

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 545 376**

51 Int. Cl.:

**A01N 63/02** (2006.01)  
**A01N 61/00** (2006.01)  
**A01N 43/54** (2006.01)  
**A01N 47/04** (2006.01)  
**A01N 37/36** (2006.01)  
**A01N 43/16** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.12.2004 E 04815263 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.06.2015 EP 1696725**

54 Título: **Métodos y composiciones que proporcionan efectos beneficiosos agronómicamente en leguminosas y no leguminosas**

30 Prioridad:

**23.12.2003 US 532258 P**  
**06.07.2004 US 585609 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**10.09.2015**

73 Titular/es:

**NOVOZYMES BIOAG A/S (100.0%)**  
**Krogsheojvej 36**  
**2880 Bagsvaerd, DK**

72 Inventor/es:

**SMITH, R. STEWART;**  
**OSBURN, ROBERT M. y**  
**KOSANKE, JOHN W.**

74 Agente/Representante:

**TOMAS GIL, Tesifonte Enrique**

**ES 2 545 376 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

Métodos y composiciones que proporcionan efectos beneficiosos agrónomicamente en leguminosas y no leguminosas

5 [0001] La invención se refiere a la mejora de las propiedades del rodal, crecimiento, vigor y rendimiento de la planta de plantas de cultivo leguminosas y no leguminosas, y de semilla de soja y plantas de cultivo de maíz en particular.

10 [0002] Las plantas leguminosas incluyen un gran grupo de plantas de cultivo agrícola útiles y económicamente importantes tales como semilla de soja, alfalfa, cacahuete, guisante, lenteja, judía, y trébol, entre otros. Las plantas no leguminosas también comprenden un grupo de plantas de cultivo agrícola útiles y económicamente importantes que incluyen plantas de cultivo de campo tales como maíz, cereales, algodón y canola, y plantas de cultivo vegetales tales como patatas, pepinos, remolachas, lechuga y melón cantalupo.

15 [0003] Los patógenos responsables de enfermedades de las leguminosas y no leguminosas han llegado a estar bien establecidos en la mayoría, si no todas, de las áreas de producción, y han sido responsables de pérdidas económicas significativas. Ejemplos de microorganismos patógenos incluyen las especies *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phomopsis*, *Sclerotinia* y *Phakopsora*.

20 [0004] Los tratamientos fungicidas e insecticidas químicos han llegado a ser ampliamente usados para proteger las plantas de cultivo de enfermedades transmitidas por semilla, transmitidas por el suelo, y foliares y del daño por insectos. No obstante, aunque los tratamientos fungicidas generalmente mejoran la salud de los sistemas de raíz y aumentan el rodal de planta, tales tratamientos no siempre aseguran rendimientos más altos o más vigor.

25 [0005] Las plantas leguminosas producen nódulos de fijación de nitrógeno característicos en simbiosis con bacterias de tierra de los géneros *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Azorhizobium*, *Mesorhizobium*, *Allorhizobium* y *Sinorhizobium* (colectivamente conocidos como "rizobios"). La interacción rizobiales con plantas leguminosas es controlada por la especificidad de especies estrictas, es decir, la fijación de nitrógeno simbiótica ocurre cuando la planta y las bacterias son emparejadas debidamente. Las plantas no leguminosas no producen nódulos normalmente.  
30 *Bradyrhizobium parasponia* es un ejemplo único de nodulación en no leguminosas.

[0006] El intercambio de señales entre planta y bacterias es iniciado por la secreción de moléculas señal, tales como flavonoides o isoflavonoides, en los exudados de raíz. Estas moléculas señal de la planta luego activan los genes de nodulación (nod) en la rizobios, dando como resultado biosíntesis rizobiales y secreción de lipoquitooligosacáridos (LCOs), que son moléculas inductoras de planta. Estos LCOs, también denominados "factores de nodulación", desencadenan el proceso de infección e inducen la formación de nódulos en las raíces de la planta huésped. Así, la formación de nódulos es resultado de la expresión coordinada de planta y genes bacterianos.

40 [0007] Los genes bacterianos nodA, nodB, nodC y nodD están implicados simultáneamente en la producción de factores de nodulación extracelulares. Los genes ABC son conservados entre todas las rizobios, mientras que la interacción del producto del gen regulador de nodD con flavonoides de planta determina, al menos en parte, la especificidad del huésped. Todas las rizobios producen mezclas complejas de factores de nodulación.

45 [0008] Los factores de nodulación purificados de cultivos rizobiales o factores de nodulación químicamente sintetizados inducen la nodulación a través de la deformación y curvado del cabello de raíz, la formación del hilo de preinfección y la división celular cortical en plantas huéspedes a concentraciones picomolares o mayores.

[0009] Los factores de nodulación se construyen a partir de un esqueleto de 3-6 residuos de  $\beta$ -1,4-enlazado-N-acetil-D-glucosamina, sin reducir el grupo N-acetilo del terminal ni sustituirlo por una cadena de acilo. El número de carbonos en el ácido graso varía normalmente de 16 a 20 y el número de enlaces dobles varía de 0 a 4. Los documentos DE 19633502 A1, WO 99/07223, WO 00/20616 A1, DE 2453523 A1 y WO 03/045877 A1 divulgan composiciones para la mejora del crecimiento y rendimiento de las plantas de cultivo agrícola útiles.

55 [0010] Descrito por la presente está el sorprendente descubrimiento de los inventores de que se obtienen resultados superiores respecto al rodal, crecimiento, vigor o rendimiento de planta de plantas o plantas de cultivo leguminosas y no leguminosas utilizando un tratamiento insecticida, opcionalmente en combinación con un fungicida con factores de nodulación, bien con o sin un inoculante rizobiales. En muchos casos, el estudio resulta en una mejora significativa demostrada en la combinación respecto de los tratamientos individuales solos.

60 [0011] Como un primer aspecto, la invención proporciona un método de mejora del rodal, crecimiento, vigor o rendimiento de planta, que comprende tratar una semilla, vástago, raíz o planta, o combinaciones de los mismos, con un factor de nodulación y un insecticida que comprende imidacloprid, zhiamethoxam o clotianidina aumentando así el rodal, crecimiento, vigor o rendimiento de planta, o combinaciones de los mismos.

65 [0012] Los métodos pueden comprender además tratar una semilla, vástago, raíz o planta, o combinaciones de los mismos, con un inoculante. En un segundo aspecto, la invención proporciona una composición para la mejora del

rodal, crecimiento, vigor o rendimiento de planta que comprende un factor de nodulación y un insecticida, donde el insecticida comprende imidacloprid, tiametoxam o clotianidina. Las composiciones de la invención también pueden comprender una composición inoculante.

5 [0013] Como se utiliza en este caso y en la técnica, el término "agronómicamente beneficioso" describe composiciones que, cuando son aplicadas a tierra, semillas, vástagos, raíces o plantas, resultan en una mejora (que puede ser estadísticamente significativa) de las características de la planta tales como el rodal, crecimiento, vigor o rendimiento de planta en comparación con tierra, semillas, vástagos, raíces o plantas no tratados. De forma similar, "mejorar" o "mejora", usados por la presente, se refieren a mejora (que puede ser estadísticamente significativa) en cualquiera de las características de planta anteriores en comparación con tierra, semillas, vástagos, raíces o plantas no tratados.

15 [0014] Un "fungicida", como se usa por la presente y en la técnica, es un agente que mata o inhibe el crecimiento fúngico. Como se utiliza por la presente, un fungicida "muestra actividad contra" unas especies particulares de hongos si el tratamiento con el fungicida produce la muerte o inhibición de crecimiento de una población fúngica (por ejemplo, en la tierra) con respecto a una población no tratada.

20 [0015] Los fungicidas eficaces conforme a la invención mostrarán adecuadamente actividad contra una amplia gama de patógenos, que incluyen pero no se limitan a *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phomopsis* o *Sclerotinia* y *Phakopsora* y combinaciones de los mismos.

25 [0016] Los fungicidas comerciales pueden ser adecuados para su uso en la presente invención. Los fungicidas disponibles comercialmente adecuados incluyen, pero de forma no limitativa, PROTÉGÉ, RIVAL o ALLEGIANCE FL o LS (Gustafson, Plano, TX), WARDEN RTA (Agrilance, St. Paul, MN), APRON XL, APRON MAXX RTA o RFC, MAXIM 4FS o XL (Syngenta, Wilmington, DE), CAPTAN (Arvesta, Guelph, Ontario) y PROTREAT (Nitragin Argentina, Buenos Aires, Argentina). Los ingredientes activos en estos y otros fungicidas comerciales incluyen, pero de forma no limitativa, fludioxonil, mefenoxam, azoxistrobin y metalaxil. Los fungicidas comerciales se usan más adecuadamente de acuerdo con las instrucciones del fabricante a concentraciones recomendadas.

30 [0017] Como se utiliza en este caso, un insecticida "muestra actividad contra" unas especies particulares de insecto si el tratamiento con el insecticida produce la muerte o inhibición de una población de insectos con respecto a una población no tratada.

35 [0018] Los insecticidas eficaces conforme a la invención mostrarán adecuadamente actividad contra una amplia gama de insectos que incluyen, pero no se limitan a, gusanos elatéridos, gusanos cortadores, larvas, gusano del maíz *Diabrotica virgifera*, larvas de maíz de semilla, alticinos, insectos chinche, pulgones, crisomélidos y pentatómidos.

40 [0019] Los insecticidas comerciales pueden ser adecuados para su uso en la presente invención. Los insecticidas adecuados disponibles comercialmente incluyen, pero de forma no limitativa, CRUISER (Syngenta, Wilmington, DE), GAUCHO y PONCHO (Gustafson, Plano, TX). Los ingredientes activos en estos y otros insecticidas comerciales incluyen tiametoxam, clotianidina e imidacloprid. Los insecticidas comerciales son usados más adecuadamente de acuerdo con las instrucciones del fabricante a las concentraciones recomendadas.

45 [0020] Un "portador agrícola adecuado" como se usa por la presente y en la técnica, es un vehículo generalmente inerte para los componentes activos de la composición. Los portadores pueden incluir líquidos, polvos de uso seco o humedecible, flúibles, turbas o polvos. Los portadores, junto con los componentes activos, se pueden aplicar en tratadores de lodo, de mezcla preparada, o de tipo niebla, o pueden mezclarse directamente como un polvo en la plantadora o la caja de surco.

50 [0021] Un "inductor de planta", como se usa por la presente se refiere a factores de nodulación que participan en la señalización de microorganismos de planta para inducir la formación de nódulos en leguminosas, o la promoción de crecimiento de planta en leguminosas y/o no leguminosas. Un "factor de nodulación" es una molécula señal producida bajo el control directo de genes de nodulación de rizobios en respuesta a la secreción de flavonoides o isoflavonoides por parte de una planta huésped, o es una versión sintética o biodiseñada de los productos de genes de nodulación de origen natural. El término "factor de nodulación" se usa de forma intercambiable con "lipoquitooligosacárido" o "LCO".

60 [0022] Los factores de nodulación se pueden purificar a partir de fuentes bacterianas, se pueden utilizar en la forma no purificada, o pueden ser sintéticos. Como se apreciará, los factores de nodulación útiles pueden ser de origen natural, por ejemplo, derivados de rizobios por inducción seguida de purificación o al contrario, o pueden diseñarse mediante métodos conocidos en la técnica de la biotecnología para producir o alterar características de la molécula LCO para proporcionar además características útiles.

65 [0023] Como se apreciará, los rizobios produce mezclas complejas de moléculas LCO y tales mezclas, al igual que

- las moléculas LCO aisladas o purificadas, son contempladas por la presente. Además, rizobios de diferentes especies producen factores de nodulación de diferentes rangos de huésped. Por ejemplo, los factores de nodulación que pueden ser usados adecuadamente para semillas de soja son derivados de, por ejemplo, *Bradyrhizobium japonicum* o *Sinorhizobium fredii*. Los factores de nodulación que pueden ser usados adecuadamente para cacahuets son derivados de la especie *Bradyrhizobium* para cacahuete. Para la alfalfa, se pueden utilizar factores derivados de *Sinorhizobium meliloti*. Los factores de nodulación derivados de *Rhizobium leguminosarum* biovar *viceae* y biovar *trifolii* se pueden utilizar para guisantes y trébol, respectivamente. La cepa NGR234 de *Sinorhizobium fredii* es un ejemplo de rizobio que produce un amplio rango de factores de nodulación.
- [0024] Factores de nodulación adecuados para su uso con la presente invención pueden incluir aquellos descritos en la patente estadounidense nº 5,549,718 a Lerouge et al., patente estadounidense nº 5,646,018 a Broughton et al., patente estadounidense nº 5,321,011 a Stacey et al. y patente estadounidense nº 5,175,149 a Stacey et al., cada uno de los cuales es incorporado por la presente por referencia en su totalidad.
- [0025] En particular, factores de nodulación adecuados incluyen, pero de forma no limitativa, factores de tipo Bj Nod-V (C18:1), Bj Nod-V (Ac; C18:1), Bj Nod-V (C16:0), Bj Nod-V (Ac; C16:0), Bj Nod-V (C16:1), NodRm y Ac- NodRm y NodNGR. La nomenclatura usada para describir factores de nodulación es estándar en la técnica y, en la mayoría de los casos, debe entenderse que se refiere a las especies (por ejemplo, *Bradyrhizobium japonicum*), el número de residuos de N-acetilglucosamina (por ejemplo, 5 o "V"), sustituciones en el residuo de azúcar terminal que se reduce (por ejemplo, "Ac" representa acetilo), y el número de carbonos en la cadena de acilo y grado de insaturación (por ejemplo, C16:0). No obstante, debe entenderse que la nomenclatura del factor de nodulación está en estado de flujo, y cualquier factor de nodulación dado no puede ser excluido de la consideración para su uso en la invención debido a cambios en la terminología.
- [0026] Adecuadamente, los factores de nodulación pueden ser proporcionados en cualquier solvente compatible, tal como DMSO, y añadidos a las composiciones en cualquier momento antes de la aplicación. Los factores de nodulación pueden ser adecuadamente purificados antes de su incorporación en las presentes composiciones. Un ejemplo de un producto de factor de nodulación comercialmente adecuado es OPTIMIZE (Nitragin, Milwaukee, WI).
- [0027] Un método para producir productos de factor de nodulación puede incluir el tratamiento de células, tales como *Bradyrhizobium japonicum* u otros rizobios, con una molécula señal de planta tal como genisteína u otro inductor del factor de nodulación, en un portador agrícola adecuado para producir un producto de factor de nodulación de cultivo inducido. El producto de factor de nodulación de cultivo inducido puede ser además modificado filtrando tangencialmente las células del cultivo para producir un producto de factor de nodulación de cultivo inducido libre de célula, que puede luego ser pasado a través de una columna de resina para producir un producto de factor de nodulación purificado. Los factores de nodulación pueden ser además purificados eliminando cualquier solvente presente, purificando el factor de nodulación con HPLC, y liofilizando el factor de nodulación para producir otro producto de factor de nodulación purificado.
- [0028] Pueden utilizarse composiciones que comprenden factores de nodulación con concentraciones menores de aproximadamente  $10^{-5}$  Molar, y más particularmente, menos de aproximadamente  $10^{-7}$  Molar. Normalmente, los factores de nodulación tienen una concentración mayor de aproximadamente  $10^{-12}$  Molar, y más particularmente, mayor de aproximadamente  $10^{-9}$  Molar.
- [0029] En algunas formas de realización, se puede utilizar una composición inoculante en los métodos y composiciones de la invención para mejorar más la nodulación y la fijación de nitrógeno. Como se utiliza por la presente y en la técnica, el término "composición inoculante" se refiere generalmente a composiciones o materiales que introducen microorganismos compatibles bien sobre una superficie externa de semillas o bien en el surco de semilla. En algunas formas de realización, los métodos y composiciones conforme a la presente invención pueden incluir además el uso de composiciones inoculantes para inducir la formación del nódulo y la fijación de nitrógeno, cuando se aplican a o con semillas leguminosas, o se necesita para mejorar la germinación, el vigor temprano y/o el índice de crecimiento mejorado de la planta, los inoculantes de semilla de la presente invención proporcionan un número suficiente de bacterias para asegurar la adecuada nodulación y/o la fijación del nitrógeno simbiótico mejorada. Las especies rizobiales adicionales, tales como aquellas expuestas por la presente, pueden añadirse a las composiciones de la presente invención.
- [0030] Los microorganismos fijadores de nitrógeno adecuados útiles en composiciones inoculantes, donde están incluidos, incluyen especies rizobiales. Las especies rizobiales adecuadas incluyen *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium parasponia*, *Sinorhizobium meliloti*, *Rhizobium leguminosarum* biovars *phaseoli*, *viceae*, y *trifolii*, *Rhizobium lupini*, y *Bradyrhizobium sp.* (*Arachis*). La selección de una cepa adecuada de unas especies dadas depende de varios factores, que incluyen, pero no se limitan a, factores ecológicos tales como capacidad competitiva con microorganismos de tierra, capacidad para formar nódulos en las raíces de una especie de planta leguminosa particular, fijación de nitrógeno eficaz, y factores adicionales tales como crecimiento y características de formulación. Adecuadamente, los microorganismos están presentes en la composición inoculante de la semilla de manera que esa aplicación proporciona al menos  $1 \times 10^5$  de unidades que forman colonias viables ("cfu") por semilla grande, tales como semillas de soja. Para semillas más pequeñas, la composición inoculante proporciona adecuadamente

aproximadamente  $1 \times 10^3$  a aproximadamente  $5 \times 10^3$  cfu/semilla.

5 [0031] Los componentes adicionales se pueden incluir en la composición inoculante para mejorar, por ejemplo, las características de adherencia y fluidez y la compatibilidad de los microorganismos. Ejemplos de componentes adicionales incluyen surfactantes, osmoprotectores y agentes emulsionantes.

10 [0032] Un portador adecuado agrícola puede usarse también en los métodos y composiciones de la invención. Los portadores pueden ser líquidos, polvo, fluibles o polvos como se usan en la técnica. Normalmente, si se incluye una composición inoculante, se usa un portador líquido que incluya medios de crecimiento para cultivar los microorganismos. Ejemplos no limitativos de medios de crecimiento adecuados para rizobios incluyen extracto de levadura de manitol y extracto de levadura de glicerol. Se pueden hacer crecer otras especies de microorganismos agrónomicamente beneficiosos en cualquier medio conocido para aquellos en la técnica que sea compatible con, y/o que proporcione nutrientes de crecimiento para, las especies deseadas.

15 [0033] Sorprendentemente, los inventores han descubierto que cuando un insecticida adecuado, opcionalmente en combinación con un fungicida o una combinación del mismo, se usa conjuntamente con un inductor de planta (por ejemplo, factores de nodulación) para tratar semillas, vástagos, raíces o plantas leguminosas o no leguminosas se observa un efecto superior, y en algunos casos, sinérgico en el rodal, crecimiento, vigor, rendimiento del grano o rendimiento de la semilla de planta. El conocido. El efecto es independiente de si se incluye una composición inoculante.

20 [0034] Los métodos de la invención incluyen un paso de tratamiento para aplicar al menos un insecticida, opcionalmente en combinación con un fungicida que comprende imidacloprid, tiametoxam o clotianidina con un factor de nodulación y en algunas formas de realización, una composición inoculante, para semillas, vástagos, raíces o plantas leguminosas y no leguminosas. "Tratar" o "tratamiento", tal y como se usan los términos por la presente y en la técnica, se refieren a cualquier aplicación que se produce contacto con semillas, vástagos, raíces o plantas con una cantidad eficaz de una composición de tratamiento o componentes. Se puede realizar un tratamiento directamente, es decir, mediante la aplicación directa a semillas, vástagos, raíces o plantas (incluyendo follaje), o se puede realizar indirectamente, es decir, mediante la aplicación a la tierra (incluyendo en el surco).

25 [0035] Como se entenderá, el tratamiento con cada componente se puede realizar consecutivamente o simultáneamente. Por ejemplo, si se usa un portador líquido, los componentes pueden ser co-mezclados en un tanque de mezcla de tratamiento comercial y aplicados posteriormente a por ejemplo, semillas mediante cualquier proceso de recubrimiento adecuado, por ejemplo, recubrimiento pelicular. En el proceso de recubrimiento pelicular, se pulveriza un lodo sobre las semillas en un proceso de recubrimiento continuo. Alternativamente, por ejemplo, si se usa un portador de polvo o polvos, los componentes se pueden aplicar consecutivamente. Con la excepción de composiciones que contienen un inoculante, también se entenderá que las composiciones se pueden aplicar a semillas en cualquier momento antes de la siembra o cuando se siembre mediante el equipo de siembra. Por consiguiente, el tratamiento también puede abarcar la aplicación foliar y/o la aplicación de las composiciones en el surco.

30 [0036] Las plantas de cultivo leguminosas tales como semilla de soja, alfalfa, cacahuete, guisante, lenteja, judía, y trébol, entre otros, son tratadas adecuadamente utilizando los métodos actualmente descritos. Las plantas de cultivo no leguminosas incluyen, pero no se limitan a, plantas de cultivo de campo tales como maíz, cereales, algodón y canola, y plantas de cultivo vegetales tales como patatas, pepinos, remolachas, lechuga y melón cantalupo, también se tratan adecuadamente. Como se apreciará, el término "cultivo" abarca cualquier material vegetal que puede ser cosechado.

35 [0037] Los siguientes ejemplos se proporcionan para ayudar en otra comprensión de la invención. Los materiales y condiciones particulares empleados se destinan para ser además ilustrativos de la invención y no son limitantes sobre el alcance razonable de la misma.

40 [0038] Los ejemplos 1-3 describen productos comerciales particulares que se usan en los ejemplos 4-13. Los ejemplos 4-13, a su vez, describen la prueba de ensayo de campo y los resultados obtenidos con los tratamientos de factor de nodulación y fungicida y/o tratamientos de insecticida.

**Ejemplo 1: fungicidas**

45 [0039] La tabla 1, a continuación, contiene ejemplos de productos fungicidas comerciales adecuados que se pueden utilizar conforme a la invención. Los ingredientes activos son tomados de las etiquetas del producto. Como se apreciará, otros fungicidas comerciales o no comerciales pueden usarse adecuadamente, y no se pretende que los siguientes ejemplos sean limitantes.

Tabla 1.

Producto comercial	Ingredientes activos
WARDEN RTA (Agrilance, St. Paul, MN)	Mefenoxam (2,15%), compuestos relacionados (0,06%), fludioxonil (0,72%), otros ingredientes (97,07%)
PROTÉGÉ FL (Gustafson, Plano, TX)	Azoxistrobin (21,51%), ingredientes inertes (78,49%)
RIVAL (Gustafson, Plano, TX)	Captan (19,80%), derivados relacionados (0,45%), pentacloronitrobenzimidazol (8,40%), tiabendazol (1,00%), ingredientes inertes (70,35%)
ALLEGIANCE FL (Gustafson, Plano, TX)	Metalaxil (28,35%), ingredientes inertes (71,65%)
APRON MAXX RTA (Syngenta, Wilmington, DE)	Mefenoxam (1,07%), compuestos relacionados (0,03%), fludioxonil (0,73%), otros ingredientes (98,17%)
APRON MAXX RFC (Syngenta, Wilmington, DE)	Fludioxonil (2,31%), mefenoxam (3,46%), otros ingredientes (94,23%)
SOYGARD L MULTIPAK (PROTEGE FL + ALLEGIANCE FL + color) (Gustafson, Plano, TX)	(Componentes mencionados anteriormente)
BEAN PAK (APRON XL + MAXIM 4FS + color) (Syngenta, Wilmington, DE)	APRON XL: mefenoxam (33,3%), otros ingredientes (66,7%) MAXIM 4FS: fludioxonil (40,3%), otros ingredientes (59,7%)

**Ejemplo 2: insecticidas**

5 [0040] La tabla 2, a continuación, contiene ejemplos de productos insecticidas comerciales adecuados que se pueden utilizar en la invención. Los ingredientes activos son tomados de las etiquetas del producto. Como se apreciará, otros insecticidas comerciales o no comerciales pueden ser usados adecuadamente, y no se pretende que los siguientes ejemplos sean limitantes.

10

Producto comercial	Ingredientes activos
GAUCHO (Gustafson, Plano, TX)	Imidacloprid (40,7%), otros ingredientes (59,3%)
CRUISER (Syngenta, Wilmington, DE)	Tiametoxam (47,6%), otros ingredientes (52,4%)

**Ejemplo 3: composiciones del factor de nodulación**

15 [0041] Un producto de factor de nodulación adecuado disponible comercialmente es OPTIMIZE (Nitragin, Milwaukee, WI). Este producto contiene *Bradyrhizobium japonicum* ( $2 \times 10^9$  rizobios/gramo) y al menos  $1 \times 10^{-9}$  M de lipooligosacárido derivado de *B. japonicum* en un portador acuoso. Como se apreciará, otros productos de factor de nodulación comerciales o no comerciales pueden ser usados adecuadamente.

**Ejemplo 4: prueba de campo de semilla de soja: factor de nodulación + fungicida (comparativo)**

20 [0042] Un prueba de campo de semilla de soja fue llevado a cabo para evaluar los efectos del tratamiento con factores de nodulación derivados de *S. fredii* combinados con los fungicidas comerciales APRONMAXX RTA y BEAN PAK (Syngenta, Wilmington, DE) respecto al rendimiento granular, rodal de planta, vigor de planta y días para la fronda. Diez tratamientos fueron comparados como se enumera en la tabla 3. El inoculante, cuando fue usado, comprendía *Bradyrhizobium japonicum* ( $2 \times 10^9$  rizobios/gramo). APRONMAXX RTA fue aplicado como dirigió el índice de marcador de producto de 5,0 fl. oz./cwt. BEAN PAK fue también aplicado como dirigió (MAXIM 4FS a 0,08 fl. oz./cwt y APRON XL a 0,16 fl. oz./cwt). *S. fredii* fue inducida y los factores de nodulación fueron purificados y aplicados a la semilla a una concentración de  $10^7$  Molar.

30 [0043] El gráfico midió 0,011 acres y las filas fueron distanciadas 15 pulgadas entre sí. El tipo de tierra fue marga arenosa Kidder. Soybean Cultivar Dairyland DSR228RR fue plantado con una sembradora JD 750 NT Grain Drill a una profundidad de 1,0-1,5 pulgadas.

35 [0044] Los resultados se proporcionan en la tabla 3 a continuación. Los parámetros evaluados incluyen rodal de planta (número de plantas por acre), vigor de planta (estimación relativa del crecimiento de planta en una escala de 1-9, con 1 = vigor pobre y 9 = vigor máximo), días para la fronda y rendimiento del grano (bushels/acre). Respecto al rodal de planta y el rendimiento del grano, la combinación de factor de nodulación y fungicidas superó consistentemente los tratamientos que no combinaban ambos componentes.

Tabla 3.

Tratamiento	Rendimiento del grano bu/acre	V2 rodal de planta x1000	V2 vigor de planta	Días para fronda
Control sin tratar	50,3	159,0	6,0	74,5
Factor de nodulación	52,3	157,8	6,0	75,3
Inoculante + factor de nodulación	53,8	159,0	7,3	70,3
Inoculante + aditivo + factor de nodulación	54,6	159,8	7,0	69,8
Factor de nodulación + ApronMaxx RTA	59,3	177,5	7,3	72,3
Factor de nodulación + Bean Pak	57,7	183,0	7,3	70,3
Inoculante + factor de nodulación + ApronMaxx RTA	60,8	183,0	7,3	70,0
Inoculante + factor de nodulación + Bean Pak	57,7	181,3	7,8	71,3
Inoculante + aditivo + factor de nodulación + ApronMaxx RTA	58,6	182,3	7,3	69,0
Inoculante + aditivo + factor de nodulación + Bean Pak	59,5	184,8	7,8	71,3
<b>Probabilidad %</b>	<0,1	<0,1	<0,1	<0,1
<b>LSD 10%</b>	4,4	7,2	0,5	1,7
<b>CV%</b>	6,6	3,7	6,0	2,0

**Ejemplo 5: prueba de campo de semilla de soja: factor de nodulación + fungicida + insecticida**

5 [0045] Una prueba de campo de semilla de soja fue llevada a cabo para evaluar el efecto del factor de nodulación y los productos fungicidas e insecticidas para el tratamiento de semilla APRON MAXX RFC y CRUISER 5FS (Syngenta, Wilmington, DE) sobre el rendimiento de la planta de cultivo. Estos productos fueron evaluados para observar el efecto en el rendimiento del grano cuando se aplicaron en la semilla de soja solos y en todas las combinaciones.

10 [0046] El producto de factor de nodulación OPTIMIZE (Nitragin, Milwaukee, WI) fue aplicado en la semilla de soja (variedad 8258RR de Jung) en el índice de marcador de 4,25 fl oz/cwt. Se aplicaron APRON MAXX RFC y CRUISER 5FS en el índice de marcador de 1,5 y 1,28 fl oz/cwt, respectivamente.

15 [0047] El tipo de tierra fue tierra de marga arcillosa Milford. El índice de siembra fue 225,000 semillas/acre en un ancho de fila de 7,5". El tamaño del terreno era 10' x 50', cada tratamiento fue replicado cuatro veces.

20 [0048] Los resultados del rendimiento se presentan en la tabla 4 a continuación. Cada uno de los tratamientos individuales y la combinación de APRON MAXX RFC y CRUISER 5FS aumentaron estadísticamente el rendimiento del grano en relación al control no tratado. La adición de OPTIMIZE al fungicida, insecticida, o la combinación de fungicida/insecticida aumentó consistentemente los rendimientos del grano en relación a OPTIMIZE o a los tratamientos con fungicida/insecticida solos. La combinación de OPTIMIZE + APRON MAXX RFC y CRUISER 5FS aumentó estadísticamente además el rendimiento en comparación con OPTIMIZE, APRON MAXX RFC, CRUISER 5FS o la combinación de APRON MAXX RFC y CRUISER 5FS sola.

Tabla 4.

Tratamiento	Rendimiento del grano bu/a
Control sin tratar	60,9
Optimize	65,7
Apron Maxx RFC	67,3
Cruiser	66,4
Apron Maxx RFC + Cruiser 5FS	68,3
Optimize + Apron Maxx RFC	70,4
Optimize + Cruiser 5FS	68,0
Optimize + Apron Maxx RFC + Cruiser 5FS	75,0
<b>Probabilidad %</b>	1,6
<b>LSD 10%</b>	4,4
<b>CV%</b>	5,5

**Ejemplo 6: prueba de campo de semilla de soja: factor de nodulación + fungicida + insecticida**

[0049] Una prueba de campo de semilla de soja fue llevada a cabo para evaluar el efecto de factor de nodulación y los productos fungicidas e insecticidas para el tratamiento de semilla SOYGARD L MULTIPAK y GAUCHO (Gustafson, Plano, TX) en el rendimiento de planta de cultivo. Los tratamientos fueron evaluados para observar el efecto en el rendimiento del grano cuando fueron aplicados en la semilla de soja solos y en todas las combinaciones.

[0050] OPTIMIZE fue aplicado en la semilla de soja (variedad 8258RR de Jung) en el índice de marcador de 4,25 fl oz/cwt. Los componentes de SOYGARD L MULTIPAK (PROTÉGÉ FL, ALLEGIANCE FL, y colorante) fueron aplicados en los índices de marcador de 0,2, 0,2, y 0,2 fl oz/cwt. GAUCHO fue aplicado en el índice de marcador de 2,0 fl oz/cwt.

[0051] El tipo de tierra era tierra de marga arcillosa Milford. El índice de siembra fue de 225,000 semillas/acre en un ancho de fila de 7,5". El tamaño del terreno fue 10' x 50', cada tratamiento fue replicado cuatro veces.

[0052] Los resultados del rendimiento se presentan en la tabla 5 a continuación. Cada uno de los tratamientos individuales y la combinación de SOYGARD L MULTI PAK y GAUCHO aumentaron el rendimiento del grano en relación al control sin tratar. Para todos productos con excepción de SOYGARD L MULTI PAK, los aumentos en el rendimiento fueron estadísticamente significativos. La adición de OPTIMIZE al fungicida, insecticida, o a las combinaciones de fungicida/insecticida aumentó consistentemente el rendimiento del grano con respecto a OPTIMIZE o los tratamientos fungicidas/insecticidas solos.

Tratamiento	Rendimiento del grano bu/a
Control sin tratar	60,9
Optimize	65,7
SoyGard L. Multipak	64,5
Gaucho 480	65,4
SoyGard L. MultiPak + Gaucho 480	67,7
Optimize + SoyGard L. MultiPak	68,8
Optimize + Gaucho 480	67,1
Optimize + SoyGard L. MultiPak + Gaucho 480	68,7
<b>Probabilidad %</b>	1,6
<b>LSD 10%</b>	4,4
<b>CV%</b>	5,5

**Ejemplo 7: prueba de campo de semilla de soja: factor de nodulación + fungicida (comparativo)**

[0053] Una prueba de campo de semilla de soja fue llevada a cabo evaluando el efecto del factor de nodulación y el producto fungicida para el tratamiento de semilla APRON MAXX RTA (Syngenta, Wilmington, DE) sobre el rendimiento de planta de cultivo. Los tratamientos fueron evaluados para observar el efecto en el rendimiento del grano cuando eran aplicados a la semilla de soja solos y en combinación.

[0054] OPTIMIZE fue aplicado a la semilla de soja (variedad 8258RR de Jung) en el índice de marcador de 4,25 fl oz/cwt. APRON MAXX RTA fue aplicado en el índice de marcador de 5 fl oz/cwt.

[0055] El tipo de tierra fue tierra de marga arcillosa Milford. El índice de siembra fue 225,000 semillas/acre en un ancho de fila de 7,5". El tamaño del terreno fue 10' x 50', cada tratamiento fue replicado cuatro veces.

[0056] Los resultados del rendimiento se presentan en la tabla 6 a continuación. Tanto OPTIMIZE como APRON MAXX RTA aumentaron significativamente el rendimiento del grano en relación al control sin tratar. La combinación de OPTIMIZE y APRON MAXX RTA aumentó además el rendimiento del grano en relación a los tratamientos individuales solos.

Tabla 6.

Tratamiento	Rendimiento del grano bu/a
Control sin tratar	60,9
Optimize	65,7
Apron Maxx RTA	67,4
Optimize + Apron Maxx RTA	68,3
<b>Probabilidad %</b>	1,6
<b>LSD 10%</b>	4,4
<b>CV%</b>	5,5



**Ejemplo 8: prueba de campo de semilla de soja: factor de nodulación + fungicida (comparativo)**

[0057] Una prueba de campo de semilla de soja fue llevada a cabo para evaluar el efecto del factor de nodulación y el producto fungicida para el tratamiento de semilla WARDEN RTA (Agrilance, St. Paul, MN) en el rendimiento de planta de cultivo. Los tratamientos fueron evaluados para observar el efecto en el rendimiento del grano cuando eran aplicados a la semilla de soja solos y en combinación.

[0058] OPTIMIZE fue aplicado a la semilla de soja (variedad 8258RR de Jung) en el índice de marcador de 4,25 fl oz/cwt. WARDEN RTA fue aplicado en el índice de marcador de 5 fl oz/cwt.

[0059] El tipo de tierra fue tierra de marga arcillosa Milford. El índice de siembra fue 225,000 semillas/acre en un ancho de fila de 7,5". El tamaño del terreno fue 10' x 50', cada tratamiento fue replicado cuatro veces.

[0060] Los resultados del rendimiento se presentan en la tabla 7 a continuación. Tanto OPTIMIZE como WARDEN RTA aumentaron significativamente el rendimiento del grano en relación al control sin tratar. La combinación de OPTIMIZE y WARDEN RTA aumentó además el rendimiento del grano en relación a los tratamientos individuales solos.

Tabla 7.

Tratamiento	Rendimiento del grano bu/a
Control sin tratar	60,9
Optimize	65,7
Warden RTA	65,7
Optimize + Warden RTA	67,1
<b>Probabilidad %</b>	1,6
<b>LSD 10%</b>	4,4
<b>CV%</b>	5,5

**Ejemplo 9: prueba de campo de semilla de soja: combinación de factor de nodulación + fungicida (comparativo)**

[0061] Una prueba de campo de semilla de soja fue llevada a cabo para evaluar el efecto del factor de nodulación y los productos fungicidas para el tratamiento de semilla RIVAL y ALLEGIANCE FL en el rendimiento de planta de cultivo (Gustafson, Plano, TX). Los tratamientos fueron evaluados para observar el efecto en el rendimiento del grano cuando eran aplicados en la semilla de soja solos y en combinación.

[0062] OPTIMIZE fue aplicado a la semilla de soja (variedad 8258RR de Jung) en el índice de marcador de 4,25 fl oz/cwt. RIVAL y ALLEGIANCE FL fueron aplicados en sus índices de marcador de 4,0 y 0,75 fl oz/cwt, respectivamente.

[0063] El tipo de tierra fue tierra de marga arcillosa Milford. El índice de siembra fue 225,000 semillas/acre en un ancho de fila de 7,5". El tamaño de terreno fue 10' x 50', cada tratamiento fue replicado cuatro veces.

[0064] Los resultados del rendimiento se presentan en la tabla 8 a continuación. Tanto OPTIMIZE como RIVAL + ALLEGIANCE aumentaron significativamente el rendimiento del grano en relación al control sin tratar. La combinación de OPTIMIZE y RIVAL + ALLEGIANCE aumentó además el rendimiento del grano en relación a los tratamientos individuales solos.

Tabla 8.

Tratamiento	Rendimiento del grano bu/a
Control - no inoculado	60,9
Optimize	65,7
Rival + Allegiance FL	66,2
Optimize + Rival/Allegiance FL	67,4
<b>Probabilidad %</b>	1,6
<b>LSD 10%</b>	4,4
<b>CV%</b>	5,5

**Ejemplo 10: prueba de campo de maíz: factor de nodulación + fungicida + insecticida**

[0065] Una prueba de campo de maíz fue llevada a cabo para evaluar el efecto de los factores de nodulación derivados de la cepa NGR-234 de *S. fredii* y los productos fungicidas e insecticidas para el tratamiento de semilla MAXIM XL y CRUISER 5FS (Syngenta, Wilmington, DE) y el producto insecticida PONCHO 600 (Gustafson, Plano,

TX) en el rodal de planta, vigor de planta y rendimiento del grano. Los tratamientos fueron evaluados para observar el efecto sobre el crecimiento de la planta y el rendimiento cuando fueron aplicados en la semilla de maíz solos y en combinación.

5 [0066] Una suspensión acuosa de factor de nodulación purificado a  $10^{-7}$  M fue aplicada en la semilla de maíz (variedad 2445 de Jung) en un índice de 4,54 ml/lb. MAXIM XL, CRUISER 5FS y PONCHO 600 fueron aplicados cada uno en su índice de marcador.

10 [0067] El tipo de tierra fue tierra de limo arcillosa Milford. El índice de siembra fue 32,000 semillas/acre en un ancho de fila de 30". El tamaño del terreno fue 15' x 50', cada tratamiento fue replicado cuatro veces.

15 [0068] Los resultados se presentan en la tabla 9 a continuación. Los parámetros evaluados incluyen rodal de planta (número de plantas por acre), vigor de planta (estimación relativa del crecimiento de la planta en una escala de 1-9, con 1 = vigor pobre y 9 = vigor máximo), y rendimiento del grano (bushels/acre). El tratamiento con factor de nodulación mejoró significativamente el rodal y el vigor y mejoró numéricamente el rendimiento en relación al tratamiento de control, mientras el tratamiento con MAXIM mostró aumentos significativos a través de estos tres parámetros. La combinación de factor de nodulación y MAXIM aumentó significativamente el rendimiento, rodal y vigor en relación al tratamiento con factor de nodulación solo y aumentó numéricamente estos parámetros en relación al tratamiento fungicida solo. La adición de los productos insecticidas PONCHO y CRUISER produjo aumentos consistentes en el rendimiento, rodal, y vigor en relación al tratamiento con MAXIM + factor de nodulación.

Tabla 9.

Tratamiento	Rendimiento del grano bu/a	V4 pie de planta x1000	V4 vigor de planta 1-9
Control sin tratar	163,6	29,2	5,9
Factor de nodulación	167,9	30,0	6,9
Maxim XL	178,2	30,6	7,1
Maxim XL + factor de nodulación	181,8	30,8	7,3
Maxim XL + Poncho 600 + factor de nodulación	185,4	31,4	8,0
Maxim XL + Cruiser 5FS + factor de nodulación	185,8	31,4	7,6
<b>Probabilidad %</b>	<0,1	<0,1	<0,1
<b>LSD 10%</b>	5,6	0,5	0,5
<b>CV%</b>	2,6	1,3	6,2

25 **Ejemplo 11: prueba de campo de maíz: factor de nodulación + fungicida (comparativo)**

30 [0069] Una prueba de campo de maíz fue llevada a cabo para evaluar el efecto de los factores de nodulación derivados de la cepa NGR-234 de *S. fredii* y los productos fungicidas para el tratamiento de semilla CAPTAN 400 + ALLEGIANCE FL (Gustafson, Plano, TX) en el crecimiento y rendimiento de planta. Los tratamientos fueron evaluados para observar el efecto en el crecimiento y rendimiento de la planta cuando fueron aplicados a la semilla de maíz solos y en combinación.

35 [0070] Una suspensión acuosa de factor de nodulación purificado a  $10^{-7}$  M fue aplicada en la semilla de maíz (variedad 2445 de Jung) en el índice de 4,54 ml/lb. CAPTAN 400 y ALLEGIANCE FL fueron aplicados cada uno en su índice de marcador.

[0071] El tipo de tierra fue tierra de limo arcillosa Milford. El índice de siembra fue 32,000 semillas/acre en un ancho de fila de 30". El tamaño de gráfico fue 15' x 50', cada tratamiento fue replicado cuatro veces.

40 [0072] Los resultados se presentan en la tabla 10 a continuación. Los parámetros evaluados incluyen rodal de planta (número de plantas por acre), vigor de planta (estimación relativa del crecimiento de la planta en una escala de 1-9, con 1 = vigor pobre y 9 = vigor máximo), y rendimiento del grano (bushels/acre). El tratamiento con factor de nodulación mejoró significativamente el rodal y vigor y mejoró numéricamente el rendimiento en relación al tratamiento de control, mientras el tratamiento con CAPTAN + ALLEGIANCE mostró mejoras significativas a través de todos estos parámetros. La combinación de factor de nodulación y CAPTAN + ALLEGIANCE aumentó significativamente el rendimiento con respecto tanto a los tratamientos con factor de nodulación como fungicidas. El rodal y el vigor fueron mejorados numéricamente en relación al tratamiento de factor de nodulación solo y mejoraron significativamente en relación al tratamiento fungicida solo.

Tabla 10.

Tratamiento	Rendimiento del grano bu/a	V4 pie de planta x1000	V4 vigor de planta 1-9
Control sin tratar	163,6	29,2	5,9
Factor de nodulación	167,9	30,0	6,9
Captan/Allegiance	170,6	30,5	7,1
Captan/Allegiance + factor de nodulación	179,2	30,8	7,5
Probabilidad %	<0,1	<0,1	<0,1
LSD 10%	5,6	0,5	0,5
CV%	2,6	1,3	6,2

**Ejemplo 12: prueba de campo de maíz: factor de nodulación + fungicida + insecticida**

5 [0073] Una prueba de campo de maíz fue llevada a cabo para evaluar el efecto de los factores de nodulación derivados de la cepa NGR-234 de *S. fredii* y los productos fungicidas e insecticidas para el tratamiento de semilla MAXIM XL y CRUISER 5FS (Syngenta, Wilmington, DE) y el producto insecticida PONCHO 600 (Gustafson, Plano, TX) en el crecimiento de planta y rendimiento. Los tratamientos fueron evaluados para observar el efecto en el crecimiento y rendimiento de la planta cuando fueron aplicados en la semilla de maíz solos y en combinación.

10 [0074] Una suspensión acuosa de factor de nodulación purificado a  $10^{-7}$  M fue aplicada en la semilla de maíz (variedad 2445 de Jung) en el índice de 4,54 ml/lb. MAXIM XL, CRUISER 5FS, y PONCHO 600 fueron aplicados cada uno en su índice de marcador.

15 [0075] El tipo de tierra fue tierra de limo arcillosa Milford. El índice de siembra fue 32,000 semillas/acre en un ancho de fila de 30". El tamaño del terreno fue 15' x 50', cada tratamiento fue replicado cuatro veces.

20 [0076] Los resultados se presentan en la tabla 11 a continuación. Los parámetros evaluados incluyen rodal de planta (número de plantas por acre), vigor de planta (estimación relativa de crecimiento de planta en una escala de 1-9, con 1 = vigor pobre y 9 = vigor máximo), y rendimiento del grano (bushels/acre). El tratamiento con factor de nodulación mejoró significativamente tanto el rodal como el vigor y mejoró numéricamente el rendimiento en relación al tratamiento de control, mientras que el tratamiento con MAXIM aumentó significativamente todos estos parámetros. El tratamiento combinado de factor de nodulación + fungicida aumentó significativamente el rendimiento en comparación con los tratamientos con factor de nodulación y fungicidas solos. La adición de los insecticidas PONCHO y CRUISER produjo aumentos significativos en el rendimiento, rodal, y vigor en relación al tratamiento con factor de nodulación + fungicida.

Tratamiento	Rendimiento del grano bu/a	V4 pie de planta x1000	V4 vigor de planta
Control sin tratar	213,9	30,8	6,6
Factor de nodulación	217,4	31,3	7,4
Maxim XL	222,4	31,4	7,6
Maxim XL + factor de nodulación	226,7	31,5	7,6
Maxim XL + Poncho 600 + factor de nodulación	231,6	31,8	8,5
Maxim XL + Cruiser 5FS + factor de nodulación	237,4	31,8	8,4
Probabilidad %	<0,1	<0,1	<0,1
LSD 10%	3,9	0,3	0,5
CV%	1,4	1,9	5,2

**Ejemplo 13: prueba de campo de maíz: factor de nodulación + fungicida (comparativo)**

30 [0077] Una prueba de campo de maíz fue llevada a cabo para evaluar el efecto de los factores de nodulación derivados de la cepa NGR-234 de *S. fredii* y los productos fungicidas para el tratamiento de semilla CAPTAN 400 + ALLEGIANCE FL (Gustafson, Plano, TX) en el crecimiento y rendimiento de planta. Los productos fueron evaluados para observar el efecto en el crecimiento y rendimiento de planta cuando eran aplicados a la semilla de maíz solos y en combinación.

35 [0078] Una suspensión acuosa de factor de nodulación purificado a  $10^{-7}$  M fue aplicada en la semilla de maíz (variedad 2445 de Jung) en el índice de 4,54 ml/lb. CAPTAN 400 y ALLEGIANCE FL fueron aplicados cada uno en su índice de marcador.

40 [0079] El tipo de tierra fue tierra de limo arcilloso Milford. El índice de siembra fue 32,000 semillas/acre en un ancho de fila de 30". El tamaño del terreno fue 15' x 50', cada tratamiento fue replicado cuatro veces.

## ES 2 545 376 T3

[0080] Los resultados se presentan en la tabla 12 a continuación. Los parámetros evaluados incluyen rodal de planta (número de plantas por acre), vigor de planta (estimación relativa de crecimiento de planta en una escala de 1-9, con 1 = vigor pobre y 9 = vigor máximo), y rendimiento del grano (bushels/acre). El tratamiento con factor de nodulación mejoró significativamente el rodal y vigor en comparación con el tratamiento de control, mientras que el rendimiento fue mejorado numéricamente. El tratamiento con CAPTAN + ALLEGIANCE produjo aumentos significativos a través de todos estos parámetros. La combinación de factor de nodulación y CAPTAN + ALLEGIANCE aumentó significativamente el rendimiento con respecto tanto a los tratamientos del factor de nodulación como fungicidas. El rodal y el vigor fueron mejorados numéricamente con respecto a los tratamientos de factor de nodulación y fungicidas.

5

10

<b>Tratamiento</b>	<b>Rendimiento del grano bu/a</b>	<b>V4 pie de planta x1000</b>	<b>V4 vigor de planta 1-9</b>
Control sin tratar	213,9	30,8	6,6
Factor de nodulación	217,4	31,3	7,4
Captan/Allegiance	219,0	31,3	7,6
Captan/Allegiance + factor de nodulación	225,5 224,2	31,5 31,4	7,9 7,7
<b>Probabilidad %</b>	<0,1	<0,1	<0,1
<b>LSD 10%</b>	3,9	0,3	0,5
<b>CV%</b>	1,4	0,9	5,2

**REIVINDICACIONES**

1. Método de mejora del rodal, crecimiento, vigor o rendimiento de planta, que comprende tratar una semilla, vástago, raíz o planta, o combinaciones de los mismos, con una composición que comprende:
- 5 a) un factor de nodulación, y  
b) un insecticida, donde el insecticida comprende imidacloprid, tiametoxam o clotianidina, mejorando así el rodal, crecimiento, vigor o rendimiento de la planta.
- 10 2. Método según la reivindicación 1, donde la composición comprende además un fungicida, donde el fungicida comprende mefenoxam, fludioxonil, azoxistrobin, captan, pentacloronitrobenzimidazol, tiabendazol o metalaxil.
3. Método según la reivindicación 2 donde el fungicida muestra actividad contra la *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phomopsis*, *Sclerotinia*, *Phakopsora*, o combinaciones de los mismos.
- 15 4. Método según la reivindicación 1, 2 o 3, donde el factor de nodulación es derivado de *Bradyrhizobium japonicum*, *Sinorhizobium fredii*, *Sinorhizobium meliloti*, *Bradyrhizobium sp. (Arachis)*, *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, *viceae*, o *trifolii*.
- 20 5. Método según la reivindicación 1, donde el insecticida muestra actividad contra gusanos elatéricos, gusanos cortadores, larvas, gusano del maíz *Diabrotica virgifera*, larvas de semilla de maíz, alticinos, insectos chinche, pulgones, crisomélidos, pentatómidos, o combinaciones de los mismos.
6. Método según la reivindicación 1, donde la composición comprende además un inoculante.
- 25 7. Método según la reivindicación 6, donde el inoculante comprende una especie rizobial.
8. Método según la reivindicación 7, donde el inoculante comprende *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium parasponia*, *Sinorhizobium meliloti*, *Rhizobium leguminosarum* biovars *phaseoli*, *viceae*, *trifolii*, *Rhizobium lupini*, *Bradyrhizobium sp. (Arachis)*, o combinaciones de los mismos.
- 30 9. Método según la reivindicación 1, donde la planta es una leguminosa.
10. Método según la reivindicación 9, donde la leguminosa comprende semilla de soja, alfalfa, cacahuete, guisante, lenteja, judía o trébol.
- 35 11. Método según la reivindicación 1, donde la planta es una no leguminosa.
12. Método según la reivindicación 11, donde la no leguminosa comprende maíz, cereales, algodón, canola, patatas, pepinos, remolachas, lechuga o melón cantalupo.
- 40 13. Composición para mejorar el rodal, crecimiento, vigor o rendimiento de planta que comprende un factor de nodulación y un insecticida, donde el insecticida comprende imidacloprid, tiametoxam o clotianidina.
- 45 14. Composición según la reivindicación 13, que comprende además un fungicida, donde el fungicida comprende mefenoxam, fludioxonil, azoxistrobin, captan, pentacloronitrobenzimidazol, tiabendazol o metalaxil.
15. Composición según la reivindicación 14, donde el fungicida muestra actividad contra la *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Pythium*, *Phomopsis*, *Sclerotinia*, *Phakopsora*, o combinaciones de los mismos.
- 50 16. Composición según la reivindicación 13, donde el insecticida muestra actividad contra gusanos elatéricos, gusanos cortadores, larvas, gusano del maíz *Diabrotica virgifera*, larvas de semilla de maíz, alticinos, insectos chinche, pulgones, crisomélidos, pentatómidos, o combinaciones de los mismos.
- 55 17. Composición según la reivindicación 13, donde el factor de nodulación es derivado de *Bradyrhizobium japonicum*, *Sinorhizobium fredii*, *Sinorhizobium meliloti*, *Bradyrhizobium sp. (Arachis)*, *Rhizobium leguminosarum* biovar *phaseoli*, *viceae*, o *trifolii*.
18. Composición según la reivindicación 13 o 14, que comprende además un inoculante.
- 60 19. Composición según la reivindicación 18, donde el inoculante comprende al menos una especie rizobial.
20. Composición según la reivindicación 19, donde la especie rizobial comprende *Bradyrhizobium japonicum*, *Bradyrhizobium parasponia*, *Sinorhizobium meliloti*, *Rhizobium leguminosarum* biovars *phaseoli*, *viceae*, *trifolii*, *Rhizobium lupini*, o *Bradyrhizobium sp. (Arachis)*, o combinaciones de los mismos.
- 65

21. Método para el aumento del rendimiento del grano que comprende:

- a) tratar semillas, vástagos, raíces o plantas leguminosas o no leguminosas con al menos un factor de nodulación en un portador agrícola adecuado; y
- 5 b) tratar las semillas, vástagos, raíces o plantas con un insecticida y un fungicida, donde el insecticida comprende imidacloprid, tiametoxam o clotianidina, y donde el fungicida comprende mefenoxam, fludioxonil, azoxistrobin, captan, pentacloronitrobenzimidazol, tiabendazol o metalaxil, aumentando así el rendimiento del grano.