1 se realiza con BWA (12) y el paquete Samtools (en internet en samtools.sourceforge.net/), la variación estructural se identifica con BreakDancer (en internet en breakdancer.sourceforge.net/) y CoGE (en internet en genomevolution.org/CoGe/). Los polimorfismos diagnósticos para *Methylobacterium* que secretan agentes antifúngicos se identifican por comparaciones de las secuencias de la cepa aislada NLS0037 de *Methylobacterium* a modo de ejemplo que mejoran el crecimiento de plantas de semillero de tomate, pero que están ausentes de una o más cepas aisladas de *Methylobacterium* que no mejoran el tomate. Los polimorfismos presentes en la cepa NLS0037 de *Methylobacterium* a modo de ejemplo que mejoran la producción de tomate, pero que están ausentes en cepas aisladas de *Methylobacterium* a modo de ejemplo que no mejoran la producción de tomate, se usan entonces para identificar otras cepas aisladas de *Methylobacterium* que mejoran la producción de tomate.

Referencias para el Ejemplo 4

1. Miller JR, Koren S, Sutton G (2010) Assembly algorithms for next-generation sequencing data. Genomics 95: 315-327.
2. Zerbino DR, Birney E (2008) Velvet: algorithms for de novo short read assembly using de Bruijn graphs. Genome Res 18: 821-829.
3. Delcher AL, Bratke KA, Powers EC, Salzberg SL (2007) Identifying bacterial genes and endosymbiont DNA with Glimmer. Bioinformatics 23: 673-679.
4. Lowe TM, Eddy SR (1997) tRNAscan-SE: a program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence. Nucleic Acids Res 25: 955-964.
5. Lagesen K, Hallin P, Rodland EA, Staerfeldt HH, Rognes T, et al. (2007) RNAmmer: consistent and rapid annotation of ribosomal RNA genes. Nucleic Acids Res 35: 3100-3108.
6. Cantarel B, Korf I, Robb S, et al. (2008) MAKER: An easy-to-use annotation pipeline designed for emerging model organism genomes. Genome Research 18: 188-196.
7. Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, et al. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. Nucleic Acids Res 25: 3389-3402.
8. Eddy SR (2009) A new generation of homology search tools based on probabilistic inference. Genome Inform 23: 205-211.
9. Haft DH, Selengut JD, White O (2003) The TIGRFAMs database of protein families. Nucleic Acids Res 31: 371-373.
10. Tatusov RL, Fedorova ND, Jackson JD, Jacobs AR, Kiryutin B, et al. (2003) The COG database: an updated version includes eukaryotes. BMC Bioinformatics 4: 41.
11. Suzeck BE, Huang H, McGarvey P, Mazumder R, Wu CH (2007) UniRef: comprehensive and non-redundant UniProt reference clusters. Bioinformatics 23: 1282-1288.
12. Li H. and Durbin R. (2009) Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler Transform. Bioinformatics, 25:1754-60.

Ejemplo 5. Prueba de cepas aisladas de *Methylobacterium* adicionales para la estimulación del crecimiento de plantas de semillero de tomate

Se probaron las cepas aisladas NLS0017, NLS0037, NLS0038 y NLS0066 de *Methylobacterium* para la estimulación del crecimiento de plantas de semillero de tomate esencialmente como se describe en el Ejemplo 2, con las excepciones de que se determinó el peso en seco en vez de húmedo de las plantas de semillero y que la cantidad aplicada a cada semilla fue 0,25 mL en vez de 1 mL. Los resultados de dichos análisis se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Aumento en porcentaje en el peso en seco de plantas de semillero con respecto al control para los tratamientos con NLS0017, NLS0037, NLS0038 y NLS0066

Cepa aislada de NLS	Aumento en porcentaje en el peso en seco de plantas de semillero con respecto al control	Intervalo de confianza
NLS0017	16,4 %	>95 %,
NLS0037	7,4 %	93 %
NLS0038	5,6 %	Sin diferencia estadísticamente significativa del control
NLS0066	23,5 %	>95 %

- 5 Las cepas NLS0017 y NLS0066 se identificaron como cepas aisladas capaces de proporcionar crecimiento de las plantas de semillero de tomate mejoradas mientras que NLS0038 se identificó como una cepa aislada que no mejoró el crecimiento de plantas de semillero de tomate en estos experimentos.

Ejemplo 6. Identificación de genes ortólogos presentes en *Methylobacterium* sp. que pueden mejorar la producción de tomate

- 10 Las cepas de PPFM enumeradas en la Tabla 1 se cultivaron sobre medio de agar sólido que comprendía sales minerales de amonio (AMS) más glicerol y peptona a 30 °C durante 5 días, esencialmente como se describe en la publicación de la solicitud de patente de EE. UU. de cesión común N°. Se extrajo ADN genómico usando el kit de aislamiento de ADN microbiano ultra-limpio de MO-BIO (Carlsbad, CA) y se usó 1 µg de ADN de alta calidad para la preparación de bibliotecas Illumina Nextera XT, seguido de secuenciación de 2x100 extremos emparejados de Illumina en un sistema HiSeq2000. Los datos sin procesar de la secuencia genómica de Illumina se sometieron a recorte basado en adaptador y en calidad para el control de calidad. Se logró el ensamblaje de secuencias aleatorias del genoma completo ensamblando datos basados en calidad usando el ensamblador *de novo* SPADIS (33). Para el hallazgo y la anotación génica, se hace uso de los datos de aprendizaje de referencia de TIGRFAM (9), Pfam, COG (10) y UniRef100 (11). Los ARNr se identificaron con RNAmmer (5), los genes codificantes de proteína se identificaron con Glimmer (3) y Maker (6) y los ARNt se identificaron con tRNAscan-SE (4). Las funciones génicas se asignaron con blastx (7), blastp (7), HMMER (8) e InterProScan contra bases de datos de proteínas completas descritas anteriormente (datos de referencia). La detección de polimorfismos (SNP u otras variaciones de ADN que se producen como resultado de inserciones, deleciones y sustituciones (Indel)) en las cepas aisladas de *Methylobacterium* sp. se realizó con BWA (12) y el paquete Samtools (en internet en samtools.sourceforge.net/) y el Genome Analysis Toolkit (GATK, en el sitio de internet en la malla mundial "broadinstitute.org/gatk/"), la variación estructural se identificó con BreakDancer (en internet en breakdancer.sourceforge.net/) y CoGe (en internet en genomevolution.org/CoGe/).

- Los genes que codificaron marcos de lectura abiertos se predijeron a partir de las secuencias genómicas completas ensambladas de NLS0017, NLS0038 y NLS0066 esencialmente como se ha descrito anteriormente. Se agruparon dentro de y entre genes ortólogos del genoma usando OrthoMCL (disponible en el sitio de internet en la malla mundial "orthomcl.org/orthomcl/"). Las supuestas anotaciones funcionales se asignaron a productos génicos usando BLASTP (disponible en el sitio de internet "blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi") contra la base de datos UniProt (disponible en el sitio de internet de la malla mundial "uniprot.org/"). Los genes presentes en genomas individuales de NLS0017 y NLS0066 que podrían mejorar la producción de tomate (como se muestra en el Ejemplo 5), pero ausentes en el genoma de NLS0038 que no mejoraron la producción de tomate (como se muestra en el Ejemplo 5), se identificaron en agrupaciones de OrthoMCL usando software a medida. Las proteínas codificadas encontradas en NLS0017 y NLS0066 de *Methylobacterium* que podrían mejorar la producción de tomate se proporcionan en el listado de secuenciación como SEQ ID NO: 1-4594. Las secuencias de ácidos nucleicos que codifican las proteínas de SEQ ID NO: 1-4594 son SEQ ID NO: 4595-9188, respectivamente. Las proteínas codificadas por genes presentes en NLS0017, pero ausentes de NLS0038, se proporcionan como SEQ ID NO: 1-2684. Las proteínas codificadas por genes presentes en NLS0066, pero ausentes de NLS0038, se proporcionan como SEQ ID NO: 2685-4594. Los grupos de genes ortólogos que representan genes que codifican proteínas encontradas en los genomas de al menos dos genomas individuales de NLS0017 y NLS0066 que podrían mejorar la producción de tomate (como se muestra en el Ejemplo 5), pero que están ausentes en el genoma de NLS0038 que no mejoraron la producción de tomate, se proporcionan en la Tabla 4. En la Tabla 4 se proporcionan grupos de genes ortólogos en cada fila, donde la secuencia más larga y el Número de Seq ID único asociado se designan como una secuencia de referencia para representar la agrupación de ortólogos (Columna 3 de la Tabla 4). El número de identificación del grupo de ortólogos se proporciona en la columna 1 de la Tabla 4, la identidad génica más próxima basándose en comparaciones de bases de datos se proporciona en la columna 2 de la Tabla 4, y la secuencia de referencia para cada agrupación de ortólogos se proporciona en la columna 3 de la Tabla 4. Ejemplos de secuencias de ortólogos encontradas en NLS0017 y NLS0066 se proporcionan como SEQ ID NO en la Tabla 4, columnas 4 y 5, respectivamente.

Tabla 4. Genes ortólogos encontrados en NLS0017 y NLS0066 que están ausentes en NLS0038

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
1107v20141116	proteína de la membrana	1	1	2685
1112v20141116	proteína similar al componente periplásmico del sistema de transporte tipo TRAP	2	2	2686
1134v20141116	transposasa	5	5	2687
1330v20141116	transportador de MFS	2688	12	2688
1345v20141116	Proteína hipotética	14	14	2689
1770v20141116	regulador de la transcripción de la familia Crp/FNR	18	18	2690
3540v20141116	proteína hipotética	21	21	2691
3605v20141116	porina	22	22	2692
3664v20141116	regulador de la transcripción de la familia AraC	24	24	2694
3782v20141116	proteína hipotética	25	25	2695
3796v20141116	Proteína hipotética	2698	26	2698
3837v20141116	proteína hipotética	2700	28	2700
3924v20141116	L-lactato deshidrogenasa (citocromo)	30	30	2702
3930v20141116	proteína hipotética	2703	34	2703
3960v20141116	subunidad A de sulfito:citocromo C oxidoreductasa	2704	36	2704
3964v20141116	transposasa	2705	37	2705
3974v20141116	supuesta subunidad B de sulfito:citocromo c oxidoreductasa	38	38	2706
4022v20141116	proteína hipotética	42	42	2707
4025v20141116	proteína hipotética MexAM1_META1p1708	43	43	2708
4057v20141116	proteína de la superfamilia de los facilitadores principales	49	49	2709
4058v20141116	proteína hipotética	50	50	2710
4061v20141116	proteína hipotética	51	51	2711
4068v20141116	piruvato cinasa	52	52	2712
4075v20141116	proteína hipotética	2713	53	2713
4082v20141116	oxidoreductasa dependiente de FAD	55	55	2714
4084v20141116	proteína hipotética	2715	57	2715
4106v20141116	factor sigma-24 de la ARN polimerasa de la subfamilia ECF	2716	58	2716
4113v20141116	deshidrogenasa/reductasa de cadena corta SDR	59	59	2717

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
4124v20141116	regulador de la transcripción de la familia MarR	2718	60	2718
4146v20141116	regulador de la transcripción de dos componentes	2721	61	2721
4147v20141116	proteína hipotética	62	62	2722
4155v20141116	proteína hipotética Mrad2831_1363	64	64	2723
4162v20141116	subunidad alfa de la nitrilo hidratasa que contiene cobalto	65	65	2726
4163v20141116	proteína reguladora	67	67	2727
4165v20141116	formil transferasa	2728	69	2728
4192v20141116	aldo/ceto reductasa	72	72	2729
4214v20141116	nitrilasa alifática	74	74	2730
4228v20141116	proteína hipotética	75	75	2731
4269v20141116	receptor de sideróforo dependiente de TonB	2732	77	2732
4288v20141116	proteína similar a transportadores ABC	84	84	2734
4325v20141116	oxidoreductasa dependiente de FAD	91	91	2736
4327v20141116	proteína hipotética	92	92	2737
4335v20141116	proteína hipotética Mrad2831_6489	2738	93	2738
4353v20141116	transposasa parcial	95	95	2739
4354v20141116	transportador de magnesio	96	96	2740
4356v20141116	proteína de unión a ATP de transportadores ABC de espermidina/putrescina	2741	97	2741
4376v20141116	proteína hipotética	2743	103	2743
4407v20141116	proteína hipotética	107	107	2744
4409v20141116	Asp/Glu racemasa	2745	109	2745
4410v20141116	proteína de la membrana interna del sistema de transporte dependiente de proteína de unión	110	110	2746
4412v20141116	transportador de MFS	2748	111	2748
4421v20141116	proteína hipotética	112	112	2751
4424v20141116	proteína hipotética	2752	113	2752
4442v20141116	lipoproteína de unión a ATP de transportadores ABC de sulfonato	117	117	2753
4460v20141116	proteína de partición	121	121	2755
4464v20141116	receptor de unión al ligando extracelular	2756	123	2756
4466v20141116	proteína hipotética	2757	124	2757

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
4482v20141116	proteína hipotética	2758	126	2758
4499v20141116	sulfolactato deshidrogenasa	127	127	2760
4505v20141116	proteína hipotética	2761	130	2761
4506v20141116	proteína similar a transportadores ABC	131	131	2762
4507v20141116	proteína hipotética	2763	132	2763
4508v20141116	translocador de la membrana interna	133	133	2764
4509v20141116	subunidad LivH de permeasa del transportador de aminoácidos de cadena ramificada	134	134	2765
4518v20141116	proteína hipotética	135	135	2766
4519v20141116	Proteína hipotética	2767	136	2767
4520v20141116	transportador de MFS	137	137	2770
4522v20141116	subunidad pequeña de D-aminoácido deshidrogenasa	2771	138	2771
4525v20141116	alantoato amidohidrolasa	141	141	2772
4534v20141116	proteína de unión de ATP a transportadores ABC	143	143	2775
4537v20141116	beta-lactamasa	2776	144	2776
4542v20141116	4-fosfopanteteinil transferasa	2777	146	2777
4546v20141116	proteína hipotética	147	147	2778
4562v20141116	proteína hipotética	2779	151	2779
4563v20141116	permeasa de transportadores ABC de urea	2780	153	2780
4564v20141116	permeasa de transportadores ABC de aminoácidos	154	154	2782
4566v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC de aminoácidos de cadena ramificada	155	155	2784
4574v20141116	proteína hipotética	157	157	2787
4579v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC	2788	160	2788
4582v20141116	UDP-3-O-acil N-acetilglucosamina desacetilasa	2789	162	2789
4584v20141116	transportador de MFS	164	164	2790
4586v20141116	proteína hipotética	165	165	2791
4588v20141116	proteína S13 ribosomal 30S	2792	166	2792
4601v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC de nitrato	2794	167	2794
4607v20141116	glutaminasa	2795	170	2795

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
4610v20141116	proteína hipotética	171	171	2796
4612v20141116	glioxalasa/proteína de resistencia a bleomicina/dioxigenasa	2797	172	2797
4613v20141116	shikimato cinasa	173	173	2798
4614v20141116	proteína hipotética	174	174	2799
4615v20141116	supuesta subunidad YedY de la sulfito oxidasa	175	175	2800
4616v20141116	factor sigma de ARN polimerasa	176	176	2801
4619v20141116	proteína hipotética Mrad2831_0815	177	177	2802
4624v20141116	proteína hipotética Mnod_0273	179	179	2803
4627v20141116	reductasa férrica	180	180	2805
4628v20141116	proteína hipotética	181	181	2806
4634v20141116	proteína hipotética Mrad2831_4175	2807	185	2807
4642v20141116	proteína hipotética	187	187	2808
4644v20141116	proteína hipotética	2809	188	2809
4646v20141116	proteína hipotética	189	189	2810
4648v20141116	proteína hipotética	2811	190	2811
4652v20141116	proteína reguladora-receptora de respuestas	192	192	2812
4654v20141116	proteína hipotética MexAM1_META1p3794	193	193	2813
4656v20141116	proteína HupE/UreJ	195	195	2814
4657v20141116	proteína hipotética	2815	196	2815
4659v20141116	proteína hipotética	198	198	2816
4661v20141116	cupina	2817	200	2817
4663v20141116	proteína hipotética	2818	201	2818
4665v20141116	proteína hipotética	2819	202	2819
4676v20141116	histidina cinasa híbrida del sensor regulador- receptor de respuestas	204	204	2820
4681v20141116	proteína hipotética	205	205	2821
4683v20141116	proteína hipotética	2822	206	2822
4684v20141116	proteína hipotética M446_2722	2823	207	2823
4686v20141116	proteína hipotética	208	208	2824
4687v20141116	peptidasa S14 ClpP	209	209	2825
4688v20141116	proteína hipotética	210	210	2826
4689v20141116	proteína hipotética	2827	211	2827

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
4690v20141116	regulador de la transcripción de la familia LysR	212	212	2828
4691v20141116	proteína hipotética	213	213	2829
4692v20141116	proteína hipotética	2830	214	2830
4694v20141116	proteína hipotética	2831	215	2831
4695v20141116	proteína hipotética M446_0699	217	217	2832
4696v20141116	regulador de la transcripción de la familia MazF	218	218	2833
4697v20141116	proteína hipotética Mnod_6017	219	219	2834
4699v20141116	piridoxamina 5-fosfato oxidasa de unión a Fmn	2835	220	2835
4704v20141116	proteína de la biosíntesis de sideróforo	2836	222	2836
4705v20141116	proteína hipotética	2837	223	2837
4706v20141116	sorbosona deshidrogenasa	2838	224	2838
4710v20141116	histidina cinasa de sensor	225	225	2839
4715v20141116	peptidasa	2840	226	2840
4716v20141116	metalofosfoesterasa	227	227	2841
4720v20141116	subunidad beta de la nitrilo hidratasa	2842	228	2842
4721v20141116	proteína hipotética	229	229	2843
4723v20141116	proteína hipotética	230	230	2844
4725v20141116	epimerasa/deshidratasa dependiente de NAD	2845	231	2845
4743v20141116	regulador de la transcripción de la familia AsnC	233	233	2848
4750v20141116	proteína hipotética	2849	234	2849
4751v20141116	proteína hipotética	2850	235	2850
4752v20141116	proteína hipotética	2851	236	2851
4756v20141116	proteína hipotética	2852	237	2852
4757v20141116	proteína hipotética	2853	238	2853
4759v20141116	peptidasa M20	2854	239	2854
4766v20141116	reductasa de hierro	2855	242	2855
4767v20141116	proteína hipotética	243	243	2856
4771v20141116	regulador de la transcripción de la familia AsnC	244	244	2857
4772v20141116	regulador de la transcripción	245	245	2858
4774v20141116	proteína hipotética	2859	246	2859

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
4789v20141116	proteína de resistencia al ácido fusárico	247	247	2861
4796v20141116	piruvato deshidrogenasa	249	249	2862
4800v20141116	regulador de la transcripción de la familia GntR	2863	250	2863
4801v20141116	proteína hipotética	251	251	2864
4802v20141116	proteína hipotética	252	252	2865
4806v20141116	Proteína de función desconocida DUF2474	2866	255	2866
4811v20141116	ácido 24-dihidroxihept-2-eno-17-dioico aldolasa	258	258	2868
4814v20141116	proteína hipotética	259	259	2869
4834v20141116	DltE	263	263	2873
4838v20141116	transductor receptor/sensorial de la quimiotaxia aceptora de metilo	264	264	2875
4842v20141116	proteína hipotética	2876	266	2876
4843v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC	267	267	2877
4844v20141116	permeasa de transportadores ABC	268	268	2878
4847v20141116	proteína hipotética	270	270	2879
4849v20141116	regulador de la transcripción de la familia LuxR de dos componentes	272	272	2880
4850v20141116	proteína M20/M25/M40 de la familia de la peptidasa	273	273	2881
4851v20141116	permeasa de transportadores ABC de péptidos	2882	274	2882
4877v20141116	proteína de la familia DoxX	2886	278	2886
4883v20141116	proteína de la membrana interna del sistema de transporte dependiente de proteína de unión	280	280	2887
4884v20141116	proteína de unión a ATP de transportadores ABC de metionina	281	281	2888
4885v20141116	proteína hipotética	282	282	2889
4907v20141116	sitio de unión de oxidorreductasa:NAD a glucosa-metanol-colina (GMC)	286	286	2892
4910v20141116	regulador de la transcripción de la familia LysR	289	289	2893
4911v20141116	orotato fosforribosiltransferasa	291	291	2894
4912v20141116	proteína hipotética	2895	292	2895
4917v20141116	proteína de la membrana	295	295	2896

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
4918v20141116	subunidad del transportador MFP de salida de la familia RND	2897	296	2897
4920v20141116	proteína hipotética	2899	298	2899
4921v20141116	proteína hipotética	299	299	2900
4923v20141116	lipoproteína NLPA	301	301	2901
4947v20141116	proteína hipotética	303	303	2906
4954v20141116	regulador de la transcripción de la familia LuxR	2907	308	2907
4958v20141116	cupina	2908	311	2908
4961v20141116	transportador ABC de aminoácidos	312	312	2910
4963v20141116	proteína reguladora-receptora de respuestas	314	314	2911
4983v20141116	Proteína hipotética	2914	316	2914
4986v20141116	proteína hipotética	317	317	2916
4989v20141116	peptidasa S9	319	319	2917
4992v20141116	N-acetiltransferasa GCN5	320	320	2918
4993v20141116	glutamato carboxipeptidasa	2919	321	2919
4995v20141116	proteína hipotética MchI_4780	322	322	2920
5001v20141116	nitrato reductasa	2921	325	2921
5016v20141116	proteína hipotética	327	327	2923
5017v20141116	diguanilato ciclasa	2924	328	2924
5018v20141116	proteína hipotética	329	329	2925
5019v20141116	proteína hipotética	330	330	2926
5028v20141116	proteína hipotética	2928	335	2928
5030v20141116	permeasa de transportadores ABC	337	337	2929
5034v20141116	porina OprB selectiva de hidratos de carbono	339	339	2930
5036v20141116	proteína hipotética	340	340	2931
5039v20141116	proteína hipotética	342	342	2932
5070v20141116	amidasa	347	347	2939
5071v20141116	proteína HlyB de unión a ATP de secreción de proteína tipo I	348	348	2940
5073v20141116	proteína hipotética	349	349	2941
5075v20141116	gamma carboximuconolactona descarboxilasa	352	352	2942
5076v20141116	D-serina deshidratasa	2943	353	2943
5085v20141116	proteína hipotética MchI_4781	2944	359	2944

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
5092v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC	365	365	2945
5099v20141116	regulador de la transcripción de la familia MarR	368	368	2947
5121v20141116	histidina cinasa	371	371	2949
5124v20141116	DSBA oxidorreductasa	373	373	2950
5125v20141116	transductor sensorial de la quimiotaxia aceptora de metilo	2951	374	2951
5129v20141116	crotonasa	376	376	2952
5133v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC de aminoácidos	379	379	2953
5137v20141116	subunidad de ferredoxina de nitrato reductasa y dioxigenasa hidroxilante de anillo	380	380	2954
5138v20141116	transportador ABC	2955	381	2955
5139v20141116	transportador ABC de péptidos	382	382	2956
5182v20141116	proteína hipotética	2962	386	2962
5190v20141116	proteína de partición cromosómica ParA	391	391	2965
5196v20141116	proteína de la familia de proteínas de secreción HlyD	397	397	2966
5197v20141116	proteína hipotética	398	398	2967
5199v20141116	regulador de la transcripción de la familia XRE	2969	399	2969
5203v20141116	COG0346: Lactatoilglutación liasa y liasas relacionadas	2970	402	2970
5204v20141116	COG3386: Gluconolactonasa parcial	403	403	2971
5207v20141116	permeasa de transportadores ABC	2972	405	2972
5208v20141116	permeasa de transportadores ABC	406	406	2973
5209v20141116	dihidroorotasa	2974	407	2974
5236v20141116	epóxido hidrolasa	2977	408	2977
5238v20141116	proteína que contiene dominio OmpA/MotB	2978	410	2978
5242v20141116	proteína hipotética	411	411	2979
5243v20141116	proteína hipotética	412	412	2980
5244v20141116	endorribonucleasa L-PSP	413	413	2982
5245v20141116	proteína de biosíntesis del cofactor de molibdeno	414	414	2983
5255v20141116	péptido permeasa de transportadores ABC	416	416	2984
5256v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC de azúcar	417	417	2985

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
5257v20141116	proteína hipotética	2986	418	2986
5333v20141116	xantina deshidrogenasa	2991	421	2991
5352v20141116	proteína hipotética	430	430	2993
5357v20141116	ferredoxina	433	433	2994
5365v20141116	3-isopropilmalato deshidrogenasa	439	439	2995
5371v20141116	transductor sensorial de la quimiotaxia aceptora de metilo	442	442	2996
5372v20141116	glicosil transferasa grupo 1	2997	444	2997
5373v20141116	proteína CheW de la quimiotaxia	2998	445	2998
5422v20141116	proteína que contiene dominio de alanina racemasa	451	451	3009
5423v20141116	regulador de la transcripción de la familia ArsR	452	452	3010
5426v20141116	proteína hipotética	453	453	3011
5428v20141116	proteína hipotética	455	455	3012
5430v20141116	regulador de la transcripción de la familia Hx1R	3013	457	3013
5433v20141116	peptidasa C14	3014	460	3014
5434v20141116	proteína hipotética	461	461	3015
5436v20141116	regulador de la transcripción de la familia LysR	3016	463	3016
5442v20141116	proteína hipotética	3017	466	3017
5443v20141116	proteína hipotética	467	467	3018
5444v20141116	proteína hipotética Mext_0240	468	468	3019
5445v20141116	metiltransferasa tipo 11	469	469	3020
5446v20141116	fosfoglicerato mutasa	470	470	3021
5447v20141116	mio-inositol-1-fosfato sintasa	3022	471	3022
5448v20141116	proteína CheA de la quimiotaxia	3023	472	3023
5450v20141116	epimerasa/deshidratasa dependiente de NAD	3024	474	3024
5451v20141116	proteína SAM radical	475	475	3025
5452v20141116	Proteína hipotética	3026	476	3026
5453v20141116	proteína hipotética Mrad2831_1317	3027	477	3027
5454v20141116	metilesterasa CheB modulada por el regulador-receptor de respuestas	3028	478	3028
5500v20141116	porina	484	484	3038
5506v20141116	proteína hipotética	3040	486	3040

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
5507v20141116	proteína hipotética	487	487	3041
5508v20141116	proteína hipotética Mpop_0725	3042	488	3042
5509v20141116	proteína hipotética	3043	489	3043
5510v20141116	proteína hipotética	3044	490	3044
5516v20141116	proteína hipotética Mpop_1265	491	491	3046
5517v20141116	proteína de partición cromosómica	492	492	3047
5569v20141116	fosfohidrolasa dependiente de metal	495	495	3053
5573v20141116	proteína hipotética Mext_1867	497	497	3054
5580v20141116	proteína hipotética Mpop_2258	3056	500	3056
5583v20141116	proteína hipotética Mpop_3020	3057	502	3057
5585v20141116	proteína hipotética Mpop_0722	503	503	3058
5586v20141116	proteína hipotética Mpop_0723	504	504	3059
5589v20141116	regulador de la transcripción de la familia XRE	505	505	3060
5598v20141116	PBS liasa	3061	510	3061
5599v20141116	proteína CheY de la quimiotaxia	511	511	3062
5647v20141116	GDP-manosa 4,6-deshidratasa	3071	516	3071
5658v20141116	proteína hipotética Mrad2831_3432	517	517	3072
5662v20141116	proteína hipotética	520	520	3074
5665v20141116	Proteína hipotética	3075	522	3075
5668v20141116	citocromo B561	523	523	3076
5670v20141116	Fosforribosilaminoimidazol- succinocarboxamida sintasa	3077	525	3077
5673v20141116	proteína sensorial-transductora de la quimiotaxia	527	527	3078
5778v20141116	proteína hipotética	3089	548	3089
5784v20141116	proteína hipotética	3090	552	3090
5785v20141116	proteína hipotética	3091	554	3091
5786v20141116	proteína SoxZ de oxidación de azufre	557	557	3092
5787v20141116	proteína SoxA de citocromo c de oxidación de azufre	558	558	3093
5788v20141116	transportador de MFS	560	560	3094
5789v20141116	proteína lactonizante de mandelato racemasa/muconato	3095	561	3095
5792v20141116	proteína que contiene dominio PAS	563	563	3096
5793v20141116	transportador de azúcar	3097	564	3097

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
5843v20141116	Proteína hipotética	569	569	3106
5849v20141116	proteína hipotética Mrad2831_5253	3107	575	3107
5851v20141116	proteína de la quimiotaxia	576	576	3108
5852v20141116	regulador de la transcripción de la familia AsnC	3109	577	3109
5854v20141116	proteína hipotética	3110	578	3110
5855v20141116	proteína hipotética	3111	579	3111
5856v20141116	NAD-glutamato deshidrogenasa	3112	580	3112
5857v20141116	proteína hipotética	581	581	3113
5860v20141116	familia XRE del regulador de la transcripción	3114	584	3114
5862v20141116	2-nitropropano dioxigenasa	3116	585	3116
5926v20141116	dioxigenasa	3126	588	3126
5929v20141116	gamma-glutamyltransferasa	589	589	3128
5930v20141116	familia NodT de la lipoproteína de la membrana externa del sistema de salida de RND	3129	590	3129
5936v20141116	Proteína hipotética	592	592	3130
5938v20141116	Citocromo c clase I	593	593	3131
5939v20141116	proteína hipotética	3132	594	3132
5988v20141116	receptor de unión al ligando extracelular	600	600	3144
5993v20141116	proteína hipotética Mrad2831_6386	604	604	3145
6001v20141116	transportador	606	606	3147
6006v20141116	proteína de la familia de unión a Leu/Ile/Val	3148	608	3148
6007v20141116	proteína hipotética	609	609	3149
6010v20141116	proteína hipotética Mrad2831_1535	610	610	3150
6012v20141116	proteína hipotética	3151	613	3151
6014v20141116	proteína hipotética	614	614	3152
6016v20141116	proteína de unión al soluto extracelular de la familia 5	616	616	3153
6017v20141116	acil-CoA deshidrogenasa	3154	617	3154
6021v20141116	diguanylatto ciclasa	618	618	3157
6023v20141116	hidroximetilglutaril-CoA liasa	3158	619	3158
6024v20141116	proteína hipotética	3159	620	3159
6026v20141116	3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa de unión a NAD	3160	621	3160

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
6027v20141116	proteína F inducible por L-carnitina deshidratasa/ácido biliar	622	622	3161
6093v20141116	subunidad alfa de la hidro-lias de la subfamilia de tartrato/fumarato tipo Fe-S	625	625	3166
6095v20141116	proteína hipotética	3167	626	3167
6101v20141116	glutación S-transferasa	627	627	3168
6115v20141116	epimerasa/deshidratasa dependiente de NAD	629	629	3171
6116v20141116	sorbose deshidrogenasa	630	630	3172
6117v20141116	citocromo C	3173	631	3173
6118v20141116	proteína hipotética Mrad2831_0725	632	632	3174
6119v20141116	proteína serina/treonina fosfatasa	3175	633	3175
6124v20141116	proteína hipotética	636	636	3176
6125v20141116	malato sintasa G	3177	637	3177
6126v20141116	regulador de la transcripción de la familia LysR	3178	638	3178
6130v20141116	alanina racemasa	641	641	3179
6131v20141116	3-hidroxiisobutirato deshidrogenasa	3180	642	3180
6133v20141116	proteína transportadora de acilo	644	644	3181
6134v20141116	proteína hipotética	645	645	3182
6135v20141116	proteína hipotética	3183	646	3183
6137v20141116	proteína hipotética	3184	648	3184
6142v20141116	proteína F inducible por L-carnitina deshidratasa/ácido biliar	649	649	3185
6143v20141116	acetolactato sintasa	3186	650	3186
6188v20141116	regulador de la transcripción de la familia GntR	656	656	3194
6193v20141116	proteína hipotética	657	657	3195
6194v20141116	proteína que contiene dominio de oxidasa ligado a FAD	658	658	3196
6200v20141116	proteína de la familia TAXI de receptores de soluto de transportadores TRAP	3197	662	3197
6201v20141116	proteína hipotética Mext_2439	3198	663	3198
6202v20141116	alfa/beta hidrolasa	664	664	3199
6203v20141116	transportador de electrones	3200	665	3200
6204v20141116	proteína hipotética	666	666	3201
6205v20141116	proteína hipotética	667	667	3202

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
6206v20141116	amina oxidasa	3203	668	3203
6207v20141116	2-hidroxiácido deshidrogenasa	669	669	3204
6209v20141116	proteína hipotética	3205	670	3205
6210v20141116	transportador de resistencia a fármacos de la subfamilia Bcr/CfIA	3206	671	3206
6214v20141116	proteína que contiene dominio de acil-CoA deshidrogenasa	3207	672	3207
6219v20141116	acil-CoA deshidrogenasa	674	674	3208
6220v20141116	succinato-semialdehído deshidrogenasa	675	675	3209
6221v20141116	dihidrodipicolinato sintetasa	676	676	3210
6225v20141116	proteína hipotética	680	680	3211
6226v20141116	subunidad B de ATPasa de transportadores de potasio	3212	681	3212
6229v20141116	proteína dependiente de Hrp de efectores tipo III	3213	682	3213
6230v20141116	regulador de la transcripción de la familia LacI	3214	683	3214
6231v20141116	supuesta aldolasa	684	684	3215
6233v20141116	familia 1 de la glicosil transferasa	685	685	3216
6235v20141116	proteína hipotética	687	687	3217
6236v20141116	serina/treonina deshidratasa	688	688	3218
6238v20141116	proteína hipotética	689	689	3219
6239v20141116	oxidasa	690	690	3220
6241v20141116	proteína que contiene repeticiones de SPW	3221	693	3221
6243v20141116	tartronato semialdehído reductasa	694	694	3222
6245v20141116	permeasa de transportadores ABC	695	695	3223
6246v20141116	proteína de la membrana interna del transporte dependiente de proteína de unión	3224	696	3224
6247v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC	3225	697	3225
6248v20141116	ATPasa de transportadores ABC de espermidina/putrescina	698	698	3226
6249v20141116	dihidropirimidinasa	699	699	3227
6250v20141116	poli-beta-hidroxibutirato polimerasa	700	700	3228
6253v20141116	aldo/ceto reductasa	3229	702	3229
6254v20141116	modificador CpmA de la fase circadiana	703	703	3230
6325v20141116	proteína hipotética	709	709	3231

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
6328v20141116	acetiltransferasa de la familia GCN5	712	712	3232
6329v20141116	transportador de MFS	713	713	3233
6331v20141116	proteína de la superfamilia de los facilitadores principales	715	715	3234
6332v20141116	proteína F inducible por L-carnitina deshidratasa/ácido biliar	3235	716	3235
6333v20141116	proteína hipotética	3236	717	3236
6334v20141116	dihidroxi-ácido deshidratasa	3237	718	3237
6337v20141116	3-hidroxiisobutirato deshidrogenasa	3238	721	3238
6340v20141116	2-dehidropantoato 2-reductasa	724	724	3239
6343v20141116	citocromo C	726	726	3240
6346v20141116	proteína hipotética	3241	729	3241
6347v20141116	alanina racemasa	730	730	3242
6348v20141116	proteína hipotética	3243	731	3243
6351v20141116	D-galactarato deshidratasa	733	733	3244
6353v20141116	regulador de la transcripción de la familia LysR	734	734	3245
6358v20141116	3-hidroxi-2-metilbutiril-CoA deshidrogenasa	3246	735	3246
6413v20141116	proteína FlgA flagelar	736	736	3254
6414v20141116	altronato deshidratasa	737	737	3255
6415v20141116	subunidad de unión a 2-hidroxiácido deshidrogenasa NAD específica de isómero D	738	738	3256
6423v20141116	componente de pilina flp fap	739	739	3257
6430v20141116	translocador de la membrana interna	744	744	3258
6431v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC de sn-glicerol-3-fosfato	745	745	3259
6432v20141116	proteína hipotética	746	746	3260
6435v20141116	proteína de unión al soluto extracelular de la familia 5	3261	748	3261
6438v20141116	proteína hipotética	3262	749	3262
6440v20141116	gamma-glutamyltransferasa	751	751	3263
6441v20141116	prolil-ARNt sintetasa	752	752	3264
6444v20141116	proteína del dominio IIIC de la subfamilia de fosfatasa de la superfamilia HAD	3265	753	3265
6445v20141116	transportador de 4-metilmuconolactona	3266	754	3266
6446v20141116	acetiltransferasa de la familia GCN5	755	755	3267

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
6449v20141116	proteína hipotética	757	757	3268
6452v20141116	diguamilato ciclasa/fosfodiesterasa	759	759	3269
6453v20141116	supuesta fosfatasa alcalina	760	760	3270
6454v20141116	proteína de la membrana interna del sistema de transporte dependiente de proteína de unión	761	761	3271
6456v20141116	proteína hipotética	3272	763	3272
6457v20141116	amidasa	3273	764	3273
6460v20141116	alcohol deshidrogenasa que contiene hierro	3274	765	3274
6461v20141116	acetil-CoA acetiltransferasa	766	766	3275
6462v20141116	subunidad grande de la pimeloil-CoA deshidrogenasa	767	767	3276
6463v20141116	acil-CoA deshidrogenasa	768	768	3277
6465v20141116	regulador de la transcripción de la familia IclR	769	769	3278
6466v20141116	proteína hipotética Mnod_2193	770	770	3279
6469v20141116	acetilornitina desacetilasa	3280	772	3280
6578v20141116	proteína hipotética	775	775	3289
6580v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC	776	776	3290
6581v20141116	proteína hipotética	777	777	3291
6586v20141116	dimetilmenaquinona metiltransferasa	3292	779	3292
6589v20141116	proteína hipotética	3293	781	3293
6594v20141116	regulador de la transcripción de la familia GntR	3295	785	3295
6595v20141116	regulador de la transcripción de la familia LysR	786	786	3296
6600v20141116	metilasa	789	789	3297
6605v20141116	4-fitasa	792	792	3298
6609v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC de aminoácidos	3299	796	3299
6610v20141116	permeasa de transportadores ABC	797	797	3300
6611v20141116	proteína hipotética	798	798	3301
6673v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC de péptidos	800	800	3316
6674v20141116	Proteína de unión a ATP de transportadores ABC	3317	801	3317
6679v20141116	regulador de la transcripción de la familia MucR	802	802	3318

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
6681v20141116	regulador de la transcripción de la familia XRE	804	804	3319
6682v20141116	proteína hipotética	805	805	3320
6685v20141116	proteína hipotética	808	808	3321
6688v20141116	proteína hipotética	3322	811	3322
6689v20141116	catalasa	3323	812	3323
6690v20141116	proteína hipotética	3324	813	3324
6699v20141116	proteína hipotética Mrad2831_3163	3325	822	3325
6700v20141116	proteína hipotética	823	823	3326
6702v20141116	proteína hipotética	825	825	3327
6703v20141116	proteína de unión a AMP del metabolismo de los ácidos grasos	3328	826	3328
6704v20141116	proteína hipotética	3329	827	3329
6706v20141116	regulador de la transcripción de la familia DeoR	829	829	3330
6707v20141116	glucarato deshidratasa	3331	830	3331
6708v20141116	proteína sensora de PAS/PAC	831	831	3332
6709v20141116	proteína hipotética	832	832	3333
6710v20141116	proteína hipotética	3334	833	3334
6711v20141116	proteína hipotética	3335	834	3335
6712v20141116	proteína hipotética Mrad2831_5112	835	835	3336
6714v20141116	alcohol deshidrogenasa	836	836	3338
6715v20141116	proteína hipotética	3339	837	3339
6716v20141116	proteína hipotética	838	838	3340
6718v20141116	proteína hipotética	3341	840	3341
6719v20141116	proteína hipotética	841	841	3342
6721v20141116	proteína hipotética Mrad2831_3655	3343	843	3343
6722v20141116	proteína hipotética Mrad2831_0445	844	844	3344
6724v20141116	proteína hipotética	3345	845	3345
6729v20141116	proteína hipotética	850	850	3346
6731v20141116	subunidad H del centro de reacción del fotosistema	3347	853	3347
6732v20141116	proteína hipotética Mrad2831_3817	854	854	3348
6736v20141116	proteína hipotética Mrad2831_2399	856	856	3349
6737v20141116	proteína hipotética	3350	857	3350

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
6738v20141116	proteína hipotética	3351	858	3351
6742v20141116	epimerasa	3352	861	3352
6743v20141116	proteína hipotética	3353	862	3353
6800v20141116	2-hidroxiácido deshidrogenasa específica del isómero D de unión a NAD	3363	867	3363
6806v20141116	regulador de la transcripción de la familia ArsR	3364	872	3364
6807v20141116	cisteína dioxigenasa	3365	873	3365
6808v20141116	proteína hipotética	874	874	3366
6809v20141116	proteína que contiene el dominio de unión (2Fe-2S)	875	875	3367
6810v20141116	aldehído deshidrogenasa	876	876	3368
6811v20141116	proteína hipotética Mnod_6032	3369	877	3369
6812v20141116	histona desacetilasa	878	878	3370
6818v20141116	proteína hipotética	882	882	3371
6896v20141116	proteína hipotética Mrad2831_5186	3379	894	3379
6903v20141116	diguanilato ciclasa	897	897	3380
6907v20141116	factor SI-2 de iniciación de la traducción	3381	899	3381
6909v20141116	proteína hipotética	3382	902	3382
6921v20141116	acetil-CoA carboxilasa	913	913	3383
6927v20141116	proteína de la membrana interna del sistema de transporte dependiente de proteína de unión	917	917	3384
6936v20141116	proteína hipotética	924	924	3385
6938v20141116	proteína hipotética	926	926	3386
6940v20141116	dominio de proteína de familia de función desconocida	3387	928	3387
6943v20141116	proteína de la familia transposasa IS4	930	930	3388
7006v20141116	proteína de la membrana interna del sistema de transporte dependiente de proteína de unión	3396	932	3396
7015v20141116	proteína hipotética	940	940	3397
7017v20141116	proteína hipotética	942	942	3398
7023v20141116	subunidad R de la endonucleasa de restricción de tipo III	3399	947	3399
7027v20141116	regulador de la transcripción de la familia LysR	3400	950	3400
7029v20141116	proteína hipotética	951	951	3402

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
7040v20141116	proteína hipotética	963	963	3403
7042v20141116	proteína de unión a ATP de transportadores ABC de arginina	965	965	3404
7048v20141116	glioxalasa	969	969	3405
7050v20141116	proteína de unión a ATP de transportadores ABC de urea UrtD	3406	971	3406
7051v20141116	proteína de unión a ATP de transportadores ABC de urea UrtE	972	972	3407
7053v20141116	proteína hipotética	973	973	3408
7054v20141116	regulador de la transcripción de la familia GntR	3409	974	3409
7127v20141116	proteína hipotética Mnod_6985	3416	983	3416
7152v20141116	hidratasa/descarboxilasa	3418	1001	3418
7153v20141116	supuesta proteína de la membrana	1002	1002	3419
7155v20141116	proteína similar a proteína de la biosíntesis de lipopolisacáridos	3420	1004	3420
7156v20141116	aldolasa	1005	1005	3421
7163v20141116	glicerofosforil diéster fosfodiesterasa	1011	1011	3422
7180v20141116	adenilato ciclaza	1027	1027	3423
7189v20141116	proteína hipotética VOLCADRAFT_119358	1034	1034	3425
7190v20141116	superfamilia de la glioxalasa/proteína de resistencia a bleomicina/dioxigenasa	3426	1035	3426
7200v20141116	proteína de competencia ComEA	1046	1046	3427
7201v20141116	serina/treonina deshidratasa	1047	1047	3428
7202v20141116	serina-glioxilato aminotransferasa	1048	1048	3429
7211v20141116	subunidad III de la citocromo C oxidasa	1057	1057	3430
7290v20141116	proteína de hierro-azufre de succinato deshidrogenasa y fumarato reductasa	3435	1064	3435
7291v20141116	anclaje de membrana de succinato deshidrogenasa	1065	1065	3436
7292v20141116	subunidad de citocromo b de succinato deshidrogenasa	1066	1066	3437
7293v20141116	subunidad beta de L(+)-tartrato o fumarato deshidratasa	1067	1067	3438
7294v20141116	fumarato reductasa	1068	1068	3439
7295v20141116	proteína similar a YCII	1069	1069	3440
7299v20141116	familia 2 de glicosiltransferasa	3441	1071	3441

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
7310v20141116	proteína de unión al sustrato de transportadores ABC	3442	1074	3442
7311v20141116	permeasa GsiD de transportadores ABC de glutatión	1075	1075	3443
7312v20141116	ATPasa de transportadores ABC de oligopéptido/dipéptido	1076	1076	3444
7313v20141116	proteína similar al transportador ABC	1077	1077	3445
7314v20141116	antiportador de sodio:calcio	3446	1078	3446
7315v20141116	metionil-ARNt formiltransferasa	1079	1079	3447
7317v20141116	proteína hipotética	1080	1080	3449
7326v20141116	proteína de la familia glicosil transferasa	1088	1088	3450
7331v20141116	proteína hipotética Mrad2831_4126	3452	1090	3452
7332v20141116	4-oxalomesaconato hidratasa	1091	1091	3453
7340v20141116	proteína hipotética FAES_2018	1098	1098	3454
7341v20141116	proteína hipotética M446_1279	3455	1099	3455
7343v20141116	proteína hipotética	3456	1101	3456
7349v20141116	diguanilato ciclasa	3457	1107	3457
7350v20141116	proteína hipotética	1108	1108	3458
7354v20141116	acetil-CoA sintetasa	1111	1111	3459
7355v20141116	proteína de degradación de ácido fenilacético	1112	1112	3460
7356v20141116	alcohol deshidrogenasa	3461	1113	3461
7357v20141116	proteína de unión al ligando periplásmico de transportadores ABC de nitrato/sulfonato/bicarbonato	3462	1114	3462
7358v20141116	nitrato permeasa de transportadores ABC	3463	1115	3463
7360v20141116	proteína hipotética	1117	1117	3464
7363v20141116	proteína hipotética Mrad2831_1876	1120	1120	3465
7365v20141116	proteína hipotética Mrad2831_6026	3467	1121	3467
7368v20141116	enoil-CoA hidratasa/isomerasa	3468	1124	3468
7370v20141116	ATPasa de transportadores ABC de nitrato	1126	1126	3469
7372v20141116	proteína hipotética	3470	1128	3470
7472v20141116	proteína hipotética Mext_2440	1131	1131	3482
7478v20141116	porina	3483	1132	3483
7485v20141116	permeasa de transportadores ABC de aminoácidos de cadenas ramificadas	1138	1138	3484

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
7538v20141116	subunidad del transportador MFP de salida de la familia RND	3488	1185	3488
7554v20141116	fosfoheptosa isomerasa	3490	1198	3490
7555v20141116	GHMP cinasa	3491	1199	3491
7570v20141116	regulador de la transcripción de la familia IclR	1215	1215	3492
7695v20141116	receptor de unión al ligando extracelular	1233	1233	3506
7707v20141116	fosfohidrolasa dependiente de metal	1243	1243	3508
7711v20141116	2-hidroxiácido deshidrogenasa	3509	1247	3509
7729v20141116	transportador ABC de aminoácidos	3510	1264	3510
7730v20141116	regulador de la transcripción de la familia GntR	1265	1265	3511
7750v20141116	alfa-amilasa	1283	1283	3512
7856v20141116	proteína hipotética	3528	1303	3528
7868v20141116	proteína hipotética	1313	1313	3529
7877v20141116	proteína hipotética Mchl_0532	3530	1319	3530
7879v20141116	glicosil transferasa	3531	1321	3531
7885v20141116	proteína de la membrana interna del sistema de transporte dependiente de proteína de unión	1327	1327	3532
7888v20141116	proteína hipotética Mrad2831_1281	3533	1330	3533
7890v20141116	permeasa de transportadores ABC de taurina	1332	1332	3534
7913v20141116	D-lactato deshidrogenasa	1351	1351	3536
8053v20141116	acetiltransferasa	1371	1371	3558
8080v20141116	proteína hipotética	1397	1397	3560
8092v20141116	proteína de la membrana interna de transportadores ABC	3561	1406	3561
8093v20141116	transportador ABC	1407	1407	3562
8094v20141116	transportador ABC de nitrato/sulfonato/bicarbonato	3563	1408	3563
8109v20141116	Proteína hipotética	1423	1423	3564
8113v20141116	adenilato/guanilato ciclasa	3565	1427	3565
8114v20141116	polisacárido desacetilasa	1428	1428	3566
8300v20141116	ADN helicasa RuvB de la unión Holliday	1471	1471	3588
8301v20141116	Ninguna	3589	1472	3589
8310v20141116	monooxigenasa	1480	1480	3590
8313v20141116	GDP-L-fucosa sintasa	1483	1483	3591

Identificador único del grupo de ortólogos	Anotación	SEQ ID NO: del ortólogo de referencia	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0017	SEQ ID NO: del ortólogo de NLS0066
8314v20141116	epimerasa/deshidratasa dependiente de NAD	1484	1484	3592
8315v20141116	epimerasa/deshidratasa dependiente de NAD	1485	1485	3593
8318v20141116	proteína hipotética	1488	1488	3594
8331v20141116	proteína hipotética	1498	1498	3595
8335v20141116	proteína hipotética	3596	1502	3596
8473v20141116	proteína similar a transportadores ABC	1521	1521	3616
8485v20141116	proteína hipotética	1532	1532	3618
8524v20141116	oxidorreductasa	1570	1570	3619
8573v20141116	alcanal monooxigenasa	1614	1614	3620
8579v20141116	proteína hipotética	1620	1620	3621
8922v20141116	proteína reguladora-receptora de respuestas	3641	1749	3641
9277v20141116	transposasa	1821	1821	3684
9290v20141116	diguamilato ciclasa	1834	1834	3685
9309v20141116	regulador de la transcripción de la familia XRE	3687	1847	3687
9777v20141116	proteína hipotética	1934	1934	3729
10194v20141116	toxinas RTX y proteína de unión a Ca ²⁺ relacionada	1954	1954	3783
10335v20141116	proteína hipotética Mnod_7733	2033	2033	3794
10354v20141116	Proteína hipotética	3795	2048	3795
10358v20141116	proteína hipotética	2050	2050	3797
12071v20141116	Ninguna	2288	2288	4101
12161v20141116	proteína hipotética MexAM1_META1p3214	4103	2360	4103
14172v20141116	regulador de la transcripción de la familia Fis	2469	2469	4343

Referencias para el Ejemplo 6

1. Miller JR, Koren S, Sutton G (2010) Assembly algorithms for next-generation sequencing data. *Genomics* 95: 315-327.
- 5 2. Zerbino DR, Birney E (2008) Velvet: algorithms for de novo short read assembly using de Bruijn graphs. *Genome Res* 18: 821-829.
3. Delcher AL, Bratke KA, Powers EC, Salzberg SL (2007) Identifying bacterial genes and endosymbiont DNA with Glimmer. *Bioinformatics* 23: 673-679.
- 10 4. Lowe TM, Eddy SR (1997) tRNAscan-SE: a program for improved detection of transfer RNA genes in genomic sequence. *Nucleic Acids Res* 25: 955-964.
5. Lagesen K, Hallin P, Rodland EA, Staerfeldt HH, Rognes T, et al. (2007) RNAmmer: consistent and rapid annotation of ribosomal RNA genes. *Nucleic Acids Res* 35: 3100-3108.
6. Cantarel B, Korf I, Robb S, et al. (2008) MAKER: An easy-to-use annotation pipeline designed for emerging model organism genomes. *Genome Research* 18: 188-196.

7. Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, et al. (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res* 25: 3389-3402.
8. Eddy SR (2009) A new generation of homology search tools based on probabilistic inference. *Genome Inform* 23: 205-211.
- 5 9. Haft DH, Selengut JD, White O (2003) The TIGRFAMs database of protein families. *Nucleic Acids Res* 31: 371-373.
- 10 10. Tatusov RL, Fedorova ND, Jackson JD, Jacobs AR, Kiryutin B, et al. (2003) The COG database: an updated version includes eukaryotes. *BMC Bioinformatics* 4: 41.
11. Suzek BE, Huang H, McGarvey P, Mazumder R, Wu CH (2007) UniRef: comprehensive and non-redundant UniProt reference clusters. *Bioinformatics* 23: 1282-1288.
12. Li H. and Durbin R. (2009) Fast and accurate short read alignment with Burrows-Wheeler Transform. *Bioinformatics*, 25:1754-60

Otras referencias

- 15 1. Abanda-Nkpwatt, D., M. Musch, J. Tschiersch, M. Boettner, and W. Schwab. 2006. Molecular interaction between *Methylobacterium extorquens* and seedlings: growth promotion, methanol consumption, and localization of the methanol emission site. *J. Exp. Bot.* 57: 4025-4032.
2. Broekaert WF, Terras FR, Cammue BP, Vanderleyden J (1990) An automated quantitative assay for fungal growth inhibition. *FEMS Microbiology Letters* 69: 55-60.
- 20 3. Cao, Y-R, Wang, Q., Jin, R-X., Tang, S-K., He, W-X., Lai, H-X, Xu, L-H., and C-L Jiang. 2011. *Methylobacterium soli* sp. nov. a methanol-utilizing bacterium isolated from the forest soil. *Antonie van Leeuwenhoek* (2011) 99:629-634.
4. Corpe, W.A., and D.V. Basile. 1982. Methanol-utilizing bacteria associated with green plants. *Devel. Industr. Microbiol.* 23: 483-493.
- 25 5. Corpe, W.A., and S. Rheem. 1989. Ecology of the methylotrophic bacteria on living leaf surfaces. *FEMS Microbiol. Ecol.* 62: 243-250.
- 17 6. Green, P.N. 2005. *Methylobacterium*. In Brenner, D.J., N.R. Krieg, and J.T. Staley (eds.). "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Volume two, The Proteobacteria. Part C, The alpha-, beta-, delta-, and epsilonproteobacteria." Second edition. Springer, New York. Pages 567-571.
- 30 7. Green, P.N. 2006. *Methylobacterium*. In Dworkin, M., S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, and E. Stackebrandt (eds.). "The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria. Volume 5. Proteobacteria: Alpha and Beta Subclasses." Third edition. Springer, New York. Pages 257-265.
8. Holland, M.A. 1997. *Methylobacterium* and plants. *Recent. Res. Devel. in Plant Physiol.* 1: 207-213.
- 35 9. Holland, M.A., and J.C. Polacco. 1994. PPFMs and other covert contaminants: Is there more to plant physiology than just plant? *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 45: 197-209.
10. Kutschera, U. 2007. Plant-associated methylobacteria as co-evolved phytosymbionts. A hypothesis. *Plant Signal Behav.* 2: 74-78.
11. Lidstrom, M.E. 2006. Aerobic methylotrophic prokaryotes. In Dworkin, M., S. Falkow, E. Rosenberg, K.-H. Schleifer, and E. Stackebrandt (eds.). "The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria. Volume 2. Ecophysiology and biochemistry." Third edition. Springer, New York. Pages 618-634.
- 40 12. Madhaiyan, M., S. Poonguzhali, H.S. Lee, K. Hari, S.P. Sundaram, and T.M. Sa. 2005. Pink-pigmented facultative methylotrophic bacteria accelerate germination, growth and yield of sugarcane clone Co86032 (*Saccharum officinarum* L.) *Biol. Fertil. Soils* 41: 350-358.
- 45 13. Madhaiyan, M., S. Poonguzhali, M. Senthilkumar, S. Seshadri, H. Chung, J. Yang, S. Sundaram, and T. Sa. 2004. Growth promotion and induction of systemic resistance in rice cultivar C0-47 (*Oryza sativa* L.) by *Methylobacterium* spp. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 45: 315-324.
14. Madhaiyan, M., S. Poonguzhali, and T. Sa. 2007. Influence of plant species and environmental conditions on epiphytic and endophytic pink-pigmented facultative methylotrophic bacterial populations associated with field-grown rice cultivars. *J Microbiol Biotechnol.* 2007 Oct;17(10):1645-54.

15. Stanier, R.Y., N.J. Palleroni, and M. Doudoroff. 1966. The aerobic pseudomonads: A taxonomic study. *J. Gen. Microbiol.* 43: 159-271.
16. Sy, A., Giraud, E., Jourand, P., Garcia, N., Willems, A., De Lajudie, P., Prin, Y., Neyra, M., Gillis, M., Boivin-Masson, C., and Dreyfus, B. 2001. Methylobacterium Bacteria Nodulate and Fix Nitrogen in Symbiosis with Legumes. *Jour. Bacteriol.* 183(1):214-220,
17. Sy, A., A.C.J. Timmers, C. Knief, and J.A. Vorholt. 2005. Methylobacterium metabolism is advantageous for Methylobacterium extorquens during colonization of Medicago truncatula under competitive conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 7245-7252.
18. Vogel, H.J., and D.M. Bonner. 1956. Acetylmithinase of Escherichia coli: Partial purification and some properties. *J. Biol. Chem.* 218: 97-106.
19. Vogel, H. J. 1956. A convenient growth medium for Neurospora (Medium N). *Microbial Genet Bull* 13: 42-43
20. Whittenbury, R., S.L. Davies, and J.F. Wilkinson. 1970. Enrichment, isolation and some properties of methane-utilizing bacteria. *J. Gen. Microbiol.* 61: 205-218.
21. Vuilleumier S, Chistoserdova L, Lee MC, Bringel F, Lajus A, Zhou Y, Gourion B, Barbe V, Chang J, Cruveiller S, Dossat C, Gillett W, Gruffaz C, Haugen E, Hourcade E, Levy R, Mangelot S, Muller E, Nadalig T, Pagni M, Penny C, Peyraud R, Robinson DG, Roche D, Rouy Z, Saenampechek C, Salvignol G, Vallenet D, Wu Z, Marx CJ, Vorholt JA, Olson MV, Kaul R, Weissenbach J, Médigue C, Lidstrom ME. Methylobacterium genome sequences: a reference blueprint to investigate microbial metabolism of C1 compounds from natural and industrial sources. *PLoS One.* 2009;4(5):e5584. doi: 10.1371/journal.pone.0005584. Epub 2009 May 18. PubMed PMID: 19440302; PubMed Central PMCID: PMC2680597.
22. Marx CJ, Bringel F, Chistoserdova L, Moulin L, Farhan UI Haque M, Fleischman DE, Gruffaz C, Jourand P, Knief C, Lee MC, Muller EE, Nadalig T, Peyraud R, Roselli S, Russ L, Goodwin LA, Ivanova N, Kyrpides N, Lajus A, Land ML, Médigue C, Mikhailova N, Nolan M, Woyke T, Stolyar S, Vorholt JA, Vuilleumier S. Complete genome sequences of six strains of the genus Methylobacterium. *J Bacteriol.* 2012 Sep;194(17):4746-8. doi: 10.1128/JB.01009-12. PubMed PMID: 22887658; PubMed Central PMCID: PMC3415506.
23. Knief C, Frances L, Vorholt JA. Competitiveness of diverse Methylobacterium strains in the phyllosphere of Arabidopsis thaliana and identification of representative models, including M. extorquens PA1. *Microb Ecol.* 2010 Aug;60(2):440-52. doi: 10.1007/s00248-010-9725-3. Epub 2010 Aug 11. PubMed PMID: 20700590.

REIVINDICACIONES

1. Un método de aumento de la velocidad de crecimiento de la raíz del tomate, crecimiento de hojas, crecimiento de plantas de semillero o disminución del tiempo de ciclo desde la siembra de la semilla de tomate hasta la producción del fruto de tomate cuando se compara con una planta de tomate de control no tratada o planta de tomate de control cultivada a partir de una semilla no tratada, que comprende aplicar una composición que comprende *Methylobacterium* a una planta de tomate, una parte de la misma o a una semilla de tomate, en donde dicha composición comprende una cepa de *Methylobacterium* seleccionada del grupo que consiste en NLS0017 (NRRL B-50931), NLS0037 (NRRL B-50941) y NLS0066 (NRRL B-50940).
2. El método de la reivindicación 1, en donde dicha composición está agotada de sustancias que promueven el crecimiento de microorganismos residentes en dicha planta o semilla.
3. El método de la reivindicación 1, en donde dicha composición recubre o recubre parcialmente dicha planta o una parte de la misma, o dicha semilla.
4. El método de la reivindicación 1, en donde dicha composición se aplica en una disolución hidropónica.
5. Una parte de la planta de tomate o semilla de tomate que se recubre o recubre parcialmente con una composición que comprende una *Methylobacterium* seleccionada del grupo que consiste en NLS0017 (NRRL B-50931), NLS0037 (NRRL B-50941) y NLS0066 (NRRL B-50940), o que se sumerge o sumerge parcialmente en la composición.