





Α1

 $\bigcirc$  Número de publicación:  $2\ 345\ 594$ 

21) Número de solicitud: 200900826

(51) Int. Cl.:

**A01N 63/02** (2006.01) **A01K 67/033** (2006.01)

22) Fecha de presentación: 26.03.2009	① Solicitante/s: AGROCONTROL 2007, S.L Ctra. Nacional 340, Km. 419 04745 La Mojonera, Almería, ES
43 Fecha de publicación de la solicitud: 27.09.2010	① Inventor/es: Vilà Rifa, Enrique

SOLICITUD DE PATENTE

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud: 27.09.2010

74 Agente: Riera Blanco, Juan Carlos

(54) Título: Composición de ácaros, procedimiento para la cría de los mismos y utilización de dicha composición en programas de control biológico.

(57) Resumen:

(12)

Composición de ácaros, procedimiento para la cría de los mismos y utilización de dicha composición en programas de control biológico.

La presente invención se refiere a una composición de ácaros, a su procedimiento de cría, así como a su utilización en programas de control biológico. En particular, la presente invención se refiere a una composición compuesta por una especie de ácaro fitoseido depredador seleccionado de entre las especies *Amblyseius montdorensis* (Schicha), *Typhlodromalus lailae* Schicha, (= *Typhlodromalus limonicus*) y *Amblyseius largoensis* (Muma), preferentemente *Amblyseius montdorensis*, y un huésped facticio del orden Astigmata, *Acarus siro*, Linnaeus, 1758, al procedimiento de cría de dicho depredador y a la utilización de dicha composición en aplicaciones de control biológico, en especial en cultivos de tomate.

#### DESCRIPCIÓN

Composición de ácaros, procedimiento para la cría de los mismos y utilización de dicha composición en programas de control biológico.

En general, la presente invención se refiere a una composición de ácaros, a su procedimiento de cría, así como a su utilización en programas de control biológico. En particular, la presente invención se refiere a una composición compuesta por una especie de ácaro fitoseido depredador seleccionado de entre las especies *Amblyseius montdorensis* (Schicha), *Typhlodromalus lailae* Schicha, (= *Typhlodromalus limonicus*) y *Amblyseius largoensis* (Muma), preferentemente *Amblyseius montdorensis*, y un huésped facticio del orden Astigmata, *Acarus siro*, Linnaeus, 1758, al procedimiento de cría de dicho depredador y a la utilización de dicha composición en aplicaciones de control biológico.

La introducción de programas biológicos que emplean especies de artrópodos como agentes de control viene despertando, desde la segunda mitad del siglo XX, un continuo interés por parte de los productores de una amplia gama de cultivos, en particular de regiones geográficas cálidas, como es la cuenca Mediterránea. Tanto es así, que esta práctica ha pasado de una gestión conducida de forma amateur por los agricultores individuales a articularse bajo grandes explotaciones comerciales, donde las compañías internacionales producen los agentes beneficiosos en grandes cantidades durante todo el año, agentes que son suministrados a los países a escala mundial.

Así, la práctica del control biológico está creciendo constantemente, año tras año, de acuerdo con la creciente demanda de productos alimenticios libres de residuos químicos por parte de los legisladores gubernamentales sobre salud y seguridad, las empresas mayoristas y sus clientes al por menor.

Los beneficios obtenidos por los productores y los consumidores como consecuencia de la correspondiente disminución en el uso de plaguicidas químicos son evidentes y bastante considerables.

La primera aplicación y la más extendida fue el desarrollo de la cría comercial del fitoseido *Neoseiulus cucumeris*, y en un grado muy limitado de *Amblyseius mackensie*, utilizando como huésped a la especie astigmátida *Acarus farris*, Oudemans. El objetivo principal era el control del trip de las flores, *Frankliniella occidentalis*.

Más recientemente, debido a los crecientes problemas con infestaciones de la mosca blanca, especialmente en España, se ha desarrollado el fitoseido *Amblyseius swirskii* para su uso comercial, y está siendo vendido en España por diversas empresas de control biológico, utilizándose contra la mosca blanca y trips de todos los cultivos hortícolas excepto el tomate.

Actualmente solo hay un fitoseido depredador capaz de sobrevivir y desarrollarse en la planta del tomate. Se trata de *Phytoseiulus persimilis*, una especie de alimentación monófaga, que vive solo de arañas rojas, y que se utiliza ampliamente como agente de control biológico de esta plaga.

Aparte de las arañas rojas, las principales plagas del tomate son la mosca blanca, dos especies de ácaros tarsonémidos y ciertas especies de lepidópteros. Éstas últimas pueden ser controladas mediante la utilización de biocidas bacteriológicos o virales, mientras que contra la mosca blanca se utilizan himenópteros parasíticos.

Sin embargo, todavía existe la necesidad de desarrollar sistemas de control biológico contra ambas especies de ácaros tarsonémidos.

45

50

Además, en los últimos años ha surgido un serio problema debido a la invasión del cultivo del tomate por trips, en especial en los climas templados del área mediterránea.

Actualmente no se dispone de un programa de control biológico plenamente satisfactorio para esta plaga cuando está presente en el cultivo y, debido a que las infestaciones de trips son muy comunes, existe una alta probabilidad de abandono de los programas de control biológico y sustitución por otros de control químico.

Se ha obtenido cierto éxito con la aplicación de míridos, en particular de las especies *Macrolophus caliginosus* y *Nesidiocoris tenuis*, pero la utilización de estas especies presenta dos desventajas principales: estas especies son omnívoras, alimentándose tanto de especies plagas como beneficiosas y también de la planta, lo que en ocasiones causa daños en la misma, por ejemplo anillos necróticos en tallos y flores y también daños cosméticos en frutos.

Una posible solución para los problemas arriba mencionados sería la inclusión de los depredadores de trips y moscas blancas *Neoseiulus cucumeris* y *Amblyseius swirskii* en los programas de control biológico, pero esta solución no es posible para el agricultor.

Durante la evolución de la familia Solanaceae, de la que se ha seleccionado el tomate actual, las plantas han desarrollado un mecanismo de defensa contra su plaga ancestral, la araña roja. Esta defensa se basa en el desarrollo de pelos glandulares en las dos superficies de las hojas. La densidad de pelos inhibe el libre movimiento de las arañas rojas, así como también lo hacen las secreciones procedentes de estos pelos, que posiblemente también tienen un

efecto tóxico (Rodríguez y col., 1972). Desafortunadamente, este mecanismo también es efectivo contra los fitoseidos depredadores utilizados actualmente contra los trips y la mosca blanca.

En el documento EP 1686849 B1, "METHOD FOR REARING THE PHYTOSEIID PREDATORY MITE AM-BLYSEIUS SWIRSKII, REARING SYSTEM FOR REARING SAID PHYTOSEIID MITE AND METHODS FOR BIOLOGICAL PEST CONTROL ON A CROP", se describe una composición de ácaros que comprende una población de la especie de ácaro depredador fitoseido *Amblyseius swirskii* y una población huésped facticia (Carpoglyphidae), la cual puede emplearse para la cría de dicha especie de ácaros depredadores fitoseidos o para la liberación de la especie de ácaro depredador fitoseido en un cultivo. Igualmente, en otro aspecto, la invención descrita en EP 1686849 B1 se refiere a un método para la cría de la especie de ácaro depredador fitoseido *Amblyseius swirskii*, a la utilización de dicha composición y a un método para el control biológico en un cultivo empleando dicha composición.

La WO 2008104807 (A2), "MITE COMPOSITION", describe una composición que comprende una población de ácaros depredadores y una población huésped de la familia Suidasiidae o Chortoglyphidae, reivindicando una composición donde el ácaro depredador es el ácaro fitoseido *Amblyseius swirskii*.

15

30

50

60

A la vista del estado de la técnica y de los problemas expuestos, sería deseable conseguir un fitoseido depredador que fuera capaz de sobrevivir en la planta del tomate y que no presentara las desventajas citadas anteriormente.

Por ello, la firma solicitante llevó a cabo la búsqueda de un fitoseido depredador que fuera capaz de sobrevivir en tomate mediante un riguroso examen de los hábitos y los hábitats de las especies más fácilmente disponibles (sobre 100 en total). Los resultados de dicha búsqueda concluyen que sólo existen tres posibles candidatos que sean capaces de desarrollar la suficiente capacidad de resistencia a los mecanismos de defensa del tomate.

En consecuencia, un objeto de la presente invención consiste en una composición que comprende una especie de ácaro fitoseido depredador seleccionado de entre las especies *Amblyseius montdorensis* (Schicha), *Typhlodromalus lailae* Schicha, (= *Typhlodromalus limonicus*) y *Amblyseius largoensis* (Muma), preferentemente *Amblyseius montdorensis*, y un huésped facticio del orden Astigmata, *Acarus siro*, Linnaeus, 1758. Preferentemente la relación entre los individuos depredadores y los huéspedes facticios oscila de aproximadamente 1:10 a aproximadamente 1:100.

Es igualmente objeto de la invención el procedimiento de cría de dicho depredador y la utilización de dicha composición en aplicaciones de control biológico.

Así, de acuerdo con una realización preferente de la presente invención, el fitoseido depredador presente en la composición se selecciona de entre las especies *Amblyseius montdorensis* (Schicha), *Typhlodromalus lailae* Schicha, (= *Typhlodromalus limonicus*) y *Amblyseius largoensis* (Muma); en particular, la especie de fitoseido depredador es *Amblyseius montdorensis*.

En la implementación de la utilización de *Acarus siro* como fuente de alimento para *Amblyseius montdorensis*, y también con respecto a otros muchos ácaros depredadores fitoseidos, *A. siro* puede describirse como un "verdadero" huésped facticio, ya que tiene un hábitat muy restringido que se limita a almacenes de alimentos y despensas domésticas, alimentándose de una amplia variedad de cereales integrales y sus subproductos farináceos, de la misma manera que es una de las principales plagas de los quesos almacenados (Griffiths, 1966). No se encuentra de manera natural en las plantas y nunca se ha informado que dañe las plantas en ninguna etapa de su crecimiento. No se encuentra en ningún hábitat silvestre ocupado por cualquier otra especie de ácaro astigmátido ni tampoco en los hábitats asociados a los fitoseidos depredadores que son empleados o que está previsto se utilicen en el control biológico.

Aunque es común encontrar en la literatura técnica previamente publicada hasta mediados del siglo XX muchos registros de que se puede encontrar en hábitats naturales silvestres, éstos son, sin excepción, identificaciones incorrectas. Griffiths (1966) demostró que *Acarus siro, sensu stricto*, L., 1758 actualmente representa un complejo de tres especies, dos de los cuales identificó o describió como *Acarus farris*, Oudemans, y *Acarus immobilis*, Griffiths, y ambos son efímeros habitantes de los alimentos almacenados, especialmente de cosechas recientes de grano. Éstos no sobreviven bajo las condiciones físicas del almacenamiento, dejando *Acarus siro*, L. como la única especie de almacén del complejo, probablemente porque las necesidades de humedad relativa del *Acarus siro* son menos restrictivas a las exigidas por las otras dos especies del complejo.

Así, en la utilización de *Acarus siro* según la presente invención, esta es la única especie de alimentos de almacén verdadera y, por tanto, puede definirse como un verdadero huésped facticio para las especies fitoseidas depredadoras.

La documentación técnica previa sobre *Acarus siro* contiene datos exhaustivos sobre su biología, ecología y sobre la distribución de su hábitat, lo que permite la selección de las condiciones ideales para su cría comercial (Cunnington, 1965 y 1985; Griffiths 1964 y 1966, y Hughes, 1976). Por ejemplo, Cunnington (1985), en su tratado sobre la oviposición y la fecundidad de *A. siro*, demostró que, en óptimas condiciones físicas, las hembras alcanzan un promedio de 435 huevos, con un máximo de 858, siendo la media diaria de producción de huevos de 28 huevos por hembra y día durante seis días a aproximadamente 20-25°C y con una humedad relativa del 90% aproximadamente.

Griffiths (1964) demostró que, con una dieta de levadura en polvo, el tiempo de desarrollo de huevo a huevo era sólo de 9,0 días. A la vista de la literatura citada anteriormente, la eficacia de *Acarus siro* como un huésped facticio viable está sobradamente probada.

Se han completado ensayos sobre la tasa intrínseca de desarrollo de *Amblyseius montdorensis* en el huésped facticio *Acarus siro* (véase el ejemplo 1). Tales resultados demuestran que esta combinación de *A. montdorensis* con el huésped facticio *Acarus siro* permite una producción fiable de los depredadores.

A diferencia de una de las especies de astigmátidos más comúnmente utilizadas, *Tyrophagus putrescentiae*, éstos no se trasladan activamente lejos si se escapan accidentalmente del sistema de cría. Ésta es una ventaja considerable respecto al típicamente empleado *T. putrescentiae*, que es bien conocido por contaminar otros sistemas comerciales dentro de una empresa. La poca actividad de *A. siro* también significa que no perturban a las hembras del depredador durante su puesta de huevos.

Por lo tanto, para el productor comercial de agentes de control biológico *Acarus siro* es un huésped facticio ideal para *Amblyseius montdorensis* (Schicha), *Typhlodromalus lailae* Schicha, (= *Typhlodromalus limonicus*) y *Amblyseius largoensis* (Muma), en particular, para *Amblyseius montdorensis*, y muy probablemente para muchas otras especies de fitoseidos.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención relativo a la cría de la combinación de las especies depredadoras mencionadas, *Amblyseius montdorensis* (Schicha), *Typhlodromalus lailae* Schicha, (= *Typhlodromalus limonicus*) y *Amblyseius largoensis* (Muma), en particular *Amblyseius montdorensis*, que se alimentan de *A. siro*, puede ser criada en contenedores de tamaño adecuado que permitan un ajuste adecuado para garantizar el intercambio de oxígeno. Para ello, y de acuerdo con otro aspecto de la invención, el suministro de alimento o sustrato de cría se compone de una mezcla artificial de levadura en polvo y trozos de vermiculita de un tamaño adecuado, además de una proporción de partículas estériles de fruta seca.

Según el segundo aspecto de la presente invención, el sustrato de cría, debido a su naturaleza inerte y su disposición en partículas sueltas, proporciona ventajas para su aplicación en relación con la naturaleza del cultivo, las densidades de cultivo, la configuración de la planta y las prácticas de gestión. Por ejemplo, el depredador se puede aplicar directamente en las plantas individuales empleando botellas biodegradables agitables del tamaño apropiado. En otra aplicación, se puede proporcionar a granel en grandes cantidades a los agricultores para su transferencia a los depósitos de máquinas aspiradoras de mochila, facilitando así la distribución sobre grandes superficies de plantas; ornamentales. En algunos invernaderos sofisticados, estos tanques se anexan a máquinas que se mueven automáticamente a través de guías colocadas a cierta altura para la distribución del depredador sobre superficies de cultivos de alta densidad, por ejemplo en cultivos de crisantemos.

Esta mezcla del material inerte vermiculita y frutas estériles desecadas evita los problemas que surgen cuando se incluyen copos de salvado en el medio. El salvado, que es el vehículo más utilizado actualmente para introducir fitoseidos depredadores en los cultivos por medio de sobres, es naturalmente infectado con hongos de almacén, como son las especies *Penicillium* y *Aspergillus*, de manera que cuando se humedecen después de la aplicación en los cultivos, por ejemplo como planta ornamental y flor cortada, se produce un crecimiento de hongos, lo cual desfigura las hojas y las hace menos atractivas para el cliente minorista. Con esta nueva dieta para la cría según la presente invención, los productores de estos cultivos podrán ahora utilizar con seguridad el producto suministrado en sobres, lo cual es una gran ventaja frente a las dietas de cría ya conocidas previamente.

Asignando otra utilidad de esta nueva dieta del huésped, expertos de la firma solicitante han demostrado que otra ventaja de la utilización de esta mezcla de partículas finas de vermiculita y frutas estériles deshidratadas mejora el estado de *A. siro* y, por tanto, favorece un mejor desarrollo de las poblaciones del ácaro facticio.

Tales ventajas se derivan de la utilización de estas partículas, que ayudan a mantener el correcto contenido de humedad del medio, lo cual es especialmente importante cuando la mezcla del depredador y la presa se encuentra en sobres de papel colgados del cultivo. De esta manera se evitan igualmente los problemas de la técnica anterior, cuando los sobres se colgaban de las plantas poco después del trasplante del cultivo y la ausencia de cubierta frondosa de hojas, así como la proximidad a trazados bajos de tuberías de calefacción, originaba que el contenido se secara muy rápidamente. Los ácaros astigmátidos, respirando a través de la piel, son muy vulnerables a los cambios de humedad del ambiente, ya Cunnington (1965) demostró que a humedades relativas por debajo del 70% muchas especies de astigmátidos mueren.; Preferentemente, la composición según la invención se mantiene a 20-25°C y, con una humedad relativa del 75-85%.

En relación con el ataque de plagas, este momento en la vida de la planta es fundamental y necesita de un complemento completo de agentes beneficiosos. Por ello, el contenido de un sobre que claramente ayude a sobrevivir bajo estas condiciones a los ácaros facticios y provea de comida a los depredadores, más robustos, constituye un éxito innovador.

Como resultado, con esta nueva dieta, los productores de estos cultivos podrán ahora utilizar con seguridad el producto suministrado en sobres.

4

Según un tercer aspecto de la invención, la combinación de las especies Amblyseius montdorensis (Schicha), Typhlodromalus lailae Schicha, (= Typhlodromalus limonicus) y Amblyseius largoensis (Muma), preferentemente Amblyseius montdorensis, y un huésped facticio del orden Astigmata, Acarus siro, Linnaeus, 1758, se utiliza para proporcionar una nueva fuente de fitoseidos depredadores para el control de las especies de plagas de trips en tomate, de forma que, sin la ayuda de la presente invención, sería necesaria la utilización de pesticidas y llevaría a la supresión de los programas actuales de control biológico viables. Preferentemente, la combinación de la invención se aplica sobre cultivos infestados por las especies de trips Thrips tabaci y Frankiniella occidentalis, y otras especies locales, y además dos especies de la familia Tarsonemidae, a saber el vasates Aculops lycopersicae y la araña blanca, Polyphagotarsonemus

Según el tercer aspecto de la presente invención, pequeñas cantidades de sustrato activo, entre aproximadamente 50 y aproximadamente 100 gramos, se colocan en sobres de papel transpirable, suministrados con pequeños orificios de salida a través de los cuales los depredadores pueden salir, y con pequeños ganchos, de forma que los sobres puedan colgarse sobre las distintas plantas en los intervalos requeridos (Sampson, 1998).

15

En una aplicación especial, dependiendo de la proporción de depredadores y presas presentes en el interior de la bolsa, ésta puede permanecer activa de una a cuatro semanas. Para un corto tiempo de salidas, el sistema se denomina un "Sobre de liberación rápida", para el período de cuatro semanas se denomina "Sistema de liberación controlada". El primero se utiliza cuando la plaga ha invadido la cosecha recientemente, antes de que el depredador pueda ser introducido. El segundo puede ser introducido en el cultivo antes del periodo esperado de llegada de una plaga, ofreciendo así posteriormente un sistema de protección inmediata.

En otro ejemplo de utilización de la combinación de la presente invención, ésta también se aplica en cultivos infestados con especies de tarsonémidos y de moscas blancas.

25

#### Ejemplo 1

Ensayos técnicos para evaluar el potencial de desarrollo de Amblyseius montdorensis cuando se alimenta de su huésped facticio Acarus siro

El objetivo de estos ensayos es determinar la capacidad intrínseca de crecimiento y determinados parámetros del ciclo de vida de una población de A. montdorensis cuando se cría en el huésped facticio A. siro.

35

#### Materiales y métodos

Tanto los individuos depredadores como las presas utilizadas en los ensayos se seleccionaron de manera aleatoria de cultivos base de ambas especies. Todos los ensayos se llevaron a cabo en cámaras climatizadas a 25°C y con un 75-80% de humedad relativa

#### Oviposición

Para evaluar la fecundidad de A. montdorensis alimentándose de A. siro, se colocaron pequeñas poblaciones, co-45

mo se describe más abajo, en una serie de celdas individuales realizadas en una tira de plástico negro. Se taladraron cinco agujeros circulares de 10-12 mm de diámetro a intervalos a lo largo de una tira negra de aproximadamente 40 mm de ancho, 4 mm de grosor y 80 mm de longitud. Las caras inferiores de las celdas se sellaron con un papel transpirable, que se pegó a la tira de plástico con una cola blanca no tóxica para madera. Para cerrar por arriba cada celda se utilizaron cuadrados de Plexiglass® transparente, cada uno con un agujero en el centro de 3 mm de diámetro. Para el ensayo se utilizaron 4 tiras, con un total de 20 hembras de A. montdorensis, cinco en cada

En el día cero del ensayo, se colocó una pequeña población del huésped facticio A. siro en la primera celda de cada tira, en cantidad suficiente para sustentar cinco hembras depredadoras jóvenes durante tres días. Cinco de estas hembras se recogieron de una cría con un pincel y se colocaron en la celda núm. 1, a través del agujero central, que se selló seguidamente con un cubreobjetos de cristal, todo ello quedando sujeto por dos pinzas colocadas en cada lado de la tira principal.

Después de un período de dos días, las hembras depredadoras se recogieron de la primera celda y se colocaron en la siguiente celda de la tira, donde también se disponía una pequeña población del ácaro huésped facticio A. siro como alimento y así sucesivamente hasta terminar la última celda.

Se examinó la producción de huevos de 5 hembras cada 2 días (véase el epígrafe Resultados, Tabla 1).

#### Tiempo de desarrollo de los diferentes estadios

Utilizando las mismas celdas descritas en el apartado anterior, se dejaron 3 hembras por celda poniendo huevos durante 48 horas. Después de 24 horas las hembras se recogieron de las celdas y se colocaron en una nueva celda, donde se dejaban poniendo durante 24 horas más. Entonces se retiraron las hembras, dejando los huevos desarrollarse junto con una pequeña población de ácaros presas en cada celda. Solo se utilizaron para el ensayo los huevos puestos durante el segundo día. Con una media de 2,4 huevos por hembra y día, cada celda al inicio del ensayo tenía entre 6 y 8 huevos.

Para evaluar la tasa de desarrollo, las celdas se examinaron cada 24 horas hasta que todos los individuos depredadores habían alcanzado el estadio adulto. Se identificó siempre el estadio de los individuos. Cuando todos los individuos alcanzaron un estadio determinado, se analizaron los datos y se calculó una tasa media de desarrollo para ese estadio

Se llevó a cabo un seguimiento hasta adultos de las puestas de un total de 20 hembras. No se determinó la mortalidad (véase el epígrafe Resultados, Tabla 2).

#### Tasa intrínseca de desarrollo

Para evaluar la tasa intrínseca de desarrollo, se utilizaron pequeñas fiambreras de plástico de aproximadamente 11,5 cm de longitud, 8,5 cm de ancho y 4,5 cm de altura. Se realizó un agujero en la tapa, que se selló con papel transpirable para evitar escapes y para asegurar el intercambio de gases.

Se dividió en varios lotes una población de depredadores y presas, con una densidad media de unos 30.000 depre-2.5 dadores por kg, utilizando la técnica de cuarteado para estimar la densidad de población (individuos por kg de cultivo), y cada lote se colocó individualmente en un recipiente mantenido en las mismas condiciones descritas anteriormente, con un ratio depredador:presa suficiente para asegurar el desarrollo durante 10 días. Éste es un periodo adecuado para el ensayo, dado que la mayoría de los sistemas de producción comercial se manejan en ciclos de 7 a 10 días. Al final del período, después de 7 días, se contabilizaron de nuevo las poblaciones y se estimó la tasa intrínseca de crecimiento poblacional. Se realizaron 8 repeticiones (véase la Tabla 3).

#### Resultados

15

20

35

40

45

50

55

TABLA 1 Tasa de oviposición de Amblyseius montdoresis alimentado con el huésped facticio Acarus siro

<del></del>		<del> </del>	
Días entre	Nº de hembras por	Huevos totales	Huevos por
conteos	4 tiras de celdas	entre conteos	hembra y día
2	20	64	1,6
2	20	100	2,5
2	20	116	2,9
2	20	108	2,7
2	20	92	2,3
Total			
10	20	480	2,4

#### TABLA 2

Tiempo de desarrollo de los diferentes estadios de <u>Amblyseius montdorensis</u> (de huevo hasta adulto) cuando se alimenta del huésped facticio <u>Acarus siro</u>

5

Tiempo medio de desarrollo (días)			
Larva	Protoninfa	Tritoninfa	Total
1,7 – 2,0	2,0 – 2,5	3,0 – 3,5	6,7 - 8,0

#### TABLA 3

Tasa Intrínseca de Crecimiento de <u>Amblyseius montdorensis</u> cuando se cría con el huésped facticio <u>Acarus siro</u> (Población al inicio del ensayo, por repetición, de 30.000 ninfas y adultos depredadores por <u>litro</u>)

Tasa intrínseca de crecimiento después de 10 días (Media de 8 repeticiones)		
Mínimo	Máximo	Media
x 1,6	x 4,1	x 3,35

Los resultados sobre la tasa intrínseca de desarrollo de *Amblyseius montdorensis* en el huésped facticio *Acarus siro* demuestran que esta combinación presenta múltiples ventajas frente a las combinaciones conocidas del estado de la técnica producidas utilizando cualquier otro huésped astigmátido, tanto con referencia a la facilidad de cría sobre *Acarus siro* como a los resultados obtenidos del desarrollo y del crecimiento. Por tanto, para el productor comercial de agentes de control biológico, *Acarus siro* es un huésped facticio ideal para el *Amblyseius montdorensis*, y muy probablemente para muchas otras especies de fitoseidos, en especial *Typhlodromalus lailae* (= *Typhlodromalus limonicus*) y *Amblyseius largoensis*.

#### REIVINDICACIONES

- 1. Composición de ácaros que comprende una población viable de la especie de ácaro fitoseido depredador seleccionada de entre *Amblyseius montdorensis*, *Typhlodromalus lailae* (= *Typhlodromalus limonicus*) y *Amblyseius largoensis*, en particular *Amblyseius montdorensis*, una población viable de un huésped facticio que comprende al menos una especie de ácaro del orden Astigmata y un sustrato de cría artificial que también actúa como el portador durante la distribución, **caracterizada** porque el ácaro astigmátido es *Acarus siro*, L., 1758 de la familia Acaridae.
- 2. Composición de ácaros según la reivindicación 1, **caracterizada** porque el sustrato de cría artificial comprende una mezcla de levadura en polvo, trozos de vermiculita de un tamaño adecuado y partículas estériles de fruta seca.
  - 3. Composición de ácaros según la reivindicación 1, **caracterizada** porque la: relación entre los individuos depredadores y los huéspedes facticios oscila de aproximadamente 1:10 a aproximadamente 1:100.
- 4. Método para la cría de la especie de fitoseido depredador *Amblyseius montdorensis*, *Typhlodromalus lailae* (= *Typhlodromalus limonicus*) y *Amblyseius largoensis*, en particular *Amblyseius montdorensis* que comprende proporcionar una composición de ácaros según las reivindicaciones 1 a 3 y permitir que los individuos de la especie seleccionada de fitoseido depredador, en particular *Amblyseius montdorensis*, se alimenten de los individuos de dicha población de huéspedes facticios.
  - 5. Método según la reivindicación 4, **caracterizado** porque la composición de ácaros se mantiene a una temperatura de 20-25°C y con una humedad relativa del 75-85%.
- 6. Método según las reivindicaciones 4-5 **caracterizado** porque la composición según las reivindicaciones 1 a 3 se mantiene en un contenedor apropiado para el desarrollo adecuado del depredador y de su presa garantizando el intercambio de oxígeno y que permite la salida de los distintos estadios móviles de vida de la especie de ácaro fitoseido depredador.
- 7. Utilización de la composición según las reivindicaciones 1-3 para el control biológico de plagas en cultivos comerciales.
  - 8. Utilización según la reivindicación 7 **caracterizada** porque las plagas de los cultivos se seleccionan de entre las especies de trips *Thrips tabaci* y *Frankiniella occidentalis*, y otras especies locales, y además dos especies de la familia Tarsonemidae, a saber el vasates, *Aculops lycopersicae*, y la araña blanca, *Polyphagotarsonemus latus*.

35

50

55

60

- 9. Utilización según las reivindicaciones 7-8 **caracterizada** porque el cultivo comercial se selecciona de entre cultivos de tomate en invernaderos de cristal, de plástico o cultivos bajo malla y también al aire libre.
- 10. Procedimiento para el control biológico de cultivos mediante la utilización según las reivindicaciones 7-9 de una composición según las reivindicaciones 1-3.
  - 11. Procedimiento para el control biológico de cultivos según la reivindicación 10 **caracterizado** porque la composición según las reivindicaciones 1-3 se distribuye en los cultivos en un contenedor según la reivindicación 6 adecuado para el espolvoreo directo de su contenido sobre los cultivos.
  - 12. Procedimiento para el control biológico de cultivos según la reivindicación 10 **caracterizado** porque la composición según las reclamaciones 1-3 se distribuye en los cultivos en un contenedor según la reivindicación 6 adecuado para ser colgado directamente en las plantas individuales.



(1) ES 2 345 594

(21) Nº de solicitud: 200900826

22 Fecha de presentación de la solicitud: 26.03.2009

32) Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

51 Int. Cl.:		<b>A01N 63/02</b> (2006.01)
		A01K 67/033 (2006.01)

## **DOCUMENTOS RELEVANTES**

		afectadas
WO 2008119762 A1 (ALK ABELLÓ A/S) 09.10.2008, página 17, líneas 1-24; página 19, línea 11 - página 20, línea 27.		1-12
		1,2
WO 2006057552 A1 (KOPPE	RT B.V.) 01.06.2006, reivindicaciones.	1-12
Kyrgyzsta. CAC NEWS., 2007 [en línea] [recuperado el 27.0 <url:http: 0<="" td="" www.icarda.org=""><td colspan="2">/zsta. CAC NEWS., 2007, n° 32, Recuperado de Internet nea] [recuperado el 27.05.2010] L:http://www.icarda.org/CAC/cac_news/en/cac32e.pdf&gt;</td></url:http:>	/zsta. CAC NEWS., 2007, n° 32, Recuperado de Internet nea] [recuperado el 27.05.2010] L:http://www.icarda.org/CAC/cac_news/en/cac32e.pdf>	
GILKESON, L.A. Mass rearin commercial application. En: F	eview of rearing techniques,	1-12
GB 2393890 B (SYNGENTA BIOLINE LIMITED) 25.08.2004, página 10, líneas 10-17.		1-12
		1-12
a de los documentos citados		
nte informe ha sido realizado codas las reivindicaciones	para las reivindicaciones nº:	
		Página 1/4
ב ב ב	Ineas 1-24; página 19, línea de AMBLYLINE m. Recuperado do 8.06.2010] URL:http://www.shtml/AmblylineMo.htm  WO 2006057552 A1 (KOPPE Integrated Pest Management. Kyrgyzsta. CAC NEWS., 2007 [en línea] [recuperado el 27.05] (CIRL:http://www.icarda.org/Civer página 5.  GILKESON, L.A. Mass rearing commercial application. En: Reapítulo 28, 1992, páginas 48 GB 2393890 B (SYNGENTA Elíneas 10-17.  CASTAGNOLI, M. et al. Screer rearing Neoseiulus californicus Redia, 2006, páginas 55-58.  A de los documentos citados cular relevancia combinado con otro/s de ategoría le stado de la técnica  Tete informe ha sido realizado odas las reivindicaciones	Ilíneas 1-24; página 19, línea 11 - página 20, línea 27.  AMBLYLINE m. Recuperado de Internet [en línea] [recuperado el 08.06.2010] URL:http://www.syngenta-bioline.co.uk/productdocs/html/AmblylineMo.htm  WO 2006057552 A1 (KOPPERT B.V.) 01.06.2006, reivindicaciones.  Integrated Pest Management. Testing of predatory mites in Kyrgyzsta. CAC NEWS., 2007, n° 32, Recuperado de Internet [en línea] [recuperado el 27.05.2010]  - URL:http://www.icarda.org/CAC/cac_news/en/cac32e.pdf>ver página 5.  GILKESON, L.A. Mass rearing of phytoseiid mites for testing and commercial application. En: Review of rearing techniques, capítulo 28, 1992, páginas 489-505.  GB 2393890 B (SYNGENTA BIOLINE LIMITED) 25.08.2004, página 10, líneas 10-17.  CASTAGNOLI, M. et al. Screening of astigmatid mites for mass-rearing Neoseiulus californicus (Mc Gregor) (Acari Phytoseiidae).  Redia, 2006, páginas 55-58.  O: referido a divulgación no escrita P: publicado entre la fecha de prioridad y la de pres de la solicitud E: documento anterior, pero publicado después de la de presentación de la solicitud E: documento anterior, pero publicado después de la este informe ha sido realizado odas las reivindicaciones

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

Nº de solicitud: 200900826

<u>'</u>
Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)
A01N, A01K
Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)
INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, CROPR, CROPU, INTERNET

#### **OPINIÓN ESCRITA**

Nº de solicitud: 200900826

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 08.06.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986) Reivindicaciones 1-12 SÍ

Reivindicaciones NO

Actividad inventiva Reivindicaciones SÍ

(Art. 8.1 LP 11/1986) Reivindicaciones 1-12 NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial.** Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

## Base de la Opinión:

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

#### Consideraciones:

-

#### **OPINIÓN ESCRITA**

Nº de solicitud: 200900826

#### 1. Documentos considerados:

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 2008/119762	9-10-2008
D02	Amblyline	2007
D03	WO 2006/057552	1992
D04	GILKESON	1992
D05	GB 2393890	25-08-2004
D06	CASTOGNELI, et al.	2006

# 2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La invención reivindicada se refiere a una composición que comprende una población de un ácaro fitoseido que se selecciona entre Amblyseius montdorensis, Typholodramus limonicus y Amblyseius largoensis, una población del ácaro astigmátido Acarus siro y un sustrato de cría (reivindicación 1). También se reivindica un método para la cría de los ácaros fitoseidos de la primera reivindicación que consiste en ponerlos en contacto con Acarus siro en dicha composición (reivindicación 4), la utilización de dicha composición para el control biológico de plagas (reivindicación 7) y el procedimiento para el control biológico de cultivos mediante dicha composición (reivindicación 10).

#### Novedad

Ningún documento del estado de la técnica divulga una composición igual a la de la primera reivindicación de la invención, por lo que se considera que la reivindicaciones 1-12 cumple el requisito de novedad.

#### Actividad inventiva

Sin embargo, en el estado de la técnica existen muchos documentos que describen la utilización de ácaros fitoseidos depredadores para el control biológico de plantas. Estos ácaros fitoseidos se empezaron cultivando con presas naturales, pero luego se han intentado encontrar otro tipo de presas que aunque no sean las naturales en su medio (facticias) sean más fáciles de obtener y cultivar en grandes cantidades. Generalmente, depredador y presa se suelen criar sobre un soporte donde se incluye un alimento para la presa y dicho soporte junto con el aácaro depredador de la plaga y el ácaro que le sirve de alimento, se suelen colocar en la cercanía de las plantas para que el ácaro predador elimine a las plagas (ver documentos D1 y D3).

Por ejemplo, el documento D1 describe un método para cultivar ácaros depredadores de la familia fitoseidos sobre un sustrato y junto a un ácaro presa en una bolsa en la que también se incluye alimento para el ácaro presa (página 17, líneas 1 a 24 y página 20, líneas 6-27). Entre los posibles ácaros fitoseidos que se pueden cultivar se propone el Amblyseius montdorensis y como posible ácaro presa el astigmátido Acarus siro. Aunque en D1 no se hace mención explícita de la combinación de los dos ácaros concretos que se reivindican en la solicitud, esta selección sería una de las posibles combinaciones que elegiría un experto en la materia, teniendo en cuenta el documento D1, sin ejercer actividad inventiva y teniendo altas posibilidades de éxito.

Los otros documentos citados en el estado de la técnica apoyan la elección de la especie Acarus siro como presa ya que ha sido utilizada con otras especies de fitoseidos del mismo género, como se describe en los documentos D4, D5 (página 496-497), D6 (página 10, líneas 9-17) y D7.

Por lo tanto, se considera que teniendo en cuenta lo divulgado en D1, las reivindicaciones independientes 1, 4, 7 y 10 carecen de actividad inventiva. En cuanto a las reivindicaciones dependientes no aportan ninguna característica que en combinación con la reivindicación 1 de la que dependen, le otorguen actividad inventiva a la invecnión. Son opciones de diseño que ya han sido utilizadas previamente en los cultivos de fitoseidos y en el control biológico de plagas (ver documentos D1, D2 y D3).