

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 929**

51 Int. Cl.:

A01N 63/04 (2006.01)

A01N 25/04 (2006.01)

A01P 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.02.2006 E 06251080 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.02.2016 EP 1695625**

54 Título: **Formulaciones insecticidas con base oleosa que comprenden un hongo filamentoso insecticida**

30 Prioridad:

28.02.2005 JP 2005052875

29.11.2005 JP 2005343326

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

13.05.2016

73 Titular/es:

**SUMITOMO CHEMICAL COMPANY, LIMITED
(100.0%)
27-1, Shinkawa 2-chome, Chuo-ku
Tokyo 104-8260, JP**

72 Inventor/es:

**MATSUMURA, KENJI;
KIMURA, SHINYA y
TAKASHIMA, YOSHIKI**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 569 929 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

Formulaciones insecticidas con base oleosa que comprenden un hongo filamentoso insecticida

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a una formulación insecticida con base oleosa que comprende un hongo filamentoso insecticida y al uso del mismo.

Antecedentes de la invención

- 10 Como método para controlar plagas de insectos evitando el uso de un compuesto sintetizado químicamente como componente activo, ha llamado la atención el uso de un hongo filamentoso insecticida y se han conocido formulaciones de hongo filamentoso insecticida que comprenden un hongo filamentoso insecticida (por ejemplo, las patentes estadounidenses n.ºs 5.730.973 y 6.030.924). Se conoce como método para aumentar un efecto insecticida de una formulación de hongo filamentoso insecticida de este tipo, aplicar una mezcla de un hongo filamentoso insecticida y un aceite hidrocarbonado de petróleo (por ejemplo, documento WO 95/10597; Pestic. Sci. 46, 299-306 (1996); Biocontrol Science and Technology 3, 337-346 (1993); and Mycol. Res. 103,7 901-907 (1999)).

- 15 Con el fin de diluir con agua dicha formulación de hongo filamentoso insecticida que comprende un hongo filamentoso insecticida y un aceite hidrocarbonado de petróleo que va a aplicarse, de manera similar a una formulación con base oleosa convencional, es necesario añadir a la formulación un tensioactivo que puede emulsionar el aceite hidrocarbonado de petróleo. Sin embargo, muchos de esos tensioactivos afectan a la viabilidad del hongo filamentoso insecticida. Por consiguiente, ha existido el problema de que una formulación de hongo
20 filamentoso insecticida que comprende dicho tensioactivo ha disminuido la estabilidad de la viabilidad del hongo (Florida Entomologist 65,1 116-126 (1982); Neotropical Entomology 31,1 91-99 (2002)).

El documento US 5.512.280 da a conocer métodos para el mantenimiento y la estabilización a largo plazo de conidios fúngicos usando tensioactivos. Esto se basa en el uso de tensioactivo aniónico en un intervalo de concentración de entre el 1 y el 2% (p/v) en una suspensión acuosa de entre el 0,01 y el 5,0% (p/v) de conidios.

- 25 Se dan a conocer composiciones en forma de polvos humectables que comprenden hongos filamentosos tales como conidios en el documento US 2004/067851. El documento WO 93/24013 da a conocer métodos para almacenar cultivos fúngicos, en los que se empaquetan conidios en condiciones que mantienen alta viabilidad, es decir oxígeno y humedad relativa bajos.

Sumario de la invención

- 30 La presente invención proporciona una formulación insecticida con base oleosa que comprende un hongo filamentoso insecticida, un aceite hidrocarbonado de petróleo, un tensioactivo que tiene una polaridad específica (es decir, un tensioactivo no iónico adecuado para emulsionar el aceite hidrocarbonado de petróleo) y un agente desecante, que puede diluirse con agua y puede mantener una estabilidad de la viabilidad del hongo filamentoso insecticida.

- 35 Es decir, la presente invención proporciona:

1. una formulación insecticida con base oleosa, que comprende un aceite hidrocarbonado de petróleo, un tensioactivo no iónico adecuado para emulsionar el aceite hidrocarbonado de petróleo, un agente desecante y un hongo filamentoso insecticida (a continuación en el presente documento, también denominada formulación con base oleosa);

- 40 2. la formulación insecticida con base oleosa según 1 anterior, en la que dicho tensioactivo no iónico tiene un HLB en el intervalo adecuado para emulsionar dicho aceite hidrocarbonado de petróleo;

3. la formulación insecticida con base oleosa según 1 ó 2 anteriores, en la que dicho aceite hidrocarbonado de petróleo que tiene una característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen de 350°C a 550°C;

- 45 4. la formulación insecticida con base oleosa según 1 anterior, en la que dicho aceite hidrocarbonado de petróleo tiene una característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen de 400°C a 500°C, y dicho tensioactivo no iónico es uno o más tensioactivos seleccionados del grupo que consiste en éster de ácido

graso de polioxietileno, alquil éter de polioxietileno, éster de ácido graso de sorbitano y alquil éter de polioxialquileo, y tiene un HLB en el intervalo adecuado para emulsionar dicho aceite hidrocarbonado de petróleo;

- 5 5. la formulación insecticida con base oleosa según cualquiera de 1 a 4 anteriores, en la que dicho agente desecante es uno o más agentes desecantes seleccionados de compuestos de óxido de silicio y compuestos de calcio;
6. la formulación insecticida con base oleosa según cualquiera de 1 a 5 anteriores, en la que dicho hongo filamentoso insecticida es una o más cepas de hongos de géneros seleccionados del grupo que consiste en género *Paecilomyces*, género *Beauveria*, género *Metarhizium*, género *Nomuraea*, género *Verticillium*, género *Hirsutella*, género *Culicinomyces*, género *Sorospora* y género *Tolypocladium*;
- 10 7. la formulación insecticida con base oleosa según cualquiera de 1 a 5 anteriores, en la que dicho hongo filamentoso insecticida es un hongo filamentoso del género *Paecilomyces*;
8. la formulación insecticida con base oleosa según cualquiera de 1 a 5 anteriores, en la que dicho hongo filamentoso insecticida es un hongo filamentoso de *Paecilomyces tenuipes*;
- 15 9. la formulación insecticida con base oleosa según cualquiera de 1 a 5 anteriores, en la que dicho hongo filamentoso insecticida es *Paecilomyces tenuipes* cepa T1 (FERM BP-7861);
10. la formulación insecticida con base oleosa según cualquiera de 1 a 5 anteriores, en la que dicho hongo filamentoso insecticida es un hongo filamentoso del género *Beauveria*;
11. la formulación insecticida con base oleosa según cualquiera de 1 a 5 anteriores, en la que dicho hongo filamentoso insecticida es un hongo filamentoso que pertenece a *Beauveria bassiana*;
- 20 12. la formulación insecticida con base oleosa según cualquiera de 1 a 5 anteriores, en la que dicho hongo filamentoso insecticida es una o más cepas seleccionadas del grupo que consiste en *Beauveria bassiana* cepa F-667 (FERM BP-10514), *Beauveria bassiana* cepa F-942 (FERM BP-10515), *Beauveria bassiana* cepa F-1134 (FERM BP-10516), *Beauveria bassiana* cepa F-1274 (FERM BP-10517) y *Beauveria bassiana* cepa F-1310 (FERM BP-10518); y
- 25 13. un método para controlar plagas de insectos, que comprende aplicar la formulación insecticida con base oleosa según cualquiera de 1 a 12 anteriores a una plaga de insectos, un hábitat de la plaga de insectos o una planta vulnerable a la plaga de insectos (a continuación en el presente documento, también denominado el presente método insecticida) y similares.

30 Según la presente invención puede proporcionarse una formulación insecticida con base oleosa que comprende un hongo filamentoso insecticida, que puede diluirse con agua manteniendo una estabilidad de la viabilidad del hongo filamentoso insecticida.

Descripción de la invención

La presente invención se describe en detalle a continuación.

35 La presente formulación con base oleosa es una formulación insecticida con base oleosa que comprende un aceite hidrocarbonado de petróleo, un tensioactivo no iónico adecuado para emulsionar el aceite hidrocarbonado de petróleo, un agente desecante y un hongo filamentoso insecticida, y se ejemplifica preferiblemente mediante una formulación insecticida con base oleosa que consiste esencialmente de un aceite hidrocarbonado de petróleo, un tensioactivo no iónico adecuado para emulsionar el aceite hidrocarbonado de petróleo, un agente desecante y un hongo filamentoso insecticida.

40 Los ejemplos del hongo filamentoso insecticida usado en la presente formulación con base oleosa incluyen una o más cepas de hongos filamentosos seleccionados de uno o más géneros seleccionados del grupo que consiste en género *Paecilomyces*, género *Beauveria*, género *Metarhizium*, género *Nomuraea*, género *Verticillium*, género *Hirsutella*, género *Culicinomyces*, género *Sorospora* y género *Tolypocladium*.

45 Los ejemplos del hongo filamentoso insecticida del género *Paecilomyces* incluyen un hongo filamentoso de *Paecilomyces tenuipes*, un hongo filamentoso de *Paecilomyces fumosoroseus* y un hongo filamentoso de *Paecilomyces farinosus* y similares. Los ejemplos específicos de los mismos incluyen *Paecilomyces tenuipes* cepa T1, *Paecilomyces tenuipes* cepa ATCC44818 (depositado en la Colección Americana de Cultivos Tipo, Virginia, EE.UU.) *Paecilomyces fumosoroseus* cepa IFO8555 (depositado en el Instituto de Fermentación, Osaka; Japón),

Paecilomyces fumosoroseus cepa IFO7072 (depositado en el Instituto de Fermentación, Osaka, Japón) y similares. Los ejemplos del hongo filamentoso insecticida del género *Beauveria* incluyen un hongo filamentoso de *Beauveria bassiana* y un hongo filamentoso de *Beauveria brongniartii* y similares. Los ejemplos específicos de los mismos incluyen *Beauveria bassiana* cepa F-667, *Beauveria bassiana* cepa F-942, *Beauveria bassiana* cepa F-1134, *Beauveria bassiana* cepa F-1274 y *Beauveria bassiana* cepa F-1310 y similares. Los ejemplos del hongo filamentoso insecticida del género *Metarhizium* incluyen un hongo filamentoso de *Metarhizium anisopliae*, un hongo filamentoso de *Metarhizium flavoviride* y un hongo filamentoso de *Metarhizium cylindrospora*e y similares. Los ejemplos del hongo filamentoso insecticida del género *Nomuraea* incluyen un hongo filamentoso de *Nomuraea rileyi* y similares. Los ejemplos del hongo filamentoso insecticida del género *Verticillium* incluyen un hongo filamentoso de *Verticillium lecanii* y similares.

Entre estos hongos filamentosos insecticidas, por ejemplo, es preferible cualquier hongo filamentoso de los siguientes.

(1) un hongo filamentoso del género *Paecilomyces*,

(2) un hongo filamentoso que tiene una secuencia de nucleótidos de ADN que codifica para ARN ribosómico 5,8S de núcleo y una secuencia de nucleótidos de ADN que codifica para ARN ribosómico 28S de núcleo, que se muestran en las SEQ ID NOS: 1 y 2, respectivamente

(3) un hongo filamentoso de *Paecilomyces tenuipes*

(4) un hongo filamentoso, *Paecilomyces tenuipes* cepa T1, depositado en el National Institute of Advanced Industrial Science and Technology International Patent Organism Depository con el número de registro FERM BP-7861.

(5) un hongo filamentoso del género *Beauveria*

(6) un hongo filamentoso de *Beauveria bassiana*

(7) hongos filamentosos, *Beauveria bassiana* cepa F-667 con el número de registro FERM BP-10514, *Beauveria bassiana* cepa F-942 con el número de registro FERM BP-10515, *Beauveria bassiana* cepa F-1134 con el número de registro FERM BP-10516, *Beauveria bassiana* cepa F-1274 con el número de registro FERM BP-10517 y *Beauveria bassiana* cepa F-1310 con el número de registro FERM BP-10518, que se depositaron en el National Institute of Advanced Industrial Science and Technology International Patent Organism Depository.

Estos hongos filamentosos insecticidas pueden aislarse de la naturaleza o pueden estar disponibles a partir de colecciones de cultivo y similares.

Cuando se aíslan de la naturaleza, en primer lugar se coge un insecto muerto en el campo, que ya está rígido y tiene un sinema creciendo de su cuerpo. Se toca un conidio formado en dicho insecto muerto con un asa de platino, y se frota el asa de platino sobre un medio de cultivo sólido, tal como medio SDY (composición: 1% (p/v) de peptona, 1% (p/v) de extracto de levadura, 2% (p/v) de glucosa, 1,5% (p/v) de agar) y medio Czapek (composición: 0,3% (p/v) de NaNO₃, 0,1% (p/v) de K₂HPO₄, 0,05% (p/v) de MgSO₄·7H₂O, 0,05% (p/v) de KCl, 0,001% (p/v) de FeSO₄·7H₂O, 3% (p/v) de sacarosa, 1,5% (p/v) de agar) en un movimiento en línea. El medio de cultivo se cultiva durante unos días a 25°C, y entonces se corta una colonia independiente de un hongo crecido y se transfiere a un medio de cultivo sólido nuevo tal como medio SDY y medio Czapek. La colonia se cultiva adicionalmente a 25°C. Un hongo filamentoso puede seleccionarse mediante identificación de hongos crecidos (por ejemplo, determinando si el hongo filamentoso está clasificado en *Paecilomyces* o si el hongo filamentoso está clasificado en *Beauveria*) según un método descrito en, por ejemplo, "ShokubutuBoeki (Plant Disease Protection)" un número especial n.º 2, Tenteki-Biseibutu-No-Kenkyu-Shuho, publicado por la asociación de protección de plantas de Japón.

A continuación, se determina si el hongo filamentoso seleccionado tiene actividad insecticida. Se cultiva el hongo filamentoso seleccionado (por ejemplo, hongo filamentoso del género *Paecilomyces* o del género *Beauveria*) sobre un medio de cultivo sólido tal como medio SDY y medio Czapek a 25°C. Se suspende un conidio formado en agua estéril de manera que la concentración del mismo es 1x10⁸ UFC/ml. Se sumergen diez insectos que pertenecen a la misma especie del insecto muerto del que se aisló el hongo en la suspensión resultante durante 30 segundos y entonces se mantienen en condiciones de 25°C y el 100% de humedad. Si hay un insecto muerto 6 días después de la inmersión, el hongo puede seleccionarse como un hongo filamentoso insecticida (por ejemplo, hongo filamentoso insecticida del género *Paecilomyces* o del género *Beauveria*).

Paecilomyces tenuipes cepa T1 es una cepa conocida descrita en la publicación de solicitud de patente estadounidense US2003-0124098 A1, que se depositó originalmente con el número de registro FERM P-18487 y se ha depositado según el Tratado de Budapest en el National Institute of Advanced Industrial Science and Technology International Patent Organism Depository con el número de registro FERM BP-7861 tras transferirse del depósito

ES 2 569 929 T3

original al depósito internacional. Las propiedades micológicas de la misma son tal como sigue.

(1) la velocidad de crecimiento (25°C, 7 días)

diámetro de la colonia: de 25 a 30 mm (placa con medio agar de extracto de maltosa al 2%), de 25 a 30 mm (placa con medio agar de harina de avena)

5 (2) color de la superficie superior de la colonia

blanco (placa con medio agar de extracto de maltosa al 2%), blanco (placa con medio agar de harina de avena)

(3) color de la superficie inferior de la colonia

blanco (placa con medio agar de extracto de maltosa al 2%), de blanco a amarillo claro (placa con medio agar de harina de avena)

10 (4) textura de la superficie superior de la colonia

de similar a lana a similar a pluma

(5) conidióforo

ramificación de superficie lisa y verticilo desestructurado

(6) Conidio

15 unión de forma elíptica a circular de superficie lisa, aproximadamente 4 µm x aproximadamente 2 µm

(7) clamidospora

ninguna (25°C, periodo de 9 días)

(8) secuencia de nucleótidos de ADN que codifica para ARN ribosómico 5,8S de núcleo y secuencia de nucleótidos de ADN que codifica para ARN ribosómico 28S de núcleo

20 la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica para ARN ribosómico 5,8S de núcleo se muestra en SEQ ID NO: 1 y la secuencia de nucleótidos de ADN que codifica para ARN ribosómico 28S de núcleo se muestra en SEQ ID NO: 2.

25 *Beauveria bassiana* cepa F-667, *Beauveria bassiana* cepa F-942, *Beauveria bassiana* cepa F-1134, *Beauveria bassiana* cepa F-1274 y *Beauveria bassiana* cepa F-1310 son cepas conocidas descritas en, por ejemplo, la publicación de solicitud de patente japonesa JPA2005304421, que se depositaron originalmente con los números de registro FERM P-19762, FERM P-19763, FERM P-19764, FERM P-19765, FERM P-19766, respectivamente y se han depositado según el Tratado de Budapest en el National Institute of Advanced Industrial Science and Technology International Patent Organism Depository con los números de registro FERM BP-10514, FERM BP-10515, FERM BP-10516, FERM BP-10517, FERM BP-10518, respectivamente tras transferirse del depósito original

30 al depósito internacional. Las propiedades micológicas de las mismas son tal como sigue.

Tabla 1

Hongos de la presente invención	F-667	F-942	F-1134	F-1274	F-1310
Hifas vegetativas	Que tienen un septo				
Conidióforo	Que no forma un microquiste radiculiforme				
Célula conidiogénica	Las células se forman frecuentemente como un agregado similar a un racimo de uvas (agrupación) o en aislamiento y no se forman como una serie en empalizada. La base está agrandada y el ápice es de forma extendida hacia delante en zigzag. Se genera un conidio en una protuberancia denticulada formada en el ápice.				
Conidio	Se genera un simpodioconidio a partir de una célula conidiogénica, subglobosa, de 2 a 3 µm.				
Color de la superficie superior de la colonia	Blanco	De blanco a amarillo claro	Blanco	Blanco	Blanco

ES 2 569 929 T3

Hongos de la presente invención	F-667	F-942	F-1134	F-1274	F-1310
Color de la superficie inferior de la colonia	Amarillo claro	Amarillo claro	Amarillo claro	Amarillo claro	Amarillo claro
Cromogénesis roja (*1)	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno	Ninguno
Temperatura óptima de crecimiento	Aprox. 30°C	Aprox. 25°C	Aprox. 25°C	Aprox. 25°C	Aprox. 25°C
Crecimiento a 35°C	Crecimiento no sustancial	Crecimiento no sustancial	Crecimiento no sustancial	Crecimiento no sustancial	Crecimiento no sustancial
Crecimiento a 15°C (*2)	De 0,35 a 0,45	De 0,45 a 0,55	De 0,35 o menos (viable)	De 0,35 a 0,45	De 0,55 o más
Crecimiento a 4°C	Crecimiento no sustancial	Crecimiento no sustancial	Crecimiento no sustancial	Crecimiento no sustancial	Crecimiento no sustancial
(*1) resultado de la observación tras el cultivo en un medio de cultivo líquido que comprende 30 g/l de glucosa, 10 g/l de peptona y 10 g/l de extracto de levadura durante 3 días a 25°C. (*2) diámetro relativo de un colonia en comparación con el diámetro de un colonia crecida a 25°C (durante 7 días) ajustado a 1					

El hongo filamentoso insecticida usado en la presente formulación con base oleosa puede prepararse mediante cultivo en un medio de cultivo líquido o un medio de cultivo sólido.

5 El medio de cultivo usado para cultivar dicho hongo no está específicamente limitado siempre que permita que dicho hongo prolifere, y pueden usarse aquellos usados convencionalmente para cultivar microorganismos y contienen apropiadamente una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, una sal orgánica y una sal inorgánica.

El medio de cultivo líquido puede prepararse habitualmente mezclando de manera apropiada agua con una fuente de carbono, una fuente de nitrógeno, una sal orgánica, una sal inorgánica, vitaminas y similares.

10 Los ejemplos de la fuente de carbono usada en el medio de cultivo líquido incluyen azúcares tales como glucosa, dextrina y sacarosa; alcoholes de azúcar tales como glicerol; ácidos orgánicos tales como ácido fumárico, ácido cítrico y ácido pirúvico; aceites animales; aceites vegetales; melazas y similares. La cantidad de la fuente de carbono contenida en el medio de cultivo es habitualmente del 0,1 al 20% (p/v).

15 Los ejemplos de la fuente de nitrógeno usada en el medio de cultivo líquido incluyen fuentes de nitrógeno orgánicas naturales tales como extracto de carne, peptona, extracto de levadura, extracto de malta, polvo de soja, licor de maíz macerado, polvo de semilla de algodón, levadura secada y casaminoácido; sales de amonio o nitratos de ácidos inorgánicos tales como nitrato de sodio, cloruro de amonio, sulfato de sodio y fosfato de amonio; sales de amonio de ácidos orgánicos tales como fumarato de amonio y citrato de amonio; urea; aminoácidos y similares. La cantidad de la fuente de nitrógeno contenida en el medio de cultivo

20 Los ejemplos de la sal orgánica y la sal inorgánica usadas en el medio de cultivo líquido incluyen cloruros, sulfatos, acetatos, carboxilatos o fosfatos de potasio, sodio, magnesio, hierro, manganeso, cobalto y cinc y similares, y más específicamente, incluyen cloruro de sodio, cloruro de potasio, sulfato de magnesio, sulfato de hierro (I), sulfato de manganeso, cloruro de cobalto, sulfato de cinc, sulfato de cobre, acetato de sodio, carboxilato de calcio, carboxilato de sodio, fosfato de potasio monohidratado y fosfato de potasio dihidratado y similares. La cantidad de sal inorgánica o sal orgánica contenida en el medio de cultivo es habitualmente del 0,0001 al 5% (p/v).

Los ejemplos de la vitamina incluyen tiamina y similares.

25 Los ejemplos del medio de cultivo sólido incluyen cultivos principales tales como arroz, trigo y similares y cereales tales como maíz, mijo, grama de agua, kaoliang, trigo sarraceno y similares y serrín, bagazo, cáscaras de arroz, salvado de trigo, vaina de semilla, paja, mazorca de maíz, posos de semilla de algodón, desecho de tofu, agar y gelatina y similares. Estos pueden usarse como una mezcla de dos o más de ellos. También se incluyen los que contienen la fuente de carbono, la fuente de nitrógeno, la sal orgánica, la sal inorgánica y/o la vitamina y similares
30 usados en el medio de cultivo líquido descrito anteriormente.

35 Los ejemplos específicos del medio de cultivo usado en cultivar el hongo filamentoso insecticida incluyen medios de cultivo líquidos tales como medio líquido de extracto de maltosa al 2%, medio líquido de harina de avena, medio líquido de dextrina de patata, medio líquido de Sabouraud y medio líquido de caldo L y medios de cultivo sólidos tales como arroz, cebada, salvado de trigo y un medio agar (medio agar de extracto de maltosa al 2%, medio agar de harina de avena, medio agar de dextrina de patata, medio agar de Sabouraud, medio agar de caldo L y

similares).

El cultivo del hongo puede realizarse según métodos convencionalmente utilizados para cultivar microorganismos.

Es decir, los ejemplos de un método para cultivar en un medio de cultivo líquido incluyen cultivo en agitación en tubo de ensayo, cultivo en movimiento alternativo, fermentador en frasco y cultivo en tanque, y los ejemplos de un método para cultivar en un medio de cultivo sólido incluyen cultivo en reposo, que puede cambiarse según se necesite.

La temperatura de cultivo puede cambiar apropiadamente en el intervalo que permite que el hongo crezca, pero está habitualmente en el intervalo de 10°C a 35°C, y preferiblemente de 15°C a 35°C. El pH del medio de cultivo está habitualmente en el intervalo de aproximadamente 4 a 11, y preferiblemente de aproximadamente 5 a 7. El periodo de cultivo puede cambiar con las condiciones de cultivo, pero está habitualmente en el intervalo de aproximadamente 1 día a aproximadamente 2 meses.

El hongo puede obtenerse mediante el método de centrifugar un fluido de cultivo en el que se cultiva el hongo de la presente invención, un método de añadir agua destilada y similares a y raspar el hongo de la superficie de un medio de cultivo sólido sobre el que se cultiva el hongo de la presente invención o un método de secar y triturar el medio de cultivo sólido y entonces fraccionarlo con tamiz.

La cantidad del hongo filamentos insecticida formulada en la presente formulación con base oleosa no está limitada específicamente, siempre que la presente formulación con base oleosa se prepare para conseguir un efecto insecticida requerido cuando se use, pero es habitualmente de 10^3 a 10^{13} UFC (UFC: unidad formadora de colonias) del hongo de la presente invención por 1 g de la presente formulación con base oleosa.

El hongo filamentos insecticida formulado en la presente formulación con base oleosa está presente en una cantidad de generalmente el 0,05 al 20% en peso, preferiblemente del 0,1 al 20% en peso, y más preferiblemente del 1 al 20% en peso, y de manera especialmente preferible del 1 al 10% en peso del peso total de la presente formulación con base oleosa.

El aceite hidrocarbonado de petróleo usado en la presente formulación con base oleosa es un aceite hidrocarbonado derivado de petróleo, que tiene una característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen (en otras palabras, temperatura de destilación del 50%, la temperatura a la que el 50% en volumen del aceite se evapora) de 350°C a 550°C y preferiblemente de 400°C a 500°C. Los ejemplos más preferibles del presente aceite hidrocarbonado de petróleo incluyen un aceite hidrocarbonado de petróleo en el que un hidrocarburo de parafina representa del 50 al 100% en peso (por ejemplo, mediante análisis n-d-M, 20°C) de los componentes y similares. Los ejemplos especialmente preferibles del presente aceite hidrocarbonado de petróleo incluyen un aceite hidrocarbonado de petróleo en el que un hidrocarburo de parafina representa del 60 al 90% en peso (por ejemplo, mediante análisis n-d-M, 20°C) y un hidrocarburo aromático representa no más del 3% en peso (por ejemplo, mediante análisis n-d-M, 20°C) de los componentes y similares.

Los ejemplos específicos incluyen:

(1) un aceite hidrocarbonado de petróleo que tiene una característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen de alrededor de 419°C, y en el que un hidrocarburo de parafina representa el 80% en peso (mediante análisis n-d-M, 20°C) y un hidrocarburo aromático representa el 0% en peso (mediante análisis n-d-M, 20°C) de los componentes; y

(2) un aceite hidrocarbonado de petróleo que tiene una característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen de alrededor de 472°C, y en el que un hidrocarburo de parafina representa el 74% en peso (mediante análisis n-d-M, 20°C) y un hidrocarburo aromático representa el 1,3% en peso (mediante análisis n-d-M, 20°C) de los componentes; y similares.

Esos aceites hidrocarbonados de petróleo pueden estar comercialmente disponibles como artículos comerciales (por ejemplo, un aceite pesticida y un aceite P de máquina pesticida), por ejemplo, de NICHIBEIKOYU Co., Ltd.

La característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen y la composición de un aceite hidrocarbonado de petróleo pueden determinarse según los siguientes métodos oficiales.

(1) Método de análisis para una característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen: norma JIS K2254 (págs. 37-44), "Productos de petróleo – Determinación de características de destilación: Método de ensayo para destilación mediante cromatógrafo de gases"

(2) Método de análisis para una composición de un aceite hidrocarbonado de petróleo (análisis n-d-M): norma ASTM D3238-95 (págs. 1-3). "Standard test method for calculation of carbon distribution and structural group analysis of

petroleum oils by the n-d-M"

Una cantidad del aceite hidrocarbonado de petróleo contenido en la presente formulación con base oleosa es habitualmente del 30 al 99% en peso, preferiblemente del 50 al 98% en peso, más preferiblemente del 50 al 97% en peso, incluso más preferiblemente del 70 al 97% en peso y de manera especialmente preferible del 70 al 95% en peso del peso total de la presente formulación con base oleosa.

El tensioactivo no iónico usado en la presente formulación con base oleosa es un tensioactivo no iónico adecuado para emulsionar el aceite hidrocarbonado de petróleo descrito anteriormente. Dicho tensioactivo no está específicamente limitado siempre que no afecte a un hongo filamentoso insecticida contenido en la presente formulación con base oleosa o plantas objeto de la solicitud y similares, e incluye específicamente, sulfosuccinato de dialquilo, alquil éter de polioxietileno, éster de ácido graso de polioxietileno, éster de ácido graso de sorbitano, alquil éter de polioxialquileno, aceite de ricino hidrogenado de polioxietileno, amida de ácido graso de polioxietileno, éster de alcohol polihidroxilado, derivados de alcohol de azúcar y tensioactivos a base de silicona y similares. Los ejemplos específicos incluyen, como éster de ácido graso de polioxietileno, Pegnol 24-O (TOHO Chemical Industry Co., LTD.), como alquil éter de polioxietileno, Pegnol O-4 (TOHO Chemical Industry Co., LTD.) y Pegnol ST-3 (TOHO Chemical Industry Co., LTD.), como mezcla de éster de ácido graso de sorbitano y alquil éter de polioxialquileno Sorpol 4274. Los ejemplos preferibles incluyen éster de ácido graso de polioxietileno, alquil éter de polioxietileno, éster de ácido graso de sorbitano y alquil éter de polioxialquileno y similares. Para esos tensioactivos no iónicos, un único tensioactivo no iónico puede usarse solo, o puede usarse una mezcla de dos o más tensioactivos no iónicos.

El HLB preferible más adecuado para la presente invención de un tensioactivo no iónico o una mezcla de tensioactivos no iónicos adecuados para emulsionar el aceite hidrocarbonado de petróleo anteriormente descrito, que puede determinarse según una clase y una cantidad de un aceite hidrocarbonado de petróleo usado conjuntamente, se ejemplifica generalmente en el intervalo de 7 a 10.

El intervalo de HLB de tensioactivo no iónico o la mezcla de tensioactivos no iónicos adecuado para emulsionar es preferiblemente de 7 a 10, y más preferiblemente de 7 a 9, cuando se usa conjuntamente con un aceite hidrocarbonado de petróleo que tiene una característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen de 350°C a 550°C y en el que un hidrocarburo de parafina representa del 50 al 100% en peso de los componentes.

La cantidad del tensioactivo no iónico o la mezcla de tensioactivos no iónicos contenidos en la presente formulación con base oleosa es generalmente del 0,1 al 50% en peso, preferiblemente del 1 al 20% en peso, y más preferiblemente del 1 al 10% en peso, y de manera específicamente preferible del 3 al 10% en peso del peso total de la presente formulación con base oleosa.

El agente desecante usado en la presente formulación con base oleosa no está específicamente limitado siempre que tenga capacidad para absorber agua y no afecte al hongo filamentoso insecticida, incluyendo preferiblemente compuestos de óxido de silicio tales como gel de sílice, zeolita y tamices moleculares y compuestos de calcio tales como cloruro de calcio y sulfato de calcio. Puede usarse un único agente desecante solo, o puede usarse una mezcla de dos o más agentes desecantes.

La cantidad del agente desecante contenido en la presente formulación con base oleosa es generalmente del 0,05 al 20% en peso, preferiblemente del 0,5 al 10% en peso, y más preferiblemente del 1 al 10% en peso del peso total de la presente formulación con base oleosa.

El agente desecante usado en la presente formulación con base oleosa puede añadirse a la presente formulación con base oleosa mediante cualquier método, incluyendo un método de mezclar el agente dentro de la presente formulación con base oleosa y un método de colocar el agente en un recipiente para el almacenamiento de la presente formulación con base oleosa y similares.

La razón en peso (partes en peso) de los respectivos componentes contenidos en la presente formulación con base oleosa es, por ejemplo, tal como se representa por el aceite hidrocarbonado de petróleo; el tensioactivo no iónico o la mezcla de tensioactivos no iónicos; el agente desecante; el hongo filamentoso insecticida, de 30 a 99 partes en peso; de 0,1 a 50 partes en peso; de 0,05 a 20 partes en peso; de 0,05 a 20 partes en peso, preferiblemente de 50 a 98 partes en peso; de 1 a 20 partes en peso; de 0,5 a 10 partes en peso; de 0,1 a 20 partes en peso, más preferiblemente de 50 a 97 partes en peso; de 1 a 20 partes en peso; de 1 a 10 partes en peso; de 1 a 20 partes en peso, incluso más preferiblemente de 70 a 97 partes en peso; de 1 a 10 partes en peso; de 1 a 10 partes en peso; de 1 a 10 partes en peso, y de manera especialmente preferible de 70 a 95 partes en peso; de 3 a 10 partes en peso; de 1 a 10 partes en peso; de 1 a 10 partes en peso.

La presente formulación con base oleosa puede comprender adicionalmente otro submaterial frecuentemente usado

5 en pesticidas tal como un portador sólido, un portador líquido, un agente de control de propiedades líquido (por ejemplo, un ajustador del pH), un propagador, un agente humectante, un estabilizador (un agente antiséptico, un agente anticongelante, un agente antiapelmazante, un agente antioxidante, un absorbente de UV) y un agente de prevención de deriva de los componentes descritos anteriormente, como otro componente o el resto según se necesite, dentro de un margen que no produzca una pérdida de actividad insecticida del hongo filamentoso insecticida usado en la presente invención y de características de la formulación.

Cuando se añaden esos submateriales, una cantidad total de submateriales añadidos es generalmente del 0,1% en peso al 50% en peso, preferiblemente del 0,5% en peso al 20% en peso del peso total de la presente formulación con base oleosa.

10 Puede aplicarse cualquier método habitual para preparar una formulación pesticida para un método para preparar la presente formulación con base oleosa. Por ejemplo, la presente formulación con base oleosa puede prepararse mezclando células fúngicas del hongo filamentoso insecticida obtenidas según el método anteriormente descrito con un aceite hidrocarbonado de petróleo, un tensioactivo no iónico y un agente desecante, y si se necesita, un submaterial como otro componente o el resto. En el mezclado, puede usarse un mortero y una mano de almirez, una
15 espátula y similares, o puede usarse una mezcladora tal como una mezcladora horizontal con cinta helicoidal y una mezcladora nauta.

Los ejemplos de plaga de insectos sobre la que la presente formulación con base oleosa tiene efecto insecticida incluyen las siguientes plagas de insectos.

20 *Hemiptera*: saltahojas (*Delphacidae*) tales como saltahojas pequeño marrón (*Laodelphax striatellus*), saltahojas marrón del arroz (*Nilaparvata lugens*) y saltahojas de dorso blanco del arroz (*Sogatella furcifera*); chicharras (*Deltocephalidae*) tales como chicharra verde del arroz (*Nephotettix cincticeps*) y chicharra verde del té (*Empoasca onukii*); pulgones (*Aphididae*) tales como pulgón del algodón (*Aphis gossypii*), pulgón verde del melocotonero (*Myzus persicae*) y pulgón del nabo (*Lipaphis pseudobrassicae*); chinches (*Pentatomidae*); moscas blancas (*Aleyrodidae*) tales como mosca blanca de invernadero (*Trialeurodes vaporariorum*), mosca blanca de la batata (*Bemisia tabaci*) y
25 mosca blanca de la hoja plateada (*Bemisia argentifolii*); escalas; chinches de encaje (*Tingidae*); psílidos (*Psyllidae*) y similares.

30 *Diptera*: Mosquitos (*Culicidae*) tales como *Culex* (por ejemplo, mosquito común doméstico (*Culex pipiens pallens*)), *Aedes*, *Anopheles* y *Chironomus spp.*; moscas domésticas (*Muscidae*) tales como mosca doméstica (*Musca domestica*); moscardones (*Calliphoridae*); moscardas de la carne (*Sarcophagidae*); antómidos (*Anthomyiidae*); moscas de las agallas (*Cecidomyiidae*); moscas minadoras de hojas (*Agromyzidae*); moscas de la fruta (*Tephritidae*); moscas del vinagre (*Drosophilidae*); moscas de la humedad (*Psychodidae*); tábanos (*Tabanidae*); moscas negras (*Simuliidae*); moscas de establo (*Muscidae*) y similares.

35 *Lepidoptera*: polillas (*Pyrilidae*) tales como barrenador del arroz (*Chilo suppressalis*), enrollador de la hoja de arroz (*Cnaphalocrocis medinalis*), taladro del maíz europeo (*Ostrinia nubilalis*) y *Parapediasia teterrella*; mariposas nocturnas (*Noctuidae*) tales como oruga del tabaco (*Spodoptera litura*), gusano soldado (*Spodoptera exigua*), oruga del corte del arroz (*Pseudaletia separata*), mariposa de la col (*Mamestra brassicae*), gusano trozador (*Agrotis ipsilon*), *Trichoplusia spp.*, *Heliothis spp.*, *Helicoverpa spp.* (por ejemplo, gusano cogollero (*Helicoverpa armigera*)), *Earias spp.* y *Autographa spp.* (por ejemplo, oruga semi-entrelazadora de la remolacha (*Autographa nigrisigna*)); piéridos (*Pieridae*) tales como blanquita de la col (*Pieris rapae crucivora*); iponomeutoideos (*Yponomeutidae*) tales como palomilla dorso de diamante (*Plutella xylostella*); limántridos (*Lymantriidae*) tales como polilla de las matas de hierba oriental (*Euproctis taiwana*), polilla gitana (*Lymantria dispar*), polilla de cola parda (*Euproctis similis*); polillas oruga babosa (*Limacodidae*) tales como *Scopelodes contractus*; polillas oruga de las carpas (*Lasiocampidae*) tales como oruga del pino (*Dendrolimus spectabilis*); tortricidos (*Tortricidae*) tales como tales como palomilla oriental de la fruta (*Adoxophyes orana fasciata*), polilla oriental de frutales (*Grapholita molesta*) y polilla del manzano (*Cydia pomonella*); *Carposinidae* tales como polilla del melocotón (*Carposina niponensis*); *Lyonetiidae* tales como minadora sinuosa (*Lyonetia clerkella*); *Gracillariidae* tales como minadora de la manzana (*Phyllonorycter ringoniella*); *Phyllocnistidae* tales como minador de hojas de los cítricos (*Phyllocnistis citrella*); *Yponomeuta evonymella* tales como polilla del repollo (*Plutella xylostella*); gelequíidos (*Gelechi*) tales como gusano rosado del algodón (*Pectinophora gossypiella*); ártidos (*Arctidae*); *Tineidae* y similares.

50 *Coleoptera*: escarabajo de la hoja (*Chrysomelidae*), cucarachas (*Scarabaeidae*), escarabajos de hocico (*Curculionidae*), gorgojos enrolladores de hojas (*Attelabidae*), mariquitas (*Coccinellidae*), escarabajos longicornios (*Cerambycidae*), escarabajos oscuros (*Tenebrionidae*) y similares.

55 *Thysanoptera*: trips (*Thripidae*) tales como el género *Thrips* (por ejemplo, trips de melón (*Thrips palmi*)), el género *Frankliniella* (por ejemplo, trips de las flores (*Frankliniella occidentalis*)) y el género *Scirtothrips* (por ejemplo, trips amarillo del té (*Scirtothrips dorsalis*)); trips con cola de tubo (*Phlaeotripidae*) y similares.

Blattaria: cucarachas blátidas (*Blattidae*), cucarachas blatélicas (*Blattellidae*) y similares. *Orthoptera*: saltamontes (*Acrididae*), alacrán cebollero (*Gryllotalpidae*).

Siphonaptera: pulgas de ser humano (*Pulex irritans*), pulgas de gato (*Ctenocephalides felis*) y similares.

Anoplura: piojo del cuerpo humano (*Pediculus humanus*) y similares.

- 5 *Isoptera*: termita japonesa (*Reticulitermes speratus*), termita subterránea de Formosa (*Coptotermes formosanus*) y similares.

10 La presente formulación con base oleosa se usa generalmente aplicándola a la plaga de insectos, a un hábitat de la plaga de insectos o a una planta vulnerable a la plaga de insectos. Cuando se aplica a una planta vulnerable a la plaga de insectos, es generalmente preferible que la presente formulación con base oleosa se diluya con agua, y la disolución resultante se usa en aplicación foliar a la planta.

Cuando se aplica la presente formulación con base oleosa a la plaga de insectos, a un hábitat de la plaga de insectos o a una planta vulnerable a la plaga de insectos la cantidad de aplicación de la misma es una cantidad eficaz desde el punto de vista insecticida, habitualmente de 10^5 a 10^{19} UFC, preferiblemente de 10^7 a 10^{17} UFC del cuerpo del hongo filamentoso insecticida en la presente formulación con base oleosa usada para 1000 m².

15 Ejemplos

La presente invención se describe con más detalle mediante los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1 (aislamiento de un hongo filamentoso insecticida del género *Paecilomyces*)

20 Se coge un insecto muerto en el campo, que ya está rígido y tiene un sinema creciendo de su cuerpo. Se toca un conidio formado en dicho insecto muerto con un asa de platino, y se frota el asa de platino sobre un medio SDY de modo que se traza una línea. Se cultiva el medio de cultivo durante unos días a 25°C, y entonces se corta una colonia independiente de un hongo crecido y se transfiere a un nuevo medio SDY. La colonia se cultiva adicionalmente a 25°C.

Entre los hongos resultantes, se selecciona un hongo que tiene las siguientes propiedades a) a h) como hongo filamentoso del género *Paecilomyces*.

- 25 a) Una hifa vegetativa tiene un septo.
- b) No existe reproducción sexual.
- c) No se forma conidio en un picnidio, un aparato similar a un crisol, sino que es un exoconidio.
- d) Un conidio es un fiaconidio formado de un ápice del fiálido, seco y catenulado.
- e) Un conidióforo no tiene microquistes en la parte superior del mismo.
- 30 f) Un fiálido no se dispone en forma en empalizada sobre un coremio.
- g) Conidos catenulados no forman un haz.
- h) El fiálido tiene un cuello verticilado transparente, deformado o laxo.

35 A continuación, se cultiva el hongo filamentoso seleccionado del género *Paecilomyces* en un medio SDY a 25°C. Se suspende un conidio formado en agua estéril de manera que la concentración del mismo es de 1×10^8 UFC/ml. Se aíslan diez insectos que pertenecen a la misma especie que el insecto muerto del que se aisló el hongo en la suspensión resultante durante 30 segundos, y entonces se hacen crecer en condiciones de 25°C y el 100% de humedad. Si existe un insecto muerto 6 días después de la inmersión, el hongo puede seleccionarse como hongo filamentoso insecticida del género *Paecilomyces*.

Ejemplo 2 (aislamiento de un hongo filamentoso insecticida del género *Beauveria*)

40 Se coge un insecto muerto en el campo, que ya está rígido y tiene un sinema creciendo de su cuerpo. Se toca un conidio formado en dicho insecto muerto con un asa de platino, y se frota el asa de platino sobre un medio SDY de

modo que se traza una línea. Se cultiva el medio de cultivo durante unos días a 25°C, y entonces se corta una colonia independiente de un hongo crecido y se transfiere a un nuevo medio SDY. La colonia se cultiva adicionalmente a 25°C.

5 Entre los hongos resultantes, se selecciona un hongo que tiene las siguientes propiedades a) a g) como hongo filamentoso del género *Beauveria*.

a) Una hifa vegetativa tiene un septo.

b) No existe reproducción sexual.

c) No se forma conidio en un picnidio, un aparato similar a un crisol, sino que es un exoconidio.

10 d) U conidio es un simpodioconidio formado de una célula conidiogénica, y la célula conidiogénica es raquis u odontoide.

e) No se forma una célula conidiogénica en una capa membranosa.

f) Un conidióforo no tiene microquistes

g) Una célula conidiogénica es lageniforme, que tiene una base turgente y un ápice con raquis.

15 A continuación, se cultiva el hongo filamentoso seleccionado del género *Beauveria* cultivó en un medio SDY a 25°C. Se suspende un conidio formado en agua estéril de manera que la concentración del mismo es de 1×10^8 UFC/ml. Se aíslan diez insectos que pertenecen a la misma especie que el insecto muerto del que se aisló el hongo en la suspensión resultante durante 30 segundos, y entonces se hacen crecer en condiciones de 25°C y el 100% de humedad. Si existe un insecto muerto 6 días después de la inmersión, el hongo puede seleccionarse como hongo filamentoso insecticida del género *Beauveria*.

20 **Ejemplo 3 (Preparación de un hongo filamentoso insecticida 1)**

En un matraz de 500 ml, se inoculó un cuerpo de hongo de *Paecilomyces tenuipes* cepa T1, que se cultivó previamente en medio agar de dextrosa de patata (Difco Laboratories), a 100 ml de medio de dextrosa de patata (Difco Laboratories), y entonces se cultivó con agitación durante 3 días a 25°C para obtener un fluido de cultivo. A continuación, se pretritararon 80 g de cebada en copos con la vaina (Matsukage Seibaku Co. Ltd.) para dar partículas que tenían un diámetro de 1 a 5 mm mediante un triturador de mano HC-1 (Osaka Chemical Co.,) y entonces se esterilizó en un autoclave. El producto se colocó en una cubeta transparente de PET (longitud: 310 mm, anchura: 220 mm, altura: 80 mm), y entonces se añadió y se mezcló con 20 g de dicho fluido de cultivo y 100 g de agua estéril. La cubeta se cubrió con un trozo de tejido estéril y se cultivó durante 17 días con irradiación continua con una luz a una iluminancia de 6.000, en una sala de control ambiental con una temperatura de 25°C y una humedad del 90% HR. Después del cultivo, se secó la cebada en copos con la vaina sobre la que crecían cuerpos de hongo (que contenían muchos conidios). Se colocaron la cebada en copos seca con la vaina y 5 bolas de ágata de 20 mm de diámetro en un tamiz convencional según la norma JIS (norma JIS Z 8801: se usó un tamiz de 60 de malla), se apiló sobre un tamiz convencional según la norma JIS (norma JIS Z 8801: se usaron tamices de 100 y 200 de malla), y entonces se agitó durante 10 minutos en un agitador de tamiz automatizado (Fritsch GmbH) para obtener de 2 a 3 g de polvo de hongo en una fracción de no más de 200 de malla, que contenía 1×10^{11} UFC/g del cuerpo de hongo de la cepa T1.

Ejemplo 4 (Preparación de un hongo filamentoso insecticida 2)

En un matraz de 500 ml, se inoculó un cuerpo de hongo de *Beauveria bassiana* F-667, que se cultivó previamente en medio de dextrosa de patata (Difco Laboratories), a 100 ml de medio agar de dextrosa de patata (Difco Laboratories), y entonces se cultivó con agitación durante 3 días a 25°C para obtener un fluido de cultivo. A continuación, se pretritararon 80 g de cebada en copos con la vaina (Matsukage Seibaku Co. Ltd.) para dar partículas que tenían un diámetro de 1 a 5 mm mediante un triturador de mano HC-1 (Osaka Chemical Co., Ltd.), y entonces se esterilizó en un autoclave. El producto se colocó en una cubeta transparente de PET (longitud: 310 mm, anchura: 220 mm, altura: 80 mm), y entonces se añadió y se mezcló con 20 g de dicho fluido de cultivo y 100 g de agua estéril. La cubeta se cubrió con un trozo de tejido estéril y se cultivó durante 17 días con irradiación continua con una luz a una iluminancia de 6.000 lux, en una sala de control ambiental con una temperatura de 25°C y una humedad del 90% HR. Después del cultivo, se secó la cebada en copos con la vaina sobre la que crecían cuerpos de hongo (que contenían muchos conidios). Se colocaron la cebada en copos seca con la vaina y 5 bolas de ágata de 20 mm de diámetro en un tamiz convencional según la norma JIS (norma JIS Z 8801: se usó un tamiz de 60 de malla), se apiló sobre un tamiz convencional según la norma JIS (norma JIS Z 8801: se usaron tamices de 100 y 200 de malla), y entonces se agitó durante 10 minutos en un agitador de tamiz automatizado (Fritsch GmbH) para obtener de 4 a

5 g de polvo de hongo en una fracción de no más de 200 de malla que contenía 1×10^{11} UFC/g del cuerpo de hongo.

Ejemplo 5 (Preparación de la presente formulación con base oleosa: 1)

5 En un frasco de vidrio, se cargaron el 88,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 5,0% en peso de Pegnol 24-O (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de un éster de ácido graso de polioxietileno, HLB 7,9) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo obtenido en el ejemplo 3 y se mezcló. La mezcla se mezcló adicionalmente con el 2,0% en peso de cloruro de calcio (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) que se había machacado en un mortero para obtener la presente formulación con base oleosa (1).
10

Ejemplo 6 (Preparación de la presente formulación con base oleosa: 2)

15 En un frasco de vidrio, se cargaron el 90,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 5,0% en peso de Pegnol ST-3 (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de un alquil éter de polioxietileno, HLB 7,9) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo obtenido en el ejemplo 3 y se mezcló. La mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de gel de sílice granular (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de dicha mezcla para obtener la presente formulación con base oleosa (2).

20 **Ejemplo 7 (Preparación de la presente formulación con base oleosa: 3)**

25 En un frasco de vidrio, se cargaron el 90,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 5,0% en peso de Pegnol ST-3 (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de un alquil éter de polioxietileno, HLB 7,9) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo obtenido en el ejemplo 3 y se mezcló. La mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de tamiz molecular 4A 1/16 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de dicha mezcla para obtener la presente formulación con base oleosa (3).

Ejemplo 8 (Preparación de la presente formulación con base oleosa: 4)

30 En un frasco de vidrio, se cargaron el 85,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 10,0% en peso de Pegnol 24-O (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de un éster de ácido graso de polioxietileno, HLB 7,9) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo obtenido en el ejemplo 3 y se mezcló. La mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de tamiz molecular 4A 1/16 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de dicha mezcla para obtener la presente formulación con base oleosa (4).
35

Ejemplo 9 (Preparación de la presente formulación con base oleosa: 5)

40 En un frasco de vidrio, se cargaron el 85,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 10,0% en peso de Pegnol O-4 (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de un alquil éter de polioxietileno, HLB 7,9) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo obtenido en el ejemplo 3 y se mezcló. La mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de tamiz molecular 4A 1/16 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de dicha mezcla para obtener la presente formulación con base oleosa (5).
45

Ejemplo 10 (Preparación de la presente formulación con base oleosa: 6)

50 En un frasco de vidrio, se cargaron el 85,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 10,0% en peso de Pegnol ST-3 (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de un alquil éter de polioxietileno, HLB 7,9) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo

obtenido en el ejemplo 3 y se mezcló. La mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de tamiz molecular 4A 1/16 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de dicha mezcla para obtener la presente formulación con base oleosa (6).

Ejemplo 11 (Preparación de la presente formulación con base oleosa: 7)

5 En un frasco de vidrio, se cargaron el 85,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 10,0% en peso de Sorpol 4274 (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de una mezcla de un éster de ácido graso de sorbitano y un alquil éter de polioxialquileno, HLB 8,2) y se mezclaron bien y
10 entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo obtenido en el ejemplo 3 y se mezcló. La mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de tamiz molecular 4A 1/16 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de dicha mezcla para obtener la presente formulación con base oleosa (7).

Ejemplo 12 (Preparación de la presente formulación con base oleosa: 8)

15 En un frasco de vidrio, se cargaron el 90,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 5,0% en peso de Pegnol 24-6 (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de un éster de ácido graso de polioxietileno, HLB 7,9) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo obtenido en el ejemplo 3 y se mezcló. La mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de tamiz
20 molecular 4A 1/16 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de dicha mezcla para obtener la presente formulación con base oleosa (8).

Ejemplo 13 (Preparación de la presente formulación con base oleosa: 9)

25 En un frasco de vidrio, se cargaron el 90,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 5,0% en peso de Pegnol 24-O (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de un éster de ácido graso de polioxietileno, HLB 7,9) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo obtenido en el ejemplo 3 y se mezcló. La mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de gel de sílice
30 granular (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de dicha mezcla para obtener la presente formulación con base oleosa (9).

Ejemplo 14 (Preparación de la presente formulación con base oleosa: 10)

35 En un frasco de vidrio, se cargaron el 85,5% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 10,0% en peso de Pegnol 24-O (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de un éster de ácido graso de polioxietileno, HLB 7,9) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo obtenido en el ejemplo 4 y se mezcló. La mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de tamiz
40 molecular 4A 1/16 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de dicha mezcla para obtener la presente formulación con base oleosa (10).

Ejemplo comparativo 1 (Preparación de una formulación con base oleosa comparativa: 1)

45 En un frasco de vidrio, se cargaron el 90,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 5,0% en peso de Pegnol 24-O (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de un éster de ácido graso de polioxietileno, HLB 7,9) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo obtenido en el ejemplo 3. La mezcla se mezcló adicionalmente para obtener una formulación con base
oleosa comparativa (1).

Ejemplo comparativo 2 (Preparación de una formulación con base oleosa comparativa: 2)

50 En un frasco de vidrio, se cargaron el 90,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 5,0% en peso de Pegnol ST-3 (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de un

alquil éter de polioxietileno, HLB 7,9) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo obtenido en el ejemplo 3. La mezcla se mezcló adicionalmente para obtener una formulación con base oleosa comparativa (2).

Ejemplo comparativo 3 (Preparación de una formulación con base oleosa comparativa: 3)

5 En un frasco de vidrio, se cargaron el 85,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 10,0% en peso de Sorpol 5060 (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo aniónico de dodecilmencenosulfonato de sodio) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo
10 obtenido en el ejemplo 3. Dicha mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de tamiz molecular 4A 1/16 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de dicha mezcla para obtener una formulación con base oleosa comparativa (3).

Ejemplo comparativo 4 (Preparación de una formulación con base oleosa comparativa: 4)

15 En un frasco de vidrio, se cargaron el 85,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 10,0% en peso de Soprophor 4D384 (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo aniónico de triestirilfenil éter de ácido sulfúrico de polioxietileno) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del
20 polvo de hongo obtenido en el ejemplo 3. La mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de tamiz molecular 4A 1/16 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de dicha mezcla para obtener una formulación con base oleosa comparativa (4).

Ejemplo comparativo 5 (Preparación de una formulación con base oleosa comparativa: 5)

25 En un frasco de vidrio, se cargaron el 85,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 10,0% en peso de Soprophor 3D33 (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo aniónico de triestirilfenil éter de ácido fosfórico de polioxietileno) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del
30 polvo de hongo obtenido en el ejemplo 3. Dicha mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de tamiz molecular 4A 1/16 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de dicha mezcla para obtener una formulación con base oleosa comparativa (5).

Ejemplo comparativo 6 (Preparación de una formulación con base oleosa comparativa: 6)

35 En un frasco de vidrio, se cargaron el 85,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 10,0% en peso de Catinal LTC-35A (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo catiónico de cloruro de lauriltrimetilamonio) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo de hongo
40 obtenido en el ejemplo 3. La mezcla se mezcló adicionalmente con el 5% en peso de tamiz molecular 4A 1/16 (Wako Pure Chemical Industries, Ltd.) por el 100% en peso de la mezcla para obtener una formulación con base oleosa comparativa (6).

Ejemplo comparativo 7 (Preparación de una formulación con base oleosa comparativa: 7)

45 En un frasco de vidrio, se cargaron el 85,0% en peso de un aceite hidrocarbonado de petróleo (NICHIBEIKOYU Co., Ltd., la característica de destilación de una temperatura de recuperación del 50% en volumen es de 472°C, cantidades de componentes: el 74% en peso de un hidrocarburo de parafina, el 1,3% en peso de un hidrocarburo aromático) y el 10,0% en peso de Pegnol 24-0 (TOHO Chemical Industry Co., Ltd., un tensioactivo no iónico de un éster de ácido graso de polioxietileno, HLB 7,9) y se mezclaron bien y entonces se añadió el 5,0% en peso del polvo
de hongo obtenido en el ejemplo 4. La mezcla se mezcló adicionalmente para obtener una formulación con base oleosa comparativa (7).

Ejemplo de ensayo 1 (estabilidad de la viabilidad del hongo filamentoso insecticida en la presente preparación con base oleosa: 1)

50 Se tomaron 20 mg de una muestra de cada una de las presentes formulaciones con base oleosa (1), (2), (3), (8) y (9) y de las formulaciones con base oleosa comparativas (1) y (2), y se añadieron a 20 ml de agua estéril de dilución para preparar una suspensión. La suspensión se diluyó hasta una concentración apropiada con el agua estéril de

dilución. Se añadieron gota a gota 100 µl de la suspensión diluida resultante y se extendieron sobre un medio agar de dextrosa de patata y se cultivó durante 2 días a 25°C. Después del cultivo, se determinó un recuento de viables de hongos filamentosos insecticidas en dicha formulación mediante el recuento de las colonias crecidas. Al mismo tiempo, se colocó cada una de las presentes formulaciones con base oleosa (1), (2), (3), (8) y (9) y las formulaciones con base oleosa comparativas (1) y (2) en un frasco de vidrio con tapón de rosca y se cerró y entonces se almacenó en la oscuridad durante 12 semanas a 25°C. Se tomaron 20 mg de una muestra de cada una de las presentes formulaciones con base oleosa 1 a 3 y de las formulaciones con base oleosa comparativas 1 y 2 almacenadas y se añadieron a 20 ml de agua estéril de dilución para preparar una suspensión. La suspensión se diluyó hasta una concentración apropiada con el agua estéril de dilución. Se añadieron gota a gota 100 µl de la suspensión diluida resultante y se extendieron sobre un medio agar de dextrosa de patata y se cultivó durante 2 días a 25°C. Después del cultivo, se determinó un recuento de viables de hongos filamentosos insecticidas en dicha formulación mediante el recuento de las colonias crecidas. Se calculó la razón de recuentos viables de hongos filamentosos insecticidas en la formulación antes y después del almacenamiento así obtenido para determinar la tasa de supervivencia del hongo filamentosos insecticida después de 12 semanas de almacenamiento. El agua estéril de dilución usada se preparó añadiendo Shin Lino (Nihon Nohyaku Co., Ltd., un propagador) y Silwet L-77 (Nippon Unica Co., un tensioactivo) a una concentración del 0,1% (p/v) cada uno a una disolución acuosa del 0,85% (p/v) de cloruro de sodio y esterilizando. Las tasas de supervivencia de los hongos filamentosos insecticidas en las presentes formulaciones con base oleosa (1), (2), (3), (8) y (9) y las formulaciones con base oleosa comparativas (1) y (2) después de 12 semanas de almacenamiento se muestran en la tabla 2.

Tabla 2

Formulación	Tasa de supervivencia (%)
Presente formulación con base oleosa (1)	100
Presente formulación con base oleosa (2)	100
Presente formulación con base oleosa (3)	100
Presente formulación con base oleosa (8)	100
Presente formulación con base oleosa (9)	100
Formulación con base oleosa comparativa (1)	50
Formulación con base oleosa comparativa (2)	75

Ejemplo de ensayo 2 (estabilidad de la viabilidad del hongo filamentosos insecticida en la presente formulación con base oleosa: 2)

Se tomaron 20 mg de una muestra de cada una de las presentes formulaciones con base oleosa (10) y de la formulación con base oleosa comparativa (7), y se añadieron a 20 ml de agua estéril de dilución para preparar una suspensión. La suspensión se diluyó hasta una concentración apropiada con el agua estéril de dilución. Se añadieron gota a gota 100 µl de la suspensión diluida resultante y se extendieron sobre un medio agar de dextrosa de patata y se cultivó durante 2 días a 25°C. Después del cultivo, se determinó un recuento de viables de hongos filamentosos insecticidas en dicha formulación mediante el recuento de las colonias crecidas. Al mismo tiempo, cada una de las presentes formulaciones con base oleosa (10) y la formulación con base oleosa comparativa (7) se colocaron en un frasco de vidrio con tapón de rosca y se cerró y entonces se almacenó en la oscuridad durante medio año a 25°C. Se tomaron 20 mg de una muestra de cada una de las presentes formulaciones con base oleosa (10) y de la formulación con base oleosa comparativa (7) almacenadas, y se añadieron a 20 ml de agua estéril de dilución para preparar una suspensión. La suspensión se diluyó hasta una concentración apropiada con el agua estéril de dilución. Se añadieron gota a gota 100 µl de la suspensión diluida resultante y se extendieron sobre un medio agar de dextrosa de patata y se cultivaron durante 2 días a 25°C. Después del cultivo, se determinó un recuento de viables de hongos filamentosos insecticidas en la formulación mediante el recuento de las colonias crecidas. Se calculó la razón de recuentos viables de hongos filamentosos insecticidas en dicha formulación antes y después del almacenamiento así obtenido para una tasa de supervivencia del hongo filamentosos insecticida después de medio año de almacenamiento. El agua estéril de dilución usada se preparó añadiendo Shin Lino (Nihon Nohyaku Co., Ltd., un propagador) y Silwet L-77 (Nippon Unica Co., un tensioactivo) a una concentración del 0,1% (p/v) de cada una de una disolución acuosa del 0,85% (p/v) de cloruro de sodio y esterilizando. La comparación entre tasas de supervivencia de hongos filamentosos insecticidas en la presente formulación con base oleosa (10) después de 1 año de almacenamiento y la formulación con base oleosa comparativa (7) después de 1 año de almacenamiento muestran que la presente formulación con base oleosa (10) tiene mayor tasa de supervivencia que la formulación con base oleosa comparativa (7).

Ejemplo de ensayo 3 (estabilidad de la viabilidad del hongo filamentosos insecticida en la presente formulación con base oleosa: 3)

Se tomaron 20 mg de una muestra de cada una de las presentes formulaciones con base oleosa (4) a (7) y de las formulaciones con base oleosa comparativas (3) a (6), y se añadieron a 20 ml de agua estéril de dilución para preparar una suspensión. La suspensión se diluyó hasta una concentración apropiada con el agua estéril de dilución.

Se añadieron gota a gota 100 µl de la suspensión diluida resultante y se extendieron sobre un medio agar de dextrosa de patata y se cultivó durante 2 días a 25°C. Después del cultivo, se determinó un recuento de viables de hongos filamentosos insecticidas en dicha formulación mediante el recuento de las colonias crecidas. Al mismo tiempo, se colocaron cada una de las presentes formulaciones con base oleosa (4) a (7) y las formulaciones con base oleosa comparativas (3) a (6) en un frasco de vidrio con tapón de rosca y se cerró y entonces se almacenó en la oscuridad durante dos semanas a 40°C. Se tomaron 20 mg de una muestra de cada una de las presentes formulaciones con base oleosa (4) a (7) y de las formulaciones con base oleosa comparativas (3) a (6) almacenadas, y se añadieron a 20 ml de agua estéril de dilución para preparar una suspensión. La suspensión se diluyó hasta una concentración apropiada con el agua estéril de dilución. Se añadieron gota a gota 100 µl de la suspensión diluida resultante y se extendieron sobre un medio agar de dextrosa de patata y se cultivaron durante 2 días a 25°C. Después del cultivo, se determinó un recuento de viables de hongos filamentosos insecticidas en la formulación después del almacenamiento mediante el recuento de las colonias crecidas. Se calculó la razón de recuentos viables de hongos filamentosos insecticidas en dicha formulación antes y después del almacenamiento así obtenido para determinar la tasa de supervivencia del hongo filamentosos insecticida después de 2 semanas de almacenamiento. El agua estéril de dilución usada se preparó añadiendo Shin Lino (Nihon Nohyaku Co., Ltd., un propagador) y Silwet L-77 (Nippon Unica Co., un tensioactivo) a una concentración del 0,1% (p/v) cada uno a una disolución acuosa del 0,85% (p/v) de cloruro de sodio y esterilizando.

Las tasas de supervivencia de hongos filamentosos insecticidas en las presentes formulaciones con base oleosa (4) a (7) y las formulaciones con base oleosa comparativas (3) a (6) después del almacenamiento durante 2 semanas a 40°C se muestran en la tabla 3.

Tabla 3

Formulación	Tasa de supervivencia (%)
Presente formulación con base oleosa (4)	100
Presente formulación con base oleosa (5)	100
Presente formulación con base oleosa (6)	100
Presente formulación con base oleosa (7)	100
Formulación con base oleosa comparativa (3)	25
Formulación con base oleosa comparativa (4)	67
Formulación con base oleosa comparativa (5)	25
Formulación con base oleosa comparativa (6)	0,01

Ejemplo de ensayo (ensayo de emulsión de la presente formulación con base oleosa)

Se cargaron 230 ml de agua de dureza 3 dentro de un cilindro de 250 ml con un tapón ajustado. Se tapó el cilindro con el tapón y entonces se dejó en reposo durante 30 minutos o más a 20°C en un baño termostático. Se añadieron 250 mg de cada una de las presentes formulaciones con base oleosa (1) a (10) a cilindros individuales y entonces cada uno de estos cilindros se enrasó a 250 ml añadiendo agua de dureza 3 a 20°C. El cilindro se tapó con el tapón y entonces se le dio la vuelta diez veces durante 20 segundos y se observó para determinar el estado de emulsión. Los resultados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4

Formulación	Estado de emulsión
Presente formulación con base oleosa (1)	Emulsionado uniformemente
Presente formulación con base oleosa (2)	Emulsionado uniformemente
Presente formulación con base oleosa (3)	Emulsionado uniformemente
Presente formulación con base oleosa (4)	Emulsionado uniformemente
Presente formulación con base oleosa (5)	Emulsionado uniformemente
Presente formulación con base oleosa (6)	Emulsionado uniformemente
Presente formulación con base oleosa (7)	Emulsionado uniformemente
Presente formulación con base oleosa (8)	Emulsionado uniformemente
Presente formulación con base oleosa (9)	Emulsionado uniformemente
Presente formulación con base oleosa (10)	Emulsionado uniformemente

30 Lista de secuencias

<110> Sumitomo Chemical Co., Ltd.

<120> FORMULACIONES INSECTICIDAS CON BASE OLEOSA QUE COMPRENDEN UN HONGO FILAMENTOSO INSECTICIDA

ES 2 569 929 T3

<130> N.97499 TJD

<140> Documento EP 06251080.5

<141> 28-02-2006

<150> Documento JP 2005-052875

5 <151> 28-02-2005

<150> Documento JP 2005-343326

<151> 29-11-2005

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

10 <210> 1

<211> 156

<212> ADN

<213> *Paecilomyces tenuipes*

<400> 1

15 aactttcaac aacggatctc ttggttctgg catcgatgaa gaacgcagcg aaatgcgata 60
 cgtaatgtga attgcagaat tccgtgaatc atcgaatcctt tgaacgcaca ttgcgccccg 120
 cagcattctg gcgggcatgc ctgttcgagc gtcatt 156

<210> 2

<211> 561

<212> ADN

<213> *Paecilomyces tenuipes*

20 <400> 2

aaaccaacag ggattgcccc agtaacggcg agtgaagcgg caacagctca aatttgaaat 60
 ctggcccccg ggtccgagtt gtaatttgca gaggatgctt cgggcgaggt gccttccgag 120
 ttccctggaa cgggacgcca cagaggggta gagccccgtc tggtcggaca ccgagccccg 180
 gtgaagctcc ttcgaagagt cgagtagttt gggaatgctg ctcaaaacgg gaggtatatg 240
 tcttctaaag ctaaataattg gccagagacc gatagcgcac aagtagagt atcgaaagat 300
 gaaaagcact ttgaaaagag ggttaaaaag tacgtgaaat tgttgaaagg gaagcgccca 360
 tgaccagact tgggccccgt gaatcacccg gcgttctcgc cgggtgcactt tgccggggcac 420
 aggccagcat cagtttgccg cgggggagaa aggcttcggg aacgtggctc cctcggggagt 480
 gttatagccc gctgcgcaat accctgcgcc ggactgaggt acgcgcatcg caaggatgct 540
 ggcgtaatgg tcatcagcga c 561

REIVINDICACIONES

1. Formulaci3n insecticida con base oleosa, que comprende un aceite hidrocarbonado de petr3leo, un tensioactivo no i3nico adecuado para emulsionar el aceite hidrocarbonado de petr3leo, un agente desecante y un hongo filamentoso insecticida.
- 5 2. Formulaci3n insecticida con base oleosa seg3n la reivindicaci3n 1, en la que dicho tensioactivo no i3nico tiene un HLB en el intervalo adecuado para emulsionar el aceite hidrocarbonado de petr3leo.
3. Formulaci3n insecticida con base oleosa seg3n la reivindicaci3n 1 3 2, en la que dicho aceite hidrocarbonado de petr3leo que tiene una caracter3stica de destilaci3n de una temperatura de recuperaci3n del 50% en volumen de 350°C a 550°C.
- 10 4. Formulaci3n insecticida con base oleosa seg3n la reivindicaci3n 1, en la que dicho aceite hidrocarbonado de petr3leo tiene una caracter3stica de destilaci3n de una temperatura de recuperaci3n del 50% en volumen de 400°C a 500°C, y dicho tensioactivo no i3nico es uno o m3s tensioactivos seleccionados del grupo que consiste en 3ster de 3cido graso de polioxietileno, alquil 3ter de polioxietileno, 3ster de 3cido graso de sorbitano y alquil 3ter de polioxialquileno, y tiene un HLB en el intervalo adecuado para emulsionar dicho aceite hidrocarbonado de petr3leo.
- 15 5. Formulaci3n insecticida con base oleosa seg3n cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que dicho agente desecante es uno o m3s agentes desecantes seleccionados de compuestos de 3xido de silicio y compuestos de calcio.
6. Formulaci3n insecticida con base oleosa seg3n cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicho hongo filamentoso insecticida es una o m3s cepas de hongos de g3neros seleccionados del grupo que consiste en g3nero *Paecilomyces*, g3nero *Beauveria*, g3nero *Metarhizium*, g3nero *Nomuraea*, g3nero *Verticillium*, g3nero *Hirsutella*, g3nero *Culicinomyces*, g3nero *Sorospora* y g3nero *Tolypocladium*.
- 20 7. Formulaci3n insecticida con base oleosa seg3n cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que dicho hongo filamentoso insecticida es un hongo filamentoso del g3nero *Paecilomyces*.
8. Formulaci3n insecticida con base oleosa seg3n cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho hongo filamentoso insecticida es un hongo filamentoso de *Paecilomyces tenuipes*.
- 25 9. Formulaci3n insecticida con base oleosa seg3n cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho hongo filamentoso insecticida es *Paecilomyces tenuipes* cepa T1 (FERM BP-7861).
10. Formulaci3n insecticida con base oleosa seg3n cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho hongo filamentoso insecticida es un hongo filamentoso del g3nero *Beauveria*.
- 30 11. Formulaci3n insecticida con base oleosa seg3n cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho hongo filamentoso insecticida es un hongo filamentoso de *Beauveria bassiana*.
12. Formulaci3n insecticida con base oleosa seg3n cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho hongo filamentoso insecticida es una o m3s cepas seleccionadas del grupo que consiste en *Beauveria bassiana* cepa F-667 (FERM BP-10514), *Beauveria bassiana* cepa F-942 (FERM BP-10515), *Beauveria bassiana* cepa F-1134 (FERM BP-10516) *Beauveria bassiana* cepa F-1274 (FERM BP-10517) y *Beauveria bassiana* cepa F-1310 (FERM BP-10518).
- 35 13. M3todo para controlar plagas de insectos, que comprende aplicar la formulaci3n insecticida con base oleosa seg3n cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 a una plaga de insectos, un h3bitat de la plaga de insectos o una planta vulnerable a la plaga de insectos.