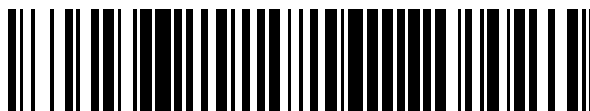


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 421 147**

51 Int. Cl.:

A01N 63/04 (2006.01)

A01N 25/14 (2006.01)

A01P 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.02.2010 E 10704360 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2013 EP 2398328**

54 Título: **Gránulos que contienen hongos filamentosos y método de preparación de los mismos**

30 Prioridad:

19.02.2009 EP 09002336

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

29.08.2013

73 Titular/es:

**UREA CASALE S.A. (100.0%)
Via Guillo Pocobelli 6
6900 Lugano-Besso, CH**

72 Inventor/es:

PANCHAUD-MIRABEL, ELISABETH

74 Agente/Representante:

ARIZTI ACHA, Monica

ES 2 421 147 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

Gránulos que contienen hongos filamentosos y método de preparación de los mismos.

Campo de aplicación

- 5 La presente invención se refiere al campo técnico de los productos fitosanitarios. En particular, se refiere a un método para producir (a nivel industrial) gránulos, altamente dispersables en agua, que contienen un agente fitosanitario, y más particularmente un hongo nematófago. La invención también incluye los gránulos dispersables en agua así obtenidos.

Introducción

- 10 Durante años se han conocido nematodos parásitos de plantas que atacan a casi todos los tipos de cultivos provocando pérdidas anuales en todo el mundo que ascienden a aproximadamente 500 millones de dólares estadounidenses. Extremadamente resistentes a tratamientos químicos, su destrucción implica el uso de productos que son escasamente selectivos y perjudiciales generalmente para el entorno natural.

- 15 A partir de la Cumbre de la Tierra, celebrada en Río de Janeiro en 1992, y según las leyes bio-medioambientales recientes, año tras año se prohíben numerosos nematocidas tradicionales, dejando a los agricultores sin protección con respecto a un problema que puede ser más o menos drástico, dependiendo de las regiones climáticas y los cultivos. De ahí el crecimiento del interés hacia métodos orgánicos o alternativos, que no impliquen el uso de pesticidas químicos convencionales. Sin embargo, con el fin de que se desarrollen, no sólo se requiere que demuestren su eficacia tales métodos para soluciones de control "orgánico", sino que además deben ser fáciles y prácticos de implementar por el agricultor, de manera similar a la de un producto convencional.

- 20 Entre los métodos con pesticidas orgánicos, el uso de microorganismos antagonistas representa una práctica cada vez más común. Por ejemplo, se conocen tratamientos antimosquitos basados en la difusión de una bacteria: la *Bacillus thuringiensis*. Asimismo, es posible controlar la mosca blanca que afecta a los cultivos vegetales, (*Trialeurodes vaporariorum*), usando las esporas de un hongo parásito de las larvas de Aleurodes (*Verticillium leucanii*).

- 25 Los hongos filamentosos (deuteromicetos, denominados comúnmente mohos) se caracterizan por formaciones tubulares delgadas (hifas), generalmente transparentes, que tienen un diámetro en el rango micrométrico; la totalidad de las hifas forman el micelio; se reproducen asexualmente a través de conidios. Algunos hongos filamentosos que pertenecen a la familia Moniliales (en particular, *Arthrobothrys conoides* Dreschsler) han demostrado ser útiles contra nematodos: se alimentan de nematodos, desinfectando el suelo de estos parásitos.

- 30 Con el fin de aprovechar eficazmente los hongos filamentosos, es necesario tener formulaciones estables, que contengan un alto recuento de hongos, que son fáciles de manipular y administrar al suelo. Desafortunadamente, las técnicas de producción y conservación para estos hongos, en particular para los hongos nematófagos, son todavía empíricas y los resultados obtenidos hasta la fecha no son completamente satisfactorios.

- 35 La solicitud de patente número WO-A-2005078067 describe medios de cultivo eficaces para el crecimiento de hongos filamentosos, sin indicar métodos particulares de formulación y/o administración. La solicitud de patente GB-A-857161 describe la preparación de soportes inorgánicos (piedra pómez, vermiculita, lana de amianto) tratados en la superficie con un cultivo de hongos nematófagos.

- 40 La patente estadounidense US 5.811.092 describe el tratamiento superficial de granos de maíz con cultivos de hongos nematófagos; el maíz así tratado se mezcla con pequeñas porciones de suelo para formar inóculos y estos últimos se distribuyen en el suelo que va a tratarse; el método es generalmente eficaz, pero el recuento de hongos de los granos es bastante variable y la administración al suelo es escasamente homogénea.

La solicitud de patente número US 2007/0292-932 describe la preparación de microgránulos de gelatina que contienen hongos nematófagos, adecuados para la administración al suelo; sin embargo, la preparación, la conservación y el manejo de estos microgránulos es bastante complicado.

- 45 Además, los productos de la técnica anterior son escasamente dispersables en agua y se requiere que se dispersen en el suelo en forma sólida; las partículas sólidas permanecen en la superficie y no permiten una penetración adecuada de los hongos a las capas más profundas del suelo; la penetración sólo se obtiene a costa de operaciones de movimiento del suelo adicionales (arado).

- 50 Por tanto, independientemente de los desarrollos mencionados anteriormente, ninguno de los productos identificados actualmente es completamente satisfactorio. Una dificultad particular es la de proporcionar un producto granular seco, por tanto, fácil de almacenar y manipular, que tenga una alta dispersibilidad en agua y que garantice una viabilidad más que satisfactoria del cultivo, estando desfavorecidas éstas dos últimas condiciones en condiciones secadas.

La presente invención se basa en un método para fabricar, a nivel industrial, hongos filamentosos, y más en particular hongos nematófagos, en una forma granular seca que puedan garantizar estabilidad, viabilidad y facilidad de uso. En particular, la invención permite obtener composiciones con un alto recuento de hongos, fáciles de manipular y administrar al suelo, que pueden realizar una actividad nematocida alta y uniforme en la superficie tratada; las composiciones pueden obtenerse por medio de un método de preparación que es fácil, barato e inocuo para la viabilidad de los micelios.

Sumario de la invención

La presente invención describe un método para incorporar los hongos filamentosos en una formulación particular en fase sólida, estudiada específicamente para permitir una administración sencilla, homogénea y eficaz de los hongos al suelo. La invención se basa en el tratamiento de un cultivo de hongos filamentosos que conduce a la obtención de gránulos secos con un alto recuento de hongos y fácilmente dispersables en agua. El tratamiento comprende mezclar un medio de cultivo, inoculado previamente con un hongo filamentosos, con una harina amilácea y un almidón modificado. Entonces se mezcla el producto resultante con cargas particulares y posibles nutrientes, en proporciones adecuadas para formar una pasta fácilmente granulable; los gránulos, que pueden obtenerse por medio de técnicas conocidas *per se*, se recuperan y se secan hasta un contenido en humedad determinado, comprendido generalmente entre el 5 y el 15%. El producto granular así obtenido es particularmente adecuado para salvaguardar la viabilidad de los micelios, es seco al tacto, puede manipularse fácilmente por los operarios y es altamente dispersable en agua. Más en detalle, el método comprende las siguientes etapas:

- a) hacer crecer los hongos filamentosos en un medio de cultivo líquido adecuado, durante un periodo de tiempo determinado;
- b) mezclar el producto de a) con una harina amilácea y un almidón modificado;
- c) mezclar el producto de b) con cargas y posibles nutrientes adecuados, hasta obtener una pasta granulable;
- d) formar gránulos, recuperarlos y luego secarlos reduciendo su contenido en humedad hasta un valor en el intervalo de entre el 5 y el 15%.

Un objeto adicional de la presente invención está representado por el producto granular como tal, que comprende en particular los componentes usados en el punto b). La invención incluye además las composiciones nematocidas que comprenden el producto granular mencionado anteriormente, y el uso de los productos mencionados anteriormente para tratar suelos y/o cultivos infestados por nematodos.

Descripción de las figuras

Figura 1: comparación entre la agitación de una suspensión de los gránulos de la técnica anterior, tomada como referencia (a la derecha), y una suspensión de los presentes gránulos dispersables (a la izquierda).

Descripción detallada de la invención

La presente invención puede aplicarse a todos los hongos filamentosos conocidos comúnmente; ventajosamente, el hongo usado es un hongo nematocida, que pertenece por ejemplo a la familia Moniliales; se prefieren particularmente dentro de esta familia, los hongos del género *Arthrobotrys* de la especie *conoides*, en particular *Arthrobotrys conoides* Dreschsler.

El medio de cultivo para hongos filamentosos puede seleccionarse de entre los conocidos en el campo. Según una realización preferida, comprende al menos una fuente de carbono seleccionada del grupo de productos compuesto por melaza, extracto de malta, sacarosa, y al menos una fuente de nitrógeno orgánico seleccionada de entre el extracto de levadura y el denominado "licor de maíz fermentado". La preparación de tal medio se describe ampliamente en la solicitud de patente WO-A-2005078067, incorporada al presente documento como referencia. En tal medio, la fuente de carbono representa preferiblemente del 70 al 85% en peso con respecto al peso seco del medio de cultivo y la fuente de nitrógeno orgánico mencionada anteriormente representa del 15 al 30% en peso con respecto al peso seco del medio de cultivo. El medio de cultivo puede comprender además una fuente de nitrógeno mineral, compuesta por nitratos o sales de amonio. En el caso general, esta fuente de nitrógeno mineral se añade gradualmente al medio de cultivo durante el crecimiento del hongo, en cantidades que no superan el 10% en peso con respecto al peso seco del medio de cultivo, comprendidas preferiblemente entre el 5 y el 8%.

Un primer medio de cultivo preferido está compuesto por el 75-85% de extracto de malta y el 15-25% de extracto de levadura, proporcionándose los porcentajes en peso con respecto al peso seco del medio de cultivo. Otro medio de cultivo que puede usarse comprende el 60-65% de melaza, el 10-15% de sacarosa, el 10-15% de licor de maíz fermentado y el 10-15% de extracto de levadura. Este medio de cultivo también contiene, además, el 5-8% de una fuente de nitrógeno mineral, en particular hidrogenofosfato de diamonio. Un último medio de cultivo preferido contiene dos fuentes de carbono, es decir extracto de malta, en cantidades de entre el 25-30%, y melaza, en cantidades de entre el 40-45%, así como licor de maíz fermentado, en cantidades de entre el 25-30%.

El extracto de malta se obtiene germinando cereales, generalmente cebada. Cuando se germina, hay una producción de enzimas y más en particular amilasa, que permite la transformación del almidón en azúcares. El extracto de malta contiene aproximadamente el 60% de maltosa, vitaminas y otros numerosos oligoelementos.

5 La melaza representa un subproducto de la industria del azúcar y está en forma de un líquido viscoso de color negro-parduzco, que contiene el 10% de agua, el 35% de sacarosa, el 20% de otros azúcares y el 15% de cenizas. El extracto de levadura se obtiene mediante autólisis de *Saccharomyces cerevisiae* y está en forma de un polvo fino de color amarillo pálido, fácilmente soluble en agua. El extracto de levadura contiene péptidos, aminoácidos libres, bases purínicas y pirimidínicas, así como vitaminas hidrosolubles del grupo B. El extracto de levadura tiene un contenido en nitrógeno total del 10% y un contenido en nitrógeno de α -amina del 5%.

10 El licor de maíz fermentado se obtiene macerando el maíz a 50°C, durante 24-48 horas, en agua que contiene dióxido de azufre. Este último reactivo permite la unión de la red proteica que rodea a los granos y ofrece la ventaja de impedir el desarrollo de microorganismos no deseados durante la maceración. El licor de maíz fermentado tiene un contenido en nitrógeno total del 7%, un contenido en nitrógeno de α -amina del 1,7% y también contiene azúcares que ascienden al 5%, el 4% de potasio, el 3% de fósforo y el 17% de minerales.

15 En el método de producción según la invención, el crecimiento del hongo filamentoso en los medios de cultivo mencionados anteriormente se realiza preferiblemente durante un periodo de 5-10 días, y a una temperatura constante comprendida entre 23 y 30°C. Con el fin de fabricar los gránulos, se prepara una mezcla compuesta por un almidón modificado y una harina amilácea. En esta mezcla, el almidón modificado representa preferiblemente el 30-60% en peso, (más preferiblemente el 33%), mientras que la harina es el 70-40% restante (más preferiblemente el 67%), haciendo referencia estos porcentajes a la materia seca. El almidón modificado preferido es Cleargum, (octenilsuccinato sódico de almidón), un producto obtenido mediante hidrólisis enzimática de un almidón de maíz ceroso. La harina puede ser cualquier harina de cereales u otros productos amiláceos; preferiblemente es una harina de maíz.

25 Antes de mezclarse con el medio de cultivo, dicha mezcla se diluye adecuadamente en agua en ebullición, en proporciones en peso del 40-60% (más preferiblemente el 52% con respecto a agua). Por ejemplo: 100 g de sustancia disuelta en agua en ebullición se componen de 17 g de almidón modificado, 35 g de harina amilácea y 48 g de agua.

30 Tras el enfriamiento, a esta primera mezcla, preferiblemente en una razón volumétrica de 1:1, se le añade el medio de cultivo descrito anteriormente, en el que se había inoculado previamente el hongo filamentoso y se había hecho crecer. Entonces se añade la disolución resultante con cargas y posibles nutrientes adecuados que, en cooperación con el resto de la formulación, confieren estabilidad y nutrición a los hongos, y permiten obtener gránulos que tienen la consistencia y el volumen deseados.

35 Preferiblemente, la carga es tierra de diatomeas, y los nutrientes se seleccionan del grupo que comprende harinas y azúcares. Una carga preferida es Celaton FPM 0.08. Es un producto a base de conchas de diatomeas, (algas silíceas unicelulares) con tamaño de grano de aproximadamente 0,08 micrómetros. Este producto puede absorber una cantidad definida de agua, lo que permite obtener los gránulos con el volumen deseado, protegiendo así a los microorganismos frente a posibles ataques externos (variaciones de temperatura, higrometría, etc.).

40 Entre las harinas que pueden usarse como nutrientes, se prefiere la harina de maíz. Esto es un producto natural que puede absorber una cantidad de agua varias veces superior a su propio volumen y, en el caso específico, también contribuye al volumen del gránulo. Además, la harina de maíz representa una importante fuente de nutrición para los hongos filamentosos contenidos en los gránulos y está disponible inmediatamente cuando se dispersa en el suelo que va a tratarse.

Los azúcares ayudan a potenciar la viabilidad de los hongos, en particular estabilizando las membranas celulares.

45 En el método objeto de la invención, las cargas y los posibles nutrientes mencionados anteriormente se añaden a la mezcla formada en el punto b). Cuando sólo se usan cargas, la carga es preferiblemente tierra de diatomeas. Cuando se usan cargas con nutrientes es preferible usar una mezcla de tierra de diatomeas y harina, a la que pueden añadirse azúcares en cantidades pequeñas. Una mezcla preferida está compuesta por cargas al 30-50% (en particular el 33%) en peso, y por harinas en el 70-50% restante (en particular el 67%). Si se usan, los azúcares están presentes generalmente en cantidades que varían entre el 10 y el 20% en peso con respecto a la mezcla de cargas y harinas.

50 Las cargas y posibles nutrientes se añaden, en forma mezclada o por separado, a la mezcla descrita en el punto b), hasta que se obtiene una pasta compacta. Preferiblemente en dicha pasta, la mezcla de cargas y posibles nutrientes usada en el punto c) representa desde el 15% hasta el 50% en peso. Por ejemplo: se añaden 34 g de la mezcla con cargas y nutrientes a 100 g de la mezcla descrita en el punto b). Generalmente, la pasta así obtenida tiene un contenido en humedad en el intervalo de entre el 30 y el 60%, preferiblemente de entre el 35 y el 55%, más preferiblemente de aproximadamente el 47%. Por tanto, la mezcla resultante se somete a tratamientos de granulación convencionales, tales como por ejemplo extrusión, obteniéndose gránulos con dimensiones diametrales comprendidas preferiblemente entre 3 y 5 mm. El contenido en humedad de los gránulos antes del secado es

sustancialmente idéntico al de la pasta. El secado de los gránulos puede realizarse en un flujo de aire estéril, a una temperatura de 25-30°C. Se reduce el porcentaje de humedad, tras el secado, hasta un valor inferior al 13%, preferiblemente en el intervalo de entre el 9 y el 10%. De tal manera, los gránulos logran la consistencia y el volumen deseados.

- 5 La presente invención comprende el producto granular como tal, tal como resulta del procedimiento mencionado anteriormente. Tal producto está en forma granular, es seco al tacto, y se caracteriza en particular por contener uno o más hongos filamentosos, el almidón modificado y la harina amilácea descritos en la etapa b), y las cargas y los posibles nutrientes adecuados descritos en la etapa c). El producto granular puede usarse como tal, o formularse con otros componentes convencionales según métodos conocidos *per se*; la composición pesticida resultante forma igualmente un objeto de la invención. Por último, la invención se extiende al uso de los productos mencionados anteriormente para tratar un sustrato infestado por nematodos u otros parásitos sensibles a hongos filamentosos.

Existen varias ventajas vinculadas a la presente invención y se distinguen de la siguiente manera.

Para la producción:

- bajo número de manipulaciones, que permite mantener la esterilidad del procedimiento;
- 15 - secado rápido, dado que el contenido en agua ya es bajo en origen;
- un producto altamente dispersable, que permite una mejor evaluación del contenido en microorganismos;
- un procedimiento que protege la actividad de los microorganismos.

Para el usuario:

- 20 - la formulación altamente dispersable permite diferentes usos: esparcirse sobre suelo desnudo, pero también, ventajosamente, puede añadirse al sistema de irrigación;
- añadir el producto al agua de irrigación, elimina la necesidad de tratamientos adicionales para dispersar el nematocida; el producto líquido se dispersa uniformemente en la superficie y, ventajosamente, también en las capas profundas del suelo, sin requerir arado ni otras operaciones para mover el suelo;
- 25 - la dispersión en agua se produce en tiempos rápidos (en el plazo de unos cuantos segundos) a temperatura ambiente, con ligera agitación;
- la formulación granular con bajo contenido en humedad genera un producto fácilmente manipulable por el usuario, seco al contacto, fluido, fácil de cargar y descargar desde tolvas etc. sin adhesión de las partículas contra las paredes del recipiente.

- 30 Los siguientes ejemplos de la invención, proporcionados para fines ilustrativos y no limitativos, se prepararon usando hongos filamentosos de la familia Moniliales, en particular usando el hongo filamentoso *Arthrobotrys conoides* Dreschsler.

Parte experimental

Ejemplo 1

- 35 Se obtuvo el cultivo de hongo filamentoso en un reactor de 2 litros, que contenía 1,2 l de medio de cultivo. El reactor estaba compuesto por un recipiente con un fondo redondo, dotado de un agitador helicoidal, un regulador de temperatura y enfriamiento, una entrada de aire, así como sensores para detectar el pH, la concentración de O₂ y la temperatura. Se esterilizó el medio, compuesto por 20 g/l de extracto de malta y 4 g/l de extracto de levadura, antes de inocularse con los conidios del hongo *A. conoides*. Se prolongó el cultivo durante 6 días desde el inóculo a una temperatura de aproximadamente 27°C. Durante el cultivo, se realizó una toma de muestras de medio de cultivo para determinar la masa seca (g/l) y de ahí el número de propágulos (UFC/l). Con el fin de determinar la masa seca, se filtraron 20 ml del medio de cultivo, luego se secó en un horno a 100°C durante 24 horas. Se determinó el número de propágulos en 1 ml de medio de cultivo. Se obtienen aproximadamente 8 g/l de hongo al final del periodo de tiempo indicado, con un número de propágulos equivalente a 6x10⁹ por litro.

- 45 Se dispersa una mezcla que contiene Cleargum y almidón de maíz (razón en peso de 1:1) en agua en ebullición, a una concentración del 54% en peso. Tras el enfriamiento, se añade el medio de cultivo que contiene el hongo en las mismas proporciones del agua añadida previamente. Entonces se añade Celaton FPM 0.08 a la mezcla así obtenida en cantidades del 28% en peso con respecto a esta primera mezcla, hasta obtener una pasta compacta. Se introduce esta pasta por medio de una espátula en una jeringa, luego se distribuye en cantidades regulares sobre un papel de aluminio. Tras unos cuantos minutos de secado bajo un flujo de aire a 30°C como máx., el porcentaje de humedad del producto es equivalente al 7,9% y los gránulos se separan libremente del papel de aluminio.

Tras la introducción de un gránulo en 9 ml de agua estéril y varias diluciones, es posible determinar el número de propágulos contenidos en un gránulo, que es equivalente a 8×10^3 UFC/gránulo (media aritmética de las determinaciones en cinco gránulos), lo que corresponde a un porcentaje de supervivencia del 50%. Se considera este porcentaje más que satisfactorio para el tipo de procedimiento descrito en el presente documento.

5 Ejemplo 2

Se realizó la prueba de este ejemplo usando el mismo cultivo fúngico del ejemplo 1, pero variando las proporciones en la formulación. Se mezcla una mezcla que contiene el 18% de Cleargum y el 36% de almidón de maíz en una cantidad de agua en ebullición que forma el 45% de la mezcla total. Tras el enfriamiento, se añade el medio de cultivo, que contiene el hongo, en cantidades equivalentes a la cantidad de agua añadida previamente. Entonces, se añade Celaton FPM 0.08 a la mezcla así obtenida en cantidades equivalentes al 25% en peso con respecto a esta primera mezcla, hasta que se obtiene una pasta compacta. Tras unos cuantos minutos de secado en un flujo de aire a 30°C, el porcentaje de humedad del producto es equivalente al 8,8%. Tras la disolución de un gránulo en 9 ml de agua estéril y varias diluciones, es posible determinar el número de propágulos contenidos en un gránulo. Existen 1×10^4 UFC/gránulo, lo que corresponde a un porcentaje de supervivencia del 66%. Se considera tal porcentaje óptimo para un procedimiento del tipo descrito en el presente documento.

20 Ejemplo 3

La prueba de este ejemplo se basa en el mismo cultivo fúngico del ejemplo 1, pero variando las proporciones en la formulación. Se mezcla una mezcla que contiene el 16% de Cleargum y el 31,5% de almidón de maíz con el 52,5% de agua en ebullición. Tras el enfriamiento, se añade el medio de cultivo que contiene el hongo, en cantidades equivalentes a la cantidad de agua añadida previamente. Entonces se añade una mezcla compuesta por el 54% de almidón de maíz y el 46% de Celaton FPM 0.08 a la mezcla así obtenida, en cantidades equivalentes al 45% en peso con respecto a esta primera mezcla, hasta que se obtiene una pasta compacta. Tras unos cuantos minutos de secado en un flujo de aire a 30°C, el porcentaje de humedad del producto resultante es equivalente al 9%.

Tras la disolución de un gránulo en 9 ml de agua estéril y varias diluciones, es posible determinar el número de propágulos contenidos en un gránulo, que es equivalente a $1,2 \times 10^4$ UFC/gránulo, lo que corresponde a un porcentaje de supervivencia del 83%. Se considera tal porcentaje alto, para un procedimiento del tipo descrito en el presente documento. Tras un mes de almacenamiento en un recipiente de plástico, a una temperatura comprendida entre 18 y 25°C, el porcentaje de supervivencia (número de propágulos presentes con respecto a los observados inmediatamente tras la preparación de los gránulos) era todavía muy alto, del orden de aproximadamente el 95%.

30 Ejemplo 4

Se dispersaron 150 g del producto granular obtenido en el ejemplo 3 en 1000 ml de agua a la temperatura ambiental, en condiciones de ligera agitación por medio de un agitador magnético a 500 rpm, durante 5 minutos.

Al mismo tiempo, se tratan 150 g de microgránulos de gelatina obtenidos según el ejemplo 1 del documento US2007/0292932 (referencia) en condiciones idénticas. Al final de la agitación, se observaron visualmente ambas disoluciones para evaluar el estado de disolución del producto. Tal como queda claro a partir de la figura 1, los microgránulos 1 de gelatina de referencia estaban todavía completamente enteros, sin disolver y sedimentados en la parte inferior de la disolución; por el contrario, los gránulos 2 del ejemplo 3 de la invención estaban perfectamente dispersados. (Figura 1).

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para preparar gránulos que contienen hongos filamentosos, que comprende:
 - a) mezclar un cultivo de hongos filamentosos con al menos un almidón modificado y una harina amilácea;
 - b) añadir cargas y posibles nutrientes al producto del punto a), obteniéndose una pasta que se somete posteriormente a granulación y secado.
2. Procedimiento según la reivindicación 1, en el que el hongo filamentoso pertenece a la familia Moniliales, siendo preferiblemente *Arthrobotrys conoides* Dreschsler.
3. Procedimiento según las reivindicaciones 1-2, en el que el medio de cultivo contiene una o más fuentes de carbono y/o nitrógeno, seleccionadas preferiblemente de entre: extracto de malta, extracto de levadura, melaza, sacarosa, licor de maíz fermentado.
4. Procedimiento según las reivindicaciones 1-3, en el que el almidón modificado es Cleargum y la harina amilácea es una harina de maíz.
5. Procedimiento según las reivindicaciones 1-4, en el que el almidón modificado y la harina amilácea están presentes en razones en peso comprendidas entre 30:70 y 60:40.
6. Procedimiento según las reivindicaciones 1-5, en el que la carga añadida en la etapa b) es tierra de diatomeas, y los posibles nutrientes se seleccionan de entre una o más harinas o azúcares.
7. Procedimiento según las reivindicaciones 1-6, en el que en la etapa b) a la mezcla obtenida en a) se le añade una mezcla de cargas y harinas en razones en peso variables entre 30:70 y 50:50, y opcionalmente azúcares, obteniéndose una pasta con una humedad comprendida entre el 30 y el 60%, preferiblemente entre el 35 y el 55%.
8. Procedimiento según las reivindicaciones 1-7, en el que los gránulos obtenidos en la etapa b) se secan hasta un porcentaje de humedad inferior al 13%, comprendido preferiblemente entre el 9 y el 10%.
9. Producto granular que comprende uno o más hongos filamentosos, al menos un almidón modificado, al menos una harina amilácea, cargas y posibles nutrientes adecuados.
10. Producto granular según la reivindicación 9, en el que el almidón modificado es Cleargum, la harina amilácea es harina de maíz y la carga es tierra de diatomeas y los posibles nutrientes están representados por azúcares.
11. Producto granular según las reivindicaciones 9-10, en el que el hongo filamentosos pertenece a la familia Moniliales, siendo preferiblemente *Arthrobotrys conoides* Dreschsler.
12. Uso de un producto según cualquiera de las reivindicaciones 9-11 o de una composición que comprende dicho producto, para tratar un sustrato infestado por nematodos u otros parásitos sensibles a hongos filamentosos.
13. Uso según la reivindicación 12, en el que el producto o la composición se dispersa en un medio líquido y se administra sobre el sustrato mediante pulverización.

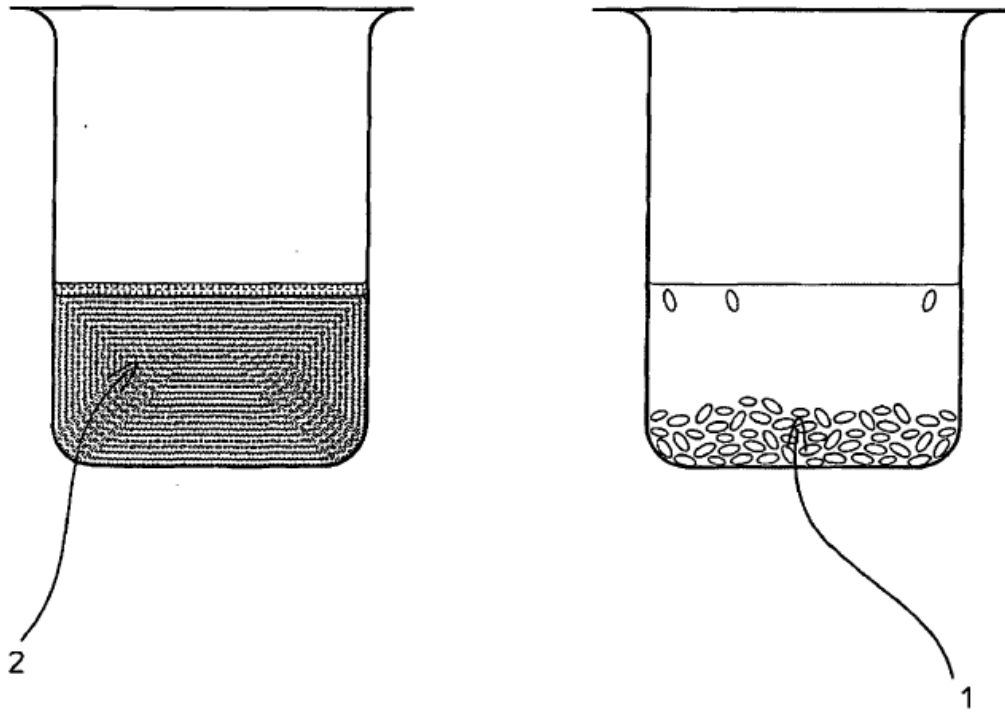


FIG. 1