

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 589 554**

51 Int. Cl.:

A01N 63/00 (2006.01)

A01K 67/033 (2006.01)

A01P 7/02 (2006.01)

A01P 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.06.2013 PCT/EP2013/063130**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.12.2013 WO13190142**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.06.2013 E 13730585 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2016 EP 2866567**

54 Título: **Composición que comprende artrópodos y huevos de ácaros astigmátidos**

30 Prioridad:

22.06.2012 FR 1255950

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.11.2016

73 Titular/es:

AGROSOLUTIONS (50.0%)
83 avenue de la Grande Armée
75016 Paris, FR y
INSTITUT NATIONAL D'ETUDES SUPERIEURES
AGRONOMIQUES DE MONTPELLIER (50.0%)

72 Inventor/es:

GUICHOU, SABINE;
KREITER, SERGE;
FERRERO, MAXIME y
MAIGNET, PASCAL

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 589 554 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición que comprende artrópodos y huevos de ácaros astigmátidos.

5 La presente invención se refiere a una composición de control biológico que comprende por lo menos agentes de control biológico artrópodos y huevos de ácaros astigmátidos.

10 El desarrollo de pesticidas ha expandido enormemente la agricultura haciendo posible el tratamiento contra una amplia variedad de plagas así como también enfermedades, con una cantidad limitada de moléculas. Los efectos de los productos pesticidas dependen principalmente de su categoría: insecticidas, acaricidas, fungicidas, herbicidas, nematocidas, moluscicidas, raticidas, exterminadores de topes.

15 Sin embargo, la utilización de estos productos contribuye con el desequilibrio del biotopo, notablemente eliminando ciertos elementos beneficiosos y/o creando fenómenos de resistencia, dos factores que contribuyen con el desarrollo de plagas que dañan los cultivos y agentes patógenos.

20 La utilización de agentes de control biológico constituye un procedimiento para luchar contra las plagas, agentes patógenos o plantas adventicias por medio de sus organismos antagónicos naturales, tales como especies fitófagas (para plantas adventicias), parasitoides (para artrópodos, etc.), depredadores (para nemátodos, artrópodos, vertebrados, moluscos, murciélagos, etc.) o agentes patógenos (para virus, bacterias, hongos, etc.). La utilización de estos agentes de control biológico también permite una reducción en el uso de pesticidas.

25 La utilización de artrópodos, especialmente Phytoseiidae, como agentes de control biológico ha demostrado la eficacia de ese tipo de enfoque. Por lo tanto, se encuentran composiciones en el mercado que comprenden poblaciones de *Amblyseius cucumeris*, un depredador de larvas de arañas, la cual es una especie fitófaga (tisanópteros), y salvado, haciendo de ese modo posible distribuir con mayor facilidad el producto en los cultivos. Estos ingredientes pueden ser proporcionados, opcionalmente, en bolsitas preperforadas, a fin de liberar a los depredadores en forma controlada con un transcurso del tiempo. De manera similar, la utilización de *Neoseiulus californicus* como un depredador de especies de Tetranychidae y de Tarsonemidae, y el uso de *Amblyseius swirskii* como un depredador de arañas o de Aleyrodidae, es actualmente común.

35 Con este enfoque, es necesario reintroducir el agente de control biológico vivo, en este caso el artrópodo, en cantidad suficiente para lograr el efecto requerido. Como resultado, la dieta de los agentes de control biológico, en particular los artrópodos, es un factor crítico determinante para producir el agente de control biológico, o en la preparación de composiciones de control biológico.

40 Una gran cantidad de documentos describen procedimientos para la producción masiva de agentes de control biológico. Tradicionalmente, los agentes de control biológico son criados en presencia de una población de presas como alimento y a continuación son liberados en cultivos. Las poblaciones de presas utilizadas pueden ser presa que no sea la presa natural, por ejemplo presas que son más fáciles de criar, si pueden actuar como alimento para los agentes de control biológico. Por ejemplo, en el campo de la producción masiva de artrópodos como agentes de control biológico, GB2393890 describe que *Amblyseius cucumeris* puede utilizar *Tyrophagus putrescentiae*, *T. tropicus* y *Acarus siro* como presa de sustitución.

45 Por lo tanto, las composiciones que comprenden una población de artrópodos, una población de presa, y, opcionalmente, un sustrato que proporciona soporte y nutrientes para la población de presa, ya han sido descritas.

50 Nomikou *et al.* han demostrado que las poblaciones de *Amblyseius swirskii* pueden crecer teniendo al mismo tiempo la relación elevada de depredador/presa, si se alimentan de *Tyrophagus putrescentiae* (Experimental and Applied Acarology 27(1-2), 57-68).

55 La solicitud de patente WO2006/057552 describe que las poblaciones de *Amblyseius swirskii* pueden ser criadas usando ácaros astigmátidos, en particular pertenecientes a la familia Carpglyphidae, Pyroglyphidae, Glyphagidae o Acaridae, como una fuente alimenticia.

Sin embargo, este procedimiento plantea una cierta cantidad de problemas.

60 Por un lado, es necesario, en primer lugar, obtener una población de presa, con todas las dificultades relacionadas con su crianza. En particular, esta presa requiere regularmente alimento que contiene principalmente grano y levadura, ingredientes que probablemente permitan que se desarrolle moho.

65 Por otro lado, es conocido que el equilibrio entre las poblaciones de presas y depredadores, el cual es crítico para obtener la cantidad deseada de depredadores depende de la relación inicial de depredadores/presas. Si bien este equilibrio es dinámico, el mismo involucra necesariamente fases de disminución en la población de depredadores. Un índice de presas demasiado elevado puede tener un efecto perjudicial sobre la evolución de los depredadores, conduciendo luego a una disminución drástica en la población de depredadores en la composición.

Asimismo, en una cantidad de casos, particularmente cuando las presas son ácaros del polvo del hogar, se ha observado que algunas especies pueden ser fitotóxicas. Por añadidura, algunos de los ácaros a menudo utilizados para criar fitoseidos, en particular entre ácaros astigmátidos, son particularmente alergénicos para el hombre.

5 Finalmente, las composiciones existentes que comprenden depredadores y presas, en particular que comprenden ácaros, tienen una vida útil que es a menudo muy corta, y duran a lo sumo aproximadamente 3 semanas en el campo sin deteriorarse.

10 Por lo tanto existe aún la necesidad de brindar fuentes nutricionales mejoradas que podrían utilizarse para la crianza masiva de agentes de control biológico, en particular artrópodos. Más específicamente, existe la necesidad de fuentes nutricionales que tengan una vida útil mejorada y que puedan, por lo tanto, mejorar la vida útil total de las composiciones de agentes de control biológico.

15 Los inventores han descubierto que la utilización de huevos de ácaros astigmátidos para alimentar poblaciones de artrópodos hace posible resolver los problemas del estado de la técnica.

Los inventores han descubierto más particularmente que la utilización específica de huevos de ácaros astigmátidos para alimentar poblaciones de artrópodos es más eficaz que la utilización de poblaciones enteras de ácaros astigmátidos las cuales comprenden adicionalmente larvas, ninfas y ácaros astigmátidos adultos.

20 Adicionalmente, los inventores han descubierto que los huevos de ácaros astigmátidos tienen una vida útil a temperatura ambiente que es más larga que otros tipos de alimento para artrópodos, aproximadamente de 4 a 6 semanas. Por consiguiente, las composiciones que comprenden huevos de ácaros astigmátidos tienen una vida útil más larga en el campo que las composiciones del estado de la técnica, las cuales comprenden otros tipos de alimentos.

Finalmente, los inventores han descubierto sorprendentemente que los huevos de ácaros astigmátidos pueden ser tratados a fin de evitar el nacimiento. Los inventores han encontrado, de hecho, que los huevos que son tratados en una forma específica entrar en una etapa en la que no pueden ser adicionalmente incubados aunque retienen una actividad metabólica. Esta etapa es denominada en la presente memoria etapa subletal. Esos huevos son particularmente ventajosos ya que tienen una vida útil mejorada, y no se deterioran tan rápidamente como los huevos tratados en condiciones diferentes. Adicionalmente, esos huevos subletales no se desarrollarán en larvas y otras etapas que no son tan eficaces para alimentar poblaciones de artrópodos.

35 Un primer objeto de la invención consiste en la utilización de huevos de ácaros astigmátidos como una fuente de nutrientes para agentes de control biológico de artrópodos.

Un segundo objeto de la invención consiste en una composición de control biológico que comprende:

- por lo menos una población de agentes de control biológico de artrópodos,
- una fuente de nutriente que comprende huevos de ácaros astigmátidos, y
- opcionalmente, un soporte y/o sustrato de diseminación.

45 Además, la presente invención tiene como objeto un procedimiento para criar agentes de control biológico artrópodos de una fuente de nutrientes que comprende por lo menos una población de ácaros astigmátidos.

En el contexto de la invención, la expresión "población de agentes de control biológico de artrópodos" se refiere a cualquier población que comprende por lo menos dos individuos vivos pertenecientes a por lo menos una de las especies de artrópodos entre los agentes de control biológico. Dicha población puede estar comprendida por individuos pertenecientes a solamente una o varias etapas del desarrollo del agente de control biológico. Por ejemplo, la población puede comprender huevos, larvas, ninfas, individuos adultos o mezclas de estas diversas etapas. Los artrópodos utilizados de acuerdo con la invención se seleccionan, por ejemplo, de la clase de los arácnidos (Arachnida), preferentemente de ácaros (orden Acari), o de la clase Insecta.

55 En una forma de realización, los ácaros se seleccionan de los órdenes Mesostigmata y Trombidiformes.

De acuerdo con una forma de realización, los ácaros pueden seleccionarse, por ejemplo, de las familias de fitoseidos (Phytoseiidae), Macrochelidae o Laelapidae.

60 Ventajosamente, los fitoseidos pueden ser seleccionados de la subfamilia Amblyseiinae, por ejemplo *Amblyseius swirskii*, *Amblyseius largoensis*, *Amblyseius andersoni*, o del género *Neoseiulus*, por ejemplo *Neoseiulus womersleyi*, *Neoseiulus californicus*, *Neoseiulus cucumeris*, *Neoseiulus fallacis*, *Neoseiulus longispinosus*; o del género *Iphiseius*, por ejemplo *Iphiseius degenerans*; o del género *Amblydromalus*, por ejemplo *Amblydromalus lailae*, *Amblydromalus limonicus* o *Amblydromalus manihoti*; o de la subfamilia Typhlodrominae, en particular el género *Typhlodromips*, por ejemplo *Typhlodromips montdorensis*; o del género *Euseius*, por ejemplo *Euseius ovalis*,

Euseius scutalis, *Euseius finlandicus*, *Euseius gallicus*, *Euseius stipulatus*, *Euseius tularensis*, *Euseius hibisci*.

Ventajosamente, los ácaros de la familia Macrochelidae pueden seleccionarse entre *Macrocheles*, por ejemplo *Macrocheles robustulus*.

5 Ventajosamente, los ácaros de la familia Laelapidae pueden seleccionarse entre *Hypoaspis*, por ejemplo *Hypoaspis aculeifer*, *Hypoaspis miles* o *Hypoaspis scimitus*.

10 Preferentemente, los ácaros se seleccionan entre *Amblyseius swirskii*, *Neoseiulus cucumeris*, *Amblyseius largoensis*, *Neoseiulus californicus*, *Neoseiulus fallacis*, *Neoseiulus longispinosus*, *Amblydromalus lailae*, *Typhlodromips montdorensis*, *Euseius ovalis*, *Euseius scutalis*, *Euseius hibisci*.

15 De acuerdo con una forma de realización particularmente ventajosa de la invención, los ácaros son la especie *Amblyseius swirskii*.

20 De acuerdo con una forma de realización, los artrópodos pueden ser seleccionados de la clase Insecta. Los insectos pueden seleccionarse de la especie del orden de los hemípteros, por ejemplo la familia Miridae, género *Nesidiocoris*, por ejemplo *Nesidiocoris tenuis* o *Nesidiocoris* spp., o por ejemplo la familia Anthocoridae, género *Orius*, por ejemplo *Orius laevigatus*, *Orius insidiosus*, *Orius* spp., o finalmente, por ejemplo, la familia Lygaeidae, género *Geocoris*, por ejemplo *Geocoris* spp.

Los insectos pueden ser seleccionados entre las especies del orden de los coleópteros, por ejemplo la familia Coccinellidae, género *Cryptolaemus*, por ejemplo *Cryptolaemus montrouzieri* o *Cryptolaemus* spp.

25 Los insectos pueden ser seleccionados entre las especies del orden de los neurópteros, por ejemplo la familia Chrysopidae, por ejemplo género *Chrysoperla*, por ejemplo *Chrysoperla* spp.

30 En el contexto de la presente invención, el término "huevo" se refiere a huevos que han sido recolectados y aun no se ha roto el cascarón. Por ejemplo, los huevos pueden ser utilizados frescos o luego de haber sido preservados por cualquier modo de preservación que permita mantener todas las propiedades nutricionales de los huevos. Preferentemente, los huevos son preservados por cualquier modo de preservación que permita mantener a los huevos en su etapa de desarrollo sin alterar la capacidad de los huevos de desarrollarse más tarde.

35 Adicionalmente, los huevos pueden ser específicamente tratados para poder evitar su eclosión induciendo una etapa subletal. Así, por "huevos subletales" se hace referencia en la presente invención a huevos que no eclosionan y retienen actividad metabólica. Para poder verificar que un huevo no eclosiona, el experto en la materia puede por ejemplo poner el huevo en condiciones normales de cultivo que son apropiadas para el desarrollo del huevo, y verificar que el huevo no se desarrolle en larva, ninfa y adulto, con el transcurso del tiempo. Por ejemplo, el experto en la materia puede poner el huevo a 25°C y a 75% de humedad relativa, y verificar que el huevo no desarrolle en larva, ninfa y adulto con el transcurso del tiempo.

40 Se puede evaluar la actividad metabólica mediante cualquier técnica conocida en el campo. Por ejemplo, es conocido hace mucho tiempo que la actividad metabólica de los ácaros puede ser evaluada midiendo sus índices respiratorios, más precisamente midiendo la captación de dióxígeno (O₂) por individuo (Szlendak *et al.*, *Exp Appl Acarol.* 10(3-4):221-30, 1991; Block *et al.*, *J exp Biol* 68:69-87, 1977; Block W, *Oikos* 26:15-25, 1975). Este enfoque también ha sido utilizado para evaluar la actividad metabólica de huevos de ácaros (D. J. Thurling, *Oecologia*, 46:3, 391-396, 1980).

50 La medición del dióxígeno (O₂) por cada huevo puede realizarse fácilmente usando un analizador de gas o utilizando un microrespirómetro Cartesian Diver. Dicho análisis es una práctica de rutina para el experto en la materia y no es necesario explicarlo adicionalmente en esta invención. Los inventores han descubierto que se pueden obtener huevos subletales exponiéndolos a radiaciones UV, o a condiciones específicas de temperatura. Por lo tanto, para poder obtener huevos subletales, los huevos pueden ser expuestos a una temperatura entre -100°C y 9°C, ventajosamente entre -80°C y 5°C, aún más ventajosa mente entre -30°C y 5°C.

55 Por ejemplo, los huevos tras la recolección sufren un breve choque térmico y son luego almacenados a una temperatura entre aproximadamente -90°C y 5°C, ventajosamente entre aproximadamente -30°C y 5°C, incluso más ventajosamente entre aproximadamente -5°C y 5°C. Ventajosamente, el choque térmico se lleva a cabo a una temperatura entre aproximadamente -100°C y 0°C, preferentemente a una temperatura entre aproximadamente -100°C y -10°C.

60 Adicionalmente, los inventores han descubierto que la inducción de la etapa subletal depende tanto de la temperatura como del tiempo de exposición a dicha temperatura. Como regla general, observaron que cuanto más baja es la temperatura, más corto debería ser el tiempo de exposición. De hecho, de acuerdo con lo descubierto por los inventores, si el tiempo de exposición es demasiado importante, el tratamiento no da como resultado huevos subletales, sino que da como resultado huevos muertos que tienden a colapsar con el tiempo.

5 Por ejemplo, por un lado, cuando los huevos de ácaros astigmátidos son expuestos a una temperatura entre -10°C y 9°C, el tiempo de exposición podría variar entre unos pocos días y unas pocas semanas. Por otro lado, cuando los huevos de ácaros astigmátidos son expuestos a temperaturas más bajas, tales como temperaturas entre -100°C y -80°C, el tiempo de exposición debería ser acortado de unos pocos segundos a unas pocas horas.

10 Los inventores han descubierto que, para una temperatura determinada, el tiempo de exposición necesario y suficiente para obtener un máximo de huevos subletales puede ser determinado mediante una ecuación específica. Han determinado combinaciones específicas de temperatura y tiempo de exposición que se pueden utilizar de una forma segura a fin de obtener por lo menos un 60% de huevos subletales.

15 Preferentemente, los huevos de la invención son expuestos a condiciones comprendidas en la lista que consiste en una temperatura comprendida entre 8°C y 9°C durante entre 7 y 10 semanas, una temperatura comprendida entre 7°C y -4°C durante entre 4 y 6 semanas, una temperatura comprendida entre -5°C y -14°C durante entre 1 y 3 semanas, una temperatura comprendida entre -15°C y -24°C durante entre 2 y 5 días, una temperatura comprendida entre -25°C y -34°C durante entre 12 y 36 horas, una temperatura comprendida entre -35°C y -54°C durante entre 2 y 8 horas, una temperatura comprendida entre -55°C y -79°C durante entre 5 y 60 minutos, una temperatura comprendida entre -80°C y -100°C durante entre 10 segundos y 3 minutos.

20 Todavía preferentemente, los huevos de la invención son expuestos a una temperatura comprendida entre 7°C y -4°C durante entre 4 y 6 semanas. Incluso más preferentemente, los huevos de la invención son expuestos a una temperatura comprendida entre 4°C y -2°C durante entre 4 y 6 semanas. Ventajosamente, los huevos de la invención son expuestos a una temperatura de 0°C durante entre 4 y 6 semanas.

25 Los inventores han determinado adicionalmente combinaciones específicas de temperatura y tiempo de exposición que pueden utilizarse de una forma segura a fin de obtener por lo menos 80% de huevos subletales.

30 Preferentemente, los huevos de la invención son expuestos a condiciones comprendidas en la lista que consiste en una temperatura comprendida entre 8°C y 9°C durante 9 semanas, una temperatura comprendida entre 7°C y -4°C durante 5 semanas, una temperatura comprendida entre -5°C y -14°C durante 2 semanas, una temperatura comprendida entre -15°C y -24°C durante entre 4 días, una temperatura comprendida entre -25°C y -34°C durante entre 24 horas, una temperatura comprendida entre -35°C y -54°C durante entre 6 horas, una temperatura comprendida entre -55°C y -79°C durante entre 30 minutos, una temperatura comprendida entre -80°C y -100°C durante entre 30 segundos.

35 Sin embargo preferentemente, los huevos de la invención son expuestos a una temperatura comprendida entre 7°C y -4°C durante entre 5 semanas. Incluso más preferentemente, los huevos de la invención son expuestos a una temperatura comprendida entre 4°C y -2°C durante entre 5 semanas. Ventajosamente, los huevos de la invención son expuestos a una temperatura de 0°C durante entre 5 semanas.

40 De acuerdo con la invención, los huevos pueden ser enteros o fraccionados. Los huevos pueden ser tratados para extraer nutrientes particulares.

45 Los huevos pueden ser administrados solos o mezclados con por lo menos otro sustrato. El sustrato se selecciona entre sustratos que contienen nutrientes. Por ejemplo, el sustrato se selecciona entre cereales, harinas de cereales, en particular harina de trigo o harina de maíz, levaduras, salvado, polen, frutas, frutas desecadas, azúcar, por ejemplo dextrosa.

50 En el contexto de la invención, el término "fuente de nutrientes" se refiere a cualquier forma de realización en la que los huevos de ácaros astigmátidos se utilizan para alimentar a los agentes de control biológico. La fuente de nutrientes de la invención es el único alimento o es uno de los alimentos empleados para alimentar a los agentes de control biológico. Preferentemente, la fuente de nutrientes de la invención es la única fuente de nutrientes de origen animal. De acuerdo con una forma de realización particularmente preferida, la fuente de nutrientes de la invención es el único alimento empleado para alimentar a los agentes de control biológico.

55 La fuente de nutrientes de la invención comprende por lo menos 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 100% de huevos de ácaros astigmátidos en peso con relación al peso total de la fuente de nutrientes. Ventajosamente, la fuente de nutrientes de la invención comprende por lo menos una población de ácaros astigmátidos. De acuerdo con la invención, la población de ácaros astigmátidos consiste en huevos de ácaros astigmátidos. Por lo tanto, la población de ácaros astigmátidos no contiene ácaros astigmátidos larvas, ninfas o adultos.

60 Preferentemente, la fuente de nutrientes de la invención consiste en huevos de ácaros astigmátidos. Por lo tanto, en una forma de realización preferida, la fuente de nutrientes de la invención no contiene ácaros astigmátidos larvas, ninfas o adultos.

De acuerdo con una forma de realización, el término “huevo” excluye cualquier otra etapa: por ejemplo, los huevos de ácaros astigmátidos no contienen ácaros astigmátidos larvas, ninfas o adultos.

5 Los huevos de ácaros astigmátidos de la invención pueden seleccionarse entre huevos de Pyroglyphidae, Acaridae, Carpglyphidae o Glyciphagidae.

De acuerdo con una forma de realización ventajosa, los huevos de ácaros astigmátidos se seleccionan entre huevos de por lo menos una especie de la familia Acaridae, por ejemplo por lo menos una especie del género *Acarus*, por ejemplo *Acarus siro*, *Acarus farris*, *Acarus immobilis* o *Acarus chaetoxysilos*; o, de acuerdo con otro ejemplo, por lo menos una especie del género *Tyrophagus*, tal como *Tyrophagus longior*, *Tyrophagus similis* o *Tyrophagus putrescentiae*; o incluso por lo menos una especie del género *Aleuroglyphus*, tal como *Aleuroglyphus ovatus*; o por lo menos una especie del género *Lardoglyphus*, tal como *Lardoglyphus konoii*, por ejemplo; por lo menos una especie del género *Caloglyphus*, tal como *Caloglyphus mycophagus* o *Caloglyphus berleseii*; por lo menos una especie del género *Suidasia*, tal como *Suidasia nesbitti*, por ejemplo; por lo menos una especie del género *Thyreophagus*, tal como *Thyreophagus entomophagus*; por lo menos una especie de la familia Carpglyphidae, tal como, por ejemplo, por lo menos una especie del género *Carpoglyphus*, por ejemplo *Carpoglyphus lactis*, *Carpoglyphus munroi*; por lo menos una especie de la familia Glyciphagidae, tal como, por ejemplo, por lo menos una especie del género *Glyciphagus*, tal como *Glyciphagus domesticus*; por lo menos una especie del género *Lepidoglyphus*, tal como *Lepidoglyphus destructor*; por lo menos una especie del género *Blomia*, tal como, por ejemplo, *Blomia freemani*; por lo menos una especie de la familia Chortoglyphidae, por lo menos una especie del género *Chortoglyphus*, por ejemplo *Chortoglyphus arcuatus*.

25 Ventajosamente, los huevos de ácaros astigmátidos se seleccionan entre huevos de por lo menos una especie del género *Aleuroglyphus*. De acuerdo con una forma de realización particularmente ventajosa, los huevos de ácaros astigmátidos se seleccionan entre huevos de por lo menos *Aleuroglyphus ovatus*.

De acuerdo con una forma de realización, la fuente de nutrientes de la invención comprende huevos de Acaridae. De acuerdo con una forma de realización preferida, la fuente de nutrientes de la invención comprende huevos de *Aleuroglyphus ovatus*.

30 Los inventores descubrieron además que, sorprendentemente, las mezclas de huevos de ácaros astigmátidos y huevos de lepidópteros actúan sinérgicamente, lo cual conduce a un crecimiento de artrópodos particularmente significativo.

35 Por lo tanto, otro objeto de la invención es la utilización de huevos de ácaros astigmátidos y huevos de lepidópteros como una fuente de nutrientes para agentes de control biológico de artrópodos.

40 Preferentemente, la fuente de nutrientes de la invención comprende además huevos de por lo menos una especie lepidóptera. Preferentemente, la fuente de nutrientes de la invención comprende además por lo menos una población de lepidópteros. Más preferentemente dicha población de lepidópteros consiste en huevos.

45 De acuerdo con una forma de realización de la invención, los huevos de lepidópteros se seleccionan, por ejemplo, de la familia Pyralidae, por ejemplo *Ephestia kuhniella*, *Ephestia elutella*, *Ephestia cautella*, *Corcyra cephalonica* o *Plodia interpunctella*, o por ejemplo de la subfamilia Gelechiidae, por ejemplo *Sitotroga cerealella*. De acuerdo con una forma de realización particularmente ventajosa, los huevos de lepidópteros son huevos de *Ephestia kuhniella*.

50 Por lo tanto, de acuerdo con una forma de realización particularmente ventajosa de la invención, la composición de la invención comprende por lo menos una población de la especie de artrópodos *Amblyseius swirskii*, huevos de *Aleuroglyphus ovatus* y huevos de *Ephestia kuhniella*.

Preferentemente, la fuente de nutrientes de la invención comprende además 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80% de huevos de lepidópteros en peso con relación al peso total de la fuente de nutrientes.

55 De acuerdo con una forma de realización preferida de la invención, la fuente de nutrientes de la invención está comprendida por huevos de ácaros astigmátidos y huevos de lepidópteros, por ejemplo en una relación de huevos de ácaros astigmátidos a huevos de lepidópteros de entre 1:2 y 2:1 en peso.

60 De acuerdo con una forma de realización preferida, una fuente de nutrientes que comprende huevos de *Aleuroglyphus ovatus* se utiliza para por lo menos una población de artrópodos cuya especie pertenece a la familia Phytoseiidae.

De acuerdo con una forma de realización preferida, una fuente de nutrientes que comprende huevos de *Aleuroglyphus ovatus* se utiliza para por lo menos una población de artrópodos de la especie *Amblyseius swirskii*.

65 Los huevos de ácaros astigmátidos pueden ser recolectados mediante cualquier procedimiento conocido por los

expertos en la materia.

5 De acuerdo con una forma de realización de la invención, la relación del peso de los artrópodos al peso de los huevos es preferentemente entre 1:1 y 1:50. Ventajosamente, esta relación puede ser de entre 1:2 y 1:10. En una forma de realización particularmente ventajosa, esta relación es de entre 1:3 y 1:7.

10 De acuerdo con una forma de realización de la invención, la relación del peso de los artrópodos al peso de los huevos de ácaros astigmátidos es preferentemente entre 1:1 y 1:50. Ventajosamente, esta relación puede ser de entre 1:2 y 1:10. En una forma de realización particularmente ventajosa, esta relación es de entre 1:3 y 1:7.

Por lo tanto, de acuerdo con una forma de realización, la invención tiene como objeto un procedimiento para criar artrópodos a partir de huevos de ácaros astigmátidos, que comprende las etapas de:

- 15
- a. recolectar huevos de ácaros astigmátidos,
 - b. determinar el peso de los huevos de ácaros astigmátidos obtenidos,
 - c. unir un peso de huevos de ácaros astigmátidos y un peso de artrópodos,

20 caracterizado por que la relación del peso de los artrópodos al peso de los huevos de ácaros astigmátidos es de entre 1:3 y 1:7.

De acuerdo con una forma de realización preferida, la invención tiene como objeto un procedimiento para criar artrópodos a partir de huevos de ácaros astigmátidos y huevos de lepidópteros, que comprende las etapas de:

- 25
- a. recolectar huevos de ácaros astigmátidos y huevos de lepidópteros,
 - b. determinar el peso de los huevos de ácaros astigmátidos obtenidos y el peso de los huevos de lepidópteros obtenidos,
 - c. unir un peso de los huevos de ácaros astigmátidos, un peso de huevos de lepidópteros y un peso de
- 30 artrópodos,

caracterizado por que la relación del peso de los artrópodos a la suma del peso de los huevos de ácaros astigmátidos y el peso de los huevos de lepidópteros está entre 1:3 y 1:7.

35 De acuerdo con una forma de realización de la invención, se agrega un soporte o sustrato de diseminación a la mezcla que comprende la población de agentes de control biológico artrópodos y la fuente de nutrientes. El soporte o sustrato de diseminación se selecciona entre sustratos inertes, tales como, por ejemplo, partículas de vermiculita, partículas de perlita, o las mezclas de los mismos.

40 La composición de la invención puede comprender además vestigios del medio de cría de artrópodos.

Ventajosamente, los artrópodos son producidos a una temperatura entre 5°C y 40°C, preferentemente entre 15°C y 35°C. En una forma particularmente ventajosa, los artrópodos son criados a una temperatura entre 20°C y 30°C.

45 **Descripción de las figuras**

50 figura 1: Índices combinados de *Amblyseius swirskii* muertos o que se escaparon en diferentes etapas de desarrollo (en porcentaje de la población original), dependiendo del alimento propuesto, a 25°C, 75%HR y 16/8 (L/D).

figura 2: fecundidad de *Amblyseius swirskii* dependiendo del alimento propuesto expresado en huevos por cada hembra durante todo el período adulto a 25°C, 75%HR y 16/8 (L/D).

55 figura 3: longevidad de *Amblyseius swirskii* en días dependiendo del alimento proporcionado a 25°C, 75%HR y 16/8 (L/D).

figura 4: índice de escape de *Amblyseius swirskii* (en % de la población original), mientras se sometían a inanición, a 25°C, 75%HR y 16/8 (L/D). Las poblaciones representadas fueron alimentadas ya sea con huevos subletales de *A. ovatus* (trazado negro), o una mezcla de todas las etapas de *A. ovatus* (trazado gris claro).

60 figuras 5: huevos de *A. ovatus* (A) y todas las etapas de *A. ovatus* (B) tras dos meses de almacenamiento en frío y tras una semana a temperatura ambiente (los huevos tienen, en promedio, un largo de 132,5 µm y 86,2 µm de tamaño). (A)

Ejemplos

Ejemplo 1 Efecto de una dieta que consiste en huevos de ácaros astigmátidos sobre el crecimiento y la salud de agentes de control biológico de artrópodos

Los huevos de *A. swirskii* fueron depositados en celdas distintas y se criaron a 25°C, 75% HR (por “Humedad relativa”) y 16/8 (L/D, por “Luz/Oscuridad”, indicado el tiempo en horas que pasan en la condición mencionada).

Las poblaciones de *A. swirskii* resultantes fueron alimentadas con una de las dos condiciones siguientes:

- una mezcla de todas las etapas de *A. ovatus*,
- solamente huevos subletales de *A. ovatus*.

Cada 12 horas, los individuos de *A. swirskii* que escaparon o se murieron fueron anotados, junto con su etapa de desarrollo.

Los resultados son representados en la figura 1.

El índice de *A. swirskii* combinado de los insectos jóvenes que murieron o se escaparon cuando solo se proponen huevos es inferior (37%) que cuando una mezcla de todas las etapas de *A. ovatus* se proporciona a *A. swirskii* (63%).

Conclusión: las poblaciones de *Amblyseius swirskii* alimentadas con huevos de *Aleuroglyphus ovatus* sufren menos muertes y escapes de individuos que las poblaciones de *Amblyseius swirskii* alimentadas con todas las etapas de *Aleuroglyphus ovatus*. Las poblaciones de agentes de control biológico artrópodos criadas con huevos de ácaros astigmátidos probablemente serán más sanas y numerosas que las poblaciones de agentes de control biológico artrópodos criadas con todas las etapas de ácaro astigmático.

Ejemplo 2 Efecto de una dieta que consiste en huevos de ácaros astigmátidos sobre la fecundidad de agentes de control biológico de artrópodos

Hembras jóvenes de *A. swirskii* de la misma cohorte fueron depositadas individualmente en celdas experimentales a 25°C, 75%HR y 16/8 (L/D), y se proporcionaba un macho a cada hembra.

Las hembras de *A. swirskii* fueron alimentadas con una de las dos condiciones siguientes:

- una mezcla de todas las etapas de *A. ovatus*,
- solamente huevos subletales de *A. ovatus*.

A continuación se anotó la fecundidad (cantidad promedio de huevos/hembra) de 30 a 60 *A. swirskii* en forma diaria entre el primer apareamiento y su muerte.

Los resultados son representados en la figura 2.

La longevidad de esas hembras fue también anotada para las dos forma de realización proporcionadas anteriormente, y es representada en la figura 3.

Parece ser que cuando el alimento proporcionado a las hembras *A. swirskii* solamente consiste en huevos subletales, la longevidad es muy superior que cuando el alimento está compuesto por una mezcla de todas las etapas de *A. ovatus*. Se observa la tendencia inversa en cuanto a la fecundidad para las dos formas de realización ensayadas. No se pierde rendimiento global alguno mientras se brindan solamente huevos subletales de *A. ovatus* a *A. swirskii*, sino que se obtiene una ventaja en cuanto a la longevidad.

Conclusión: La fecundidad de hembras de *Amblyseius swirskii* alimentadas con huevos de *Aleuroglyphus ovatus* es más importante que la fecundidad de las mismas hembras alimentadas con todas las etapas de *Aleuroglyphus ovatus*.

La fecundidad de los agentes de control biológico artrópodos criados con huevos de ácaros astigmátidos es probablemente más importante que la fecundidad de los agentes de control biológico artrópodos criados con todas las etapas de ácaro astigmático.

Ejemplo 3 Efecto de una dieta que consiste en huevos de ácaros astigmátidos sobre la supervivencia de agentes de control biológico de artrópodos

Las hembras jóvenes *A. swirskii*, fueron mantenidas a 25°C, 75%HR y 16/8 (L/D).

Las hembras *A. swirskii* fueron alimentadas con una de las dos condiciones siguientes durante por lo menos 3 días:

- una mezcla de todas las etapas de *A. ovatus*,
- solamente huevos subletales de *A. ovatus*.

5 A continuación, las hembras *Amblyseius swirskii* fueron transferidas a celdas individuales. A continuación fueron privadas de alimento.

10 Se observó el escape diariamente desde el primer día de inanición hasta el final del experimento.

Los resultados son representados en la figura 4.

15 El índice de escape fue superior cuando a *A. swirskii* se les dio una mezcla de todas las etapas de *A. ovatus* como alimento, en comparación con los huevos.

20 Conclusión: las poblaciones de *Amblyseius swirskii* alimentadas con huevos de *Aleuroglyphus ovatus* sufren menos muerte y escapes de individuos que las poblaciones de *Amblyseius swirskii* alimentadas con todas las etapas de *Aleuroglyphus ovatus*, incluso después de haber sido privadas de alimento. Las poblaciones de agentes de control biológico artrópodos criadas con huevos de ácaros astigmátidos probablemente sean más sanas y numerosas que las poblaciones de agentes de control biológico artrópodos criadas con todas las etapas de ácaro astigmátido.

Ejemplo 4 Huevos de ácaros astigmátidos subletales no desarrollan hongo

25 Se preparó una población de *A. ovatus* alimentada con levadura y salvado de trigo. Al final de la preparación, la población de *A. ovatus* contenía una mezcla de todas las etapas de *A. ovatus*.

Se tomó una muestra de la población preparada, de la cual se aislaron los huevos. Los huevos aislados se colocaron en un almacenamiento en frío, en las condiciones apropiadas para inducir un estado subletal.

30 Se tomó otra muestra de la población preparada, y se colocó en un almacenamiento en frío. Esta segunda muestra contenía así una mezcla de todas las etapas de *A. ovatus*.

35 Después de dos meses, los huevos aislados (A) y la mezcla de todas las etapas de *A. ovatus* (B) se retiraron del almacenamiento y se colocaron nuevamente a temperatura ambiente durante una semana.

A continuación, se observó el desarrollo de hongo en la muestra que contenía todas las etapas de *A. ovatus* (figura 5B), mientras que no se observó desarrollo alguno de microorganismos en la muestra que contenía solamente huevos subletales (A).

40 Después de una semana, se tomó una foto para ilustrar la evolución de ambas muestras.

Los resultados se brindan en la figura 5.

45 Conclusión: Estos resultados muestran que los huevos de ácaros astigmátidos subletales no desarrollan hongo, y por lo tanto no se deterioran tan rápidamente como las poblaciones que comprenden todas las etapas de ácaros astigmátidos que se habían almacenado en las mismas condiciones.

Ejemplo 5 Exposición a temperatura específica y duración de exposición a dicha temperatura conducen a huevos subletales

50 Los huevos de *A. ovatus* fueron aislados de una población de laboratorio y almacenados a diferentes temperaturas en una celda experimental (30 huevos/celda/tratamiento) durante 4, 5 o 6 semanas

- -5°C
- 0°C
- 8°C

Después del almacenamiento, todos los huevos se colocaron nuevamente en condiciones de 25°C y 75% HR.

60 Todos los días durante una semana, se anotó cada huevo eclosionado o colapsado, dando como resultado índices de eclosión de huevos, caída y huevos comestibles.

Los resultados son representados en la tabla 1.

Tabla 1

Índices de caída y eclosión de huevos de *A. ovatus* dependiendo de la temperatura de almacenamiento y del tiempo de almacenamiento

5

Tiempo de exposición	Tratamiento	Caída (A)	Eclosión (B)	Comestible (1-A-B)
4 semanas	-5°C	43,3%	0%	56,7%
	0°C	32,3%	3,2%	64,5%
	8°C	60%	23,3%	16,7%
5 semanas	-5°C	56,7%	0%	43,3%
	0°C	13,3%	0%	86,7%
	8°C	61,3%	29%	9,7%
6 semanas	-5°C	100%	0%	0%
	0°C	40%	0%	60%
	8°C	36,6%	56,7%	6,7%

El almacenamiento a 0°C provoca un colapso de huevos masivo y ninguna eclosión.

El almacenamiento a 8°C todavía induce la eclosión y un alto índice de caída.

10

El almacenamiento a 0°C conserva la turgencia de los huevos, y reduce la capacidad de eclosión a cero tras 5 semanas de exposición.

15

Conclusión: Los huevos de ácaros astigmátidos expuestos a una temperatura de 0°C durante 4 a 6 semanas no eclosionan, siempre que los huevos obtenidos sean huevos subletales. Adicionalmente, en esas condiciones, la caída es minimizada y es posible obtener más del 60% de huevos comestibles.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Utilización de huevos de ácaros astigmátidos como una fuente de nutrientes para una población de agentes de control biológico artrópodos, caracterizada por que dicha fuente de nutrientes no contiene ácaros astigmátidos larvas, ninfas o adultos.
- 10 2. Utilización según la reivindicación 1, caracterizada por que la población de agentes de control biológico artrópodos comprende por lo menos la especie *Amblyseius swirskii* y por que los huevos de ácaros astigmátidos comprenden huevos de *Aleuroglyphus ovatus*.
- 15 3. Utilización según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que los huevos de ácaros astigmátidos representan por lo menos 10%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 100% en peso con relación al peso total de la fuente de nutrientes.
- 20 4. Composición para el control biológico que comprende:
- por lo menos una población de agentes de control biológico artrópodos,
 - una fuente de nutrientes que comprende huevos de ácaros astigmátidos, caracterizada por que dicha fuente de nutrientes no contiene ácaros astigmátidos larvas, ninfas o adultos,
 - opcionalmente, un soporte y/o sustrato de diseminación.
- 25 5. Composición según la reivindicación 4, caracterizada por que por lo menos una población de artrópodos pertenece a la familia Phytoseiidae.
- 30 6. Composición según una de las reivindicaciones 4 o 5, caracterizada por que por lo menos una población de artrópodos es la especie *Amblyseius swirskii*.
- 35 7. Composición según una de las reivindicaciones 4 a 6, caracterizada por que por lo menos una población de artrópodos pertenece a la clase Insecta.
- 40 8. Composición según una de las reivindicaciones 4 a 7, caracterizada por que los huevos de ácaros astigmátidos son huevos de Acaridae.
- 45 9. Composición según una de las reivindicaciones 4 a 8, caracterizada por que los huevos de ácaros astigmátidos son huevos de *Aleuroglyphus ovatus*.
- 50 10. Composición según una de las reivindicaciones 4 a 6 y 8 a 9, caracterizada por que por lo menos una población de agentes de control biológico artrópodos es la especie *Amblyseius swirskii* y los huevos de ácaros astigmátidos son huevos de *Aleuroglyphus ovatus*.
- 55 11. Composición según una de las reivindicaciones 4 a 10, caracterizada por que dicha composición comprende además huevos de por lo menos una especie de lepidóptero.
- 60 12. Composición según la reivindicación 11, caracterizada por que los huevos de lepidóptero son huevos de *Ephestia kuhniella*.
- 65 13. Composición según la reivindicación 11, caracterizada por que los huevos de lepidóptero son huevos de *Sitotroga cerealella*.
14. Composición según una de las reivindicaciones 4 a 6, y 8 a 10, caracterizada por que por lo menos una población de agentes de control biológico artrópodos es la especie *Amblyseius swirskii*, por que los huevos de ácaros astigmátidos son huevos de *Aleuroglyphus ovatus*, y por que los huevos de lepidóptero son huevos de *Ephestia kuhniella*.
15. Procedimiento para criar artrópodos a partir de huevos de ácaros astigmátidos, que comprende las etapas de:
- a) recolectar unos huevos de ácaros astigmátidos,
 - b) determinar el peso de los huevos de ácaros astigmátidos obtenidos,
 - c) reunir un peso de huevos de ácaros astigmátidos y un peso de artrópodos,
- caracterizado por que la relación del peso de los artrópodos al peso de los huevos de ácaros astigmátidos es de entre 1:3 y 1:7.

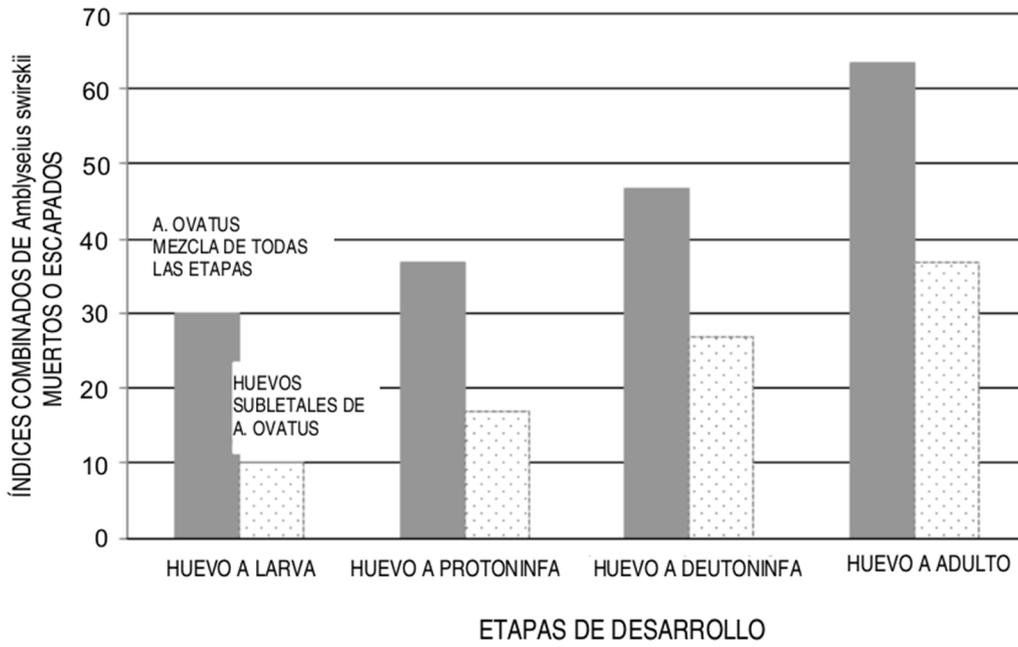


FIG. 1

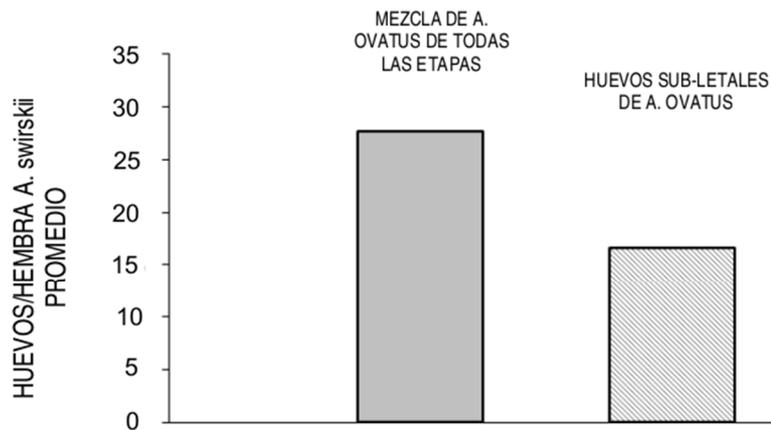


FIG. 2

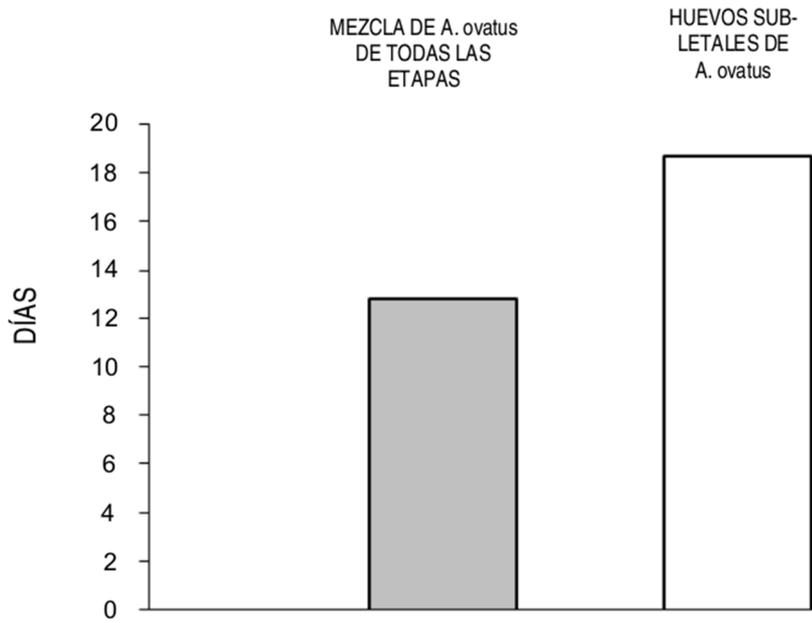
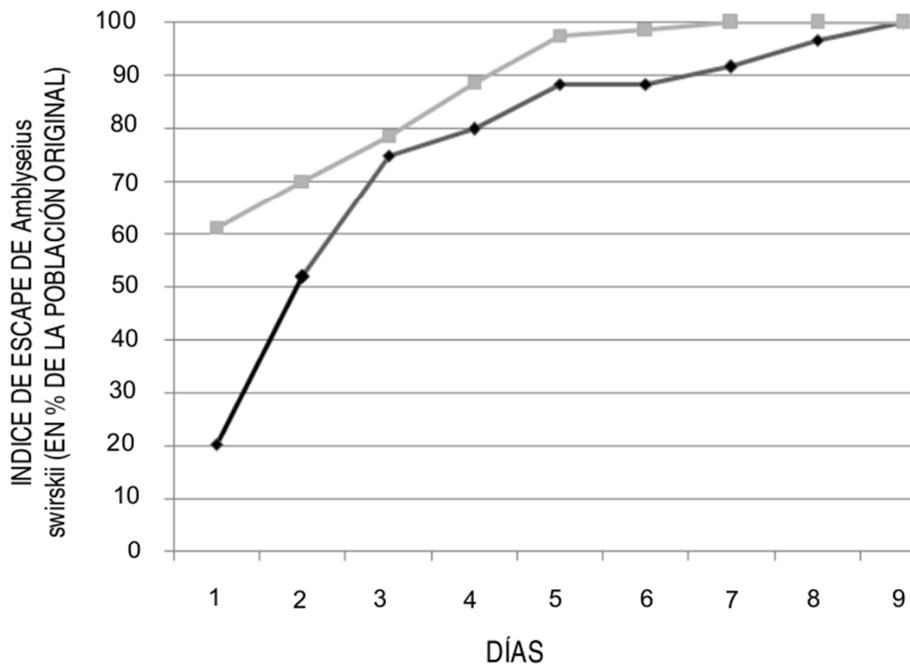


FIG. 3



TRAZADO GRIS CLARO: ESCAPE ALIMENTADO CON MEZCLA DE A. ovatus DE TODAS LAS ETAPAS
TRAZADO NEGRO: ESCAPE ALIMENTADO CON HUEVOS SUB-LETALES DE A. ovatus

FIG. 4

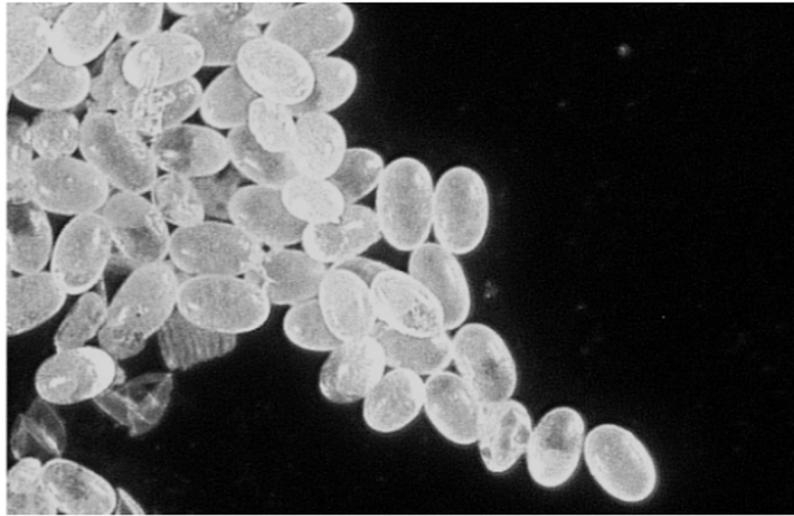


FIG. 5A



FIG. 5B