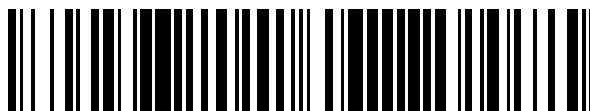


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 529 647**

51 Int. Cl.:

**A01K 67/033** (2006.01)

**A01N 63/00** (2006.01)

**A01N 35/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.10.2012 E 12189587 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.11.2014 EP 2612551**

54 Título: **Composición de ácaros que comprende un ácaro depredador y presa inmovilizada en contacto con un agente reductor fúngico y métodos y usos relacionados con el uso de dicha composición**

30 Prioridad:

**04.01.2012 US 201261583152 P**

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

**24.02.2015**

73 Titular/es:

**KOPPERT B.V. (100.0%)  
Veilingweg 14  
2651 BE Berkel en Rodenrijs, NL**

72 Inventor/es:

**BOLCKMANS, KAREL JOZEF FLORENT;  
VAN HOUTEN, YVONNE MARIA;  
VAN BAAL, ADELMAR EMMANUEL;  
TIMMER, RADBOUT y  
MOREL, DAMIEN MARC**

74 Agente/Representante:

**ZEA CHECA, Bernabé**

**ES 2 529 647 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

Composición de ácaros que comprende un ácaro depredador y presa inmovilizada en contacto con un agente reductor fúngico y métodos y usos relacionados con el uso de dicha composición

5

**[0001]** La presente invención se refiere en general al campo de la protección biológica de cultivos mediante el uso de ácaros depredadores. Más particularmente la presente invención se refiere a una composición de ácaros que comprende un ácaro depredador y una presa. Dicha composición de ácaros es adecuada para la cría del ácaro depredador y/o para la protección del cultivo usando el ácaro depredador.

10

**[0002]** El uso de ácaros depredadores para la protección biológica de cultivos cada vez es más conocido en la agricultura y horticultura. Actualmente se emplean o se han sugerido ácaros depredadores de las familias *Phytoseiidae*, *Laelapidae*, *Macrochelidae*, *Parasitidae*, *Tydeidae*, *Cheyletidae*, *Cunaxidae*, *Erythraeidae*, *Stigmaeidae* para controlar plagas tales como ácaros fitófagos, trips y moscas blancas. Un requisito previo del uso comercial de ácaros depredadores como agentes biológicos de control de plagas es su disponibilidad a un precio aceptable. Por esto, la posibilidad de producirlos eficazmente en grandes cantidades es importante.

15

**[0003]** Durante los últimos años los métodos de cría masiva han mejorado considerablemente en vista de la disponibilidad de criar presas (o como alternativa denominado como cría de hospedadores) para ácaros depredadores. Muchas de estas crías de presa recientemente disponibles son ácaros *Astigmátidos*. Por ejemplo, puede hacerse referencia a las aplicaciones internacionales de Koppert B.V., WO2006/057552, WO2006/07110 y WO2007/075081. Además, los documentos WO2008/015393, WO2008/104807 y EP2232986 desvelan combinaciones adicionales de especies de ácaros depredadores de la familia de Fitoseidos y presas de *Astigmátidos*. Se ha descubierto que dichas especies de ácaros presa *Astigmátidos* son también adecuadas para la cría masiva de especies depredadoras de otros taxones tales como especies de ácaros *Mesostigmátidos* depredadores y especies de ácaros *Prostigmátidos depredadores*.

20

**[0004]** A pesar de estos desarrollos en la disponibilidad de crías de presas, persisten determinadas limitaciones en la cría masiva de ácaros depredadores y la cría masiva se beneficiaría de la mejora de dichas limitaciones.

30

**[0005]** Por ejemplo, la cría de presas vivas también pueden ser una fuente de estrés para los ácaros depredadores debido a su actividad dinámica, a su actividad metabólica, que produce gases metabólicos y calor metabólico. Estos efectos pueden ser, en particular, muy considerables a altas densidades de población. Además, los individuos presa vivos pueden producir y secretar determinados compuestos químicos, tales como feromonas de alarma, que pueden desestabilizar a los ácaros depredadores e incluso pueden actuar como una defensa contra los depredadores atacantes. Estos factores de estrés dependientes de la densidad pueden dar como resultado una tasa de desarrollo de población más lenta y una densidad de población máxima más baja de los ácaros depredadores debido a una tasa de oviposición más baja, una supervivencia de inmaduros más baja y una longevidad más corta de ácaros depredadores adultos. Las soluciones de la invención, adecuadas para eliminar o mitigar estos factores de estrés, permitirán conseguir densidades de población de cría más elevadas y una tasa de desarrollo de población más rápida.

35

40

**[0006]** El documento EP 2 380 436 desvela una composición de ácaros que comprende una población de una especie depredadora de *Fitoseidos* y una población de una especie de *Astigmátidos* y un método para criar ácaros depredadores *Fitoseidos* usando la composición. La composición se caracteriza por que la población de las especies de *Astigmátidos* no está viva. No estar vivo significa que no hay individuos *Astigmátidos* del todo vivos (la presa está totalmente inerte).

45

**[0007]** La composición del documento EP 2 380 436 y su uso en la cría de un depredador *Fitoseido* puede reducir o eliminar posiblemente factores de estrés desestabilizadores inducidos por la presa viva. Sin embargo, aunque posiblemente se resuelvan determinados problemas, esta composición también tiene importantes desventajas. Los autores de la presente invención han descubierto que los ácaros *Astigmátidos* muertos también son un buen sustrato fúngico y promueven el crecimiento fúngico. Este problema no se registra en la técnica anterior. El crecimiento fúngico extensivo influye negativamente en la tasa de desarrollo de la población y en la densidad de población máxima de los ácaros depredadores.

50

55

**[0008]** La presente invención se basa en el hallazgo de que cuando se crían ácaros depredadores en una población de cría de presas que comprende un número sustancial de individuos presa, muertos o de otra manera inmovilizados, se requiere una reducción fúngica adecuada y que la reducción fúngica adecuada puede obtenerse con un agente reductor fúngico que comprende una población de ácaros reductores fúngicos seleccionada de una especie de ácaros micófagos o de una especie de ácaros productores de exudados antifúngicos.

60

**[0009]** Por lo tanto, de acuerdo con un primer aspecto, la invención se refiere a una composición de ácaros que comprende:

65

- una población de individuos de una especie de ácaros depredadores;
- una fuente de alimento para los individuos depredadores que comprende individuos de al menos una especie de ácaros *Astigmátidos*, en la que al menos una fracción de los individuos *Astigmátidos* está inmovilizada;
- opcionalmente una fuente de alimento adecuada para individuos *Astigmátidos*;
- 5 - y opcionalmente un soporte para los individuos de las especies de ácaros;

en la que los individuos *Astigmátidos* inmovilizados, y opcionalmente la fuente de alimento opcional para los individuos *Astigmátidos*, se ponen en contacto con un agente reductor fúngico que comprende una población de ácaros reductores fúngicos seleccionada de una especie de ácaros micófagos o una especie de ácaros productores de exudados antifúngicos, seleccionándose preferentemente dicha población de ácaros reductores fúngicos de especies de *Astigmátidos*.

**[0010]** La composición comprende individuos de una población de un ácaro depredador. Como sabe el experto en la técnica, el hábitat natural de los ácaros depredadores Fitoseidos son plantas donde se apresan a organismos 15 plaga (insectos y ácaros). Pueden aislarse de sus hábitats naturales como describen Moraes et al., 2004. Los ácaros depredadores que son particularmente útiles en la presente invención pueden seleccionarse de especies de ácaros depredadores *Mesostigmátidos*, especies de ácaros depredadores *Prostigmátidos*, en particular:

- Especies de ácaros *Mesostigmátidos* seleccionadas de:

20

i) *Phytoseiidae* tales como de:

- la subfamilia de *Amblyseiinae*, tal como del género *Amblyseius*, por ejemplo, *Amblyseius andersoni*, *Amblyseius aerialis*, *Amblyseius swirskii*, *Amblyseius herbicolus* or *Amblyseius largoensis*, del género *Euseius*, por ejemplo, *Euseius finlandicus*, *Euseius hibisci*, *Euseius ovalis*, *Euseius victoriensis*, *Euseius stipulatus*, *Euseius scutalis*, *Euseius tularensis*, *Euseius addoensis*, *Euseius concordis*, *Euseius ho* o *Euseius citri*, del género *Neoseiulus*, por ejemplo, *Neoseiulus barkeri*, *Neoseiulus californicus*, *Neoseiulus cucumeris*, *Neoseiulus longispinosus*, *Neoseiulus womersleyi*, *Neoseiulus idaeus*, *Neoseiulus anonymus*, *Neoseiulus paspalivorus*, *Neoseiulus reductus* o *Neoseiulus fallacis*, del género *Amblydromalus*, por ejemplo, *Amblydromalus limonicus*, del género *Typhlodromalus*, por ejemplo, *Typhlodromalus aripo*, *Typhlodromalus laila* o *Typhlodromalus peregrinus*, del género *Typhlodromips*, por ejemplo, *Typhlodromips montdorensis*, del género *Phytoseiulus*, por ejemplo, *Phytoseiulus persimilis*, *Phytoseiulus macropilis*, *Phytoseiulus longipes*, *Phytoseiulus fragariae*;
- la subfamilia de *Typhlodrominae*, tal como del género *Galendromus*, por ejemplo, *Galendromus occidentalis*, del género *Typhlodromus*, por ejemplo, *Typhlodromus pyri*, *Typhlodromus doreenae* o *Typhlodromus athiasae*;

ii) *Ascidae* tales como del género *Proctolaelaps*, tal como, *Proctolaelaps pygmaeus* (Muller); del género *Blattisocius*, por ejemplo, *Blattisocius tarsalis* (Berlese), *Blattisocius keegani* (Fox); del género *Lasioseius*, por ejemplo, *Lasioseius fimetorum* Karg, *Lasioseius floridensis* Berlese, *Lasioseius bispinosus* Evans, *Lasioseius dentatus* Fox, *Lasioseius scapulatus* (Kenett), *Lasioseius athiasae* Nawar & Nasr; del género *Arctoseius*, por ejemplo, *Arctoseius semiscissus* (Berlese); del género *Protogamasellus*, por ejemplo, *Protogamasellus dioscorus* Manson;

iii) *Laelapidae* tal como del género *Stratiolaelaps* por ejemplo, *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) (también dentro del género *Hypoaspis*); *Geolaelaps*, por ejemplo, *Geolaelaps aculeifer* (Canestrini) (también dentro del género *Hypoaspis*); *Androlaelaps*, por ejemplo, *Androlaelaps casalis* (Berlese);

iv) *Macrochelidae* tal como del género *Macrocheles*, por ejemplo, *Macrocheles robustulus* (Berlese), *Macrocheles muscaedomesticae* (Scopoli), *Macrocheles matrix* (Hull);

v) *Parasitidae*, tal como del género, *Pergamasus*, por ejemplo, *Pergamasus quisquiliarum* Canestrini; *Parasitus*, por ejemplo, *Parasitusfimetorum* (Berlese), *Parasitus bituberosus* Karg;

- Especies de ácaros *Prostigmátidos* tales como de:

vi) *Tydeidae*, tal como del género *Homeopronematus*, por ejemplo, *Homeopronematus anconai* (Baker); del género *Tydeus*, por ejemplo, *Tydeus lambi* (Baker), *Tydeus caudatus* (Dugés), *Tydeus lambi* (Baker); del género *Pronematus*, por ejemplo, *Pronematus ubiquitous* (McGregor);

vii) *Cheyletidae*, tal como del género *Cheyletus* por ejemplo, *Cheyletus eruditus* (Schrank), *Cheyletus malaccensis* Oudemans;

viii) *Cunaxidae*, tal como del género *Coleoscurus*, por ejemplo, *Coleoscurus simplex* (Ewing), del género *Cunaxa*, por ejemplo, *Cunaxa setirostris* (Hermann);

ix) *Erythraeidae*, tal como del género *Balaustium*, por ejemplo, *Balaustium putmani* Smiley, *Balaustium medicagoense* Meyer & Ryke, *Balaustium murorum* (Hermann);

x) *Stigmaeidae* tal como del género *Agistemus*, por ejemplo, *Agistemus exsertus* González; tal como del género *Zetzellia*, por ejemplo, *Zetzellia mali* (Ewing).

65

**[0011]** Cuando se selecciona como una especie de *Fitoseido*, la especie de ácaro es preferentemente una especie de *Fitoseido* seleccionada de *Amblyseius swirskii*, *Amblyseius aerialis*, *Amblyseius andersoni*, *Neoseiulus barkeri*, *Neoseiulus californicus*, *Neoseiulus cucumeris*, *Neoseiulus fallacis*, *Typhlodromips montdorensis* o *Amblydromalus limonicus*.

5

**[0012]** Como se usa en relación con la presente invención, los nombres de las subfamilias, géneros y especies de ácaros *Fitoseidos* se refieren a los de Moraes, G.J. et al., 2004, a menos que se indique otra cosa. Para las especies de otras familias véase Gerson U., Smiley R.L y Ochoa R., 2003, *Mites (Acari) for pest control* (Blackwell Publishing). Debe observarse que, en determinadas especies de ácaros, pueden estar en uso nombres alternativos y equivalentes. Por ejemplo, como sabe el experto en la técnica *Amblydromalus limonicus* también se conoce por los nombres alternativos y equivalentes *Amblyseius limonicus* y *Typhlodromalus limonicus*.

**[0013]** La población del depredador es preferentemente una población de crías. En esta descripción, el término cría debe entenderse que incluye la propagación y aumento de una población mediante reproducción sexual. Una población de crías puede comprender adultos sexualmente maduros de ambos sexos, y/o individuos de ambos sexos de otros estadios de vida, por ejemplo, huevos, larvas y/o ninfas, que puede madurar hasta adultos sexualmente maduros. Como alternativa, la población de crías puede comprender una o más hembras fertilizadas. En esencia una población de crías puede aumentar el número de sus individuos mediante reproducción sexual.

**[0014]** La composición de ácaros comprende adicionalmente una fuente de alimento para los individuos depredadores que comprende individuos de al menos una especie de ácaros *Astigmátidos*. Los individuos de uno o más estadios de vida de la especie de ácaros *Astigmátidos* selecciona deben ser presas adecuadas (fuente de alimento) para los individuos del predador seleccionado. La selección de ácaros *Astigmátidos* como una presa para los depredadores seleccionados se encuentra dentro del ámbito del conocimiento del experto en la técnica. Los ácaros *Astigmátidos* pueden aislarse de sus hábitats naturales como describe Hughes A.M, 1977, y pueden mantenerse y cultivarse como describen Parkinson, C.L. (1992) y Solomon, M. E. & Cunnington, A. M. (1963).

**[0015]** Las especies de ácaros *Astigmátidos* pueden seleccionarse de:

- 30 i) *Carpoglyphidae* tal como del género *Carpoglyphus*, por ejemplo, *Carpoglyphus lactis*;  
 ii) *Pyroglyphidae*, tal como del género *Dermatophagoides*, por ejemplo, *Dermatophagoides pteronysinus*, *Dermatophagoides farinae*; del género *Euroglyphus*, por ejemplo, *Euroglyphus longior*, *Euroglyphus maynei*; del género *Pyroglyphus*, por ejemplo, *Pyroglyphus africanus*;  
 35 iii) *Glycyphagidae* tal como de la subfamilia *Ctenoglyphinae*, tal como del género *Diamesoglyphus* por ejemplo, *Diamesoglyphus intermedius*, del género *Ctenoglyphus*, por ejemplo, *Ctenoglyphus plumiger*, *Ctenoglyphus canestrinii*, *Palmifer Ctenoglyphus*; la subfamilia *Glycyphaginae*, tal como del género *Blomia*, por ejemplo, *Blomia freemani* o del género *Glycyphagus*, por ejemplo *Glycyphagus ornatus*, *Glycyphagus bicaudatus*, *Glycyphagus privatus*, *Glycyphagus domesticus*, o del género *Lepidoglyphus* por ejemplo *Lepidoglyphus michaeli*, *Lepidoglyphus fustifer*, *Lepidoglyphus destructor*, o del género *Austroglycyphagus*, por ejemplo  
 40 *Austroglycyphagus geniculatus*; de la subfamilia *Aëroglyphinae*, tal como del género *Aëroglyphus*, por ejemplo *Aëroglyphus robustus*; de la subfamilia *Labidophorinae*, tal como del género *Gohieria*, por ejemplo *Gohieria fusca*; o de la subfamilia *Nycteriglyphinae* tal como del género *Coproglyphus*, por ejemplo *Coproglyphus stammerior* de la subfamilia *Chortoglyphidae*, tal como del género *Chortoglyphus* por ejemplo *Chortoglyphus arcuatus* y más preferentemente se selecciona de la subfamilia *Glycyphaginae*, más preferentemente se  
 45 selecciona del género *Glycyphagus* o del género *Lepidoglyphus* más preferentemente se selecciona de *Glycyphagus domesticus* o *Lepidoglyphus destructor*;  
 iv) *Acaridae* tal como del género *Tyrophagus*, por ejemplo, *Tyrophagus putrescentiae*, *Tyrophagus tropicus*; del género *Acarus* por ejemplo *Acarus siro*, *Acarus farris*, *Acarus gracilis*; del género *Lardoglyphus* por ejemplo, *Lardoglyphus konoii*, del género *Thyreophagus*, tal como *Thyreophagus entomophagus*; del género  
 50 *Aleuroglyphus*, por ejemplo *Aleuroglyphus ovatus*.  
 v) *Suidasiidae* tal como del género *Suidasia*, tal como *Suidasia nesbiti*, *Suidasia pontifca* o *Suidasia medanensis*.

**[0016]** En Hughes (1977) se expone una referencia con los *Astigmata*. Los ácaros *Astigmátidos* preferidos pueden seleccionarse de *Lepidoglyphus destructor*, *Carpoglyphidae* tal como del género *Carpoglyphus* por ejemplo, *Carpoglyphus lactis*, del género *Thyreophagus*, tal como *Thyreophagus entomophagus*, *Acaridae*, *Suidasia pontifica* o *Suidasia medanensis*. O de *Blomia spp.*

**[0017]** De acuerdo con la presente invención al menos una fracción de los individuos *Astigmátidos* está inmovilizada. Dentro del contexto de la presente invención el término inmovilizado debe interpretarse que significa que los individuos *Astigmátidos* se han sometido a un tratamiento de inmovilización. Un tratamiento de inmovilización debe considerarse que significa un tratamiento que afecta a la movilidad que tiene un individuo *Astigmátido* en cualquiera de sus estadios de vida. Siendo la movilidad la capacidad de moverse espontánea e independientemente.

65

- [0018]** Un experto en la técnica es consciente de que los estadios de vida de los ácaros *Astigmátidos* que son móviles son las larvas, las ninfas y los adultos. Por tanto debe considerarse que los tratamientos que afectan a la movilidad de cualquiera de estos estadios son un tratamiento de inmovilización. Además, los tratamientos que impiden que los individuos se desarrollen desde un estadio de vida no móvil, tal como del estadio de huevo a un estadio de vida móvil, también debe considerarse como un tratamiento de inmovilización. De acuerdo con una realización preferida la población de individuos ácaros *Astigmátidos* inmovilizados comprende huevos, larvas, ninfas o adultos, preferentemente todos estos estadios de vida. De acuerdo con una realización adicional preferida, los individuos *Astigmátidos* están permanentemente inmovilizados. Un tratamiento que produce la muerte puede considerarse un tratamiento de inmovilización permanente.
- [0019]** En la invención, los individuos *Astigmátidos* puede inmovilizarse mediante un tratamiento de inmovilización seleccionado de tratamiento térmico, tal como congelación, calentamiento, tratamiento de choque frío o de choque térmico; tratamiento químico, tal como tratamiento con gas o con humo, por ejemplo, asfixia con gas o tratamiento con humo de alcohol o éter, preferentemente tratamiento con humo de etanol; por tratamiento con radiación, tal como UV, microondas o tratamiento con rayos X; por tratamiento mecánico, tal como sacudida, o agitación, intensa, por sometimiento a fuerzas de cizalla, colisión; tratamiento con gas a presión, tal como tratamiento con ultrasonidos, cambios de presión, preferentemente caídas de presión; por tratamiento eléctrico, tal como, electrocución; inmovilización con un adhesivo; o inmovilización por inanición, tal como inducida por falta de agua y alimento; inmovilización por asfixia, tal como por eliminación temporal de oxígeno de la atmósfera o reemplazando el oxígeno por otro gas. El experto en la materia entenderá esto y cómo estos tratamientos pueden producir la inmovilización de los individuos *Astigmátidos* y que el tratamiento de inmovilización debe ser tal que los individuos *Astigmátidos* sigan siendo una presa adecuada (fuente de alimento) para los individuos ácaros depredadores.
- [0020]** El tratamiento térmico puede realizarse sometiendo a los individuos *Astigmátidos*, durante un tiempo suficientemente prolongado, a una temperatura fuera del intervalo ambiental, de tal manera que se induce la inmovilización. La temperatura fuera del intervalo ambiental puede seleccionarse, por ejemplo, de  $\leq 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq 0\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq -1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq -2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq -3\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq -4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq -5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq -6\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq -7\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq -8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq -9\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq -10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . No hay límite inferior para la temperatura fuera del intervalo ambiental distinto de los límites prácticos y la temperatura fuera del intervalo ambiental puede ser tan baja como  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-79\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-194\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-195\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $-197\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Como alternativa la temperatura fuera del intervalo ambiental puede seleccionarse de  $\geq 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\geq 41\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\geq 42\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\geq 43\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\geq 44\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\geq 45\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\geq 46\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\geq 47\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\geq 48\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\geq 49\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\geq 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ . La temperatura fuera del intervalo ambiental puede ser tan alta como  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  o  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $75\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
- [0021]** El tratamiento químico puede realizarse sometiendo a los individuos *Astigmátidos* durante un tiempo suficientemente prolongado a un producto químico inmovilizador, de tal manera que se induce la inmovilización. El producto químico inmovilizador puede estar en forma de gas o de humo, por ejemplo, un gas que produce asfixia expulsando oxígeno y/o que es tóxico, tal como  $\text{CO}_2$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{NO}_2$ . Como alternativa, el producto químico inmovilizador puede ser un producto químico diferente que se sabe que posiblemente interfiere con la fisiología del animal, por ejemplo, alcoholes, tal como etanol o metanol o combinaciones o éteres tales como dietiléter. Preferentemente, el producto químico inmovilizador no deja trazas tóxicas, de manera que los individuos *Astigmátidos* inmovilizados sirven como una fuente de alimento para los ácaros depredadores.
- [0022]** El tratamiento con radiación puede realizarse sometiendo a los individuos *Astigmátidos* durante un tiempo suficientemente prolongado a radiación inmovilizadora, de tal manera que se induce la inmovilización. La radiación inmovilizadora puede seleccionarse de radiación UV, Rayos X o microondas.
- [0023]** La inmovilización por medios mecánicos puede realizarse mediante cualquier medio mecánico que disipe suficiente energía para producir un efecto inmovilizador. Esto puede realizarse sacudiendo o agitando intensamente, especialmente en presencia de partículas que pueden colisionar con los ácaros a inmovilizar. La colisión también puede efectuarse por aceleración de los ácaros mediante una corriente de gas y colisión contra diversos objetos bloqueando parcialmente al menos el flujo de gas, o llevando a los ácaros a un flujo de gas turbulento, preferentemente junto con partículas adicionales transportadas por el flujo de gas turbulento (tal como un flujo de aire turbulento) y permitiendo que los ácaros colisionen con estas partículas. También puede usarse como alternativa tratamiento con ultrasonido.
- [0024]** De acuerdo con una realización diferente, los ácaros *Astigmátidos* pueden inmovilizarse con un adhesivo. Por ejemplo, haciendo que se adhieran a una superficie, o como alternativa haciendo que sus patas sean pegajosas, afectando por tanto a su movilidad.
- [0025]** La inanición puede ser un medio adicional para conseguir la inmovilización. La inanición puede efectuarse por falta de agua o alimento. La falta de agua y alimento debe considerarse la circunstancia en la que la cantidad disponible de agua o alimento es menor que la cantidad necesaria para el metabolismo normal en las condiciones existentes en el entorno del ácaro.
- [0026]** El tratamiento de inmovilización debe ser suficientemente eficaz para inmovilizar a al menos una fracción

de los individuos ácaros *Astigmátidos*. Al menos una fracción debe entenderse que significa una fracción o sustancialmente todos. La fracción de individuos *Astigmátidos* inmovilizados puede ser  $\geq 10\%$ ,  $\geq 20\%$ ,  $\geq 30\%$ ,  $\geq 40\%$ ,  $\geq 50\%$ ,  $\geq 60\%$ ,  $\geq 70\%$ ,  $\geq 80\%$ ,  $\geq 90\%$ ,  $\geq 95\%$ , o  $\geq 97\%$ . Preferentemente la fracción de individuos *Astigmátidos* inmovilizados es de 50-90 %, más preferentemente de 70-90 %. La fracción de individuos *Astigmátidos* inmovilizados comprende uno o más estadios de vida de los ácaros *Astigmátidos* seleccionados de huevos, larvas, ninfas o adultos.

**[0027]** Por tanto, de acuerdo con la invención no es necesario que la población de los individuos *Astigmátidos* esté completamente muerta o inerte (como puede ser una fracción móvil no movilizada) para obtener efectos positivos con respecto a una reducción del estrés presentado a los depredadores por los individuos *Astigmátidos*. Además, la presencia de una pequeña población de individuos *Astigmátidos* móviles, puede presentar beneficios adicionales por su comportamiento micófago, producción de exudados antifúngicos y/o abastecimiento de una fuente de alimento fresco (vivo) como se analiza más adelante. Además, los individuos *Astigmátidos* inmovilizados no requieren estar metabólicamente inactivos. Determinados tratamientos inmovilizadores pueden permitir aún la actividad metabólica aunque afecten a la movilidad. Los individuos *Astigmátidos* inmovilizados metabólicamente activos también pueden considerarse como una fuente de alimento fresco para los depredadores. De acuerdo con la invención, los individuos *Astigmátidos* inmovilizados y cualquiera de los individuos no inmovilizados, cuando están presentes, pueden ser de la misma especie. Sin embargo, de acuerdo con determinadas realizaciones, como alternativa, los individuos *Astigmátidos* inmovilizados y cualquiera de los individuos no inmovilizados, cuando están presentes, pueden ser de diferentes especies. Esto crea variabilidad en la selección de las especies de *Astigmátidos* presentes en la composición. Los individuos de determinadas especies podrían preferirse para su uso como una fuente de alimento inmovilizado, mientras que pueden preferirse individuos de otras especies para funciones realizadas por individuos vivos, tal como la reducción fúngica.

**[0028]** En la composición de acuerdo con la invención, la proporción de individuos depredadores con respecto a individuos *Astigmátidos* puede ser de aproximadamente 100:1 a 1:100, tal como de aproximadamente 1:1 a 1:50, por ejemplo, de aproximadamente 1:4, 1:10, 1:20 o 1:30. Por tanto, la composición de acuerdo con la invención puede contener proporciones más bajas de individuos depredadores con respecto a individuos *Astigmátidos*. Por tanto, los depredadores disponen de más presas. Esto es beneficioso cuando se crían ácaros depredadores.

**[0029]** Como se indicó anteriormente, con la composición de la presente invención pueden sustentarse densidades de depredadores más elevadas en un medio que comprenda un soporte. Por tanto, de acuerdo con una realización preferida, la composición comprende un soporte y contiene  $\geq 10$ ,  $\geq 50$ ,  $\geq 100$ ,  $\geq 150$ ,  $\geq 200$ ,  $\geq 250$ ,  $\geq 300$ ,  $\geq 350$ ,  $\geq 400$ , hasta 450 individuos depredadores, preferentemente individuos Fitoseidos, por ml de soporte.

**[0030]** Para la reducción fúngica, los individuos *Astigmátidos* inmovilizados se ponen en contacto con un agente reductor fúngico que comprende una población de ácaros reductores fúngicos seleccionada de una especie de ácaro micófago o una especie de ácaro productora de exudados antifúngicos. En la puesta en contacto de los individuos *Astigmátidos* inmovilizados con el agente reductor fúngico, se permite que el agente reductor fúngico tenga acceso a los individuos *Astigmátidos* inmovilizados, preferentemente individuos *Astigmátidos* sustancialmente todos inmovilizados, de tal manera que ejerce su acción antifúngica. La puesta en contacto con el agente reductor fúngico es por tanto tal que se obtiene un efecto reductor fúngico. Como sabrá el experto en la técnica este efecto reductor fúngico debe ser suficiente para permitir la cría del depredador en la composición. Debido a la puesta en contacto de los individuos *Astigmátidos* inmovilizados con el agente reductor fúngico, cualquier material asociado con los individuos *Astigmátidos* inmovilizados, tal como la fuente de alimento para estos individuos *Astigmátidos*, también puede ponerse en contacto con el agente reductor fúngico y por tanto puede someterse eficazmente a un tratamiento reductor fúngico.

**[0031]** Un agente reductor fúngico es cualquier agente que reduce el crecimiento de hongos, por ejemplo, ralentizando e impidiendo el crecimiento de hongos, tal como interfiriendo con el metabolismo fúngico o reduciendo el crecimiento fúngico por destrucción de biomasa fúngica.

**[0032]** El agente reductor fúngico comprende un agente reductor fúngico biológico que comprende una población de ácaros reductores fúngicos seleccionada de una especie de ácaro micófago o una especie de ácaro productora de exudados antifúngicos. Los ácaros fungívoros (o micófagos) son ácaros que se alimentan de biomasa fúngica y por tanto pueden reducir y controlar el crecimiento fúngico. Preferentemente, los individuos ácaros fungívoros son de una especie de *Astigmátidos*, tal como de una especie seleccionada de los *Acaridae*, tal como, *Tyrophagus putrescentiae*, *Thyreophagus entomophagus*, *Acarus farris*, *Acarus siro*, *Aleuroglyphus ovatus*; *Glycyphagidae*, tal como *Lepidoglyphus destructor*, *Glycyphagus domesticus*; *Carpoglyphidae*, tal como *Carpoglyphus lactis*; *Suiidasidae*, tal como *Suiidasia pontifica*, *Suiidasia medanensis*, *Suiidasia nesbiti*; *Pyroglyphidae*, tal como *Dermatophagoides farinae*, *Dermatophagoides pteronyssinus*. El experto en la técnica sabrá que para realizar su función micófaga los individuos acarívidos fungívoros deben estar vivos y preferentemente deben ser móviles. Los individuos fungívoros móviles pueden formar al menos una parte de la fracción no inmovilizada de los individuos *Astigmátidos*.

**[0033]** El agente reductor fúngico biológico también puede seleccionarse como una población de una especie de ácaro productora de exudados antifúngicos, tales como citral, neral, geranial, farnesal,  $\alpha$ -acaradial o  $\beta$ -acaradial. Dichas especies de ácaros productoras de exudados antifúngicos pueden seleccionarse del orden *Astigmata* preferentemente de *Lepidoglyphus destructor*, *Acarus siro*, *Lardoglyphus konoj*, *Caloglyphus polyphyllae*;  
 5 *Tyrophagus putrescentiae*, *Tyrophagus neiswanderi*, *Tyrophagus perniciosus*; *Rhizoglyphus robini*; del género *Carpoglyphidae*, tal como *Carpoglyphus lactis*; de *Suiidasidae*, tal como *Suiidasia pontifica*, *Suidasia medanensis*, *Suiidasia nesbiti*. No es necesario que los individuos ácaros productores de exudados antifúngicos sean móviles. Determinados tratamientos inmovilizadores, tales como inmovilización usando un adhesivo o determinadas técnicas de inmovilización mecánica, pueden permitir aún la actividad metabólica de los ácaros productores de exudados  
 10 antifúngicos, por tanto también se permite la producción de exudados antifúngicos. Sin embargo, se prefiere que, cuando se usen, los individuos ácaros productores de exudados antifúngicos sean móviles. De esta manera los exudados antifúngicos pueden distribuirse de un modo más eficaz en la composición. Los individuos ácaros móviles productores de exudados antifúngicos pueden constituir al menos una parte de la fracción no inmovilizada de los individuos *Astigmátidos*.

15 **[0034]** Se prefiere que la selección de una especie de ácaro fungívoro y de una especie de ácaro productor de exudados antifúngicos sea del orden *Astigmata*, debido a que este orden contiene muchas especies que tienen el comportamiento micófago o las actividades productoras de exudados antifúngicos que se desea. Además, las especies de este orden también sirven como presas para los individuos ácaros depredadores. Los individuos  
 20 *Astigmátidos* móviles (no inmovilizados) pueden proporcionar una fuente de alimento adicional para los individuos depredadores. Esto ofrecerá una fuente de alimento fresca a los depredadores. Esto puede ser importante para proporcionar a los depredadores nutrientes inestables, tales como vitaminas, que no pueden conservarse suficientemente en ácaros presa inmovilizados. Esto puede añadirse al estado de salud de los ácaros depredadores. Este estado de salud puede ser un factor que contribuye a la versatilidad y/o agilidad de los depredadores con  
 25 respecto a su comportamiento depredador.

**[0035]** De acuerdo con una realización de la invención la composición comprende una sustancia alimenticia adecuada para individuos *Astigmátidos*. La selección de sustancias alimenticias adecuadas se encuentra dentro del ámbito del conocimiento del experto y se desvela, por ejemplo, en los documentos WO2006/057552,  
 30 WO2006/071107, WO2007/075081, WO2008/015393, WO2008/104807 y EP2232986. La presencia de una sustancia alimenticia adecuada es beneficiosa en el caso en el que la composición comprenda individuos *Astigmátidos* vivos. Pero también en el caso en el que la composición solo comprenda individuos *Astigmátidos* muertos, la sustancia alimenticia puede estar presente en la composición debido a la transferencia de la fuente de alimento desde el medio de cría de los ácaros *Astigmátidos*.

35 **[0036]** Esta es una diferencia principal con la composición del documento EP 2 380 436 indicado anteriormente. Cualquier resto de la fuente alimenticia para los ácaros *Astigmátidos* son un posible sustrato para los hongos y promoverá el crecimiento fúngico. Por lo tanto, el documento EP 2 380 436 requiere la retirada de la fuente alimenticia. El documento EP 2 380 436 sugiere retirar la fuente alimenticia por agotamiento. Sin embargo, esto no  
 40 resulta práctico y significaría que la cría de los ácaros *Astigmátidos* debería controlarse basándose en el estado de la fuente alimenticia en lugar del desarrollo de la población de los ácaros *Astigmátidos*. En la práctica de la cría esto no es deseable. Además no sería posible un proceso continuo y la cría debería realizarse de un modo discontinuo. La retirada de la fuente de alimento mediante otro medio sería laboriosa y es propensa a la pérdida de biomasa de *Astigmátidos*, introduciendo una fuente de ineficacia. En la composición de acuerdo con la presente invención la  
 45 retirada de la fuente alimenticia no es necesaria debido al hecho de que de acuerdo con determinadas realizaciones para la reducción fúngica la fuente alimenticia puede ponerse en contacto con un agente reductor fúngico. La puesta en contacto con el agente reductor fúngico es tal que se obtiene un efecto reductor fúngico. Como sabrá el experto en la técnica este efecto reductor fúngico sería suficiente para permitir la cría del depredador en la composición.

50 **[0037]** En una realización preferida la composición comprende un soporte para los individuos de las especies de ácaros. El soporte puede ser cualquier material sólido que sea adecuado para proporcionar una superficie de soporte a los individuos. Preferentemente, el soporte proporciona un medio poroso, que permite el intercambio de gases metabólicos y calor metabólico producido por las poblaciones de ácaros y por la actividad metabólica del soporte, la fuente alimenticia para los ácaros presa *Astigmátidos* y por microorganismos que crecen en el medio. Los  
 55 ejemplos de soportes adecuados son materias vegetales tales como salvado (de trigo), serrín, sémola de mazorca de maíz, vermiculita, etcétera. Si en la composición se incluye una sustancia alimenticia adecuada para los individuos *Astigmátidos*, el propio soporte puede comprender una sustancia alimenticia adecuada. El uso de un soporte que comprenda elementos de soporte finamente divididos es muy frecuente debido a la posibilidad de mantener el cultivo de ácaros como un cultivo tridimensional.

60 **[0038]** De acuerdo con una realización preferida el soporte para los individuos de las especies de ácaros comprende elementos de soporte, preferentemente elementos de soporte que tengan un eje más largo de aproximadamente 1,0-15,0 mm, tal como de 3,0-9,0 mm y en el que el apilamiento de los elementos de soporte comprende refugios adecuados para los individuos ácaros depredadores. En términos generales, un refugio puede  
 65 definirse como un lugar de vivienda que proporciona refugio frente a las influencias externas. Los refugios del

soporte de acuerdo con la invención proporcionan esto a los individuos ácaros. Basándose en la descripción de la presente invención, en combinación con su conocimiento general habitual, el experto en la técnica podrá entender los requisitos estructurales para un refugio de ácaros. Por tanto el experto en la técnica podrá diseñar y/o seleccionar refugios de ácaros que comprendan soportes adecuados, en particular, refugios adecuados para ácaros comercialmente importantes seleccionados de ácaros depredadores o crías de presa.

**[0039]** De acuerdo con una realización de la invención el refugio puede proporcionarse en una zona en la que el material del elemento soporte protege a un individuo ácaro, cuando se localiza en esta zona, de su entorno al menos en 3 direcciones que tienen relaciones ortogonales o inversas. La protección del entorno debe entenderse como, al menos reducir, preferentemente limitar y más preferentemente eliminar sustancialmente, las interacciones externas desestabilizadoras. En particular, dichas interacciones externas desestabilizadoras las producen o efectúan otros ácaros presentes en la composición, tal como, por ejemplo, por movimiento y contacto corporal asociado con otros ácaros. Pero también puede ser, por ejemplo, una depredación canibal por individuos de la misma especie, en el caso en el que el ácaro sea un ácaro depredador. Debe entenderse que todos los ácaros depredadores, hasta cierto punto, presentan un comportamiento canibal. Dichas interacciones desestabilizadoras influyen negativamente en la tasa de desarrollo de la población porque influyen negativamente sobre una o más de la tasa de oviposición, supervivencia y longevidad de los individuos ácaros. La intensidad de estas interacciones desestabilizadoras entre individuos ácaros depredadores conoespecíficos aumentará típicamente a densidades de población más altas. Sin embargo, el productor comercial de ácaros tiene por objeto conseguir densidades de población tan altas y tasas de desarrollo de población tan altas como sea posible para reducir el coste de producción tanto como sea posible. De acuerdo con una realización de la invención puede proporcionarse refugio protegiendo a los individuos ácaros de las interacciones desestabilizadoras. Esta protección puede proporcionarse reduciendo el acceso a los individuos ácaros.

**[0040]** Como se entenderá, las direcciones que tienen relaciones ortogonales o inversas corresponden a direcciones a lo largo de 6 ejes (X positivo, X negativo, Y positivo, Y negativo, Z positivo, Z negativo) de un sistema de coordenadas tridimensional ortogonal (o cartesiano) imaginario en la dirección fuera del origen (0, 0, 0), donde el individuo ácaro está en el origen. Estas direcciones son direcciones perpendiculares (ortogonales) o inversas. En el espacio tridimensional el número máximo de estas direcciones es de 6, como se representa en la figura 1.

**[0041]** De acuerdo con una realización de la invención, cuando el individuo ácaro se localiza en una zona protegida, se protege de su entorno en al menos 3 de dichas direcciones, preferentemente en al menos 4 de dichas direcciones, más preferentemente en al menos 5 de dichas direcciones, tal como en 5 de dichas direcciones. La protección en 3 de dichas direcciones puede proporcionarse mediante una estructura similar a un rincón formado entre 3 planos tal como se presenta en la figura 2 o la estructura presentada en la figura 3. La protección en al menos 4 de dichas direcciones puede proporcionarse mediante una estructura tal como un "recuadro" abierto en 2 lados como se presenta en la figura 4. La protección en 5 direcciones puede proporcionarse en la situación de la figura 3, donde se coloca un 5º plano horizontal en la pared lateral del "recuadro" de 4 planos, de tal manera que se obtiene un cubo abierto.

**[0042]** Para proteger a los individuos ácaros de las influencias externas producidas por otros ácaros en la composición se prefiere que los refugios se dimensionen de tal manera que el volumen del refugio sea de 1-140 mm<sup>3</sup>, tal como 2-120 mm<sup>3</sup>, 2-100 mm<sup>3</sup>, 2-80 mm<sup>3</sup>, 2-70 mm<sup>3</sup>, 2-60 mm<sup>3</sup>, 2-50 mm<sup>3</sup>, 2-40 mm<sup>3</sup>, 2-30 mm<sup>3</sup>, 2-25 mm<sup>3</sup>, 2-20 mm<sup>3</sup>, 2-18 mm<sup>3</sup>, 2-16 mm<sup>3</sup>, 2-14 mm<sup>3</sup>, 2-12 mm<sup>3</sup>, 2-10 mm<sup>3</sup>, 2-8 mm<sup>3</sup>, 2-6 mm<sup>3</sup>, o 2-4 mm<sup>3</sup>. Esto reduce la posibilidad de que en un refugio existan demasiados individuos ácaros, lo que puede dar lugar a un efecto desestabilizador.

**[0043]** Es obvio que los refugios deben ser accesibles para los individuos ácaros. En este sentido debe observarse que las áreas no accesibles para los ácaros no pueden calificarse como refugios. De acuerdo con determinadas realizaciones de la invención, para tener una buena accesibilidad para los individuos ácaros, un área puede tener un acceso que tenga un diámetro de acceso de al menos 0,3- 1,2 mm, tal como 0,5-1,0 mm o 0,5-0,8 mm y un área de acceso de al menos 0,25-1,44 mm<sup>2</sup>, 0,30-1,20 mm<sup>2</sup>, 0,30-1,00 mm<sup>2</sup>, 0,30-0,80 mm<sup>2</sup>, 0,3 -0,90 mm<sup>2</sup>.

**[0044]** Los refugios de los ácaros pueden proporcionarse mediante espacios vacíos, tales como espacios vacíos formados por cuevas, recovecos, poros, cámaras, cavidades, nichos, hoyos, bolsillos, tubos, bóvedas, cubos y estructuras similares. Dichos espacios vacíos preferentemente conformados en las dimensiones presentadas anteriormente, son adecuados para el volumen y/o acceso como refugios de ácaros.

**[0045]** Los refugios para los individuos ácaros pueden presentarse sobre o en elementos de soporte individuales presentes en el apilamiento. Es decir, los elementos de soporte individuales en el apilamiento comprenden estructuras adecuadas como refugios para ácaros. Como alternativa, los refugios para ácaros pueden formarse entre elementos de soporte en el apilamiento. Es decir, en el apilamiento de elementos de soporte una pluralidad de elementos de soporte forman conjuntamente estructuras adecuadas como refugios para ácaros. Un "apilamiento de elemento de soporte" debe entenderse que significa un ordenamiento tridimensional de una multitud de elementos de soporte. La expresión "ordenamiento" incluye un ordenamiento al azar.

65



**[0046]** En la presente invención pueden usarse elementos de soporte procedentes de paja. El experto en la materia conocerá el significado del término paja y entenderá que la paja es la envoltura protectora escamosa, seca (cáscara) de las semillas de especies de gramíneas (en particular granos de cereales), o materia vegetal escamosa, seca, fina similar tal como partes de flores escamosas, o pajita cortada finamente. De acuerdo con una realización preferente la paja procede de una especie de gramínea (*Poaceae* o como alternativa *Gramineae*), más preferentemente paja de especies de cereales, tal como paja de trigo, de especies de *Oryza*, centeno, avena o mijo. Particularmente se prefieren cáscaras. Especialmente, las cáscaras de mijo tienen excelentes dimensiones externas e internas que las hacen muy adecuadas como un sustrato para la cría de ácaros proporcionando refugios adecuados.

10

**[0047]** Las especies comprendidas dentro del término mijo para la presente invención incluyen: mijo perla o Bajra (*Pennisetum glaucum*); mijo de cola de zorra (*Setaria italica*); mijo Proso, mijo común, mijo popote, mijo de cerdo o mijo blanco (*Panicum miliaceum*); mijo de dedo (*Eleusine coracana*) (conocido también como Ragi, Nachani o Mandwa en la India), mijo indio de corral o mijo de Sawa (*Echinochloa frumentacea*); mijo japonés de corral (*Echinochloa esculenta*); mijo de Kodo (*Paspalum scrobiculatum*); mijo pequeño (*Panicum sumatrense*); mijo de Guinea (*Brachiaria deflexa* = *Urochloa deflexa*); mijo marrón (*Urochloa ramosa* = *Brachiaria ramosa* = *Panicum ramosum*). Con frecuencia el *Teff* (*Eragrostis tef*) y el fonio (*Digitaria exilis*) también reciben el nombre de mijo, y más raramente son sorgo (*Sorghum* spp.) y Lágrimas de Job (*Coix lacrima-jobi*). Para la presente invención estas especies también se incluyen en el término mijo.

20

**[0048]** Aparte de las dimensiones de los elementos de soporte y de su configuración estructural adecuada para proporcionar refugio a los ácaros, se prefiere que los elementos de soporte sean inertes en cuanto a la biodegradación. Esto significa que el material de soporte es un sustrato malo para el crecimiento de microorganismos tales como hongos y/o bacterias. Esto ayuda a controlar el crecimiento microbiano, tal como el crecimiento fúngico, que es un posible problema en condiciones de cría de ácaros. La paja y en particular las variedades de paja preferidas indicadas anteriormente son sustratos malos para el crecimiento de microorganismos, especialmente para hongos.

25

**[0049]** De acuerdo con un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un método de cría de un ácaro depredador que comprende:

30

- (i) proporcionar una composición de acuerdo con la invención
- (ii) permitir que los individuos depredadores se alimenten de individuos de la población de *Astigmátidos*.

**[0050]** En la técnica se conocen métodos para la cría de ácaros depredadores en los que una población del depredador se pone en asociación con una población de un ácaro *Astigmátido* y en el que se permite que los individuos depredadores apresen individuos de la población de *Astigmátidos*. El método de acuerdo con la presente invención se diferencia de los métodos de la técnica anterior en que, en la composición de acuerdo con la invención, al menos una fracción de los individuos *Astigmátidos* está inmovilizada, y los individuos *Astigmátidos* inmovilizados, se ponen en contacto con un agente reductor fúngico que comprende una población de ácaros reductores fúngicos seleccionada de una especie de ácaro micófago o una especie de ácaro productor de exudados antifúngicos.

40

**[0051]** Los aspectos técnicos de la composición de acuerdo con la invención ya se han analizado anteriormente.

**[0052]** Un aspecto adicional de la invención se refiere al uso de una composición que comprende una población de individuos de al menos una especie de ácaros *Astigmátidos*, en el que al menos una fracción de los individuos *Astigmátidos* está inmovilizada, y los individuos *Astigmátidos* inmovilizados se ponen en contacto con un agente reductor fúngico que comprende una población de ácaros reductores fúngicos seleccionada de una especie de ácaro micófago o una especie de ácaro productor de exudados antifúngicos, para la cría de un ácaro depredador. Como será obvio a partir de la descripción anterior y de los experimentos indicados más adelante, el uso de una población de una especie de ácaro *Astigmátido*, en el que una fracción de los individuos *Astigmátidos* está inmovilizada, tiene determinados beneficios para la cría de un ácaro depredador.

50

**[0053]** Otro aspecto adicional de la invención se refiere a un sistema de cría para criar un ácaro depredador, comprendiendo dicho sistema un recipiente que contiene la composición de acuerdo con la invención. De acuerdo con una realización preferida el recipiente comprende preferentemente una salida para al menos un estadio de vida móvil del ácaro depredador, más preferentemente una salida adecuada para proporcionar una liberación sostenida de dicho al menos un estadio de vida móvil. De acuerdo con otro aspecto, la invención se refiere al uso de la composición de la invención o al sistema de cría de acuerdo con la invención para el control de una plaga de cultivo.

60

**[0054]** La plaga puede seleccionarse de, moscas blancas, tales como *Trialeurodes vaporariorum* o *Bemisia tabaci*; trips, tal como *Thrips tabaci* o *Frankliniella* spp., tal como *Frankliniella occidentalis*, ácaros araña tal como *Tetranychus urticae*, u otros ácaros fitófagos tal como *Polyphagotarsonemus*.

**[0055]** El cultivo puede seleccionarse, pero no está limitado a cultivos vegetales (de invernadero) tales como

65

tomates (*Lycopersicon esculentum*), pimientos (*Capsicum annum*), berenjenas (*Solanum melogena*), cucurbitáceas (*Cucurbitaceae*) tales como pepinos (*Cucumis sativa*), melones (*Cucumis melo*) sandías (*Citrullus lanatus*); judías (*Phaseolus vulgaris*); bayas (tales como fresas (*Fragaria x annanassa*), frambuesas (*Rubus ideaus*)); cultivos ornamentales (de invernadero) (tales como rosas, gerberas, crisantemos) o cultivos arbóreos tales como *Citrus spp.*

5

**[0056]** Un aspecto adicional de la invención se refiere a un método para el control biológico de plagas en un cultivo. El método comprende proporcionar a dicho cultivo la composición de la invención. La plaga y el cultivo pueden seleccionarse como se ha descrito anteriormente.

10 **[0057]** En el método de acuerdo con la invención la composición puede proporcionarse aplicando una cantidad de dicha composición en las proximidades, tal como sobre o en la base de diversas plantas de cultivo. La composición puede proporcionarse a la planta de cultivo simplemente por difusión de la misma sobre la planta de cultivo o en la base de la planta de cultivo como es una práctica habitual para el empleo de composiciones de ácaros depredadores para aumentar el control biológico de la plaga. La cantidad de la composición que puede  
15 proporcionarse a cada planta de cultivo individual por difusión puede variar 20 de 1 a 20 ml tal como de 1 a 10 ml, preferentemente de 2 a 5 ml. Como alternativa la composición puede proporcionarse a diversas plantas de cultivo en el sistema de cría de acuerdo con la invención que es adecuado para liberar el ácaro depredador en un cultivo. El sistema de cría puede colocarse en las proximidades, tal como sobre o en la base de diversos cultivos. En el método de control biológico de la plaga de acuerdo con la invención puede no ser necesario proporcionar la composición a  
20 todas las plantas del cultivo. Dado que normalmente los cultivos comerciales se cultivan a una densidad de 30. Los ácaros depredadores pueden difundirse de una planta de cultivo a otra. El número de plantas de cultivo que debe proporcionarse con la composición de acuerdo con la invención para proporcionar suficiente protección al cultivo puede depender de circunstancias específicas y puede determinarlo fácilmente un experto en la materia basándose en su experiencia en el campo. Normalmente el número de ácaros depredadores liberado por hectárea es más  
25 determinante. Este número puede variar de 1.000 a 3 millones por hectárea, típicamente de 250.000 a 1 millón o de 250.000 a 500.000.

**[0058]** La invención se ilustrará adicionalmente ahora con referencia a los ejemplos y figuras que se adjuntan. Cabe destacar que estas figuras y ejemplos son solamente ilustrativos y no pretenden limitar el ámbito de la  
30 invención como se define en las reivindicaciones.

La Figura 1 presenta un sistema de coordenadas ortogonal (cartesiano) tridimensional. A lo largo de los ejes X, Y, Z pueden definirse seis direcciones desde el origen (0, 0, 0) (a lo largo del X positivo, a lo largo del X negativo, a lo largo de Y positivo, a lo largo del Y negativo, a lo largo del Z positivo y a lo largo del Z negativo). Estas direcciones están en dirección perpendicular (ortogonal) o inversa.  
35

La Figura 2 representa una vista esquemática de un refugio en el que un individuo ácaro (1) está protegido de la interacción con su entorno en las tres direcciones indicadas con las flechas (2), (3), (4). La protección se proporciona por un plano del suelo (5), un primer plano lateral (6) y un segundo plano lateral (7). Las influencias que interaccionan todavía pueden proceder de los entornos de las direcciones indicadas con las flechas (8), (9), (10).  
40

La Figura 3 presenta una vista esquemática de un refugio alternativo en el que un individuo ácaro (1) está protegido de la interacción con su entorno en las tres direcciones indicadas con las flechas (2), (3), (4). La protección se proporciona por un plano del suelo (5), un primer plano lateral (6) y un segundo plano lateral (7). Las influencias que interaccionan todavía pueden proceder de los entornos de las direcciones indicadas con las flechas (8), (9), (10).  
45

La Figura 4 presenta una vista esquemática de un refugio en el que un individuo ácaro (1) está protegido de la interacción con su entorno en las cuatro direcciones indicadas con las flechas (2), (3), (4), (8). La protección se proporciona por un plano del suelo (5), un primer plano lateral (6), un segundo plano lateral (7) y un tercer plano lateral (11). Las influencias que interaccionan todavía pueden proceder de los entornos de las direcciones indicadas con las flechas (9), (10). Será obvio que el individuo ácaro puede protegerse adicionalmente de las interacciones de los entornos si se coloca un plano recubridor sobre los planos laterales (6), (7), (11). Además, la protección de los entornos puede potenciarse adicionalmente si se coloca un plano lateral adicional perpendicular al plano lateral (7). De esta manera el individuo ácaro (1) también se protegería del entorno en la dirección indicada por la flecha (10).  
50  
55

**[0059]** Debe entenderse que aunque todas las representaciones esquemáticas de las figuras 1-4 se presentan en geometría rectangular, pueden proporcionarse efectos protectores similares con estructuras no rectangulares tales como cuevas, recovecos, poros, cámaras, cavidades, nichos, hoyos, bolsillos, tubos, bóvedas, cubos y estructuras similares.  
60

**EJEMPLO 1**

**Configuración**

5 **[0060]** Se realizó un ensayo de formación de moho en 6 muestras de ensayo (A), (B), (C), (A+), (B+), (C+). Estas mezclas se prepararon a partir de los siguientes ingredientes (1) una población de *Carpoglyphus lactis* pura constituida por todos los estadios de vida móviles. Esta muestra no se asoció con partículas de alimento y tenía un contenido de humedad de 70 % ( $\pm 1$  %). (2) Los ácaros de (1) congelados a -20 °C en un recipiente cerrado durante 24 horas y descongelados antes de su uso. (3) consistía en *Carpoglyphus lactis* en su medio de cría (que contenía 10 partículas de salvado y alimento), congelados durante 4 días a -20 °C en un recipiente cerrado. (4) vermiculita hidratada (tamaños de partícula <2 mm, contenido de humedad del 15,8 %). Usando estos ingredientes, se prepararon diversas mezclas por duplicado en copas pequeñas. En un mismo grupo de copas, se añadieron 0,1 g ( $\pm 0,01$ g) de ácaros vivos de *Carpoglyphus lactis* (puros) a todas las mezclas. La intensidad de la formación de moho (crecimiento de micelio y esporulación) se observó el día 2, 4 y 6 a dos humedades (93 % y 85 %) y a 25 °C.

**Resultados**

**[0061]** Los resultados se presentan en siguiente la tabla 1.1.

**Tabla 1.1**

Inicio				HR 85 %		HR 93 %	
Mezcla	Soporte (4)	alimento	extra	día 4	día 6	día 4	día 6
A	-	1 g puro (2)	-	++	++	++	+++
B	-	3 g medio (3)	-	+	+++	+++	+++
C	5 g	1 g puro (2)	-	+	++	+	++
D	3 g	3 g medio (3)	-	++	+++	++	+++
A+	-	1 g puro (2)	CI vivo (1)	-	-	+	++
B+	-	3 g medio (3)	CI vivo (1)	-	-	+	-
C+	5 g	1 g puro (2)	CI vivo (1)	+	+	-	++
D+	3 g	3 g medio (2)	CI vivo (1)	-	-	-	-

- significa que no se produce moho, + se produce una pequeña cantidad, ++ se produce una cantidad mediocre y +++ se produce una cantidad máxima de moho (alimento totalmente cubierto por hongo y no accesible).

25 **[0062]** Los resultados muestran que en todas las tazas que no contenían ácaros *C. lactis* vivos a partir de 4 días en adelante se observaba claramente la formación de moho de materia orgánica. Claramente se observó que los ácaros presa congelados en forma pura eran susceptibles a la formación de moho. Cuando se incluyó medio de cría de ácaros presa, aumentó la susceptibilidad a la formación de moho. Los ácaros vivos desaparecieron cuando no se disponía de materia alimenticia (A+ y C+) y por tanto la formación de moho fue fortuita.

30 **[0063]** El tipo de formación de moho fue diferente en cuanto a la morfología. Cuando la materia orgánica estaba en estrecho contacto (sin soporte o aglomeraciones pequeñas), el micelio formó una red completa y produjo la aglomeración de la mezcla. Cuando las partículas de alimento se aislaban a través del soporte, se observaba más esporulación.

35 **[0064]** La formación de moho de todos los tipos de alimentos se observó en todas las mezclas y humedades apropiadas para la cría de ácaros depredadores. La disminución de la fracción de materia orgánica (ácaros presa o alimento para ácaros presa) disminuyó la intensidad o velocidad de formación de moho. La adición de ácaros *Carpoglyphus lactis* móviles (10 % de alimento total) redujo fuertemente el crecimiento de micelio y por lo tanto se consiguió conservar a los ácaros presa muertos disponibles para la depredación.

**EJEMPLO 2**

**Configuración**

45 **[0065]** Para inmovilizar ácaros presa, se combinaron 7,5 g de *Carpoglyphus lactis* con 0,75 g de etanol puro en frascos de 100 ml. Los frascos se cerraron y se agitaron para mezclar el contenido. Después de 2, 3 o 4 horas a temperatura ambiente, los frascos se abrieron de nuevo. Para permitir que el material respirase y permitir que se evaporase el etanol, los frascos se cerraron con tapas que contenían una malla. Los frascos se conservaron a 21 °C

y a una HR de 65-75 % durante el experimento. Para controlar la actividad de los ácaros con respecto a la movilidad, se tomaron muestras de aproximadamente 0,5 g a tiempos diferentes después de que se hubiese iniciado el tratamiento con etanol. De estas muestras se extrajeron ácaros móviles usando un embudo Berlese modificado y se realizó el recuento.

5

## Resultados

**[0066]** Los resultados se presentan en la siguiente tabla 2.1.

10

Tabla 2.1

horas después del tratamiento	horas de tratamiento	adultos	ninfas	larvas
5	2	2,0	1,0	1,0
	3	1,9	1,9	0,0
	4	6,5	3,7	0,9
27	2	4,1	4,1	0,0
	3	0,0	4,1	0,0
	4	0,0	0,0	0,0
52	2	32,1	30,2	3,8
	3	13,8	11,8	11,8
	4	4,0	4,0	0,0
77	2	29,0	15,5	7,7
	3	25,8	31,3	20,3
	4	5,5	1,8	23,9
142	2	180,1	819,9	205,5
	3	228,4	325,3	76,1
	4	4,0	127,5	45,8
190	2	395,9	1165,3	516,3
	3	221,5	912,3	133,8
	4	224,3	1366,9	195,0

**[0067]** La tabla muestra el número de ácaros que mostró actividad visible (por gramo de medio a diferentes momentos después de aplicar el etanol). El material no tratado daría lugar a aproximadamente 15.000 individuos activos por gramo (adultos, ninfas y larvas combinados). Dos horas después de aplicar el etanol la mayoría de los ácaros aún mostraban actividad, pero principalmente con movimientos incontrolados en sus patas. Después de tres horas de exposición a etanol la mayoría de los ácaros estaban inactivos. Después de 4 horas solo algunos individuos mostraban pequeños movimientos únicamente en las patas. Después de 1 día casi todo el movimiento había cesado y solo pudo observarse un individuo ocasional moviéndose en círculo. Los primeros días apenas se observaron ácaros activos. Los ácaros que eran activos en este período lo eran en todos los estadios de vida. Después de algunos días la actividad de los ácaros se recuperó lentamente.

## EJEMPLO 3

### Configuración

25

**[0068]** La aceptación de los ácaros presa tratados con etanol por los ácaros depredadores se ensayó en un experimento de elección. Un lote de crías de *Carpoglyphus lactis* se dividió en tres grupos. Un grupo (tratamiento E) recibió un tratamiento con etanol durante tres horas como se ha descrito anteriormente. Al mismo tiempo que se aplicaba el etanol, el segundo y tercer grupo se colocó en un congelador a -18 °C. Después de 18 horas ambos grupos se sacaron del congelador. Un grupo (tratamiento FE) se sometió a un tratamiento adicional con etanol como se ha descrito anteriormente, el otro grupo (tratamiento F) no recibió tratamiento adicional. 27 horas después de haber comenzado el tratamiento de los ácaros presa, el material producido se usó en un ensayo de elección de tres vías con *A. limonicus*. Se colocaron pequeñas porciones del alimento preparado en tres círculos conectados y

30

diversos *A. limonicus* se colocaron en el centro. El día siguiente se contó el número de *A. limonicus* de cada tipo de alimento. El experimento se repitió 10 veces.

### Resultados

5 [0069] Los resultados se presentan en la figura 5 como la fracción promedio de ácaros recuperados de los alimentos tratados de modo diferente. Las barras de error representan la DT. *A. limonicus* no muestra preferencia por el alimento tratado de un modo diferente (ANOVA,  $P=0,06$ ) lo que demuestra que *Carpoglyphus lactis*, como un representante de ácaro *Astigmátido*, tratado con etanol, es igualmente aceptable como una fuente de alimento en  
10 comparación con *Carpoglyphus lactis* congelado.

### EJEMPLO 4

#### Configuración

15 [0070] En este experimento se usó exactamente el mismo material que el del experimento 3 (tratamientos E, F y FE). 27 horas después de haber comenzado el tratamiento de los ácaros presa, el material se usó para comenzar un experimento de almacenamiento en condiciones similares a las usadas para la cría de ácaros depredadores. Copas pequeñas se cargaron con 0,6 g de medio, cinco copias por tratamiento. Estas se conservaron a 25 °C y a una HR de 93 %. La calidad del medio se evaluó diariamente.  
20

#### Resultados

##### Tratamiento E

25 [0071] Después de 2 días de haber puesto las copas a 25 °C y a una HR de 93 %, algunos ácaros presa (aprox. 1 %) eran activos. El primer crecimiento fúngico se observó el día 7 con 0-5 pequeños parches de micelio por copa. En este momento había muchos ácaros presa activos, aproximadamente el 20 % del número inicial de ácaros antes del tratamiento con etanol.  
30

##### Tratamiento F

[0072] El primer crecimiento fúngico se observó el día 3 con 3-6 pequeños parches de micelio por copa. Después de 5 días el 100 % de la superficie se cubrió con micelio blanco. El día 7 esporidios verdes y amarillos cubrieron el  
35 70-100 % y el 5-20 % del área de la superficie respectivamente.

##### Tratamiento FE

[0073] El primer crecimiento fúngico se observó el día 3 en algunas copias con 0-1 pequeños parches de micelio por copa. Después de 5 días el 20 % de la superficie se cubrió con micelio blanco. El día 7 la superficie estaba totalmente cubierta con micelio blanco, y esporidios verdes y amarillos cubrieron el 20-75 % y el 1 % del área de la superficie respectivamente.  
40

[0074] Al igual que en el experimento de inmovilización (experimento 2), la actividad de los ácaros en el tratamiento E se recupera después algunos días. Este tratamiento tiene con mucho el menor desarrollo de hongos. Se piensa que esto se produce por la recuperación de la actividad de los ácaros que suprime a los hongos. Además, el propio etanol puede reducir el crecimiento fúngico. Esto se refleja por el hecho de que el tratamiento FE tiene menor crecimiento fúngico que el tratamiento F, aunque en ambos tratamientos F y FE no se observaron ácaros activos.  
45  
50

### EJEMPLO 5

#### Configuración

55 [0075] Para determinar el efecto reductor fúngico de los individuos *Astigmátidos móviles* se evaluaron los datos de formación de moho del ensayo de cría que implicaba a diversos ácaros presa *Astigmátidos*. Se recogieron y analizaron los datos de crías de *Carpoglyphus lactis* (Cl), *Lepidoglyphus destructor* (Ld), *Suidasia pontifica* (Sp), *Thyreophagus entomophagus* (Te) y *Tyrophagus putrescentiae* (Tp) implicadas.

60 [0076] En los ensayos incluidos la cría se realizó como se describe en el ejemplo 2. La formación de moho del medio se puntuó en base a los grupos de micelio. Se usó la siguiente tabla de puntuación: poco (puntuación 1), moderado (puntuación 2) o intenso (puntuación 3).

## Resultados

[0077] Las representaciones gráficas de puntos presentadas en la figura 6 muestran las puntuaciones de formación de moho en un soporte de salvado y paja de mijo (solo para Cl) en relación con las densidades de ácaros presa para las 5 especies.

[0078] El efecto reductor fúngico de los ácaros *Astigmátidos* es evidente. Algunas especies de ácaros son más eficaces que otras en cuanto a la supresión de moho. Por ejemplo, *C. lactis* y *T. entomophagous*, son eficaces en las condiciones ensayadas, a densidades > 500 ácaros/gramo, mientras que *L. destructor* y *S. pontifica* requieren densidades de > 1.000 ácaros/gramo. Los resultados también muestran que el soporte de paja es menos propenso a la formación de moho.

## EJEMPLO 6

### 15 Configuración

[0079] Se configuraron pruebas de cría de *A. swirskii* y *A. limonicus*, como representantes de ácaros depredadores de la familia *Phytoseiidae*. *C. lactis* y *T. entomophagus* se seleccionaron como representantes de ácaros presa del orden *Astigmata*.

[0080] La cría se realizó en placas de Petri (d = 25 mm, alt = 30 mm) con una tapa de nylon de malla 90um con ventilación. Estas unidades se colocaron en un envase más grande (lxaxalt = 33x20x15cm) con una solución salina saturada en la parte inferior para crear la humedad deseada. Todas las pruebas se realizaron a una HR de 85 %, excepto para las de *A. limonicus* (a una HR de 93 %). La temperatura fue de 25,0 °C (±0,3 °C) y el régimen de luz de 16/8 (L:O). El número de repeticiones por tratamiento fue de 3.

[0081] En todos los casos, como material de soporte para los ácaros se usó, salvado de trigo a una humedad del 10 % excepto para *A. limonicus* (en este caso se usó paja de mijo a un 13 % de humedad). La cría de ácaro depredador comenzó usando el mismo inóculo a una densidad relativamente baja.

[0082] Los ácaros *Astigmátidos* se criaron con dietas que contenían salvado y levadura y se les proporcionó alimento. Los ácaros presa *Astigmátidos* se ofrecieron al depredador en forma viva o viva + congelada dependiendo del ensayo. La cantidad de ácaros presa congelados fue el doble de la cantidad de ácaros presa vivos + congelados (excepto para *S. Pontifica*, en el que la cantidad de ácaros presa congelados cuadruplicaba la cantidad de ácaros presa vivos + congelados) para proporcionar el suficiente alimento pero para mantener la proporción de ácaros presa vivo con respecto a ácaros depredadores a niveles aceptables (proporción <10, preferentemente 0-5). El soporte y la presa se ofrecieron dos veces por semana en una cantidad de 50 % (p/p) del inóculo. Como fuente de alimento se presentaron individuos *Astigmátidos* inmovilizados (3-7 días a -18 °C, descongelados 1 hora antes de su uso) de especies seleccionadas o una mezcla de individuos *Astigmátidos* inmovilizados y vivos de las especies seleccionadas. Esto permitió controlar la proporción entre vivos:inmovilizados (únicamente para el tratamiento de vivos + congelados). Los ácaros *Astigmátidos* se criaron con dietas que contenían salvado y levadura.

[0083] Las pruebas duraron 18-50 días (véanse los gráficos) y dos veces por semana se tomó 1 muestra de cada unidad. Los ácaros depredadores vivos y los ácaros presa se extrajeron de esta muestra y se contaron. De esta manera, se calculó la densidad (por gramo) y la proporción (ácaros presa vivos:ácaros depredadores vivos).

## Resultados

[0084] En la figura 7 se presentan los resultados y muestran que la combinación de presa viva+inmovilizada da como resultado densidades significativamente más altas de ácaros depredadores *Fitoseidos*. Para *A. swirskii* criado sobre *C. lactis* (panel A) el aumento promedio fue del 150 %, para *A. swirskii* criado sobre *T. entomophagus* (panel B) el aumento fue de 135 % y para *A. swirskii* criado sobre *S. pontifica* (panel C) el aumento fue de 155 %. Para *A. limonicus* criado sobre *C. lactis* (panel D) este aumento fue el más alto con 270 %. Los gráficos muestran la densidad de ácaros depredadores (por gramo) (promedio ± ET) durante el transcurso de la prueba. Debajo del gráfico, se presenta el promedio por tratamiento y el valor de p del ensayo estadístico (ensayo de la T de dos muestras en comparación con los promedios).

[0085] Se puede llegar a la conclusión de que la presa *Astigmátida* inmovilizada proporciona a la cría masiva la oportunidad para alimentar a mayores cantidades de ácaros presa *Astigmátidos*, sin el riesgo de aumentar los niveles de estrés para el depredador. Esto puede dar como resultado densidades significativamente más altas de ácaros depredadores y por tanto aumentar la eficacia de la cría masiva.

**EJEMPLO 7****Configuración**

5 **[0086]** Se ensayaron dos especies de ácaros depredadores, *A. swirskii* y *A. limonicus*, con respecto a su preferencia por diferentes tipos de soportes. Se recogieron hembras maduras de aproximadamente 10 días después de iniciar la cría a partir del estadio de huevo. Los 3 soportes ofrecidos eran paja de mijo, un soporte de acuerdo con la invención, salvado de trigo, un soporte convencional y vermiculita (grano fino, todas las partículas < 2 mm), también un soporte convencional. Todos los soportes se ofrecieron simultáneamente en forma hidratada (15 ml de agua/100 g añadido). Se pusieron 2 partes de cada soporte opuestas entre sí a una distancia desde el punto de liberación (4 cm). Todos los sustratos ensayados se ofrecieron al mismo volumen de 0,5 cc (dividido en 2 partes por círculo). Al inicio del ensayo, 10 hembras y 2 machos de cada especie se pusieron en el centro de cada círculo de plástico delicado ( $\varnothing = 12$  cm). El círculo se puso en algodón hidrófilo para ofrecer agua a los ácaros depredadores y para impedir que se escapasen. Como fuente de alimento se puso polen de *Typha* en el punto de liberación. El número de repeticiones fue de 3 y cada círculo posterior se orientó con otro sustrato en posición superior (12 en punto).

10 **[0087]** El ensayo se realizó en una sala climatizada en condiciones de 25 °C, HR de 75 % y un régimen de luz de 16:8 (L: O) y la HR del círculo era de aproximadamente 85 %. Después de 2 días se contó el número de huevos de depredadores por sustrato y el número de adultos presentes (los machos se excluyeron de los datos estadísticos). Para esto todas las partículas de soporte se inspeccionaron individualmente y también se verificaron 2 días después de añadir alimento extra. Los resultados por sustrato por especie se analizaron estadísticamente usando el ensayo de bondad de ajuste de Chi cuadrado (una variable).

**25 Resultados**

30 **[0088]** En la figura 8 (panel A) se presenta el número total de hembras encontrado en cada sustrato (después de 3 repeticiones). De todas las hembras iniciales (30) se recuperó una gran fracción de individuos de los sustratos, es decir, 87 % (26 individuos) de todos los *A. limonicus* y 60 % (18 individuos) de todos los *A. swirskii*. Por tanto, incluso aunque el material se separase claramente de la fuente de alimento, la mayoría de los ácaros hembra se encontraron en este soporte. Ambos ensayos mostraron una diferencia significativa entre los materiales soporte ( $p=0,000$ ).

35 **[0089]** En el panel B de la figura 1 se muestra el número total de huevos (y crías recién eclosionadas) encontrado en cada soporte (después de 3 repeticiones). Es obvio que la aparición de ácaros hembra se correlaciona con el número de huevos depositados en los soportes. Ambos ensayos mostraron una diferencia significativa entre los materiales soporte ( $p=0,000$ ).

40 **[0090]** Los resultados indican que los materiales soporte que proporcionan refugio a los ácaros, según se representa por la paja de mijo en este experimento, son muy preferidos por especies de ácaros, tales como especies de *Fitoseidos*.

**EJEMPLO 8****45 Configuración**

50 **[0091]** Se prepararon capas finas de medio para simular una unidad de cría masiva. Se usó salvado o de paja de mijo (ambos hidratados) como material soporte. El salvado es el soporte convencional usado en la cría de ácaros comerciales. La paja es un representante de soportes de acuerdo con la invención con refugios para ácaros. Se usaron dos tipos de alimento (A y B), ambos comprendiendo *C. lactis* en forma congelada. En una cría inicial el ácaro depredador, *A. limonicus*, se crio durante > 2 generaciones sobre las capas de medio de ensayo. La cría posterior se realizó en capas de 6-7 cm de altura en cajas con ventilación (LxAxAlt=15x15x8cm) durante 2 semanas. El muestreo, la alimentación y la mezcla se realizó dos veces a la semana. El ensayo se realizó por duplicado a 21 °C y a una HR de 93 %. Cada semana se contó el número de depredadores vivos y ácaros presa de la muestra.

**55 Resultados**

60 **[0092]** Los resultados se presentan en la figura 9. Las densidades de depredador en las crías con paja aumentan durante la primera y segunda semana, sobre ambos tipos de alimento. En las mezclas de salvado, las crías se mantienen la primera semana, pero se colapsan en la segunda semana. La disminución del número de depredadores viene seguida de un aumento del número de ácaros depredadores y esto hace que la continuidad de estas mezclas de cría sean problemática. El ensayo muestra un resultado neto que es positivo para el soporte de paja en comparación con el soporte de salvado convencional.

65

**Referencias**

**[0093]**

- 5 Solomon, M.E. and Cunnington, A.M., 1963, Rearing acaroid mites, Agricultural Research Council, Pest Infestation Laboratory, Slough, England, págs 399-403.  
Parkinson, C.L., 1992, "Culturing free-living astigmátidos mites." Arachnida: Proceedings of a one day symposium on spiders and their allies held on Saturday 21st November 1987 at the Zoological Society of London, eds. Cooper, J.E., Pearce-Kelly, P., Williams, D.L., págs. 62-70.
- 10 Hughes, A.M., 1977, The mites of stored food and houses. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, Technical Bulletin No. 9: 400 págs.  
De Moraes, G.J., McMurtry, J.A., Denmark, H.A. & Campos, C.B., 2004. A revised catalog of the mite family Phytoseiidae.  
Magnolia Press Auckland New Zealand 494 págs..
- 15



## REIVINDICACIONES

## 1. Composición de ácaros que comprende:

- 5 - una población de individuos de una especie de ácaro depredador, preferentemente una especie de ácaro depredador seleccionada de la especie de ácaro *Mesostigmátido* o especie de ácaro *Prostigmátido*;  
 - una fuente de alimento para los individuos depredadores que comprende individuos de al menos una especie de ácaros *Astigmátidos*, en la que al menos una fracción de los individuos *Astigmátidos* está inmovilizada;  
 - opcionalmente una sustancia alimenticia adecuada para individuos *Astigmátidos*;  
 10 - y opcionalmente un soporte para los individuos de las especies de ácaros;

en la que los individuos *Astigmátidos* inmovilizados, y opcionalmente la fuente de alimento opcional para los individuos *Astigmátidos*, se ponen en contacto con un agente reductor fúngico que comprende una población de ácaros reductores fúngicos seleccionada de una especie de ácaros micófagos o una especie de ácaro productor de  
 15 exudados antifúngicos, seleccionándose preferentemente dicha población de ácaros reductores fúngicos de especies de *Astigmátidos*.

## 2. Composición de acuerdo con la reivindicación 1, en la que la especie de ácaro depredador se selecciona de:

- 20 - especie de ácaro *Mesostigmátido* seleccionada de:

i) *Phytoseiidae* como de:

- 25 - la subfamilia de *Amblyseiinae*, tal como del género *Amblyseius*, por ejemplo, *Amblyseius andersoni*, *Amblyseius aerialis*, *Amblyseius swirskii*, *Amblyseius herbiocolus* or *Amblyseius largoensis*, del género *Euseius*, por ejemplo, *Euseius finlandicus*, *Euseius hibisci*, *Euseius ovalis*, *Euseius victoriensis*, *Euseius stipulatus*, *Euseius scutalis*, *Euseius tularensis*, *Euseius addoensis*, *Euseius concordis*, *Euseius ho* o *Euseius citri*, del género *Neoseiulus*, por ejemplo, *Neoseiulus barkeri*, *Neoseiulus californicus*, *Neoseiulus cucumeris*, *Neoseiulus longispinosus*, *Neoseiulus womersleyi*, *Neoseiulus idaeus*, *Neoseiulus anonymus*, *Neoseiulus paspalivorus*, *Neoseiulus reductus* o *Neoseiulus fallacis*, del género *Amblydromalus*, por ejemplo, *Amblydromalus limonicus*, del género *Typhlodromalus*, por ejemplo, *Typhlodromalus aripo*, *Typhlodromalus laila* o *Typhlodromalus peregrinus*, del género *Typhlodromips*, por ejemplo, *Typhlodromips montdorensis*, del género *Phytoseiulus*, por ejemplo, *Phytoseiulus persimilis*, *Phytoseiulus macropilis*, *Phytoseiulus longipes*, *Phytoseiulus fragariae*;  
 30 - la subfamilia de *Typhlodrominae*, tal como del género *Galendromus*, por ejemplo, *Galendromus occidentalis*, del género *Typhlodromus*, por ejemplo, *Typhlodromus pyri*, *Typhlodromus doreenae* o *Typhlodromus athiasae*;

- 40 ii) *Ascidae* tales como del género *Proctolaelaps*, tal como, *Proctolaelaps pygmaeus* (Muller); del género *Blattisocius*, por ejemplo, *Blattisocius tarsalis* (Berlese), *Blattisocius keegani* (Fox); del género *Lasioseius*, por ejemplo, *Lasioseius fimetorum* Karg, *Lasioseius floridensis* Berlese, *Lasioseius bispinosus* Evans, *Lasioseius dentatus* Fox, *Lasioseius scapulatus* (Kenett), *Lasioseius athiasae* Nawar & Nasr; del género *Arctoseius*, por ejemplo, *Arctoseius semiscissus* (Berlese); del género *Protogamasellus*, por ejemplo, *Protogamasellus dioscorus* Manson;

- 45 iii) *Laelapidae* tal como del género *Stratiolaelaps* por ejemplo, *Stratiolaelaps scimitus* (Womersley) (también dentro del género *Hypoaspis*); *Geolaelaps*, por ejemplo, *Geolaelaps aculeifer* (Canestrini) (también dentro del género *Hypoaspis*); *Androlaelaps*, por ejemplo, *Androlaelaps casalis casalis* (Berlese);

- iv) *Macrochelidae* tal como del género *Macrocheles*, por ejemplo, *Macrocheles robustulus* (Berlese), *Macrocheles muscaedomesticae* (Scopoli), *Macrocheles matrius* (Hull);

- 50 v) *Parasitidae*, tal como del género, *Pergamasus*, por ejemplo, *Pergamasus quisquiliarum* Canestrini; *Parasitus*, por ejemplo, *Parasitusfimetorum* (Berlese), *Parasitus bituberosus* Karg;

- especie de ácaro *Prostigmátido* tal como de:

- 55 vi) *Tydeidae*, tal como del género *Homeopronematus*, por ejemplo, *Homeopronematus anconai* (Baker); del género *Tydeus*, por ejemplo, *Tydeus lambi* (Baker), *Tydeus caudatus* (Dugés), *Tydeus lambi* (Baker); del género *Pronematus*, por ejemplo, *Pronematus ubiquitousus* (McGregor);

- vii) *Cheyletidae*, tal como del género *Cheyletus* por ejemplo, *Cheyletus eruditus* (Schrank), *Cheyletus malaccensis* Oudemans;

- 60 viii) *Cunaxidae*, tal como del género *Coleoscurus*, por ejemplo, *Coleoscurus simplex* (Ewing), del género *Cunaxa*, por ejemplo, *Cunaxa setirostris* (Hermann);

- ix) *Erythraeidae*, tal como del género *Balaustium*, por ejemplo, *Balaustium putmani* Smiley, *Balaustium medicagoense* Meyer & Ryke, *Balaustium murorum* (Hermann);

- x) *Stigmaeidae* tal como del género *Agistemus*, por ejemplo, *Agistemus exsertus* González; tal como del género *Zetzellia*, por ejemplo, *Zetzellia mali* (Ewing).

3. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en la que al menos una especie de ácaro *Astigmátido* comprende una especie seleccionada de:

- i) *Carpoglyphidae* tal como del género *Carpoglyphus*, por ejemplo, *Carpoglyphus lactis*;
- 5 ii) *Pyroglyphidae*, tal como del género *Dermatophagoides*, por ejemplo, *Dermatophagoides pteronysinus*, *Dermatophagoides farinae*; del género *Euroglyphus*, por ejemplo, *Euroglyphus longior*, *Euroglyphus maynei*; del género *Pyroglyphus*, por ejemplo, *Pyroglyphus africanus*;
- 10 iii) *Glycyphagidae* tal como de la subfamilia *Ctenoglyphinae*, tal como del género *Diamesoglyphus* por ejemplo, *Diamesoglyphus intermedius*, del género *Ctenoglyphus*, por ejemplo, *Ctenoglyphus plumiger*, *Ctenoglyphus canestrinii*, *Ctenoglyphus palmifer*; la subfamilia *Glycyphaginae*, tal como del género *Blomia*, por ejemplo, *Blomia freemani* o del género *Glycyphagus*, por ejemplo *Glycyphagus ornatus*, *Glycyphagus bicaudatus*, *Glycyphagus privatus*, *Glycyphagus domesticus*, o del género *Lepidoglyphus* por ejemplo *Lepidoglyphus michaeli*, *Lepidoglyphus fustifer*, *Lepidoglyphus destructor*, o del género *Austroglycyphagus*, por ejemplo, *Austroglycyphagus geniculatus*; de la subfamilia *Aëroglyphinae*, tal como del género *Aëroglyphus*, por ejemplo, *Aëroglyphus robustus*; de la subfamilia *Labidophorinae*, tal como del género *Gohieria*, por ejemplo, *Gohieria fusca*; o de la subfamilia *Nycteriglyphinae* tal como del género *Coproglyphus*, por ejemplo, *Coproglyphus stammerior* de la subfamilia *Chortoglyphidae*, tal como del género *Chortoglyphus*, por ejemplo, *Chortoglyphus arcuatus* y más preferentemente se selecciona de la subfamilia *Glycyphaginae*, más preferentemente se selecciona del género *Glycyphagus* o del género *Lepidoglyphus* más preferentemente se selecciona de *Glycyphagus domesticus* o *Lepidoglyphus destructor*;
- 15 iv) *Acaridae* tal como del género *Tyrophagus*, por ejemplo, *Tyrophagus putrescentiae*, *Tyrophagus tropicus*; del género *Acarus*, por ejemplo, *Acarus siro*, *Acarus farris*, *Acarus gracilis*; del género *Lardoglyphus*, por ejemplo, *Lardoglyphus konoii*, del género *Thyreophagus*, tal como *Thyreophagus entomophagus*; del género *Aleuroglyphus*, por ejemplo, *Aleuroglyphus ovatus*.
- 20 v) *Suidasiidae* tal como del género *Suidasia*, tal como *Suidasia nesbiti*, *Suidasia pontifica* o *Suidasia medanensis*.

4. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3 en la que la proporción de individuos depredadores, preferentemente individuos *Fitoseidos* con respecto a individuos *Astigmátidos*, es de 100:1 a 1:100, tal como de 1:1 a 1:50, por ejemplo, 1:4, 1:10 ó 1:20 ó 1:30.

5. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que comprende un soporte y que contiene  $\geq 10$ ,  $\geq 50$ ,  $\geq 100$ ,  $\geq 150$ ,  $\geq 200$ ,  $\geq 250$ ,  $\geq 300$ ,  $\geq 350$ ,  $\geq 400$ , hasta 450 individuos, preferentemente individuos *Fitoseidos*, por ml de soporte.

6. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que la fracción de individuos *Astigmátidos* inmovilizada es  $\geq 10\%$ ,  $\geq 20\%$ ,  $\geq 30\%$ ,  $\geq 40\%$ ,  $\geq 50\%$ ,  $\geq 60\%$ ,  $\geq 70\%$ ,  $\geq 80\%$ ,  $\geq 90\%$ ,  $\geq 95\%$ , ó  $\geq 97\%$ .

7. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que los individuos *Astigmátidos* inmovilizados están inmovilizados por tratamiento de inmovilización seleccionado de tratamiento térmico, tal como congelación, calentamiento, tratamiento de choque frío o de choque por calor; tratamiento químico, tal como tratamiento con gas o con humo, por ejemplo, asfixia con gas o tratamiento con humo de alcohol o éter, preferentemente tratamiento con humo de etanol; por tratamiento con radiación, tal como UV, microondas o tratamiento con rayos X; por tratamiento mecánico, tal como sacudida, o agitación, intensa, colisión, o tratamiento con ultrasonidos, por tratamiento eléctrico, tal como electrocución; inmovilización con un adhesivo; o inmovilización por inanición, tal como inducida por falta de agua o alimento.

8. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en la que el soporte para los individuos de la especie de ácaro comprende elementos de soporte, preferentemente elementos de soporte que tienen un eje más largo de 1,0-15,0 mm, tal como de 3,0-9,0 mm y en la que el apilamiento de los elementos de soporte comprende refugios adecuados para los individuos ácaros depredadores.

9. Composición de acuerdo con la reivindicación 8, en la que los refugios comprenden áreas en las que el material del elemento de soporte protege a un individuo depredador, cuando se localiza en este área, de su entorno en al menos 3 direcciones que tienen relaciones ortogonales o inversas, preferentemente en al menos 4 de dichas direcciones, más preferentemente en al menos 5 de dichas direcciones.

10. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8-9, en la que los refugios comprenden espacios vacíos, tal como espacios vacíos formados por cuevas, recovecos, poros, cámaras, cavidades, nichos, hoyos, bolsillos, tubos.

11. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8-10, en la que los elementos de soporte proceden de paja, preferentemente paja de una especie de gramíneas (*Poaceae*), más preferentemente paja de una especie de cereales, tal como paja de trigo, una especie de *Oryza*, centeno, avena o mijo, en particular paja de mijo.

12. El método para criar una especie de ácaro depredador, preferentemente una especie de ácaro depredador

seleccionada de la especie de ácaro *Mesostigmátido* o especie de ácaro *Prostigmátido*, que comprende:

(i) proporcionar una composición de acuerdo con las reivindicaciones 1-11;

5 (ii) permitir a los individuos de la población de ácaros depredadores apresar individuos de la población de *Astigmátidos*.

13. Uso de una composición de acuerdo con las reivindicaciones 1-11, para criar una especie de ácaro depredador, preferentemente una especie de ácaro depredador seleccionada de especies de ácaros *Mesostigmátidos* o especies de ácaros *Prostigmátidos*.

10

14. Sistema de cría para criar una especie de ácaro depredador, preferentemente una especie de ácaro depredador seleccionada de especies de ácaros *Mesostigmátidos* o especies de ácaros *Prostigmátidos*, comprendiendo dicho sistema un recipiente que contiene la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11, comprendiendo preferentemente dicho recipiente una salida para al menos un estadio de vida móvil de la especie de

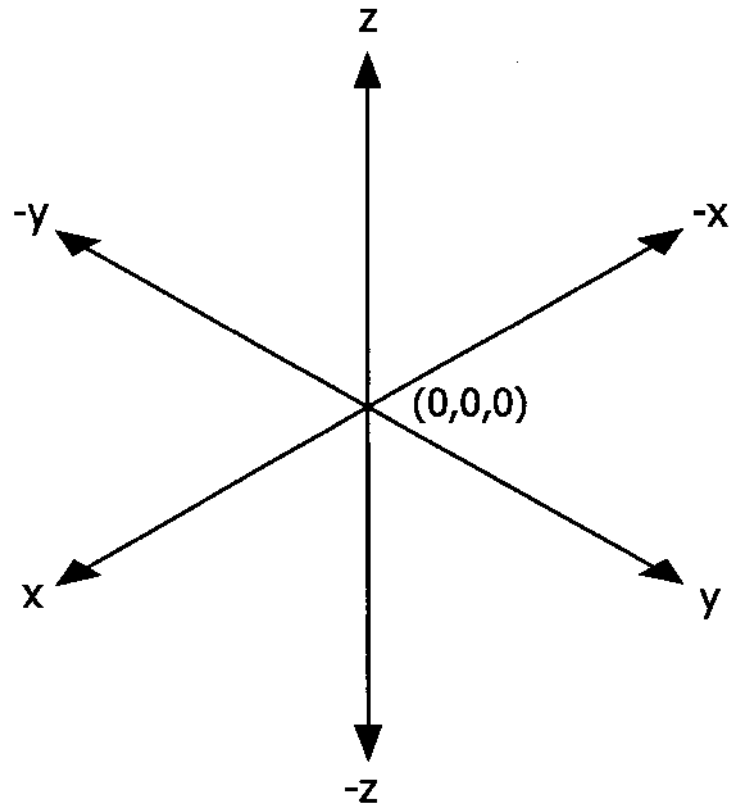
15

ácaro depredador, más preferentemente una salida adecuada para proporcionar una liberación sostenida de dicho al menos un estadio de vida móvil.

15. Uso de la composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11 o el sistema de cría de acuerdo con la reivindicación 14, para el control de una plaga de cultivo.

20

16. Método para el control biológico de plagas en un cultivo que comprende proporcionar a dicho cultivo una composición de acuerdo con las reivindicaciones 1-11.



**FIG. 1**

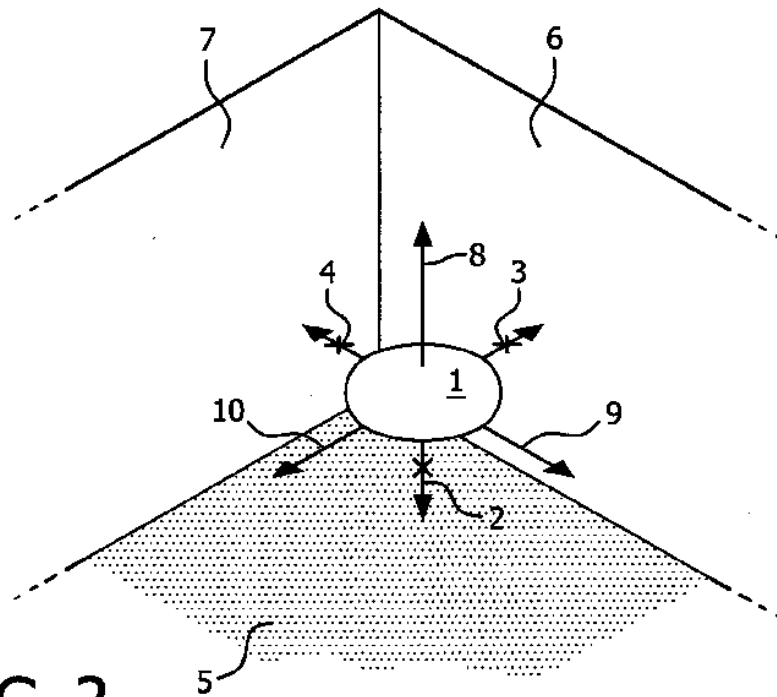


FIG. 2

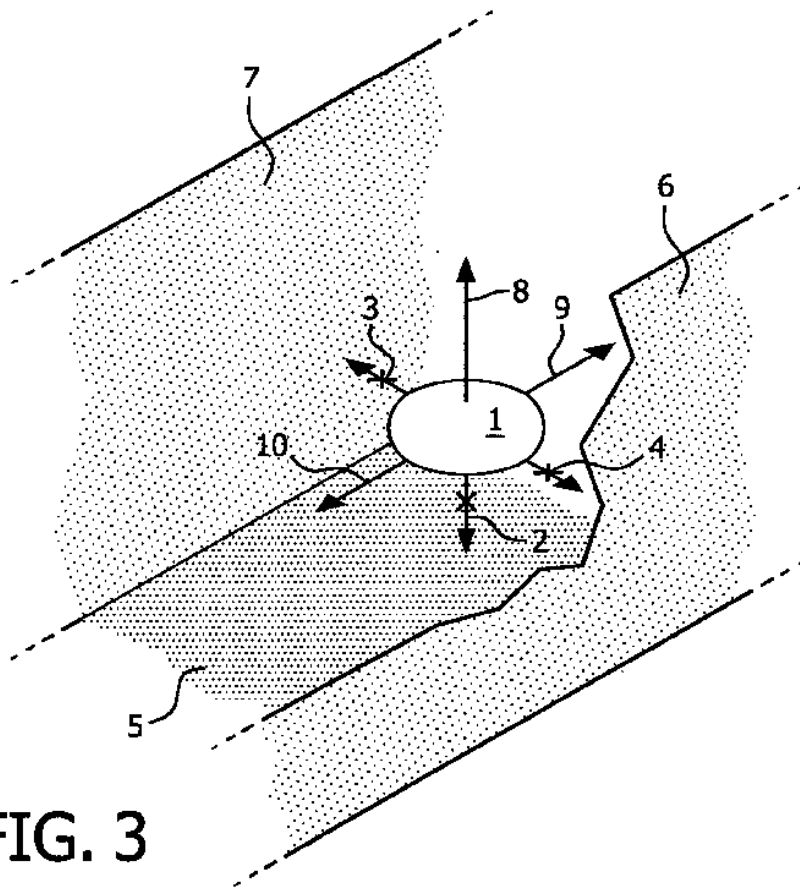


FIG. 3

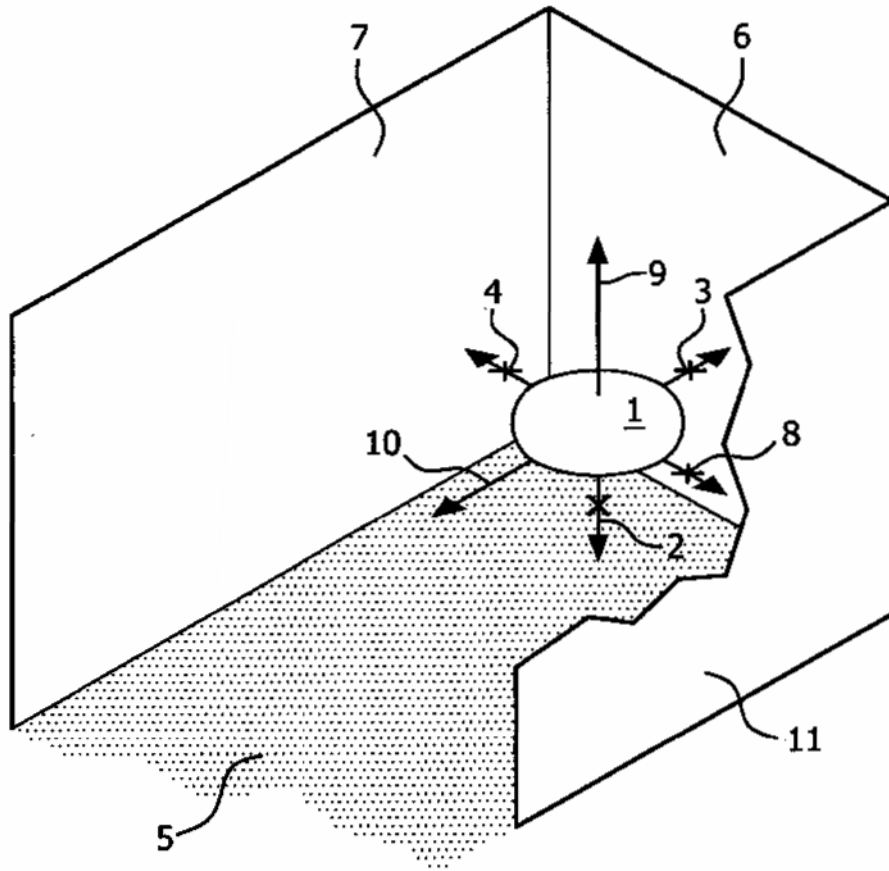


FIG. 4

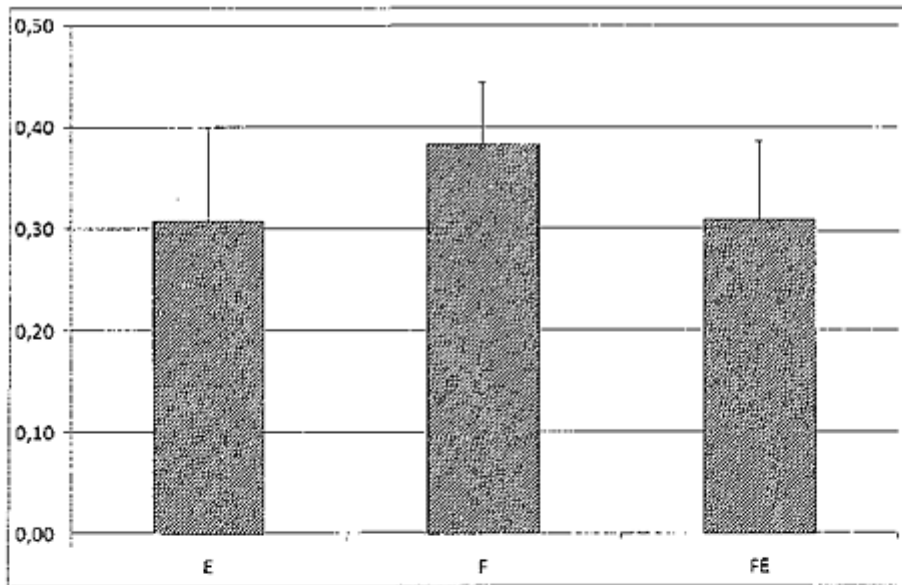


FIG. 5

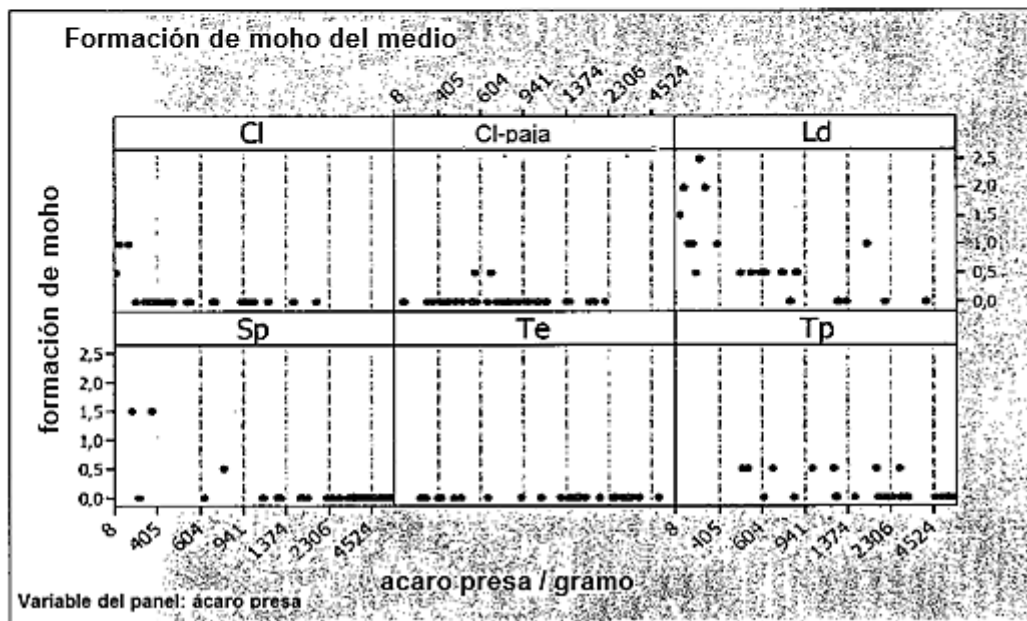
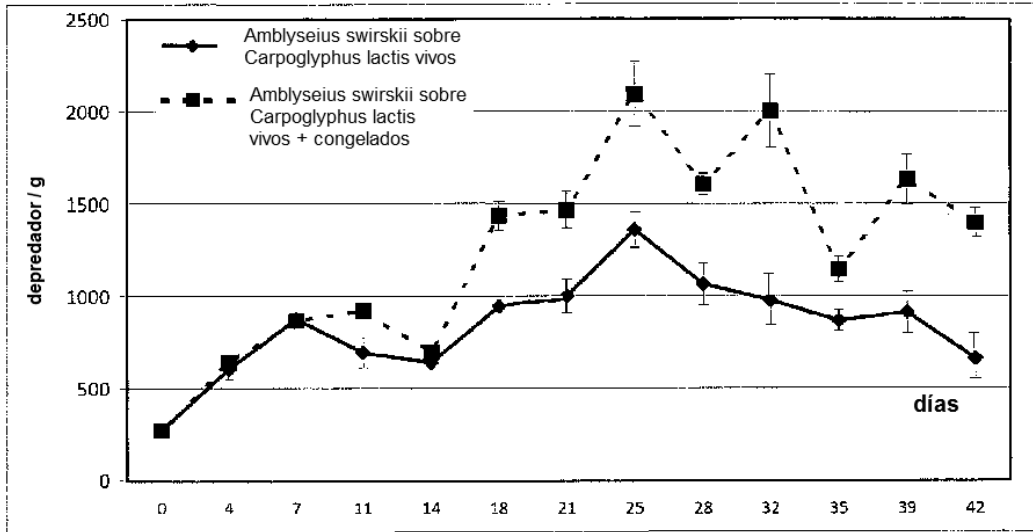
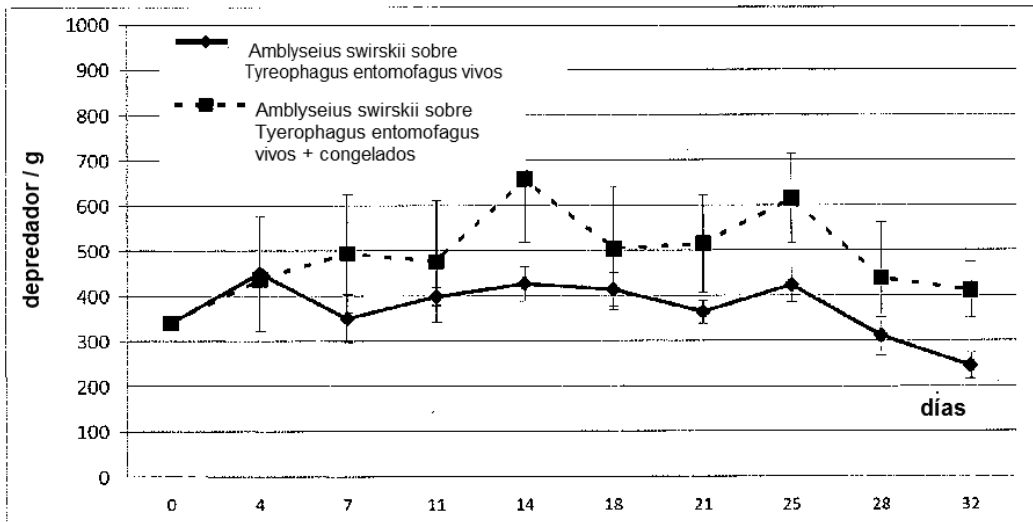


FIG. 6



Medias: 883 (vivos), 1325 (vivos+congelados); p= 0,011

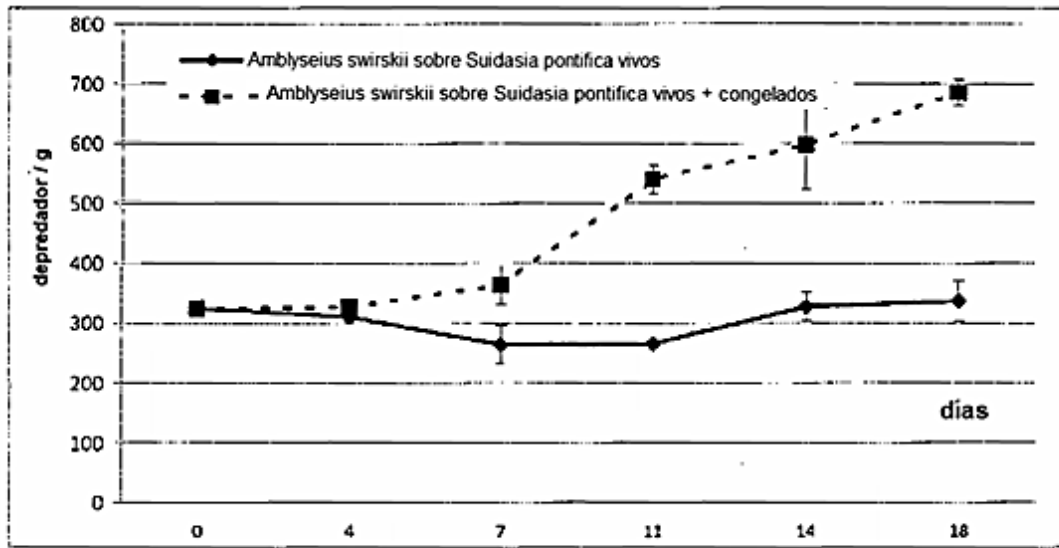
FIG. 7a



Medias: 375 (vivos), 505 (vivos+congelados); p= 0,002

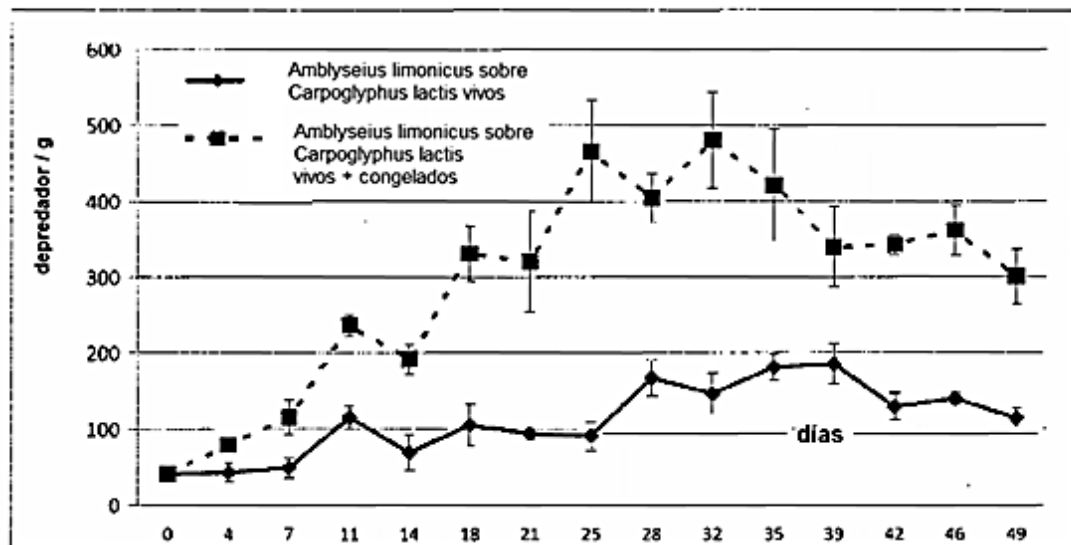
FIG. 7b





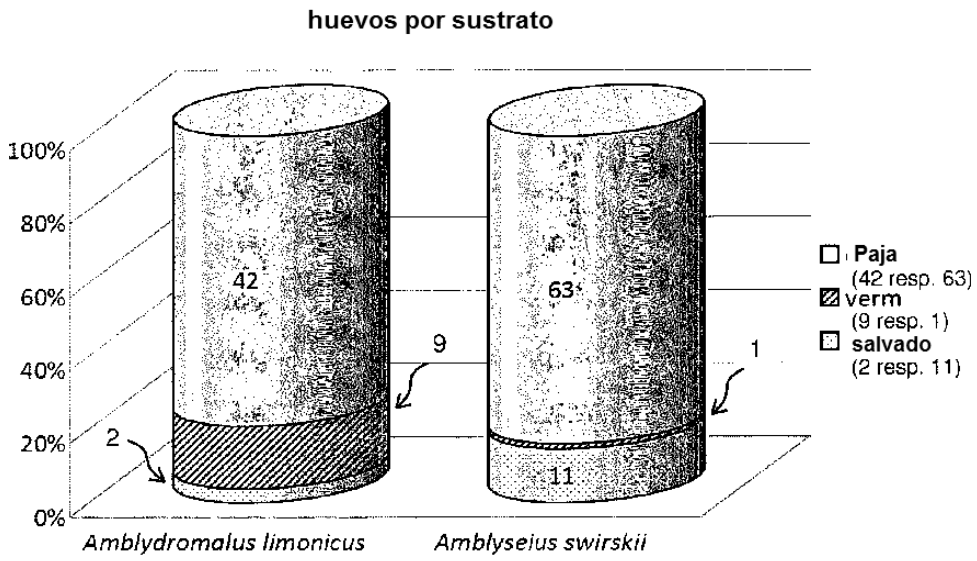
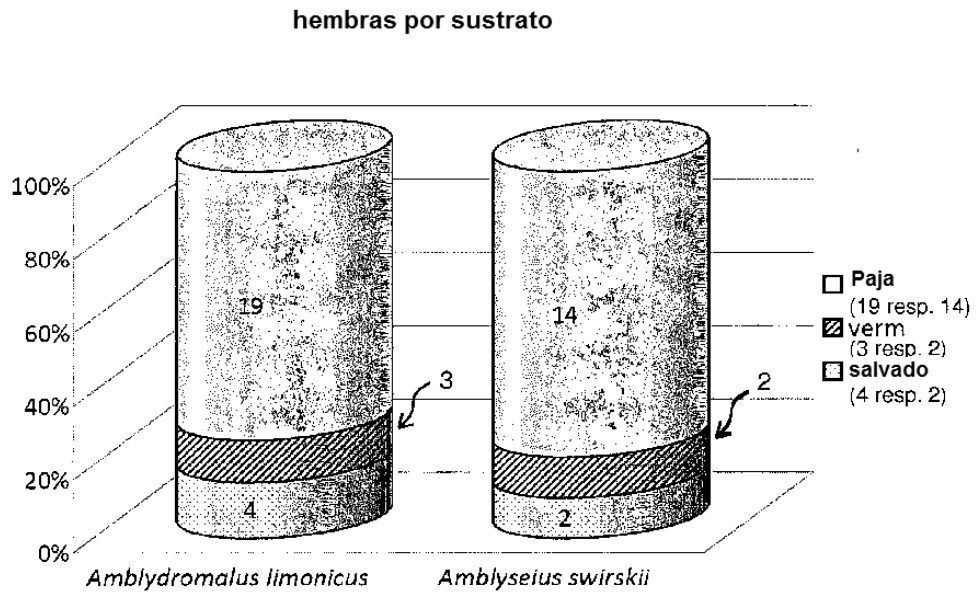
Medias: 309 (vivos), 480 (vivos+congelados); p= 0,021

FIG. 7c



Medias: 116 (vivos), 314 (vivos+congelados); p= 0,000

FIG. 7D



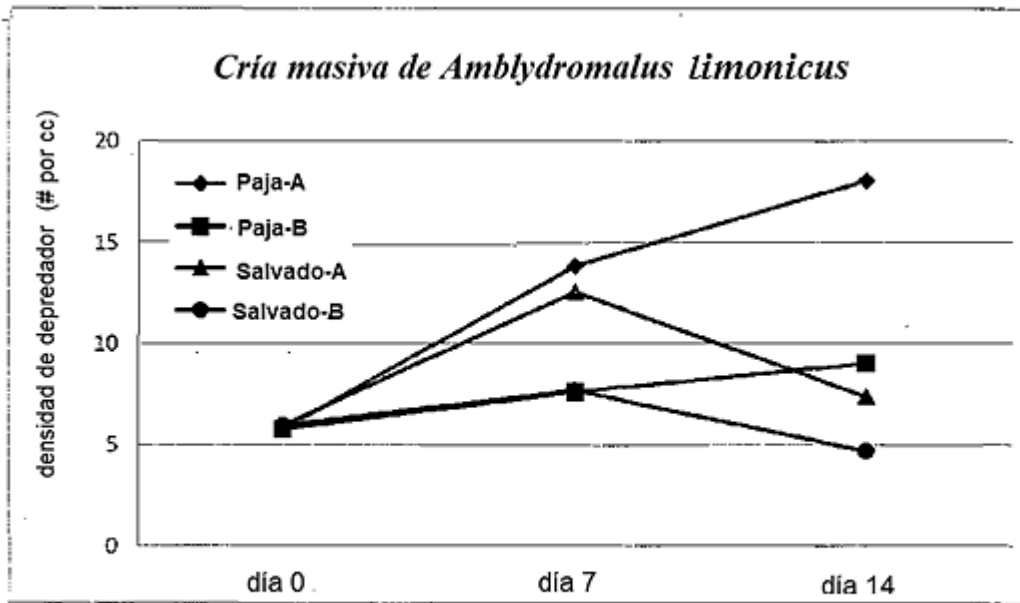


FIG. 9

**REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN**

*Esta lista de referencias citadas por el solicitante es únicamente para la comodidad del lector. No forma parte del documento de la patente europea. A pesar del cuidado tenido en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO niega toda responsabilidad en este sentido.*

**Documentos de patentes citados en la descripción**

- |    |  |  |
|----|--|--|
| 10 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• WO 2006057552 A [0003] [0035]</li> <li>• WO 200607110 A [0003]</li> <li>• WO 2007075081 A [0003] [0035]</li> <li>• WO 2008015393 A [0003] [0035]</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• WO 2008104807 A [0003] [0035]</li> <li>• EP 2232986 A [0003] [0035]</li> <li>• EP 2380436 A [0006] [0007] [0036]</li> <li>• WO 2006071107 A [0035]</li> </ul> |
|----|--|--|

15  
**Literatura diferente de patentes citada en la descripción**

- |    |   |  |
|----|---|--|
| 20 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>GERSON U. ; SMILEY R.L. ; OCHOA R.</b> Mites (Acari) for pest control. Blackwell Publishing, 2003 [0012]</li> <li>• <b>SOLOMON, M.E. ; CUNNINGTON, A.M.</b> Rearing acaroid mites. <i>Agricultural Research Council, Pest Infestation Laboratory</i>, 1963, 399-403 [0093]</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>HUGHES, A.M.</b> The mites of stored food and houses. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Technical Bulletin No. 9, 1977, 400 [0093]</li> <li>• <b>DE MORAES, G.J. ; MCMURTRY, J.A. ; DENMARK, H.A. ; CAMPOS, C.B.</b> A revised catalog of the mite family Phytoseiidae. Magnolia Press, 2004, 494 [0093]</li> </ul> |
| 25 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Culturing free-living astigmatid mites. <b>PARKINSON, C.L.</b> Arachnida: Proceedings of a one day symposium on spiders and their allies held. Zoological Society of London, 1992, 62-70 [0093]</li> </ul>   |  |