

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 699 258**

51 Int. Cl.:

<b>A01N 43/40</b>	(2006.01)
<b>A01N 63/00</b>	(2006.01)
<b>A01N 63/04</b>	(2006.01)
<b>A01N 25/00</b>	(2006.01)
<b>A01P 3/00</b>	(2006.01)
<b>A01P 5/00</b>	(2006.01)
<b>A01P 7/04</b>	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.06.2012 PCT/EP2012/061113**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **20.12.2012 WO12171914**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.06.2012 E 12733610 (5)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.08.2018 EP 2720543**

54 Título: **Uso de un compuesto de enamino carbonilo en combinación con un agente de control biológico**

30 Prioridad:

**14.06.2011 EP 11169732**  
**15.06.2011 US 201161497240 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**08.02.2019**

73 Titular/es:

**BAYER CROPSCIENCE AG (100.0%)**  
**Alfred-Nobel-Straße 50**  
**40789 Monheim, DE**

72 Inventor/es:

**JESCHKE, PETER y**  
**HUNGENBERG, HEIKE**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 699 258 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

Uso de un compuesto de enamino-carbonilo en combinación con un agente de control biológico

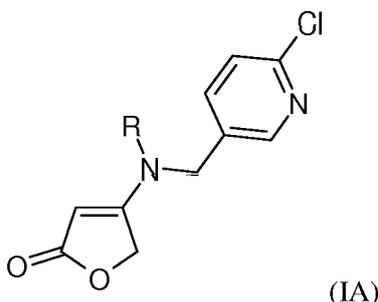
La presente invención se refiere al uso de un compuesto de enamino-carbonilo en combinación con un agente de control biológico, así como a un procedimiento de preparación de composiciones que contienen un compuesto de enamino-carbonilo seleccionado y un agente de control biológico seleccionado, y a composiciones que contienen el compuesto de enamino-carbonilo y al menos un agente de control biológico.

Por los documentos EP 0 539 588 y WO 2007/115644 se sabe que ciertos compuestos de enamino-carbonilo son útiles para combatir plagas dañinas que se producen en la agricultura. Se describen varios procedimientos para aplicar tales compuestos. El documento WO 2006/037475 describe, en particular, el tratamiento de semillas con compuestos de enamino-carbonilo específicos. Las combinaciones binarias que contienen un compuesto de enamino-carbonilo específico y un insecticida o fungicida específico se han descrito en varias publicaciones de patentes internacionales (véase el documento WO 2007/112848, el documento WO 2007/112845, el documento WO 2007/112843, el documento WO 2007/112842, el documento WO 2007/112847, el documento WO 2007/112895, el documento WO 2007/112894, el documento WO 2007/134778, el documento WO 2009/030399, el documento WO 2009/043443, el documento WO 2009/043442, el documento WO 2010/063465). Para algunas de las mezclas desveladas en el mismo, se ha demostrado mediante experimentos que se produce un aumento de la actividad sinérgica al combinar los principios activos específicos. Las combinaciones conocidas de la técnica anterior, sin embargo, solo combinan dos ingredientes químicos (agroquímicos).

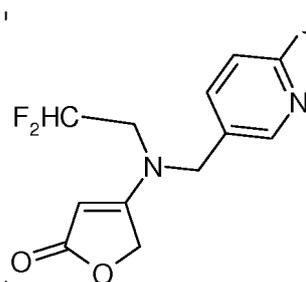
Sin embargo, los requisitos ambientales y económicos impuestos en los agentes de protección de cultivos de hoy en día están aumentando continuamente. Esto es particularmente cierto con respecto al espectro de acción, toxicidad, selectividad, tasa de aplicación y formación de residuos. Además, al aplicar agroquímicos, siempre están los problemas con las resistencias. Por lo tanto, hay una necesidad constante de desarrollar nuevos, agentes alternativos para la protección de plantas que en algunas áreas al menos ayudan a cumplir con los requisitos mencionados anteriormente. Además, existe una necesidad constante de desarrollar nuevos agentes para el tratamiento de plantas que sean particularmente respetuosas con el medio ambiente. Asimismo, a medida que aumentan las preocupaciones sobre el posible impacto de los agroquímicos en el medio ambiente y la salud de los seres humanos y los animales en la opinión pública se deben hacer esfuerzos para reducir la cantidad de agroquímicos aplicados.

Los inventores han descubierto ahora, sorprendentemente, que un compuesto de enamino-carbonilo específico puede combinarse con agentes de control biológico seleccionados y, por lo tanto, satisfacer las necesidades mencionadas anteriormente. Los inventores incluso encontraron que se produce un aumento de la actividad sinérgica combinando el compuesto de enamino-carbonilo seleccionado con los agentes de control biológico seleccionados.

El compuesto de enamino-carbonilo particular que se puede usar en combinación con al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenicos, opcionalmente en presencia de inoculantes tiene la fórmula (IA)



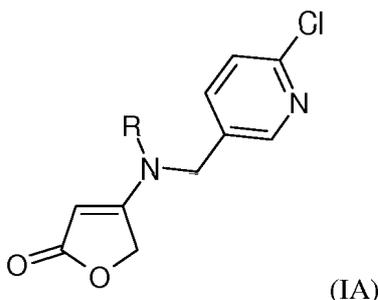
en la que R es 2,2-difluoroetilo, es decir, compuesto de enamino-carbonilo (I-3), a saber, 4-[[[(6-cloropirid-3-il) metil] (2,2-difluoretil) amino} furan-2 (5H) -ona que tiene la siguiente fórmula



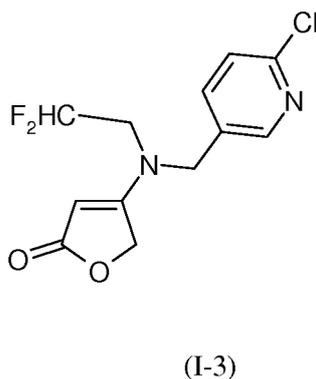
5 El compuesto de fórmula (I-3) en combinación con al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenicos, opcionalmente en presencia de inoculantes, son adecuados para reducir el daño general de plantas y partes de plantas, así como las pérdidas en las frutas u hortalizas cosechadas causadas por insectos, ácaros, nematodos y fitopatógenos.

El compuesto de fórmula (I-3) se debe usar o emplear de acuerdo con la invención. Según la invención, el agente de control biológico puede emplearse o usarse en cualquier estado fisiológico, como activo o latente. Las levaduras latentes, por ejemplo, pueden suministrarse, por ejemplo, congeladas, desecadas o liofilizadas.

10 Por lo tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere a una combinación que comprende un compuesto de enamino carbonilo de fórmula (IA):



en la que el compuesto de fórmula (IA) es un compuesto (I-3) que tiene las siguientes fórmulas



15 y al menos un agente de control biológico seleccionado de un grupo que consiste en *Metschnikowia fructicola*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis*, *Paecilomyces lilacinu*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Virus de la granulosis Cydia pomonella*, y *Metarhizium anisopliae*.

20 Además, otro aspecto se refiere al uso de compuesto de enamino carbonilo (I-3) en combinación con al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenicos, opcionalmente en presencia de inoculantes, para reducir el daño general de las plantas y sus partes, así como las pérdidas en las frutas o hortalizas cosechadas causadas por insectos, ácaros, nematodos y fitopatógenos. Preferentemente, la parte de la planta es una semilla o una planta que emerge de la semilla, en la que la semilla es de una planta convencional o transgénica.

25 Aún otra realización preferida se refiere a dicho uso en el que la planta es un cultivo hortícola seleccionado de zanahorias, calabaza, calabacita, calabacín, patata, maíz dulce, cebollas, plantas ornamentales, hierbas

5 medicinales, hierbas culinarias, tomates, espinaca, pimiento, melón, lechuga, pepino, apio, remolachas, col, coliflor, brécol, coles de Bruselas, colirrábano, col, rábano, nabicol, nabo, espárragos, judías, guisante, manzanas, frambuesa, fresa, banana, mango, uvas, melocotones, peras, guayaba, piña, granada, ajo, cápsicum, chili, rábano, carambola, tapioca, nueces, limón, mandarina, mango, champiñón, aceituna, naranja, papaya, pimentón, fruta de la pasión, cacahuetes, nueces de pecana, ciruela, pistachos, caqui, toronja (pomelo), berenjena, endibia, arándano rojo, grosella espinosa, avellanas, kiwi, almendras, amaranto, melocotón, alcachofa, aguacate, zarzamora, anacardos, cereza, clementina, coco y melones, preferentemente la planta es un cultivo amplio de acre seleccionado de algodón, maíz, soja, cereales, canola, colza oleaginoso, caña de azúcar y arroz.

10 Un tercer aspecto se refiere a un procedimiento para reducir el daño general de las plantas y partes de la planta, así como las pérdidas en las frutas o hortalizas cosechadas causadas por insectos ácaros, nematodos y/o fitopatógenos que comprenden la etapa de aplicar simultánea o secuencialmente el compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos y, opcionalmente, al menos un inoculante en la planta, las partes de plantas, frutas u hortalizas recogidas.

15 Una realización preferida se refiere a dicho procedimiento, en el que la parte de la planta es una semilla o una planta que emerge de la semilla. La semilla puede ser de una planta convencional o transgénica.

20 Otra realización preferida se refiere a dicho procedimiento, en el que la planta es un cultivo hortícola seleccionado de zanahorias, calabaza, calabacita, calabacín, patata, maíz dulce, cebollas, plantas ornamentales, hierbas medicinales, hierbas culinarias, tomates, espinaca, pimiento, melón, lechuga, pepino, apio, remolachas, col, coliflor, brécol, coles de Bruselas, colinabo, col, rábano, nabicol, nabo, espárragos, judías, guisante, manzanas, frambuesa, fresa, banana, mango, uvas, melocotones, peras, guayaba, piña, granada, ajo, cápsicum, chili, rábano, carambola, tapioca, nueces, limón, mandarina, mango, champiñón, aceituna, naranja, papaya, pimentón, fruta de la pasión, cacahuetes, nueces de pecana, ciruela, pistachos, caqui, toronja (pomelo), berenjena, endibia, arándano rojo, grosella espinosa, avellanas, kiwi, almendras, amaranto, melocotón, alcachofa, aguacate, zarzamora, anacardos, cereza, clementina, coco y melones, preferentemente la planta es un cultivo de una amplia hectárea seleccionada de algodón, maíz, soja, cereales, canola, colza oleaginoso, caña de azúcar y arroz.

25 Otro aspecto se refiere a una formulación que comprende un compuesto de fórmula (IA) como se define en la reivindicación 1 y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos como se describe en el presente documento.

30 La invención se refiere además a la preparación de una composición que contiene el compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus, y nematodos entomopatógenos, y opcionalmente un inoculante, para reducir el daño general de las plantas y sus partes, así como las pérdidas en las frutas o hortalizas cosechadas causadas por insectos, ácaros, nematodos y fitopatógenos.

35 La invención también se refiere al uso de un compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos, y, opcionalmente, al menos un inoculante, para el tratamiento de semillas o una planta emergente de la semilla.

40 Además, la invención se refiere a un procedimiento para proteger semillas que comprende la etapa de aplicar simultánea o secuencialmente el compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos, y, opcionalmente, al menos un inoculante, en una semilla o una planta que surge de la semilla. El procedimiento se denomina además "tratamiento de las semillas".

45 El compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos y, opcionalmente, un inoculante se pueden aplicar de cualquier manera deseada, tal como en la forma de un recubrimiento para semillas, aplicación al suelo o directamente al surco o como pulverización foliar y aplicarse tanto antes de la aparición, después de la aparición o ambos. En otras palabras, la composición se puede aplicar a la semilla, la planta o a la fruta y hortalizas cosechadas o al suelo en el que la planta crece o donde se desea que crezca.

50 La reducción del daño general de las plantas y partes de la planta a menudo resulta en plantas más sanas y/o en un aumento del vigor y/o rendimiento de la planta. Por ejemplo, el rendimiento de las plantas tratadas de acuerdo con la invención es de al menos 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, 5 %, 6 %, 7 %, 8 %, 9 %, 10 % más alto que el rendimiento de las plantas no tratadas cuando se cultivan en las mismas condiciones ambientales.

55 El uso o el procedimiento para usar el compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos incluyen de forma simultánea o secuencial los siguientes procedimientos de aplicación, concretamente ambos componentes anteriormente mencionados se pueden formular en una única composición estable con un período de validez agrícola aceptable (lo que se denomina "formulación individual") o combinándose antes o en el momento del uso (lo que se denomina "formulaciones combinadas").

Si no se menciona de otra forma, la expresión "combinación" representa las diversas combinaciones del compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos, y, opcionalmente, el inoculante, en una sola formulación, en una forma "lista para mezclar" única, en una mezcla combinada para pulverización compuesta por formulaciones individuales, tales como una "mezcla en tanque" y especialmente en un uso combinado de los principios activos individuales cuando se aplican de forma secuencial, es decir, uno tras otro en un plazo razonablemente corto, tal como unas pocas horas o días, por ejemplo, de 2 horas a 7 días. El orden de aplicación del compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos, y, opcionalmente, el inoculante, no es esencial para trabajar la presente invención. En consecuencia, el término "combinación" también abarca la presencia del compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos sobre o en una planta para tratar o sus alrededores, hábitat o espacio de almacenamiento, por ejemplo, después de aplicar simultánea o consecutivamente el compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos a una planta y sus alrededores, hábitat o espacio de almacenamiento.

Si el compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus, y nematodos entomopatógenos, y opcionalmente un inoculante, se emplean o usan de una manera secuencial, se prefiere tratar las plantas o las partes de plantas (que incluyen las semillas y las plantas que proceden de la semilla), las frutas y hortalizas cosechadas de acuerdo con el siguiente procedimiento: En primer lugar, aplicar el compuesto (I-3) en la planta o partes de plantas y, en segundo lugar, aplicar el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos, y, opcionalmente, el inoculante, a la misma planta o partes de plantas. Los periodos de tiempo entre la primera y la segunda aplicación dentro de un ciclo de crecimiento (cultivo) puede variar y depende del efecto a conseguir. Por ejemplo, la primera aplicación se realiza para evitar una infestación de la planta o partes de plantas con insectos, ácaros, nematodos o fitopatógenos (esto es especialmente el caso cuando se tratan las semillas) o para combatir la infestación con insectos, ácaros, nematodos o fitopatógenos (esto es particularmente el caso cuando se tratan las plantas y partes de plantas) y la segunda aplicación se realiza para prevenir o controlar la infestación con insectos, ácaros, nematodos y/o fitopatógenos. En este contexto, control significa que el agente de control biológico no es capaz de exterminar totalmente las plagas o los hongos fitopatógenos pero es capaz de mantener la infestación en un nivel aceptable.

Al seguir las etapas anteriormente mencionadas, se puede lograr un nivel muy bajo de residuos del compuesto (I-3) en la planta tratada, las partes de la planta, y las frutas y verduras cosechadas.

Si no se menciona de otra forma, el tratamiento de las plantas o de las partes de plantas (que incluye las semillas y las plantas que proceden de las semillas), frutas y verduras cosechadas con el compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos, y, opcionalmente, el inoculante, se lleva a cabo directamente o mediante acción sobre su entorno, hábitat o espacio de almacenamiento usando procedimientos de tratamiento habituales, por ejemplo, inmersión, pulverización, atomización, irrigación, evaporación, empolvado, nebulización, diseminación, espumación, pintura, esparcimiento en superficie, regado (empapamiento), irrigación por goteo. Además, es posible aplicar el compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos, y, opcionalmente, el inoculante, como formulaciones individuales o formulaciones combinadas por el procedimiento de volumen ultra bajo, o para inyectar el compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos, y, opcionalmente, el inoculante, como una composición o como formulaciones individuales en el suelo (en surcos).

En general, las expresiones "bacterias formadoras de esporas", "hongos" o "levaduras" comprenden esporas y otras formas inactivas de dichos organismos que pueden producir en organismos activos. Por lo tanto, en una realización, dichos organismos están comprendidos en forma de esporas en una formulación, por ejemplo, una formulación individual o combinada.

En general, el término "nematodo" comprende huevos, larvas, formas juveniles y maduras de dicho organismo. Por lo tanto, en una realización, dichos organismos están comprendidos en forma de huevos, larvas, formas juveniles o maduras en una formulación, por ejemplo, una formulación individual o combinada.

Una formulación individual o combinada es la formulación que se aplica a las plantas a tratar (por ejemplo, en un invernadero, en un campo, en una madera), por ejemplo, una formulación de tanque que comprende el agente de control biológico de acuerdo con la presente invención y el compuesto (I-3) o una formulación líquida o sólida que comprende dicho agente de control biológico que se aplica antes, después o en paralelo con un compuesto (I-3) a la planta a tratar.

La expresión "planta a tratar" abarca todas y cada una de las partes de una planta incluido su sistema radicular y el

material, por ejemplo, suelo o medio nutriente, que esté en un radio de al menos 10 cm, 20 cm, 30 cm alrededor del tallo o tronco de una planta a tratar o que está al menos 10 cm, 20 cm, 30 cm alrededor del sistema radicular de dicha planta a tratar, respectivamente.

5 En el caso del tratamiento de las semillas, el tratamiento puede llevarse a cabo aplicando el compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatogénicos, y, opcionalmente, el inoculante, como una solución, un polvo para tratamiento de semilla en seco, un polvo soluble en agua (para el tratamiento de las semillas en suspensión acuosa) o mediante incrustación, recubriendo con una o más capas que contienen el compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatogénicos, y, opcionalmente, el inoculante.

10 Como ya se ha mencionado anteriormente, utilizando el compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus, y nematodos entomopatogénicos, y opcionalmente un inoculante, como combinación es ventajoso. El ensanchamiento del espectro de actividad a otras plagas agrícolas (es decir, insectos, ácaros, nematodos, y fitopatógenos) y, por ejemplo, a cepas resistentes de dichas plagas agrícolas o enfermedades de las plantas está al alcance.

15 También de acuerdo con la invención, el compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatogénicos pueden usarse en una tasa de aplicación más baja y aún así lograr el control suficiente de las plagas agrícolas y/o enfermedades de las plantas. Esto es especialmente visible si las tasas de aplicación de los compuestos anteriormente mencionados o de los agentes de control biológico se usan cuando los compuestos o los agentes de control biológico individuales no muestran, o prácticamente no muestran, actividad. La invención también puede dar como resultado un comportamiento ventajoso durante la formulación o durante el uso, por ejemplo durante la molienda, tamizado, emulsión, disolución o dispensación; capacidad de almacenamiento y estabilidad a la luz mejoradas, formación de residuos ventajosa, mejora en el comportamiento toxicológico o ecotoxicológico, propiedades mejoradas de la planta, por ejemplo, mejor crecimiento, aumento en el rendimientos de la cosecha, un mejor desarrollo del sistema radicular, una superficie foliar mayor, hojas más verdes, brotes más fuertes, menos semillas necesarias, fitotoxicidad más baja, movilización del sistema defensivo de la planta, buena compatibilidad con las plantas. Además, incluso una acción sistémica mejorada del compuesto (I-3) o el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatogénicos son más altos y/o se espera una persistencia de la acción fungicida, insecticida, acaricida y/o nematicida.

20 Usando el compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus, y nematodos entomopatogénicos, y opcionalmente un inoculante, en forma de una combinación es particularmente adecuado para el tratamiento de semillas. Una parte importante del daño a las plantas de cultivo causado por plagas agrícolas y/o enfermedades de plantas está producido por una infección de la semilla durante el almacenamiento o después de la siembra, así como durante y después de la germinación de la planta. Esta fase es particularmente crítica ya que las raíces y brotes de la planta en crecimiento son especialmente sensibles, e incluso un daño pequeño puede dar como resultado una planta débil (planta no sana), reducción del rendimiento e incluso la muerte de la planta.

25 El control de plagas y/o fitopatógenos mediante el tratamiento de semillas de plantas se conoce desde hace mucho tiempo, y es objeto de mejoras continuas. Sin embargo, el tratamiento de las semillas conlleva una serie de problemas que no siempre se pueden resolver de una manera satisfactoria. Por lo tanto, es deseable desarrollar procedimientos para proteger la semilla y la planta en germinación que dispense la aplicación adicional de agentes de protección de cosechas tras la siembra o después de la aparición de las plantas o que al menos reduzca considerablemente la reducción adicional. Es también deseable optimizar la cantidad de productos agroquímicos utilizados de tal forma que proporcionen la protección máxima a la semilla y la planta en germinación del ataque de las plagas agrícolas, pero sin dañar la planta misma mediante el principio activo utilizado. En particular, los procedimientos para el tratamiento de las semillas también deben tener en cuenta las propiedades insecticidas intrínsecas de las plantas para conseguir una protección óptima de la semilla y la planta en germinación utilizando un mínimo de productos agroquímicos.

30 Como ya se ha mencionado, el compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatogénicos y, opcionalmente, un inoculante pueden emplearse o usarse de acuerdo con la invención como una formulación individual o combinada. Tales formulaciones pueden incluir auxiliares adecuados para la agricultura, disolventes, transportadores, tensioactivos y/o expansores.

35 Según la invención, los agentes de control biológico que se resumen bajo el término "bacterias" incluyen bacterias colonizadoras de raíces formadoras de esporas o bacterias útiles como bioinsecticida, biofungicida y/o bionematicida. Ejemplos de tales bacterias son:

(1.1) *Bacillus agri*, (1.2) *Bacillus aizawai*, (1.3) *Bacillus albolactis*, (1.4) *Bacillus amyloliquefaciens*, en particular la

cepa IN937a o la cepa FZB42 (DSM 23117, BGSC 10A6, producto conocido como RhizoVital®), (1.5) *Bacillus cereus*, en particular las esporas de la cepa CNCM I-1562 de *Bacillus cereus* (véase el documento US 6.406.690), (1.6) *Bacillus coagulans*, (1.7) *Bacillus endoparasiticus*, (1.8) *Bacillus endorhythmos*, (1.9) *Bacillus azotoformans*, (1.10) *Bacillus kurstaki*, (1.11) *Bacillus lacticola*, (1.12) *Bacillus lactimorbus*, (1.13) *Bacillus lactis*, (1.14) *Bacillus laterosporus*, (1.15) *Bacillus lentimorbus*, (1.16) *Bacillus licheniformis*, (1.17) *Bacillus medusa*, (1.18) *Bacillus megaterium*, (1.19) *Bacillus metiens*, (1.20) *Bacillus natto*, (1.21) *Bacillus nigrificans*, (1.22) *Bacillus popilliae*, (1.23) *Bacillus pumilus*, en particular, la cepa GB34 (ATCC 700814, productos conocidos como Yield Shield®) y la cepa QST2808 (NRRL No. B-30087, productos conocidos como Sonata QST 2808®), (1.24) *Bacillus siamensis*, (1.25) *Bacillus sphaericus* (productos conocidos como VectoLexs®), (1.26) *Bacillus subtilis*, en particular la cepa GB03 (ATCC SD-1397, productos conocidos como Kodiak®) y la cepa QST713 (NRRL No. B-21661, productos conocidos como Serenade QST 713®), o *Bacillus subtilis* var. *Amyloliqefaciens*, cepa FZB24 (productos conocidos como Taegro®), (1.27) *Bacillus thuringiensis*, en particular *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (productos conocidos como VectoBac®) o *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* cepa ABTS-1857 (productos conocidos como XenTari®), o *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* cepa HD-1 (productos conocidos como Dipel® ES) o *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* cepa NB 176 (productos conocidos como Novodor® FC), (1.28) *Bacillus uniflagellatus*, (1.29) *Delftia acidovorans*, en particular, la cepa RAY209 (productos conocidos como BioBoost®), (1.30) *Lysobacter antibioticus*, en particular la cepa 13-1 (véase Biological Control 2008, 45, 288-296), (1.31) *Pasteuria penetrans*, (1.32) *Pseudomonas chlororaphis*, en particular la cepa MA 342 (productos conocidos como Cedomon), (1.33) *Pseudomonas proradix* (productos conocidos como Proradix®), (1.34) *Streptomyces galbus*, en particular la cepa K61 (productos conocidos como Mycostop®, véase Crop Protection 2006, 25, 468-475), (1.35) *Streptomyces griseoviridis* (productos conocidos como Mycostop®), (1.36) *Bacillus lautus*, (1.37) *Bacillus atrophaeus*, (1.38) *Bacillus anthracis*, (1.39) *Bacillus mycoides*, (1.40) *Bacillus acidoterrestris*, (1.41) *Bacillus fastidiosus*, (1.42) *Bacillus psychrosaccharolyticus*, (1.43) *Bacillus maroccanus*, (1.44) *Bacillus megaterium* C, (1.45) *Bacillus pantothenicus*, (1.46) *Bacillus lentus*, (1.47) *Bacillus badius* y (1.48) *Bacillus smithi*.

*Bacillus* (abreviatura: B.) es un género de forma de bacterias grampositivas con forma de bastón, que puede producir endosporas en condiciones ambientales estresantes. Las especies individuales de este género difieren fuertemente con respecto a su utilidad en el área de protección de plantas. En contraste, *Bacillus subtilis*, por ejemplo, las cepas GB03 y QST 713, así como *Bacillus amyloliquefaciens*, cepa FZB 42, son especies con propiedades fitopatógenas. Estas bacterias se aplican al suelo y/o a las hojas.

Por otro lado, *Bacillus thuringiensis* con sus diferentes subespecies produce cristales que contienen endotoxinas que tienen una alta especificidad patogénica de insectos. *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, cepa HD-1, se utiliza para el control de larvas de lepidópteros, pero sin noctuidae. *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*, por ejemplo, las cepas SAN 401 I, ABG-6305 y ABG-6346, es eficaz contra diferentes especies de lepidópteros, incluyendo también noctuidae. *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis*, por ejemplo las cepas SAN 418 I y ABG-6479, protege las plantas contra las larvas del escarabajo de la hoja. *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*, por ejemplo las cepas SAN 402 I y ABG-6164, se aplica contra larvas de diversas plagas de dípteros, por ejemplo, mosquitos y nematoceros.

De las bacterias (1.1) a (1.48) dadas, se prefiere usar tales bacterias o mutantes de las mismas que tienen una actividad insecticida o promotora del crecimiento vegetal en combinación con el compuesto (I-3), opcionalmente en presencia de un inoculante.

De las bacterias (1.1) a (1.48) dadas, se prefiere usar tales bacterias o mutantes de las mismas que tienen una actividad fungicida en combinación con el compuesto (I-3), opcionalmente en presencia de un inoculante.

Las bacterias dadas (1.1) a (1.48), pertenecen a la clase de bacterias del grupo 1 como se desvela en Ash y col., 1991, Lett Appl Microbiology 13, 202-206. La genealogía de las bacterias del grupo 1 también se muestra en la Figura 1. Notablemente, las bacterias del grupo 1 se pueden dividir en subgrupos según la ramificación dentro del grupo. Por lo tanto, el subgrupo (1) consiste en *B. pantothenicus*, *B. lentus*, *B. badius*, y *B. smithi*; el subgrupo (2) consiste en *B. azotoformans*, *B. firmus*, *B. circulans*, *B. benzoovorans*, *B. simplex*, *B. maroccanus*, *B. psychrosaccharolyticus*, *B. megaterium* y *B. fastidiosus*; y el subgrupo (3) consiste en *B. lautus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. lentimorbus*, *B. popilliae*, *B. atrophaeus*, *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. anthracis*, *B. thuringiensis*, *B. medusa*, *B. mycoides*, *B. coagulans*, y *B. acidoterrestris*. El subgrupo (3) se puede dividir adicionalmente en el subgrupo (3a) que consiste en *B. lautus*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. lentimorbus*, *B. popilliae*, y *B. atrophaeus*; el subgrupo (3b) que consiste en *B. pumilus*, *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. medusa*, y *B. mycoides*; y el subgrupo (3c) que consiste en *B. coagulans*, y *B. acidoterrestris*.

De la bacteria dada (1.4), las bacterias (1.4a) *Bacillus amyloliquefaciens* cepa IN937a, y (1.4b) *Bacillus amyloliquefaciens* cepa FZB42 se usan o emplean en la presente invención en combinación con el compuesto (I-3), opcionalmente en presencia de un inoculante.

De las bacterias dadas (1.26), las bacterias (1.26a) *Bacillus subtilis* cepa GB03 y (1.26b) *Bacillus subtilis* var. *amyloliquefaciens* cepa FZB24 se usan o emplean en la presente invención en combinación con el compuesto (I-3), opcionalmente en presencia de un inoculante.

De las bacterias dadas (1.27), las bacterias (1.27a) *Bacillus thuringiensis subsp. tenebrionis* NB 176, (1.27b) *Bacillus thuringiensis subsp. aizawai* cepa ABTS-1857, (1.27c) *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis* cepa AM 65-52 y (1.27d) *Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki* HD-1 se usan o emplean en la presente invención en combinación con el compuesto (1-3), opcionalmente en presencia de un inoculante.

5 De acuerdo con la invención, los agentes de control biológico que se resumen bajo el término "hongos" o "levaduras" son:

(2.1) *Ampelomyces quisqualis*, en particular la cepa AQ 10 (producto conocido como AQ 10®), (2.2) *Aureobasidium pullulans*, en particular blastosporas de la cepa DSM14940 o blastosporas de la cepa DSM 14941 o mezclas de las mismas (producto conocido como Blossom Protect®), (2.3) *Beauveria bassiana*, en particular, la cepa ATCC 74040 (productos conocidos como Naturalis®), (2.4) *Candida oleophila*, en particular la cepa O (productos conocidos como Nexy®), (2.6) *Coniothyrium minitans*, en particular, la cepa CON/M/91-8 (productos conocidos como Contans ®), (2.7) *Dilophosphora alopecuri* (productos conocidos como Twist Fungus ®), (2.8) *Gliocladium catenulatum*, en particular la cepa J1446 (productos conocidos como Prestop ®), (2.9) *Lecanicillium lecanii* (anteriormente conocido como *Verticillium lecanii*), en particular los conidios de la cepa KV01 (productos conocidos como Mycotal®, Vertalec®), (2.10) *Metarhizium anisopliae*, en particular la cepa F52 (DSM 3884, n.º de ATCC 90448, productos conocidos como BIO 1020), (2.11) *Metschnikovia fructicola*, en particular la cepa NRRL Y-30752 (productos conocidos como Shemer®), (2.12) *Microsphaeropsis ochracea* (productos conocidos como Microx ®), (2.13) *Muscodora albus*, en particular, la cepa QST 20799 (productos conocidos como QRD300), (2.14) *Nomuraea rileyi*, en particular, las cepas SA86101, GU87401, SR86151, CG128 y VA9101, (2.15) *Paecilomyces lilacinus*, en particular, esporas de la cepa 251 de *P. lilacinus* (AGAL 89/030550, productos conocidos como BioAct®, véase Crop Protection 2008, 27, 352-361), o *Paecilomyces fumosoroseus*, (2.16) *Penicillium bilaii*, en particular, la cepa ATCC22348 (productos conocidos como JumpStart®, PB-50, Provide), (2.17) *Pichia anomala*, en particular, la cepa WRL-076, (2.18) *Pseudozyma flocculosa*, en particular, la cepa PF-A22 UL (productos conocidos como Sporodex® L), (2.19) *Pythium oligandrum DV74* (productos conocidos como Polyversum), (2.20) *Trichoderma asperellum*, en particular, la cepa ICC 012 (productos conocidos como Bioten®), (2.21) *Trichoderma harzianum*, en particular, *T. harzianum T39* (productos conocidos como Trichodex®), y (2.22) *Beauveria brongniartii*, (2.23) *Trichoderma atroviride* cepa CNCM No. I-1237 (productos conocidos como Esquive).

30 En una realización, de los hongos y levaduras dados (2-1) a (2-23), los hongos y levaduras dados bajo los números (2.10), (2.11) y (2.15) deben usarse o emplearse en la presente invención en combinación con el compuesto (1-3), opcionalmente en presencia de un inoculante.

Se prefiere usar o emplear en la presente invención el compuesto de fórmula (1-3) en combinación con (2.10) *Metarhizium anisopliae*, en particular, la cepa F 52, opcionalmente en presencia de un inoculante.

35 Se prefiere usar o emplear en la presente invención el compuesto de fórmula (1-3) en combinación con (2.11) *Metschnikovia fructicola*, en particular, la cepa NRRL Y-30752, opcionalmente en presencia de un inoculante.

Se prefiere usar o emplear en la presente invención el compuesto de fórmula (1-3) en combinación con (2.15) *Paecilomyces lilacinus*, en particular esporas de la cepa 251 de *P. lilacinus*, opcionalmente en presencia de un inoculante.

De acuerdo con la invención, los agentes de control biológico que se resumen bajo el término "protozoos" son:

40 (3.1) *Nosema locustae*, y (3.2) *Vairimorpha*.

De acuerdo con la invención, los agentes de control biológico que se resumen bajo el término "virus" son:

(4.1) Virus de la polihedrosis nuclear de polilla gitana (*Lymantria dispar*) (NPV), (4.2) NPV de polilla tussock (*Lymantriidae*), (4.3) NPV de Heliothis, (4.4) mosca de sierra de pino (Neodiprion) NPV, y (4.5) virus de granulosis de la polilla de Codling (*Cydia pomonella*) (GpGV).

45 Se prefiere usar o emplear en la presente invención el compuesto de fórmula (1-3) en combinación con (4.5) virus de granulosis de polilla de Codling (GpGV), opcionalmente en presencia de un inoculante.

De acuerdo con la invención, los agentes de control biológico que se resumen bajo el término "nematodo entomopatígeno" son:

50 (5.1) *Steinernema scapterisci*, (5.2) *Steinernema feltiae*, (5.3) *Steinernema carpocapsae*, (5.4) *Heterorhabditis heliothidis*, y (5.5) *Xenorhabdus luminescence*.

Ejemplos de inoculantes que pueden usarse o emplearse de acuerdo con la invención son bacterias del género *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium tropici*, *Rhizobium loti*, *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium meliloti*, *Rhizobium fredii*, *Azorhizobium caulinodans*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Streptomyces*, *Burkholderia*, *Agrobacterium*, *Endo*, *Ecto*-, *Mycorhizza Vesicular-Arbuscular* (VA). Se prefiere utilizar inoculantes del suelo.

La cantidad del agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y entomopatógenos que se usan o emplean en combinación con el compuesto (I-3) opcionalmente en presencia de un inoculante, depende de la formulación final, así como del tamaño o tipo de la planta, las partes de plantas, semillas, frutas y hortalizas cosechadas a tratar. Normalmente, el agente de control biológico a emplear o utilizar de acuerdo con la invención está presente de aproximadamente 0,0001 % a aproximadamente 80 % (p/p), preferentemente de aproximadamente 5 % a aproximadamente 75 % (p/p), más preferentemente de aproximadamente 10 % a aproximadamente 70 % (p/p) de su formulación individual o formulación combinada con el compuesto (I-3) y, opcionalmente, el inoculante.

Si las bacterias, hongos o levaduras se seleccionan como agentes de control biológico, en particular aquellos que son nombrados como preferidos, a saber (2.10), (2.11), y (2.15), se prefiere que estos agentes de control biológico o, por ejemplo, sus esporas están presentes en una formulación individual o la formulación combinada en una concentración de al menos  $10^5$  unidades formadoras de colonias (por ejemplo, esporas por gramo, células de levadura por gramo) como  $10^5$  -  $10^{12}$  UFC/ g, preferentemente  $10^6$  -  $10^{11}$  UFC/g, más preferentemente  $10^7$  -  $10^{10}$  UFC/ g y lo más preferentemente  $10^9$  -  $10^{10}$  UFC/g en el momento de la aplicación de agentes de control biológico en una planta o partes de plantas tales como semillas, frutas o vegetales. También referencias a la concentración de agentes de control biológico en forma de, por ejemplo, las esporas o las células, cuando se analizan las proporciones entre la cantidad de un compuesto (IA) y la cantidad de una preparación de un agente de control biológico, se crean en función del momento en que se aplica un agente de control biológico en una planta o partes de una planta, tales como semillas, frutas o vegetales.

También la cantidad de compuesto (I-3) que se usa o emplea en combinación con el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos, opcionalmente en presencia de un inoculante, depende de la formulación final, así como del tamaño o tipo de la planta, las partes de plantas, semillas, fruta o verdura cosechada a tratar. Normalmente, el compuesto (I-3) que se va a emplear o usar de acuerdo con la invención está presente en aproximadamente 0,1 % a aproximadamente 80 % (p/p), preferentemente del 1 % al 60 % (p/p), más preferentemente de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 50 % (p/p) de su formulación individual o formulación combinada con el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenos, y, opcionalmente, el inoculante.

Se prefiere emplear o usar el compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus, y nematodos entomopatógenos, y si están presentes también el inoculante en una relación ponderal sinérgica. El experto en la materia entiende que estas relaciones en peso se refieren a la relación dentro de una formulación combinada, así como a la proporción calculada entre el compuesto (I-3) y el agente de control biológico descrito en el presente documento cuando ambos componentes se aplican como monoformulaciones a una planta a tratar.

La relación se puede calcular en función de la cantidad de un compuesto (I-3), en el momento de aplicar dicho componente de una combinación de acuerdo con la invención a una planta o parte de la planta y la cantidad de un agente de control biológico poco antes (por ejemplo, 48 horas, 24 horas, 12 horas, 6 horas, 2 horas, 1 hora) o en el momento de aplicar dicho componente de una combinación de acuerdo con la invención a una planta o parte de una planta.

La aplicación del compuesto (I-3) y un agente de control biológico a una planta o una parte de la planta puede tener lugar simultáneamente o en diferentes momentos siempre que ambos componentes estén presentes en la planta o en la planta después de la (s) aplicación (es). En los casos en que el agente de control biológico y el compuesto (I-3) se aplican en diferentes momentos y se aplica un compuesto de fórmula (I) notable antes de un agente de control biológico (por ejemplo, 14, 10, 7, 5, 3, 1 día) antes de la aplicación de un agente de control biológico), el experto en la materia puede determinar la concentración de compuesto (I-3) en/en una planta mediante análisis químico conocido en la técnica, en el momento o poco antes del momento de aplicar un agente de control biológico. Al contrario, cuando un agente de control biológico se aplica primero a una planta, la concentración de un agente de control biológico se puede determinar mediante pruebas como se describen en el presente documento que también se conocen en la técnica, en el momento o poco antes del momento en que se aplica el compuesto (I-3).

En particular, la relación en peso sinérgica de un compuesto (I-3) a una preparación de esporas de bacterias/bacterias, en particular una preparación de bacterias formadoras de esporas, está en el intervalo de 500:1 a 1:1000, preferentemente en el intervalo de 500:1 a 1:500, más preferentemente en un intervalo de 500:1 a 1:300. Debe notarse que estos intervalos de relación se refieren a una preparación de esporas de bacterias/bacterias (para combinar con un compuesto (I-3) o una preparación de compuestos (I-3)) de aproximadamente  $10^{10}$  bacterias/esporas por gramo de preparación de dichas bacterias/esporas de bacterias. Por ejemplo, una relación de 1:100 significa 1 parte en peso del compuesto (I-3) y 100 partes en peso de una preparación de esporas de bacterias/esporas de bacterias que tienen una concentración de bacterias/esporas de bacterias de  $10^{10}$  bacterias/esporas de bacterias por gramo de preparación de bacterias/esporas de bacterias se combinan (ya sea como una formulación individual, una formulación combinada o por aplicaciones separadas a las plantas para que la combinación se forme en la planta).

- La concentración de bacterias/esporas de bacterias se puede determinar aplicando procedimientos conocidos en la técnica y descritos en esta solicitud. Para comparar las relaciones en peso de compuesto (I-3) a una preparación de bacterias/esporas de bacterias, el experto puede determinar fácilmente el factor entre una preparación que tiene una concentración de bacterias/esporas de bacterias diferente de  $10^{10}$  bacterias/esporas de bacterias por gramo una preparación de bacterias/esporas de bacterias y una preparación que tiene una concentración de bacterias/esporas de bacterias de  $10^{10}$  bacterias/esporas de bacterias por gramo de preparación para calcular si una ración de compuesto (I-3) para una preparación de bacterias/esporas de bacterias está dentro del ámbito de los intervalos de relación enumerados anteriormente.
- En una realización preferida, cuando un agente de control biológico es *Bacillus subtilis*, preferentemente la cepa GB 03, la relación en peso sinérgica del compuesto (I-3) a una preparación de *B. subtilis* de esporas de  $10^{10}$  de *B. subtilis* por gramo de preparación está entre 10:1 y 1:50 o incluso entre 1:1 y 1:20 tal como entre 1:1 y 1:15 o entre 1:3 y 1:10.
- En una realización preferida, cuando un agente de control biológico es *Bacillus thuringiensis*, preferentemente la cepa ABTS-1857, la relación en peso sinérgica del compuesto (I-3) a una preparación de *B. thuringiensis* de  $10^{10}$  esporas de *B. thuringiensis* por gramo de preparación está entre 500:1 y 1:100 o incluso entre 500:1 y 1:50 tal como entre 450:1 y 1:25 o entre 400:1 y 1:15.
- En una realización preferida, cuando un agente de control biológico es *Bacillus amyloliquefaciens*, preferentemente la cepa FZB 42, la relación en peso sinérgica del compuesto (I-3) a una preparación de *B. amyloliquefaciens* de  $10^{10}$  esporas de *B. amyloliquefaciens* por gramo de preparación está entre 100:1 y 1:100 o incluso entre 10:1 y 1:100 tal como entre 1:1 y 1:25, entre 1:1 y 1:10 o entre 1:1,25 y 1:5.
- En particular, la relación en peso sinérgica del compuesto (I-3) a una preparación de hongos o levaduras está en el intervalo de 100:1 a 1:20.000, preferentemente en el intervalo de 50:1 a 1:10.000 y, más preferentemente, en el intervalo de 50:1 a 1:1000. Cabe destacar que los intervalos de proporciones mencionados hacen referencia a preparaciones de esporas/células de hongos o levaduras de alrededor de  $10^{10}$  esporas (hongos) o células (levaduras) por gramo de preparación de dicho hongo o levadura. Por ejemplo, una relación de 1:100 significa 1 parte en peso del compuesto(I-3) y 100 partes en peso de una preparación de esporas de un hongo o levadura que tiene una concentración de esporas/células de  $10^{10}$  esporas/células por gramo de preparación de dicho hongo o levadura (sin compuesto (I-3) o una preparación de compuesto (I-3)).
- La concentración de esporas de bacterias/bacterias se puede determinar aplicando procedimientos conocidos en la técnica y descritos en esta solicitud. Para comparar las relaciones en peso entre el compuesto (I-3) y una preparación de hongos o levaduras, el experto en la materia puede determinar fácilmente el factor entre una preparación con una concentración de esporas/células diferente de  $10^{10}$  esporas/células por gramo de preparación de hongos/levadura y una y una preparación con una concentración de esporas/células de  $10^{10}$  esporas/células por gramo de preparación para calcular si la relación del compuesto (I-3) y una preparación de hongos o levaduras está dentro del ámbito de los intervalos de relación enumerados anteriormente.
- En una realización preferida, cuando un agente de control biológico es *Metschnikowia fructicola*, preferentemente la cepa NRRL Y-30752, la relación en peso sinérgica del compuesto (I-3) y una preparación de *M. fructicola* de  $10^{10}$  esporas de *M. fructicola* por gramo de preparación está entre 10:1 y 1:100 o incluso entre 1:1 y 1:25 tal como entre 1:5 y 1:25 o entre 1:10 y 1:20.
- En otra realización preferida, cuando un agente de control biológico es *Paecilomyces lilacinus*, preferentemente la cepa 251, la relación en peso sinérgica del compuesto (I-3) y una preparación de *P. lilacinus* de  $10^{10}$  esporas de *P. lilacinus* por gramo de preparación está entre 500:1 y 1:500 o incluso entre 1:1 y 1: 500 tal como entre 1:200 y 1: 300 o entre 1:200 y 1: 250.
- En otra realización preferida, cuando un agente de control biológico es *Metarhizium anisopliae*, preferentemente la cepa F52, la relación en peso sinérgica del compuesto (I-3) y una preparación de *M. anisopliae* de  $10^{10}$  esporas de *M. anisopliae* por gramo de preparación está entre 100:1 y 1:100 o incluso entre 10:1 y 1:20 tal como entre 1:1 y 1:10 o entre 1,1:1 y 1,1: 3,75.
- En una realización de la presente invención, un agente de control biológico es un hongo o levadura y la cantidad de preparación de esporas de hongos o células de levadura de  $10^{10}$  esporas/células que se dispersan/ha g es de al menos 50 g/ha, tal como 50 - 7500 g/ha, 50 - 5000 g/ha, 50 - 2500 g/ha; al menos 250 g/ha (hectárea), al menos 500 g/ha o al menos 1000 g/ha. El experto en la materia puede calcular fácilmente la cantidad de preparación/ha que tiene una preparación de esporas de hongos diferente de  $10^{10}$  esporas para cumplir con este criterio.
- En una realización de la presente invención, un agente de control biológico es *Paecilomyces lilacinus*, por ejemplo, la cepa 251, y la cantidad de preparación de esporas (basada en una preparación de esporas de  $10^{10}$  esporas/g de preparación) que se dispersa/ha es de al menos 50 g/ha; al menos 100 g/ha; al menos 1000 g/ha; al menos 2500 g/ha, tal como 2500 - 7500 g/ha, 2500 - 6000 g/ha; o al menos 4000 g/ha, tal como 4000 - 6000 g/ha, por ejemplo alrededor de 5000 g/ha.

En una realización de la presente invención, un agente de control biológico es *Metarhizium anisopliae*, por ejemplo, la cepa F52, y la cantidad de preparación de esporas de hongo (basada en una preparación de esporas de hongo de  $10^{10}$  esporas/g de preparación) que se dispersa/ha es de al menos 50 g/ha, tal como 50 - 7500 g/ha, 50 - 1000 g/ha, 50 - 250 g/ha, tal como 90 - 250 g/ha o 90 - 225 g/ha.

- 5 En una realización de la presente invención, un agente de control biológico es *Metschnikowia fructicola*, y la cantidad de preparación de células de levadura (basada en una preparación de esporas de levadura  $10^{10}$  esporas/g de preparación) que se dispersa/ha es de al menos 50 g/ha, tal como 50 - 5000 g/ha, 50 - 2000 g/ha; al menos 500 g/ha; al menos 1000 g/ha, tal como 1000 - 2000 g/ha.

- 10 En una realización de la presente invención, un agente de control biológico es una bacteria y la cantidad de preparación de esporas de hongos o células de levadura de  $10^{10}$  esporas/células que se dispersan/ha g es de al menos 0,1 g/ha. El experto en la materia puede calcular fácilmente la cantidad de preparación/ha que tiene una preparación de esporas de bacterias/bacterias diferente de  $10^{10}$  esporas para cumplir con este criterio.

- 15 En una realización de la presente invención, un agente de control biológico es *B. thuringiensis* y la cantidad de preparación de esporas (basada en una preparación de esporas de  $10^{10}$  esporas/g de preparación) que se dispersa/ha es de al menos 0,1 g/ha (hectárea), tal como 0,1 - 5000 g/ha, 0,1 - 10 g/ha, 0,1 - 2 g/ha; al menos 0,15 g/ha, tal como 0,15 - 1 g/ha, 0,15 - 0,9 g/ha, o incluso 0,15 - 0,81 g/ha.

- 20 En otra realización de la presente invención, un agente de control biológico es *B. subtilis*, por ejemplo, la cepa GB 03, y la cantidad de preparación de esporas (basada en una preparación de esporas de  $10^{10}$  esporas/g de preparación) que se dispersa/ha es de al menos 50 g/ha, tal como 50 - 5000 g/ha, 50 - 2500 g/ha, 50 - 500 g/ha; al menos 100 g/ha o al menos 250 g/ha, tal como 100 - 500 g/ha o 250 - 350 g/ha, por ejemplo, aproximadamente 300 g/ha.

- 25 En otra realización de la presente invención, un agente de control biológico es *B. amyloliquefaciens* y la cantidad de preparación de esporas (basada en una preparación de esporas de  $10^{10}$  esporas/g de preparación) que se dispersa/ha es de al menos 500 g/ha, tal como 500 - 8000 g/ha, 2500 - 7500 g/ha o 4000 g/ha a 6000 g/ha, tal como aproximadamente 5000 g/ha.

- 30 En aún otra realización de la invención, un agente de control biológico es una bacteria, hongo o levadura y la cantidad de una espora de bacterias/bacterias, la preparación de esporas de hongos o de células de levadura de  $10^{10}$  esporas/células que se mezclan con semillas (por ejemplo, en el tratamiento de semillas) es de al menos 0,1 g/kg de semillas, tal como 0,1 g/kg - 10 g/kg, 0,1 g/kg 1 g/kg. El experto en la materia puede calcular fácilmente la cantidad de preparación/ha que tiene una preparación de bacterias/esporas bacterias, esporas de hongos o células de levadura diferentes de  $10^{10}$  esporas/g de preparación para cumplir con este criterio.

En una realización de la presente invención, un agente de control biológico es un virus y la concentración del virus después de la dispersión es de al menos 50 g/ha, tal como 50 - 7500 g/ha, 50 - 2500 g/ha, 50 - 1500 g/ha; al menos 100 g/ha o al menos 150 g/ha.

- 35 En una realización de la presente invención, un agente de control biológico es un virus, tal como el virus de la granulosis *Cydia pomonella* y la concentración del virus después de la dispersión es de al menos 50 g/ha (hectárea), tal como 50 - 5000 g/ha, 50 - 2500 g/ha o 50 - 1500 g/ha. En una realización preferente, la concentración es de aproximadamente 1000 g/ha, tal como 900 - 1100 g/ha. Sin embargo, también son adecuadas otras concentraciones tales como 100 - 1500 g/ha o 100 - 250 g/ha.

- 40 En una realización de la presente invención, un agente de control biológico es un nematodo y la concentración de los nematodos es de al menos  $10^6$  nematodos/ha, por ejemplo, nematodos en estadio de larvas/ha, tales como  $10^6$  -  $10^{15}$  nematodos/ha, por ejemplo, nematodos en estadio de larvas/ha,  $10^6$  -  $10^{12}$  nematodos/ha, por ejemplo, nematodos en estadio de larvas/ha, al menos  $10^8$  nematodos/ha, por ejemplo, nematodos en estadio de larva/ha, tal como  $10^8$  -  $10^{15}$  nematodos/ha, por ejemplo, nematodos en estadio de larvas/ha,  $10^8$  -  $10^{12}$  nematodos/ha, por ejemplo, nematodos en estadio de larvas/ha; o al menos  $10^9$  nematodos/ha, por ejemplo, nematodos en estadio de larvas/ha, tales como  $10^9$  -  $10^{15}$  nematodos/ha, por ejemplo, nematodos en estadio de larva/ha, tal como  $10^9$  -  $10^{12}$  nematodos/ha, por ejemplo, nematodos en estadio de larva/ha.

- 50 En una realización de la presente invención, las proporciones entre bacterias (como *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus thuringiensis* subsp. *Aizawai*, *Bacillus thuringiensis* subsp. *israeliensis*, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis*) y el compuesto (1-3) en una formulación individual o combinada o en o en una planta a tratar o su entorno, hábitat o espacio de almacenamiento, están comprendidas entre 500:1 y 1: 500, tal como entre 250:1 y 1:250 o incluso entre 25:1 y 1:25.

- 55 En una realización de la presente invención, las proporciones entre hongos (tal como *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces lilacinus*) y el compuesto (1-3) en una formulación individual o combinada o en o en una planta a tratar o su entorno, hábitat o espacio de almacenamiento están entre 125:1 y 1:1250 o incluso entre 25:1 y 1:250.

La tasa de aplicación del agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras

de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenicos a emplear o usar de acuerdo con la presente invención puede variar. El experto en la materia es capaz de encontrar la tasa de aplicación apropiada mediante experimentos rutinarios.

5 Además, el experto en la materia es consciente de cómo almacenar agentes de control biológico que forman parte de la presente invención. En general, los agentes de control biológico que forman parte de la presente invención se guardan/almacenan a temperaturas inferiores a 40 °C, por ejemplo, a temperaturas inferiores a 37 °C, tal como entre 4 °C y 35 °C o entre 4 °C y 27 °C.

10 El experto en la materia es consciente de en qué condiciones deben aplicarse los agentes de control biológico que forman parte de la presente invención a una planta o partes de la misma. En general, los agentes de control biológico son parte de la presente invención y se aplican a una planta o partes de la misma a temperaturas inferiores a 40 °C, por ejemplo, a temperaturas entre 15 °C y 32 °C o 20 °C y 27 °C.

15 Los microorganismos, tales como hongos o bacterias, pueden obtenerse mediante procedimientos de fermentación convencionales. La fermentación se puede realizar utilizando medios nutrientes sólidos, semisólidos o líquidos. Si se usan esporas, tales como conidios, se da preferencia al medio nutriente sólido o semisólido. El medio nutriente contiene los nutrientes adecuados y conocidos para el cultivo de los respectivos microorganismos, en particular, una o más fuentes de carbono o de nitrógeno metabolizables, y sales minerales. La fermentación generalmente se lleva a cabo a temperaturas comprendidas entre aproximadamente 3 °C y aproximadamente 40 °C, Preferentemente entre 20 °C y 35 °C. Por ejemplo, una fermentación representativa se describe en el documento US 5 804 208.

20 Un procedimiento de fermentación comprende, por lo general, las etapas de a) incubar esporas, tales como conidios, de un microorganismo en o sobre un medio nutritivo (tal como agar con aditivos adicionales tales como grano molido de avena); b) separar esporas, tales como conidios, del medio de nutrición después del tiempo de incubación, (por ejemplo, eliminando por agitación los conidios del medio, centrifugación, filtración); y opcionalmente c) preparar una emulsión de dichos conidios aislados.

25 El experto en la materia es muy consciente de cómo adaptar la fermentación a un microorganismo determinado, tal como hongos o bacterias. En lo sucesivo, se ilustran en mayor detalle varias fermentaciones. Estos ejemplos no pretenden limitar el ámbito de la presente invención.

### **Hongos**

El hongo *Metarhizium anisopliae*, cepa DSM 3884, se conoce del documento EP 0 268 177. La producción de conidios de *Metarhizium anisopliae* se ilustra como ejemplo en el documento EP 0 794 704 (US 5 804 208).

30 En un medio de nutrición como el agar de harina de avena (por ejemplo, composición: 30 g de copos de avena y 20 g de agar) en una placa de Petri se inocularon, por ejemplo, conidios de 3 semanas de edad de la cepa DSM 3884 de *Metarhizium anisopliae*. El tiempo de incubación para multiplicar los conidios es, por ejemplo, 3, 4, 5 o 6 días. La temperatura de incubación puede ser de aproximadamente 7 °C a aproximadamente 40 °C, por ejemplo de 22 °C a 25 °C. Los conidios formados se aislaron, por ejemplo, agitando los conidios. Los conidios se pueden agitar con 50 ml de agua que contiene 1 % de un emulsionante no iónico, tal como un emulsionante a base de polioxietileno (20) monolaurato de sorbitano (Tween 20®) hasta que se obtuvo una suspensión en la que los conidios estaban presentes como partículas aisladas. El título de conidios fue y puede determinarse usando, por ejemplo, una cámara de Neubauer. Los conidios se pueden almacenar en cajas cerradas en condiciones secas, preferentemente a temperaturas entre 0 °C y 25 °C.

40 La cepa 251 de *Paecilomyces lilacinus* se aisló de huevos de nematodos infectados en Filipinas y se describió correctamente taxonómicamente en 1974. El crecimiento óptimo en el laboratorio de la cepa 251 de *Paecilomyces lilacinus* se produce a 21-27 °C, y no crece ni sobrevive a más de 36 °C (Agencia de Protección Ambiental de EE. UU., ficha técnica de la cepa 251 de *P. lilacinus*). El siguiente cultivo de *Paecilomyces lilacinus* se ilustra como ejemplo en la solicitud de patente WO/1994/025579:

45 *Paecilomyces lilacinus* (Thorn) Samson (CBS 143.75), obtenida de, por ejemplo, el CBS (Central Bureau of Fungal Cultures) en Baarn (Países Bajos), se puede mantener en agar dextrosa de patata (PDA; Difco laboratories) a 25 °C. Se obtuvo una suspensión de conidios añadiendo agua esterilizada (por ejemplo, 5 ml) a una placa Petri que contenía micelios esporulantes y raspando la superficie con una varilla de vidrio. Los cultivos líquidos se obtuvieron inoculando los conidios del hongo en un medio mínimo de sal o un medio de harina de maíz suplementado con el sustrato. El medio mínimo (MM) de sal consiste en 4,56 g de H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 2,77 g de KH<sub>2</sub>HP04, 0,5 g de MgSO<sub>4</sub>. 7H<sub>2</sub>O y 0,5 g de KCl/l, pH 6,0. El micelio se puede obtener por centrifugación a, por ejemplo, cultivo de conidios de 6 días de *Paecilomyces lilacinus*. Por ejemplo, los cultivos se pueden cultivar en un baño de agua con agitación durante varios días a 30 °C y 125 golpes por minuto. Los filtrados de cultivo se obtuvieron mediante centrifugación de cultivos para, por ejemplo, 45 min a 9000 g.

55 La preparación de *Metschnikowia fructicola* se ilustra a modo de ejemplo en el documento US 6.994.849:

La especie de levadura *Metschnikowia fructicola* se aisló de la superficie de las bayas de uva (cv. Superior) que

crece en la parte central de Israel. En varias etapas, las bayas individuales se sumergieron en agua destilada estéril en vasos de precipitados de 100 ml y se agitaron enérgicamente durante 2 horas en un agitador rotatorio a 120 rpm. Se extrajeron partes alícuotas de 100 ml del líquido de lavado y se sembraron en placas con PDA (agar de dextrosa de patata; DIFCO Laboratories, U.S.A.). Después de 4-5 días de incubación, se seleccionaron colonias de levadura al azar según las características de la colonia (color y morfología) y se sembraron por estrías individualmente en medio fresco para obtener cultivos biológicamente puros. Los cultivos se purificaron adicionalmente mediante sembrado por estrías repetidas en PDA. La identificación y caracterización de las nuevas especies se realizó en el centro de Microbial Genomics and Bioprocessing, USDA-ARS, Peoria, Ill., EE. UU. *Metschnikowia fructicola* se depositó en el NRRL con el número Y-30752. Este depósito se ha realizado de conformidad con los términos del Tratado de Budapest.

*Metschnikowia fructicola* se propagó en condiciones aerobias a temperaturas que oscilaron entre 5 °C y 37 °C. La temperatura óptima de crecimiento es entre 20 °C y 27 °C. La levadura crece en medio líquido (caldo nutritivo; Droby y col., 1989) con un pH neutro. La densidad celular de la levadura generalmente alcanzó su crecimiento máximo (etapa estacionaria) en 24-48 horas. Para pruebas de laboratorio y a pequeña escala, fue adecuado el crecimiento en matraces Erlenmeyer que contenían el medio y se agitaron en un agitador rotatorio. Para pruebas a gran escala y comerciales, se prefirieron tanques de fermentación y medios de crecimiento industrial. Las células de levadura se recolectaron mediante centrifugación utilizando centrifugadoras convencionales de laboratorio o industriales.

### **Bacterias**

*Bacillus thuringiensis* se cultivaron usando medios y técnicas de fermentación conocidas en la materia (véanse, por ejemplo, Rogoff y col., 1969, J. Invertebrate Path. 14: 122-129; Dulmage y col., 1971, J. Invertebrate Path. 18: 353-358; Dulmage y col., en Microbial Control of Pests and Plant Diseases, H.D. Burges, ed., Academic Press, NY, 1980). Tras completar el ciclo de fermentación, el sobrenadante se puede recuperar separando las esporas y los cristales de *Bacillus thuringiensis* del caldo de fermentación por medios bien conocidos en la técnica, por ejemplo, centrifugación, ultrafiltración, evaporación o secado por pulverización (véase también el documento WO 1996001563, que se ha incorporado por referencia en la presente en su totalidad).

El siguiente cultivo de *Bacillus thuringiensis* se ilustra, por ejemplo, en el documento US 5.508.032A:

Un subcultivo de aislados de *Bacillus thuringiensis* se puede utilizar para inocular el siguiente medio, medio con peptona, glucosa, sales: Bacto Peptone 7,5 g/l de glucosa, 1,0 g/l  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 3,4 g/l  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 4,35 g/l solución de sales, 5,0 ml/l solución de  $\text{CaCl}_2$ , 5,0 ml/l solución de sales (100 ml)  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 2,46 g  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 0,04 g  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,28 g  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,40 g solución de  $\text{CaCl}_2$  (100 ml),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 3,66 g a pH 7,2.

La solución de sales y la solución de  $\text{CaCl}_2$  se esterilizaron (por ejemplo, esterilización por filtración) y se añadieron al caldo esterilizado (por ejemplo, autoclavado y hervido) en el momento de la inoculación. Los matraces se incubaron a aproximadamente 30 °C en un agitador rotatorio a 200 rpm durante 64 horas. El procedimiento se puede escalar fácilmente a fermentadores grandes según procedimientos bien conocidos en la materia. Las esporas y cristales de *Bacillus thuringiensis*, obtenidos en la fermentación, se pueden aislar según procedimientos bien conocidos en la materia. Un procedimiento utilizado frecuentemente es someter el caldo de fermentación recogido a técnicas de separación, por ejemplo, centrifugación.

La bacteria *Bacillus subtilis* es una bacteria natural que se encuentra en los suelos de todo el mundo. La cepa QST713 de *Bacillus subtilis* se aisló en 1995 por AgraQuest Inc. del suelo en un huerto de melocotones de California. Este producto se aplica al follaje (NYDEC 2001). En contraste, la cepa GB03 de *Bacillus subtilis* (Kodiak®) se descubrió en Australia en la década de 1930 y se aplica como tratamiento de semillas o directamente al suelo. Ninguna cepa se considera un organismo genéticamente modificado (Universidad de Cornell: Organic Resource Guide, Ficha informativa del material - *Bacillus subtilis*)

Aislamiento de *Bacillus subtilis* y cepas relacionadas del suelo: Para aislar cepas silvestres de *Bacillus subtilis*, por ejemplo, se disolvieron 2 g de muestras de suelo en 2 ml de Tris/HCl 10 mM (pH 7,2) y después se llevaron a ebullición a 95 °C durante 5 minutos. De estas muestras, se esparcieron 0,1 ml de cada muestra en placas LB y se incubaron a 37 °C.

Ensayo de esporulación: las cepas de *Bacillus subtilis* se cultivaron en medio 26 SG a 37 °C y se ensayó la esporulación 24 horas después del final de la fase exponencial. El número de esporas por ml de cultivo se determinó identificando el número de unidades formadoras de colonias resistentes al calor (80 °C durante 10 min) en placas LB.

*Bacillus subtilis*, cepa Marburg, se cultivó aeróbicamente en caldo de infusión de corazón (Difco Laboratories, Detroit, Mich.) en agitador a aproximadamente 37 °C. De un cultivo durante la noche, se inocularon 4 gotas en 70 ml de caldo precalentado. El crecimiento se midió como densidad óptica a 620 nm. Las células se recolectaron después de 3,5 a 4,5 horas en la fase exponencial de crecimiento. La centrifugación se llevó a cabo a temperatura ambiente durante 15 minutos a 7000 g (Nanninga, The Journal of Cell Biology. Volumen 48, 1971 • páginas 219-224).

*Bacillus subtilis* es activo en temperaturas entre 7 °C y 45 °C.

La cepa FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens*, se aisló originalmente del suelo infestado en Alemania (Krebs y col., (1998) J Plant Dis Prot 105: 181-197, Chen y col., (2007), Nature Biotechnol. 25 (9): 1007-14.). La cepa FZB42 de *Bacillus amyloliquefaciens* se cultivó en caldo Luria (LB - 1 % p/p de peptona, 0,5 % p/v de extracto de levadura, 0,5 % p/v de NaCl) a 30 °C (Fan y col., (2011), Journal of Biotechnology 151: 303-311). Las bacterias se cultivaron en medio Landy como se describe en Koumoutsi y col., (2004), J. Bacteriol. 186: 1084-1096. Para preparar cultivos de superficie, las cepas se cultivaron en placas petri que contenían agar Landy al 1,5 % durante 24 horas a 37 °C y se almacenaron a temperatura ambiente antes del análisis MALDI-TOF-MS. La fermentación en medio líquido se realizó en matraces a 30 °C y 180 rpm en un agitador.

### **Virus**

10 Los virus de la granulosis *Cydia pomonella* (CpGV) que se utilizan en los productos MADEX (Andermatt Biocontrol) y Granupom (Probis GmbH) están depositados desde 2005 en la Colección alemana de microorganismos y cultivos celulares (DSMZ). Los aislados utilizados para la producción de MADEX (Andermatt Biocontrol), Granupom (Probis GmbH), VIRGO (SipcamS.p.A.) y CARPOVIRUSINE (Arysta LifeScience S.A.S) se derivaron del aislado mexicano originalmente aislado en 1963 y no están modificados genéticamente. (Número de acceso del virus: GV-0001)

15 La identidad del virus producido puede comprobarse bioanalíticamente contra la cepa parental mediante electroforesis en gel de poliacrilamida SDS de la arena de la proteína del virus mediante análisis con endonucleasas de restricción del ADN viral.

20 Antes del aislamiento del ADN, el elemento de prueba debe ser purificado. El sedimento de CpGV OB purificado se resuspende en 1 ml de agua estéril y la concentración de OB de CpGV se enumera en la cámara de recuento de Petroff-Hausser. La concentración del virus de la granulosis *Cydia pomonella* (CpGV) activo se determina mediante un bioensayo cuantitativo. Los gránulos (cuerpos de oclusión) del CpGV se cuentan con el microscopio óptico. El título de virus en el producto de uso final se ajusta a los gránulos/l solicitados (Informe de evaluación: Granulovirus *Cydia pomonella* (CpGV) - Aislado mexicano (2007).

25 El CpGV deriva del aislado mexicano de CpGV (Tanada, (1964), J. Insect Pathol. 6: 378-380) y se propaga en larvas de *Cydia pomonella*. Las larvas infectadas se homogeneizan y se centrifugan en sacarosa al 50 % (p/p). El sedimento se resuspende y los gránulos se purifican, por ejemplo, centrifugación a través de un gradiente de sacarosa lineal del 50 % al 60 % (p/p), generando una banda de virus que luego se lava repetidamente en tampón Tris y se sedimenta para eliminar la sacarosa residual. (Jehle y col., (1992), Journal of general virology, 73: 1621-1626).

### **Nematodos entomopatógenicos**

Los nematodos pueden criarse en técnicas de cultivo líquido (véase, por ejemplo, US 5.023.183) y se almacenan, por ejemplo, como huevos, larvas en cultivos en suspensión o en polvo de arcilla o nematodos adultos, por ejemplo, en polvo de arcilla. Los nematodos se pueden mantener en el refrigerador (2-6 °C) hasta su uso durante hasta 4 semanas y se pueden reactivar con suspensión en agua tibia (> 12 °C).

35 Cairns, 1960, Folia parasitica 47: 315-318 se describe un procedimiento para aislar nematodos entomopatógenicos del suelo. Para muestras de suelo, se empleó un procedimiento de tamizado-decantación con el aislamiento final de los nematodos de los residuos de tamizado utilizando un embudo Baermann con filtro de algodón. Para este procedimiento, que se aplica habitualmente para la extracción de nematodos de plantas y parásitos del suelo (Southey (1986), Ministerio de Agricultura, Libro de Referencia de Pesca y Alimentos No. 402, 202 pp. HMSO, Londres, Reino Unido), se utilizaron 250 ml de suelo. La suspensión de nematodos se fijó, se verificó la presencia de nematodos entomopatógenicos utilizando un microscopio óptico invertido y se determinó el número de muestras de *Steinernema*. La identificación de especies se realizó principalmente con un aumento microscópico alto utilizando caracteres morfológicos de los juveniles en etapa infecciosa.

45 Los nematodos entomopatógenicos pueden producirse en masa mediante procedimientos *in vivo* o *in vitro*. Las larvas de *Galleria mellonella* se usan más habitualmente para criar nematodos debido a su disponibilidad comercial. Varios investigadores (por ejemplo, Dutky y col., (1964), J. Insect Pathol. 6: 417-422, o Flanders y col., (1996), J. Econ. Entomol. 89: 373-380) han descrito los procedimientos de infección, inoculación y recolección de nematodos. Utilizando el procedimiento *in vivo*, se han obtenido rendimientos entre  $0,5 \times 10^5$  -  $4 \times 10^5$  juveniles infecciosos, dependiendo de la especie de nematodo. Durante los últimos años, ha surgido en EE.UU. una industria doméstica distinta que utiliza el procedimiento *in vivo* para la venta masiva de nematodos, especialmente en mercados caseros de césped y jardinería. El procedimiento *in vivo*, sin embargo, carece de cualquier economía de escala; los costes de personal, equipo y material (insecto) aumentan como una función lineal de la capacidad de producción. Quizás aún más importante es la falta de calidad mejorada a medida que se aumenta la escala. La producción de nematodos *in vivo* es cada vez más sensible a variaciones biológicas y catástrofes a medida que se aumenta la escala. Se han desarrollado varias formulaciones para el almacenamiento y la aplicación de nematodos entomopatógenicos. La vida útil de los diferentes productos basados en nematodos varía según la formulación, la especie de nematodo y la temperatura. En el tipo más simple de formulación, los nematodos están impregnados sobre sustratos portadores húmedos que proporcionan espacios intersticiales sustanciales que conducen a un mayor intercambio de gases.

Tales portadores incluyen esponja de poliéter poliuretano, virutas de cedro, turba, vermiculita, etc. Los nematodos contenidos en la esponja deben exprimir a mano en agua antes de la aplicación, mientras que de los otros portadores pueden aplicarse directamente al suelo como mantillo (Neves y col., Neotropical Entomology, vol. 30, n.º 2, Londrina, junio de 2001, ISSN 1519-566X).

- 5 Se describe un bioensayo para determinar la viabilidad de los nematodos, por ejemplo, en Simser ((1992) J. of Nematology 24(3):374-378). La viabilidad del nematodo se verificó mediante bioensayo del huésped. Larvas en estadio tardío de la polilla de la cera, *Galleria mellone*, se enterraron a 2,5 cm de profundidad entre plantas antes de la aplicación del nematodo (cuatro larvas por réplica), se recogieron después de 7 días, se colocaron en placas petri (9 cm de diámetro) y se mantuvieron en la oscuridad a aproximadamente 25 °C. La mortalidad de los insectos (> 90  
10 %) y la posterior propagación de nematodos con cadáveres demostraron la infectividad de los nematodos. El experto en la materia sabe muy bien cómo adoptar este tipo de bioensayo para diferentes especies de nematodos.

La tasa de aplicación preferida de bacterias como agente de control biológico, en particular de las esporas de las bacterias (1,26a), a saber, cepa GBO3 de *B. subtilis*, se encuentra en el intervalo de 0,1 a 3 kg/ha.

- 15 La tasa de aplicación preferida de hongos como agente de control biológico, en particular, la cepa F 52 de hongos *Metarhizium anisopliae* se encuentra en el intervalo de 0,1 a 3 kg/ha.

La tasa de aplicación preferida de levaduras como agente de control biológico, en particular, la cepa NRRL Y-30752 de *Metschnikowia fructicola* se encuentra en el intervalo de 0,05 a 8 kg/ha.

La tasa de aplicación preferida de protozoos, virus y nematodos entomopatogénicos como agentes de control biológico se encuentra en el intervalo de 0,5 a 10 kg/ha.

- 20 Generalmente se prefiere usar o emplear el compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, viru y nematodos entomopatogénicos, y, si es aplicable, también el inoculante en cultivos hortícolas, tales como algodón, lino, vides, frutas, hortalizas, tales como Rosaceae sp. (por ejemplo, fruta de tipo pomáceo, tales como manzanas y peras, pero  
25 también frutas de hueso, tales como albaricoques, cerezas, almendras y melocotones, y frutas blandas tales como fresas), *Ribesioideae* sp., *Juglandaceae* sp., *Betulaceae* sp., *Anacardiaceae* sp., *Fagaceae* sp., *Moraceae* sp., *Oleaceae* sp., *Actinidaceae* sp., *Lauraceae* sp., *Musaceae* sp. (por ejemplo, árboles y plantaciones de plátanos), *Rubiaceae* sp. (por ejemplo, café), *Theaceae* sp., *Sterculiaceae* sp., *Rutaceae* sp. (por ejemplo, limones, naranjas y pomelo), *Solanaceae* sp. (por ejemplo, tomates), *Liliaceae* sp., *Asteraceae* sp. (por ejemplo, lechuga), *Umbelliferae* sp., *Cruciferae* sp., *Chenopodiaceae* sp., *Cucurbitaceae* sp. (por ejemplo, pepinos), *Alliaceae* sp. (por ejemplo, ajo, cebollas), *Papilionaceae* sp. (por ejemplo, guisantes); principales plantas de cultivo, tales como *Gramineae* sp. (por  
30 ejemplo, maíz, pasto, cereales, tales como trigo, centeno, arroz, cebada, avena, mijo y triticale), *Poaceae* sp. (por ejemplo, caña de azúcar), *Asteraceae* sp. (por ejemplo, girasoles), *Brassicaceae* sp. (por ejemplo, repollo, col lombarda, brécol, coliflores, coles de Bruselas, pak choi, colirrábano, rábanos, y también semillas oleaginosas de colza, mostaza, rábano picante y berro), *Fabaceae* sp. (por ejemplo, judías, guisantes, cacahuetes), *Papilionaceae* sp.  
35 (por ejemplo, judías de soja), *Solanaceae* sp. (por ejemplo, patatas), *Chenopodiaceae* sp. (por ejemplo, remolacha azucarera, remolacha forrajera, acelgas, remolacha); plantas de cultivo y plantas ornamentales de jardín y bosque; y también, en cada caso, variedades genéticamente modificadas de estas plantas.

- Los cultivos hortícolas incluyen especialmente zanahorias, calabaza, calabacita, calabacín, patata, maíz dulce, cebollas, plantas ornamentales, hierbas medicinales, hierbas culinarias, tomates, espinaca, pimiento, melón,  
40 lechuga, pepino, apio, remolachas, col, coliflor, brécol, coles de Bruselas, colirrábano, col, rábano, nabicol, nabo, espárragos, judías, guisante, manzanas, frambuesa, fresa, banana, mango, uvas, melocotones, peras, guayaba, piña, granada, ajo, cápsicum, chili, rábano, carambola, tapioca, nueces, limón, mandarina, mango, champiñón, aceituna, naranja, papaya, pimentón, fruta de la pasión, cacahuetes, nueces de pecana, ciruela, pistachos, caqui, toronja (pomelo), berenjena, endibia, arándano rojo, grosella espinosa, avellanas, kiwi, almendras, amaranto,  
45 melocotón, alcachofa, aguacate, zarzamora, anacardos, cereza, clementina, coco, melón cantaloup, e incluye sus productos cosechados, tales como frutas y hortalizas.

- Además, generalmente se prefiere usar o emplear el compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatogénicos y, si corresponde, también el inoculante en cultivos de hectáreas amplias, tales como algodón,  
50 maíz, soja, cereales, canola, colza oleaginosa, caña de azúcar y arroz.

- Las formulaciones agroquímicas como se mencionan en el presente documento, en particular, las formulaciones individuales y las formulaciones combinadas, pueden incluir generalmente portador, que se entiende que es una sustancia natural o sintética, orgánica o inorgánica que se mezcla o combina con los compuestos activos para una mejor aplicabilidad, en particular para la aplicación a plantas o partes de plantas. o semillas. El portador que puede  
55 ser sólido o líquido es generalmente inerte y debe ser adecuado para uso agrícola. En una realización preferente, el portador es un portador sólido. Las formulaciones mencionadas se pueden preparar de una manera conocida por sí misma, por ejemplo, mezclando el compuesto activo (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos

entomopatogénicos y, si corresponde, también el inoculante con al menos un aditivo. Los aditivos adecuados son todos los auxiliares de formulación habituales, tal como, por ejemplo, disolventes orgánicos, expansores, disolventes o diluyentes, portadores sólidos y cargas, tensioactivos (tales como adyuvantes, emulsionantes, dispersantes, coloides protectores, agentes humectantes y de pegajosidad), dispersantes y/o aglutinantes o fijadores, conservantes, colorantes y pigmentos, antiespumantes, espesantes inorgánicos y orgánicos, repelentes de agua, si es adecuado, desecantes y estabilizadores de UV, gibberelinas y también agua y otros auxiliares de procesamiento adicionales. Dependiendo del tipo de formulación a preparar en cada caso, etapas de procesamiento adicionales tales como, por ejemplo, molienda en húmedo, molienda en seco o granulación pueden ser necesarias.

Además, las formulaciones agroquímicas que se mencionan en el presente documento también pueden incluir generalmente portadores sólidos o líquidos adecuados que son: por ejemplo, sales de amonio y minerales naturales triturados, tales como caolines, arcillas, talco, fiza, cuarzo, atapulgita, montmorillonita o tierra de diatomeas, y minerales sintéticos molidos, tales como sílice finamente dividida, alúmina y silicatos naturales o sintéticos, resinas, ceras, fertilizantes sólidos, agua, alcoholes, especialmente butanol, disolventes orgánicos, aceites minerales y aceites vegetales, y también sus derivados. También es posible usar mezclas de dichos transportadores. Los transportadores sólidos adecuados para gránulos son: por ejemplo, minerales naturales triturados y fraccionados, tales como calcita, mármol, pumita, sepiolita, dolomita y también gránulos sintéticos de harinas inorgánicas y orgánicas y también gránulos de material orgánico, tales como serrín, cáscaras de coco, mazorcas de maíz y tallos de tabaco.

Además, las formulaciones agroquímicas como se mencionan en el presente documento también pueden incluir generalmente expansores o vehículos gaseosos licuados adecuados son líquidos que son gaseosos a temperatura ambiente y a presión atmosférica, por ejemplo propulsores de aerosoles, tales como butano, propano, nitrógeno y dióxido de carbono.

Además, las formulaciones agroquímicas como se mencionan en el presente documento también pueden incluir generalmente agentes de pegajosidad adecuados, tales como carboximetilcelulosa y polímeros naturales y sintéticos en forma de polvos, gránulos y látices, tal como goma arábiga, alcohol polivinílico, acetato de polivinilo, o también pueden usarse fosfolípidos naturales, tales como cefalinas y lecitinas y fosfolípidos sintéticos en las formulaciones. Otros aditivos posibles son aceites y ceras minerales y vegetales, opcionalmente modificados.

Además, las formulaciones agroquímicas como se mencionan en el presente documento también pueden incluir generalmente expansores. Si el expansor usado es agua, también es posible, por ejemplo, usar disolventes orgánicos como disolventes auxiliares. Los disolventes líquidos adecuados son esencialmente: compuestos aromáticos, tales como xileno, tolueno o alquilnaftalenos, compuestos aromáticos clorados o hidrocarburos alifáticos clorados, tales como clorobencenos, cloroetilenos o cloruro de metileno, hidrocarburos alifáticos, tales como ciclohexano o parafinas, por ejemplo fracciones de aceites minerales, aceites minerales y vegetales, alcoholes, tales como butanol o glicol, y también éteres y ésteres de los mismos, cetonas, tal como acetona, metil etil cetona, metil isobutil cetona o ciclohexanona, disolventes fuertemente polares, tales como dimetilformamida y dimetilsulfóxido y también agua.

En una realización, una formulación agroquímica, tal como una formulación individual o una formulación combinada, comprende al menos uno de los siguientes disolventes seleccionados del grupo que consiste en agua, cetonas, tal como acetona, dimetilformamida y dimetilsulfóxido.

En una realización adicional, una formulación agroquímica, tal como una formulación individual o una formulación combinada, comprende al menos uno de los siguientes disolventes seleccionados del grupo que consiste en agua, cetonas, tal como acetona, dimetilformamida y dimetilsulfóxido; y comprende además un emulsionante seleccionado del grupo que consiste en alquilarilpoliglicoléter.

Además, las formulaciones agroquímicas como se mencionan en el presente documento también pueden incluir otros componentes adicionales, tal como, por ejemplo, tensioactivos. Los tensioactivos adecuados son emulsionantes, dispersantes o agentes humectantes que tienen propiedades iónicas o no iónicas, o mezclas de dichos tensioactivos. Los ejemplos de estos son sales de ácido poloacrílico, sales of ácido lignosulfónico, sales de ácido fenolsulfónico o ácido naftalenosulfónico, policondensados de óxido de etileno con alcoholes grasos o con ácidos grasos o con aminas grasas, fenoles sustituidos (preferentemente, alquifenoles o arilfenoles), sales de ésteres del sulfosuccínico, derivados de taurina (preferentemente tauratos de alquilo), ésteres fosfóricos de alcoholes o fenoles polioxietilados, ésteres grasos de polioles, y derivados de los compuestos anteriores que contienen sulfato, sulfonatos y fosfatos. Se requiere la presencia de un tensioactivo si uno de los compuestos activos y/o uno de los vehículos inertes es insoluble en agua y cuando la aplicación tiene lugar en agua. La proporción de tensioactivos es de entre 5 y 40 por ciento en peso de la composición de acuerdo con la invención. Es posible usar colorantes tales como pigmentos inorgánicos, por ejemplo, óxido de hierro, óxido de titanio, azul de Prusia y colorantes orgánicos, tales como colorantes de alizarina, colorantes azoicos y colorantes de ftalocianina metálica, y oligonutrientes, tales como sales de hierro, manganeso, boro, cobre, cobalto, molibdeno y cinc.

Además, las formulaciones agroquímicas como se mencionan en el presente documento también pueden incluir generalmente otros componentes adicionales, por ejemplo, coloides protectores, aglutinantes, adhesivos,

espesantes, sustancias tixotrópicas, penetrantes, estabilizantes, agentes secuestrantes, formadores de complejos.

Las formulaciones agroquímicas como se mencionan en el presente documento se pueden usar en forma de aerosoles, suspensiones de cápsulas, concentrados de nebulización en frío, concentrados de nebulización en caliente, gránulos encapsulados, gránulos finos, concentrados fluidos para el tratamiento de semillas, soluciones listas para usar, polvo para empolvado, concentrados emulsionables, emulsiones de aceite en agua, emulsiones de agua en aceite, macrogránulos, microgránulos, polvos dispersables en aceite, concentrados fluidos miscibles en aceite, líquidos miscibles en aceite, espumas, pastas, semillas revestidas de pesticidas, suspensiones concentradas, concentrados de suspoemulsión, concentrados solubles, suspensiones, polvos humedecibles, polvos solubles, polvos y gránulos, gránulos o pastillas solubles en agua, polvos hidrosolubles para el tratamiento de las semillas, polvos humedecibles, productos naturales y sustancias sintéticas impregnadas con el principio activo, y también microencapsulaciones en sustancias poliméricas y en material de recubrimiento para semillas, y también formulaciones para nebulización en frío y nebulización en caliente ULV.

Las composiciones de acuerdo con la invención no solamente comprenden composiciones listas para su uso que se pueden aplicar con aparatos adecuados a la planta o a la semilla, sino también concentrados comerciales que deben diluirse con agua antes del uso.

Se prefiere que la composición que contiene el compuesto (I-3) y el al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatogénicos, y opcionalmente un inoculante de acuerdo con la invención se formula en una sola solución estable, o emulsión, o suspensión. Para las soluciones, el compuesto (I-3) se disuelve en un disolvente adecuado antes de añadir el agente de control biológico.

Los disolventes adecuados son líquidos e incluyen compuestos aromáticos derivados del petróleo, tales como xileno, tolueno o alquilnaftalenos, hidrocarburos alifáticos, tales como ciclohexano o parafinas, por ejemplo, fracciones de petróleo, aceites minerales y vegetales, alcoholes, tales como butanol o glicol, así como sus éteres y ésteres, cetonas, tales como metil etil cetona, metil isobutil cetona o ciclohexanona, disolventes fuertemente polares, tales como dimetilformamida y dimetilsulfóxido. Para emulsiones y suspensiones, el disolvente es agua.

En una realización, el compuesto (I-3) y el al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatogénicos, y, opcionalmente, el inoculante, se suspenden en disolventes separados y se mezclan en el momento de la aplicación.

En una realización preferida, el compuesto (I-3) y el al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatogénicos, y, opcionalmente, el inoculante, se combinan en una formulación lista para usar que presenta una vida útil de almacenamiento de al menos dos años. Durante el uso, El líquido puede pulverizarse o atomizarse de forma foliar o en surco en el momento de plantar la planta. La composición líquida se puede introducir en el suelo antes de la germinación de la semilla o directamente en el suelo en contacto con las raíces mediante la utilización de diversas técnicas, que incluyen, pero sin limitaciones, riego por goteo, aspersores, inyección en el suelo o empapamiento de suelo.

Opcionalmente, se pueden añadir estabilizadores y tampones, Incluyendo sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, y ácidos orgánicos, tales como ácido cítrico y ácido ascórbico, ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico o ácido sulfúrico. También se pueden añadir biocidas y pueden incluir formaldehídos o agentes liberadores de formaldehído y derivados del ácido benzoico, tales como ácido p-hidroxibenzoico.

En algunas realizaciones, los términos alcano, alquilo, alqueno, alquenilo, alquino, alquinilo, arilo, cuando se mencionan en el presente documento, hacen referencia a grupos que contienen C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> o C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> átomos de carbono. De forma similar, heteroarilo y otros grupos funcionales que comprenden alquilo, alquenilo, alquinilo o arilo, tales como cetonas, éteres, aminas, etc., pueden contener C<sub>1</sub>-C<sub>20</sub>, C<sub>1</sub>-C<sub>8</sub> o C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> átomos de carbono. Por supuesto, se excluyen las combinaciones que son contrarias a la ley de la naturaleza (por ejemplo, arilo C<sub>2</sub>). El experto en la materia sabe bien qué combinaciones deben excluirse en función de su experiencia. En algunas realizaciones, el término "poli" se refiere a unidades de 2-50.000, 2-5.000, 2-500, 2-50, 5-500, 50-500, 5-50 subunidades.

En las formulaciones agroquímicas o en las formas de uso del compuesto (I-3) y el agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatogénicos, y/o el inoculante, adicionalmente puede haber al menos un compuesto activo presente. Tales compuestos activos pueden ser insecticidas, atrayentes, esterilizantes, bactericidas, acaricidas, nematocidas, fungicidas, reguladores del crecimiento, herbicidas, fertilizantes, protectores y semioquímicos. En una realización, las formulaciones agroquímicas sólidas o líquidas o formas de uso como se ha mencionado anteriormente, pueden además contener agentes funcionales capaces de proteger a las semillas de los efectos nocivos de herbicidas selectivos como el carbón activado, nutrientes (fertilizantes) y otros agentes capaces de mejorar la germinación y la calidad de los productos o una combinación de ellos.

Las semillas convencionales que pueden tratarse de acuerdo con la invención son semillas de cualquier variedad de

- planta empleadas en la agricultura, en invernadero, en los bosques o en la horticultura o en los viñedos e incluyen cultivos hortícolas y de acres amplios. En particular, esto toma la forma de semillas de cereales (tales como trigo, cebada, centeno, triticale, mijo, avena), maíz (mazorca), algodón, soja, arroz, patatas, girasoles, judías, café, remolachas (por ejemplo, remolacha azucarera, y remolacha forrajera), cacahuetes, colza oleaginosa, amapolas, 5 aceitunas, cocos, cacao, caña de azúcar, tabaco, hortalizas (tales como tomates, pepinos, cebolla y lechuga), césped y plantas ornamentales (véase también a continuación). El tratamiento de semillas de algodón, soja, colza, cereales (tales como trigo, cebada, centeno, triticale y avena), maíz (mazorca), remolachas, patatas y arroz son de particular importancia.
- Las semillas transgénicas que contienen al menos un gen heterólogo que permite la expresión de un polipéptido o proteína que tiene propiedades insecticidas son particularmente preferidas para ser tratadas de acuerdo con la invención. El gen heterólogo de la semilla transgénica puede tener su origen, por ejemplo, en microorganismos de las especies *Bacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Trichoderma*, *Clavibacter*, *Glomus* o *Gliocladium*. Preferentemente, este gen heterólogo procede de *Bacillus sp.*, teniendo el producto génico actividad contra el gusano perforador del maíz europeo o el gusano de la raíz del maíz occidental. De forma particularmente preferente, 10 el gen heterólogo procede de *Bacillus thuringiensis*.
- El compuesto (I-3) y el al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenicos, y, opcionalmente, el inoculante de acuerdo con la invención se pueden formular como una formulación agroquímica individual o una formulación agroquímica combinada con el objetivo de que sean suficientemente estables como para que el 20 tratamiento de las plantas, las partes de plantas, semillas, las frutas y hortalizas cosechadas no causen ningún daño.
- Sin embargo, el compuesto (I-3) y el al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenicos y, opcionalmente, el inoculante también se pueden aplicar directamente, es decir, sin comprender componentes adicionales y sin haberse diluido.
- En general, el tratamiento de las semillas puede llevarse a cabo en cualquier momento temporal entre la cosecha y la siembra. Normalmente, la semilla usada se separa de la planta y se libera de mazorcas, carcasas, cañas, recubrimientos, pelos o la carne de las frutas. Por lo tanto, es posible utilizar, por ejemplo, semillas que se ha recolectado, limpiado y secado hasta un contenido en humedad menor del 15 % en peso. Como alternativa, también es posible usar semillas que, después de secarse, se han tratado, por ejemplo, con agua y vuelto a secar después.
- Al tratar la semilla, generalmente se debe tener cuidado de que la cantidad del compuesto (I-3) y el al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenicos, y, opcionalmente, el inoculante, se aplica a la semilla y/o la cantidad de aditivos adicionales se elige de tal manera que la germinación de la semilla no se vea afectada negativamente, o que la planta resultante no se dañe.
- Las formulaciones agroquímicas para el tratamiento de semillas (formulaciones de recubrimiento de semillas) de acuerdo con la invención son soluciones, emulsiones, suspensiones, polvos, espumas, lodos u otros materiales de recubrimiento para semillas, y también formulaciones ULV (véanse los documentos US 4.272.417, US 4.245.432, US 4.808.430, US 5.876.739, US 2003/0176428, WO 2002/080675, WO 2002/028186).
- Dichas formulaciones de recubrimiento de semillas se preparan de una manera conocida mezclando el compuesto (I-3) y el al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenicos, y opcionalmente, el inoculante con aditivos habituales, tales como, por ejemplo, expansores habituales y también disolventes o diluyentes, colorantes, agentes humectantes, dispersantes, emulsionantes, antiespumantes, conservantes, espesantes secundarios, adhesivos, giberelinas y también agua.
- Los colorantes adecuados que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de semillas incluyen todos los colorantes habituales para tales fines. El uso puede realizarse tanto con pigmentos, de baja solubilidad del agua, y colorantes, que son solubles en agua. Los ejemplos que se pueden mencionar incluyen los colorantes conocidos con las designaciones Rodamina B, C.I. Pigment Red 112, y C.I. Solvent Red 1.
- Los agentes humectantes adecuados que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de semillas incluyen todas las sustancias que promueven la humectación y son habituales en la formulación de sustancias agroquímicas activas. Con preferencia, es posible utilizar alquilnaftalenosulfonatos, tales como diisopropilo o diisobutano naftalenosulfonatos.
- Los dispersantes y/o emulsionantes adecuados que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de semillas incluyen todos los dispersantes no iónicos, aniónicos y catiónicos que son habituales en la formulación de sustancias agroquímicas activas. Con preferencia, es posible utilizar dispersantes no iónicos o aniónicos o mezclas de dispersantes no iónicos o aniónicos. Los dispersantes no iónicos especialmente adecuados son los polímeros de bloques de óxido de etileno-óxido de propileno, éteres de alquil fenol y poliglicol, y éteres de tritirifenol y poliglicol, y sus derivados fosfatados y sulfatados. Dispersantes aniónicos especialmente preferidos son los 55

lignosulfonatos, sales de poliacrílico, y condensados de arilsulfonato con formaldehído.

Los antiespumantes que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de semillas incluyen todos los compuestos inhibidores de la espuma que son habituales en la formulación de compuestos agroquímicamente activos. Se da preferencia al uso de desespumantes de silicona, estearato de magnesio, emulsiones de silicona, alcoholes de cadena larga, ácidos grasos y sus sales y también compuestos organofluorados y sus mezclas.

Los conservantes que pueden estar presentes en la formulación de recubrimiento de semillas incluyen todos los compuestos que pueden usarse para tales fines en composiciones agroquímicas. A modo de ejemplo, se puede mencionar el diclofeno y el hemiformal de alcohol bencilico.

Los espesantes secundarios que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de semillas incluyen todos los compuestos que pueden usarse para tales fines en composiciones agroquímicas. Se da preferencia a los derivados de celulosa, derivados de ácido acrílico, polisacáridos, tales como goma xantano o veegum, arcillas modificadas, filisolicatos, tales como atapulgita y bentonita, y también a ácidos silícicos finamente divididos.

Los adhesivos adecuados que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de semillas incluyen todos los aglutinantes habituales que pueden usarse en los recubrimientos de semillas. Se puede mencionar polivinilpirrolidona, acetato de polivinilo, alcohol polivinílico) y tilosa como los preferidos.

Las giberelinas adecuadas que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de semillas son preferentemente las giberelinas A1, A3 (= ácido giberélico), A4 y A7; se da especial preferencia al uso de ácido giberélico. Las giberelinas son conocidas (véase R. Wegler "Chemie der Pflanzenschutz- and Schädlingsbekämpfungsmittel" [Chemistry of Crop Protection Agents and Pesticides], Vol. 2, Springer Verlag, 1970, pág. 401-412).

Las formulaciones de recubrimiento de semillas se pueden usar directamente o después de la dilución con agua para tratar semillas de una variedad muy amplia de tipos o plantas transgénicas. Cuando se utilizan estas últimas semillas, también se pueden producir efectos sinérgicos por la interacción con las sustancias formadas mediante la expresión.

El equipo de mezcla adecuado para tratar las semillas con las formulaciones de recubrimiento de semilla o las preparaciones preparadas a partir de ellas mediante la adición de agua incluye todo el equipo de mezcla que habitualmente se puede usar para el recubrimiento. El procedimiento específico adoptado durante el recubrimiento comprende introducir las semillas en un mezclador, añadir la cantidad deseada concreta de la formulación de recubrimiento de semillas, bien tal cual o después de la dilución con agua de antemano, y realizar el mezclado hasta que la formulación esté uniformemente distribuida sobre las semillas. Opcionalmente, sigue una operación de secado.

De acuerdo con la presente invención, las semillas están recubiertas de manera sustancialmente uniforme con una o más capas del compuesto (I-3) y/o al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus, y nematodos entomopatogénicos y, opcionalmente, el inoculante utilizando procedimientos convencionales de mezcla, pulverización o una combinación de ellas mediante el uso de equipos de aplicación de tratamiento que están específicamente diseñados y fabricados para aplicar productos de tratamiento de semillas de forma precisa, segura y eficiente a las semillas. Dichos equipos utilizan diversos tipos de tecnología de recubrimiento, tales como los recubridores rotativos, revestidores de tambor, técnicas de lecho fluidizado, camas con caño, nieblas rotativas o una combinación de ellas. Los tratamientos de semillas líquidas, como los de la presente invención, se pueden aplicar a través de un disco "atomizador" giratorio o una boquilla rociadora que distribuye uniformemente el tratamiento de semillas sobre la semilla a medida que se mueve a través del patrón de rociado. Preferentemente, la semilla se mezcla o se voltea durante un período de tiempo adicional para lograr una distribución de tratamiento y secado adicionales. Las semillas pueden imprimirse o no imprimirse antes de recubrirlas con el compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus, y nematodos entomopatogénicos, y, opcionalmente, el inoculante para aumentar la uniformidad de la germinación y la emergencia. En una realización alternativa, se puede dosificar una formulación de polvo seco sobre la semilla en movimiento y dejar que se mezcle hasta que esté completamente distribuida.

Las semillas se pueden recubrir a través de un procedimiento de recubrimiento continuo o discontinuo. En una realización de recubrimiento continuo, el equipo de flujo continuo mide simultáneamente el flujo de semillas y los productos de tratamiento de semillas. Una puerta corredera, cono y orificio, rueda de semillas o dispositivo de pesaje (cinturón o desviador) regula el flujo de semillas. Una vez que se determina el caudal de semilla a través del equipo de tratamiento, la velocidad de flujo del tratamiento de semillas se calibra a la velocidad de flujo de semillas para liberar la dosis deseada a la semilla a medida que fluye a través del equipo de tratamiento de semillas. Además, un sistema informático puede controlar la entrada de semillas a la máquina de recubrimiento, manteniendo así un flujo constante de la cantidad apropiada de semilla.

En una realización de recubrimiento por lotes, el equipo de tratamiento por lotes pesa una cantidad prescrita de semilla y coloca la semilla en una cámara o tazón de tratamiento cerrada donde se aplica la dosis correspondiente

del tratamiento de semilla. Este lote luego se descarga fuera de la cámara de tratamiento en preparación para el tratamiento del siguiente lote. Con sistemas de control informático, este procedimiento por lotes se automatiza permitiéndole repetir continuamente el procedimiento de tratamiento de lotes.

5 En cualquiera de las realizaciones, la maquinaria de recubrimiento de semillas puede operarse opcionalmente mediante un controlador lógico programable que permite iniciar y detener varios equipos sin la intervención del empleado. Los componentes de este sistema están disponibles comercialmente a través de varias fuentes, como Gustafson Equipment of Shakopee, MN.

10 Si se ha plantado, cualquier semilla de planta capaz de germinar para formar una planta que sea susceptible de ser atacada por insectos, ácaros nematodos y/u hongos patógenos pueden tratarse de acuerdo con la invención. Las semillas particularmente adecuadas convencionalmente (es decir, no semillas transgénicas) o semillas transgénicas son las de cultivos de col, hortalizas (en particular las hortalizas mencionadas en el presente documento como cultivos hortícolas), frutas (en particular las hortalizas mencionadas en el presente documento como cultivos hortícolas), árboles, cultivos de fibra, cultivos oleaginosos, cultivos de tubérculos, café, flores, legumbres, cereales, así como otras plantas de especies monocotiledóneas y dicotiledóneas. Se da preferencia a las semillas de cultivos hortícolas y de cultivos de acres amplios como se menciona en el presente documento. En particular, entre esos cultivos, las semillas a recubrir incluyen soja, algodón, maíz, cacahuete, tabaco, hierbas, trigo, cebada, centeno, 15 sorgo, arroz, colza, remolacha azucarera, girasol, tomate, pimienta, judías, lechuga, patata y zanahoria.

20 Además, si el tratamiento de semillas se realiza con semillas transgénicas, las plantas que emergen de estas semillas son capaces de expresar una proteína dirigida contra plagas y patógenos. Mediante el tratamiento de dicha semilla con el compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatogénicos, y, opcionalmente, el inoculante, ciertas plagas y/o fitopatógenos ya pueden controlarse mediante la expresión de, por ejemplo, la proteína insecticida, y además es sorprendente que se produzca una suplementación de actividad sinérgica cuando el compuesto (I-3) y los agentes de control biológico se usan o emplean para el tratamiento de 25 semillas, mejorando aún más la efectividad de la protección contra plagas y la infestación de patógenos.

Las plagas y patógenos agrícolas que deben controlarse cuando el compuesto (I-3) y los agentes de control biológico se usan o emplean de acuerdo con la invención se dan a continuación:

Plagas agrícolas:

30 Orden: *Arthropoda*: De la clase de *Arachnida*, por ejemplo, *Acarus* spp., *Aceria sheldoni*, *Aculops* spp., *Aculus* spp., *Amblyomma* spp., *Amphitetranychus viennensis*, *Argas* spp., *Boophilus* spp., *Brevipalpus* spp., *Bryobia praetiosa*, *Centruroides* spp., *Chorioptes* spp., *Dermanyssus gallinae*, *Dermatophagoides pteronyssius*, *Dermatophagoides farinae*, *Dermacentor* spp., *Eotetranychus* spp., *Epitrimerus pyri*, *Eutetranychus* spp., *Eriophyes* spp., *Halotydeus destructor*, *Hemitarsonemus* spp., *Hyalomma* spp., *Ixodes* spp., *Latrodectus* spp., *Loxosceles* spp., *Metatetranychus* spp., *Nuphessa* spp., *Oligonychus* spp., *Ornithodoros* spp., *Ornithonyssus* spp., *Panonychus* spp., *Phyllocoptruta oleivora*, *Polyphagotarsonemus latus*, *Psoroptes* spp., *Rhipicephalus* spp., *Rhizoglyphus* spp., *Sarcoptes* spp., 35 *Scorpio maurus*, *Stenotarsonemus* spp., *Tarsonemus* spp., *Tetranychus* spp., *Vaejovis* spp., *Vasates lycopersici*.

Del orden de *Anoplura* (*Phthiraptera*), por ejemplo, *Damalinia* spp., *Haematopinus* spp., *Linognathus* spp., *Pediculus* spp., *Ptirus pubis*, *Trichodectes* spp.

Del orden *Chilopoda*, por ejemplo, *Geophilus* spp., *Scutigera* spp.

40 Del orden *Coleoptera*, por ejemplo, *Acalymma vittatum*, *Acanthoscelides obtectus*, *Adoretus* spp., *Agelastica alni*, *Agriotes* spp., *Alphitobius diaperinus*, *Amphimallon solstitialis*, *Anobium punctatum*, *Anoplophora* spp., *Anthonomus* spp., *Anthrenus* spp., *Apion* spp., *Apogonia* spp., *Atomaria* spp., *Attagenus* spp., *Bruchidius obtectus*, *Bruchus* spp., *Cassida* spp., *Ceratomyza trifurcata*, *Ceutorrhynchus* spp., *Chaetocnema* spp., *Cleonus mendicus*, *Conoderus* spp., *Cosmopolites* spp., *Costelytra zealandica*, *Ctenicera* spp., *Curculio* spp., *Cryptorhynchus lapathi*, *Cylindrocopturus* spp., 45 *Dermestes* spp., *Diabrotica* spp., *Dichocrocis* spp., *Diloboderus* spp., *Epilachna* spp., *Epitrix* spp., *Faustinus* spp., *Psyllodes gibbium*, *Hellula undalis*, *Heteronychus arator*, *Heteronyx* spp., *Hylamorpha elegans*, *Hylotrupes bajulus*, *Hypera postica*, *Hypothenemus* spp., *Lachnosterna consanguinea*, *Lema* spp., *Leptinotarsa decemlineata*, *Leucoptera* spp., *Lissorhoptrus oryzophilus*, *Lixus* spp., *Luperodes* spp., *Lyctus* spp., *Megascelis* spp., *Melanotus* spp., *Meligethes aeneus*, *Melolontha* spp., *Migdolus* spp., *Monochamus* spp., *Naupactus xanthographus*, *Niptus hololeucus*, *Oryctes rhinoceros*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Oryzaphagus oryzae*, *Otiorrhynchus* spp., *Oxycetonia jucunda*, *Phaedon cochleariae*, *Phyllophaga* spp., *Phyllotreta* spp., *Popillia japonica*, *Premnotrypes* spp., *Prostephanus truncatus*, *Psylliodes* spp., *Ptinus* spp., *Rhizobium ventralis*, *Rhizopertha dominica*, *Sitophilus* spp., 50 *Sphenophorus* spp., *Stegobium paniceum*, *Sternechus* spp., *Symphyletes* spp., *Tanymecus* spp., *Tenebrio molitor*, *Tribolium* spp., *Trogoderma* spp., *Tychius* spp., *Xylotrechus* spp., *Zabrus* spp..

55 Del orden *Collembola*, por ejemplo, *Onychiurus armatus*.

Del orden *Diplopoda*, por ejemplo, *Blaniulus guttulatus*.

- Del orden *Diptera*, por ejemplo, *Aedes* spp., *Agromyza* spp., *Anastrepha* spp., *Anopheles* spp., *Asphondylia* spp., *Bactrocera* spp., *Bibio hortulanus*, *Calliphora erythrocephala*, *Ceratitis capitata*, *Chironomus* spp., *Chrysomyia* spp., *Chrysops* spp., *Cochliomyia* spp., *Contarinia* spp., *Cordylobia anthropophaga*, *Culex* spp., *Culicoides* spp., *Culiseta* spp., *Cuterebra* spp., *Dacus oleae*, *Dasyneura* spp., *Delia* spp., *Dermatobia hominis*, *Drosophila* spp., *Echinocnemus* spp., *Fannia* spp., *Gasterophilus* spp., *Glossina* spp., *Haematopota* spp., *Hydrellia* spp., *Hylemyia* spp., *Hyppobosca* spp., *Hypoderma* spp., *Liriomyza* spp., *Lucilia* spp., *Lutzomia* spp., *Mansonia* spp., *Musca* spp., *Nezara* spp., *Oestrus* spp., *Oscinella frit*, *Pegomyia* spp., *Phlebotomus* spp., *Phorbia* spp., *Phormia* spp., *Prodioplosis* spp., *Psila rosae*, *Rhagoletis* spp., *Sarcophaga* spp., *Simulium* spp., *Stomoxys* spp., *Tabanus* spp., *Tannia* spp., *Tetanops* spp., *Tipula* spp.
- 5
- 10 Del orden *Heteroptera*, por ejemplo, *Anasa tristis*, *Antestiopsis* spp., *Boisea* spp., *Blissus* spp., *Calocoris* spp., *Campylomma livida*, *Cavelerius* spp., *Cimex* spp., *Cimex lectularius*, *Cimex hemipterus*, *Collaria* spp., *Creontiades dilutus*, *Dasynus piperis*, *Dichelops furcatus*, *Diconocoris hewetti*, *Dysdercus* spp., *Euschistus* spp., *Eurygaster* spp., *Heliopeltis* spp., *Horcias nobilellus*, *Leptocoris* spp., *Leptoglossus phyllopus*, *Lygus* spp., *Macropes excavatus*, *Miridae*, *Monalonion atratum*, *Nezara* spp., *Oebalus* spp., *Pentomidae*, *Piesma quadrata*, *Piezodorus* spp., *Psallus* spp., *Pseudacysta perseae*, *Rhodnius* spp., *Sahlbergella singularis*, *Scaptocoris castanea*, *Scotinophora* spp., *Stephanitis nashi*, *Tibraca* spp., *Triatoma* spp..
- 15
- Del orden *Homoptera*, por ejemplo, *Acyrtosipon* spp., *Acrogonia* spp., *Aeneolamia* spp., *Agonoscena* spp., *Aleurodes* spp., *Aleurolobus barodensis*, *Aleurothrixus* spp., *Amrasca* spp., *Anuraphis cardui*, *Aonidiella* spp., *Aphanostigma piri*, *Aphis* spp., *Arboridia apicalis*, *Aspidiella* spp., *Aspidiotus* spp., *Atanus* spp., *Aulacorthum solani*, *Bemisia* spp., *Brachycaudus helichrysi*, *Brachycolus* spp., *Brevicoryne brassicae*, *Calligypona marginata*, *Carneiocephala fulgida*, *Ceratovacuna lanigera*, *Cercopidae*, *Ceroplastes* spp., *Chaetosiphon fragaefolii*, *Chionaspis tegalensis*, *Chlorita onukii*, *Chromaphis juglandicola*, *Chrysomphalus ficus*, *Cicadulina mbila*, *Coccoxymytilus halli*, *Coccus* spp., *Cryptomyzus ribis*, *Dalbulus* spp., *Dialeurodes* spp., *Diaphorina* spp., *Diaspis* spp., *Drosicha* spp., *Dysaphis* spp., *Dysmicoccus* spp., *Empoasca* spp., *Eriosoma* spp., *Erythroneura* spp., *Euscelis bilobatus*, *Ferrisia* spp., *Geococcus coffeae*, *Hieroglyphus* spp., *Homalodisca coagulata*, *Hyalopterus arundinis*, *Icerya* spp., *Idiocerus* spp., *Idioscopus* spp., *Laodelphax striatellus*, *Lecanium* spp., *Lepidosaphes* spp., *Lipaphis erysimi*, *Macrosiphum* spp., *Mahanarva* spp., *Melanaphis sacchari*, *Metcalfiella* spp., *Metopolophium dirhodum*, *Monellia costalis*, *Monelliopsis pecanis*, *Myzus* spp., *Nasonovia ribisnigri*, *Nephotettix* spp., *Nilaparvata lugens*, *Oncometopia* spp., *Orthezia praelonga*, *Parabemisia myricae*, *Paratrioza* spp., *Parlatoria* spp., *Pemphigus* spp., *Peregrinus maidis*, *Phenacoccus* spp., *Phloeomyzus passerinii*, *Phorodon humuli*, *Phylloxera* spp., *Pinnaspis aspidistrae*, *Planococcus* spp., *Protopulvinaria pyriformis*, *Pseudaulacaspis pentagona*, *Pseudococcus* spp., *Psylla* spp., *Pteromalus* spp., *Pyrilla* spp., *Quadraspidotus* spp., *Quesada gigas*, *Rastrococcus* spp., *Rhopalosiphum* spp., *Saissetia* spp., *Scaphoides titanus*, *Schizaphis graminum*, *Selenaspis articulatus*, *Sogata* spp., *Sogatella furcifera*, *Sogatodes* spp., *Stictocephala festina*, *Tenalaphara malayensis*, *Tinocallis caryaefoliae*, *Tomaspis* spp., *Toxoptera* spp., *Trialeurodes* spp., *Triozia* spp., *Typhlocyba* spp., *Unaspis* spp., *Viteus vitifolii*, *Zygina* spp..
- 20
- 25
- 30
- 35
- Del orden *Hymenoptera*, por ejemplo, *Acromyrmex* spp., *Athalia* spp., *Atta* spp., *Diprion* spp., *Hoplocampa* spp., *Lasius* spp., *Monomorium pharaonis*, *Solenopsis invicta*, *Tapinoma* spp., *Vespa* spp.
- Del orden *Isopoda*, por ejemplo, *Armadillidium vulgare*, *Oniscus asellus*, *Porcellio scaber*.
- Del orden *Isoptera*, por ejemplo, *Coptotermes* spp., *Cornitermes cumulans*, *Cryptotermes* spp., *Incisitermes* spp., *Microtermes obesi*, *Odontotermes* spp., *Reticulitermes* spp.. Del orden *Lepidoptera*, por ejemplo, *Acronicta major*, *Adoxophyes* spp., *Aedia leucomelas*, *Agrotis* spp., *Alabama* spp., *Amyeloides transitella*, *Anarsia* spp., *Anticarsia* spp., *Argyroproce* spp., *Barathra brassicae*, *Borbo cinnara*, *Bucculatrix thurberiella*, *Bupalus piniarius*, *Busseola* spp., *Cacoecia* spp., *Caloptilia theivora*, *Capua reticulana*, *Carpocapsa pomonella*, *Carposina niponensis*, *Cheimatobia brumata*, *Chilo* spp., *Choristoneura* spp., *Clysia ambiguella*, *Cnaphalocerus* spp., *Cnephasia* spp., *Conopomorpha* spp., *Conotrachelus* spp., *Copitarsia* spp., *Cydia* spp., *Dalaca noctuides*, *Diaphania* spp., *Diatraea saccharalis*, *Earias* spp., *Ecdytoplopha aurantium*, *Elasmopalpus lignosellus*, *Eldana saccharina*, *Ephestia* spp., *Epinotia* spp., *Epiphyas postvittana*, *Etiella* spp., *Eulia* spp., *Eupoecilia ambiguella*, *Euproctis* spp., *Euxoa* spp., *Feltia* spp., *Galleria mellonella*, *Gracillaria* spp., *Grapholitha* spp., *Hedylepta* spp., *Helicoverpa* spp., *Heliothis* spp., *Hofmannophila pseudospretella*, *Homoeosoma* spp., *Homona* spp., *Hyponomeuta padella*, *Kakivoria flavofasciata*, *Laphygma* spp., *Laspeyresia molesta*, *Leucinodes orbonalis*, *Leucoptera* spp., *Lithocolletis* spp., *Lithophane antennata*, *Lobesia* spp., *Loxagrotis albicosta*, *Lymantria* spp., *Lyonetia* spp., *Malacosoma neustria*, *Maruca testulalis*, *Mamestra brassicae*, *Mocis* spp., *Mythimna separata*, *Nymphula* spp., *Oiketis* spp., *Oria* spp., *Orthaga* spp., *Ostrinia* spp., *Oulema oryzae*, *Panolis flammea*, *Parnara* spp., *Pectinophora* spp., *Perileucoptera* spp., *Phthorimaea* spp., *Phyllocnistis citrella*, *Phyllonorycter* spp., *Pieris* spp., *Platynota stultana*, *Plodia interpunctella*, *Plusia* spp., *Plutella xylostella*, *Prays* spp., *Prodenia* spp., *Protoparce* spp., *Pseudaletia* spp., *Pseudoplusia includens*, *Pyrausta nubilalis*, *Rachiplusia nu*, *Schoenobius* spp., *Scirpophaga* spp., *Scotia segetum*, *Sesamia* spp., *Sparganothis* spp., *Spodoptera* spp., *Stathmopoda* spp., *Stomopteryx subsecivella*, *Synanthedon* spp., *Tecia solanivora*, *Thermesia gemmatalis*, *Tinea pellionella*, *Tineola bisselliella*, *Tortrix* spp., *Trichophaga tapetzella*, *Trichoplusia* spp., *Tuta absoluta*, *Virachola* spp..
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60 Del orden *Orthoptera*, por ejemplo, *Acheta domesticus*, *Blatta orientalis*, *Blattella germanica*, *Dichroplus* spp., *Grylotalpa* spp., *Leucophaea maderae*, *Locusta* spp., *Melanoplus* spp., *Periplaneta* spp., *Pulex irritans*, *Schistocerca*

*gregaria*, *Supella longipalpa*.

Del orden *Siphonaptera*, por ejemplo, *Ceratophyllus* spp., *Ctenocephalides* spp., *Tunga penetrans*, *Xenopsylla cheopis*.

Del orden *Symphyla*, por ejemplo, *Scutigerebella* spp..

- 5 Del orden *Thysanoptera*, por ejemplo, *Anaphothrips obscurus*, *Baliothrips biformis*, *Drepanothrips reuteri*, *Enneothrips flavens*, *Frankliniella* spp., *Heliothrips* spp., *Hercinothrips femoralis*, *Rhipiphorothers cruentatus*, *Scirtothrips* spp., *Taeniothrips cardamoni*, *Thrips* spp.. Del orden *Zygentoma* (=Thysanura), por ejemplo, *Lepisma saccharina*, *Thermobia domestica* o *Lepisma saccharina*, *Thermobia domestica*.

- 10 Orden: *Mollusca*: De la clase *Bivalvia*, por ejemplo, *Dreissena* spp.. De la clase *Gastropoda*, por ejemplo, *Arion* spp., *Biomphalaria* spp., *Bulinus* spp., *Deroceras* spp., *Galba* spp., *Lymnaea* spp., *Oncomelania* spp., *Pomacea* spp., *Succinea* spp..

- 15 Orden: *Plathelminthes*, Nematodos (parásitos de animales): De la clase *Helminths*, por ejemplo, *Ancylostoma duodenale*, *Ancylostoma ceylanicum*, *Ancylostoma braziliensis*, *Ancylostoma* spp., *Ascaris* spp., *Brugia malayi*, *Brugia timori*, *Bunostomum* spp., *Chabertia* spp., *Clonorchis* spp., *Cooperia* spp., *Dicrocoelium* spp., *Dictyocaulus filaria*, *Diphyllobothrium latum*, *Dracunculus medinensis*, *Echinococcus granulosus*, *Echinococcus multilocularis*, *Enterobius vermicularis*, *Faciola* spp., *Haemonchus* spp., *Heterakis* spp., *Hymenolepis nana*, *Hyostrogulus* spp., *Loa Loa*, *Nematodirus* spp., *Oesophagostomum* spp., *Opisthorchis* spp., *Onchocerca volvulus*, *Ostertagia* spp., *Paragonimus* spp., *Schistosomen* spp., *Strongyloides fuelleborni*, *Strongyloides stercoralis*, *Strongyloides* spp., *Taenia saginata*, *Taenia solium*, *Trichinella spiralis*, *Trichinella nativa*, *Trichinella britovi*, *Trichinella nelsoni*, *Trichinella pseudopsiralis*, *Trichostrongulus* spp., *Trichuris trichuria*, *Wuchereria bancrofti*.
- 20

Orden: Nematodos (parásitos de plantas, fitoparásitos): Del grupo de los nematodos fitoparásitos, por ejemplo, *Aphelenchoides* spp., *Bursaphelenchus* spp., *Ditylenchus* spp., *Globodera* spp., *Heterodera* spp., *Longidorus* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Radopholus similis*, *Trichodorus* spp., *Tylenchulus semipenetrans*, *Xiphinema* spp. Subfilo: Protozoos como *Eimeria*.

- 25 A modo de ejemplo, se pueden mencionar algunos fitopatógenos de enfermedades fúngicas que pueden tratarse de acuerdo con la invención, aunque no de forma limitativa:

enfermedades causadas por patógenos de oidio, tales como, por ejemplo, especies de *Blumeria*, tales como, por ejemplo, *Blumeria graminis*; especie de *Podosphaera*, tales como, por ejemplo, *Podosphaera leucotricha*; especies de *Sphaerotheca*, tales como, por ejemplo, *Sphaerotheca fuliginea*; especies de *Uncinula*, tales como, por ejemplo, *Uncinula necator*;

30

enfermedades causadas por agentes patógenos de la roya, tales como, por ejemplo, especies de *Gymnosporangium*, tales como, por ejemplo, *Gymnosporangium sabinae*; especies de *Hemileia*, tales como, por ejemplo, *Hemileia vastatrix*; especies de *Phakopsora*, tales como, por ejemplo, *Phakopsora pachyrhizi* y *Phakopsora meibomiae*; especies de *Puccinia*, tales como, por ejemplo, *Puccinia recondita* o *Puccinia triticina*; especies de *Uromyces*, tales como, por ejemplo, *Uromyces appendiculatus*;

35

enfermedades causadas por patógenos del grupo de *Oomycetes*, tales como, por ejemplo, especies de *Albugo*, tales como, por ejemplo, *Albugo candida*; especies de *Bremia*, tales como, por ejemplo, *Bremia lactucae*; especies de *Peronospora*, tales como, por ejemplo, *Peronospora pisi* o *P. brassicae*; especies de *Phytophthora*, tales como, por ejemplo *Phytophthora infestans*; especies de *Plasmopara*, tales como, por ejemplo, *Plasmopara viticola*; especies de *Pseudoperonospora*, tales como, por ejemplo, *Pseudoperonospora humuli* o *Pseudoperonospora cubensis*; especies de *Pythium*, tales como, por ejemplo, *Pythium ultimum*;

40

enfermedades de las manchas foliares y enfermedades del marchitamiento de la hoja causadas, por ejemplo, por especies de *Alternaria*, tales como, por ejemplo, *Alternaria solani*; especies de *Cercospora*, tales como, por ejemplo, *Cercospora beticola*; especies de *Cladosporium*, tales como, por ejemplo, *Cladosporium cucumerinum*; especies de *Cochliobolus*, tales como, por ejemplo, *Cochliobolus sativus* (forma de conidios: *Drechslera*, *Syn: Helminthosporium*) y *Cochliobolus miyabeanus*; especies de *Colletotrichum*, tales como, por ejemplo, *Colletotrichum lindemuthianum*; especies de *Cicloconium*, tales como, por ejemplo, *Cicloconium oleaginum*; especies de *Diaporthe*, tales como, por ejemplo, *Diaporthe citri*; especies de *Elsinoe*, tales como, por ejemplo, *Elsinoe fawcettii*; especies de *Gloeosporium*, tales como, por ejemplo, *Gloeosporium laeticolor*; especies de *Glomerella*, tales como, por ejemplo, *Glomerella cingulata*; especies de *Guignardia*, tales como, por ejemplo, *Guignardia bidwelli*; especies de *Leptosphaeria*, tales como, por ejemplo, *Leptosphaeria maculans* y *Leptosphaeria nodorum*; especies de *Magnaporthe*, tales como, por ejemplo, *Magnaporthe grisea*; especies de *Microdochium*, tales como, por ejemplo, *Microdochium nivale*; especies de *Mycosphaerella*, tales como, por ejemplo, *Mycosphaerella graminicola*, *Mycosphaerella arachidicola* y *Mycosphaerella fijiensis*; especies de *Phaeosphaeria*, tales como, por ejemplo, *Phaeosphaeria nodorum*; especies de *Pirenophora*, tales como, por ejemplo, *Pyrenophora teres* y *Pyrenophora tritici repentis*; especies de *Ramularia*, tales como, por ejemplo, *Ramularia collo-cygni* y *Ramularia areola*; especies de *Rhynchosporium*, tales como, por ejemplo, *Rhynchosporium secalis*; especies de *Septoria*, tales como, por ejemplo, *Septoria apii* y *Septoria lycopersici*; especies de *Typhula*, tales como, por ejemplo, *Typhula incarnata*; especies de *Venturia*, tales como, por ejemplo,

45

50

55

*Venturia inaequalis*;

enfermedades de la raíz, la vaina y el tallo causadas, por ejemplo, por especies de *Corticium*, tales como, por ejemplo, *Corticium graminearum*; especies de *Fusarium*, tales como, por ejemplo, *Fusarium oxysporum*; especies de *Gaeumannomyces*, tales como, por ejemplo, *Gaeumannomyces graminis*; especies de *Rhizoctonia*, tales como, por ejemplo *Rhizoctonia solani*; especies de *Sarocladium*, tales como, por ejemplo, *Sarocladium oryzae*; especies de *Sclerotium*, tales como, por ejemplo, *Sclerotium oryzae*; especies de *Tapesia*, tales como, por ejemplo, *Tapesia acuformis*; especies de *Thielaviopsis*, tales como, por ejemplo, *Thielaviopsis basicola*; Enfermedades de la oreja y de la panícula (incluidas las mazorcas de maíz) causadas, por ejemplo, por especies de *Alternaria*, tales como, por ejemplo, *Alternaria* spp.; especies de *Aspergillus*, tales como, por ejemplo, *Aspergillus flavus*; especies de *Cladosporium*, tales como, por ejemplo, *Cladosporium cladosporioides*; especies de *Claviceps*, tales como, por ejemplo, *Claviceps purpurea*; especies de *Fusarium*, tales como, por ejemplo, *Fusarium culmorum*; especies de *Gibberella*, tales como, por ejemplo, *Gibberella zeae*; especies de *Monographella*, tales como, por ejemplo, *Monographella nivalis*; especies de *Septoria*, tal como, por ejemplo, *Septoria nodorum*; Enfermedades del decaimiento, moho, marchitamiento, putrefacción y podredumbre de las semillas causadas, por ejemplo, por enfermedades producidas por *Alternaria* causadas, por ejemplo, por *Alternaria brassicicola*; Enfermedades producidas por *Aphanomyces*, causadas por ejemplo por *Aphanomyces euteiches*; Enfermedades producidas por *Ascochyta*, causadas por ejemplo por *Ascochyta lentis*; Enfermedades producidas por *Aspergillus*, causadas por ejemplo por *Aspergillus flavus*; Enfermedades producidas por *Cladosporium*, causadas por ejemplo por *Cladosporium herbarum*; Enfermedades producidas por *Cochliobolus*, causadas por ejemplo por *Cochliobolus sativus*; (Conidioforma: *Drechslera*, *Bipolaris* Syn: *Helminthosporium*); Enfermedades producidas por *Colletotrichum*, causadas por ejemplo por *Colletotrichum coccodes*; Enfermedades producidas por *Fusarium*, causadas por ejemplo por *Fusarium culmorum*; Enfermedades producidas por *Gibberella*, causadas por ejemplo por *Gibberella zeae*; Enfermedades producidas por *Macrophomina*, causadas por ejemplo por *Macrophomina phaseolina*; Enfermedades producidas por *Microdochium*, causadas por ejemplo por *Microdochium nivale*; Enfermedades producidas por *Monographella*, causadas por ejemplo por *Monographella nivalis*; Enfermedades producidas por *Penicillium*, causadas por ejemplo por *Penicillium expansum*; Enfermedades producidas por *Phoma*, causadas por ejemplo por *Phoma lingam*; Enfermedades producidas por *Phomopsis*, causadas por ejemplo por *Phomopsis sojae*; Enfermedades producidas por *Phytophthora*, causadas por ejemplo por *Phytophthora cactorum*; Enfermedades producidas por *Pyrenophora*, causadas por ejemplo por *Pyrenophora graminea*; Enfermedades producidas por *Pyricularia*, causadas por ejemplo por *Pyricularia oryzae*; Enfermedades producidas por *Pythium*, causadas por ejemplo por *Pythium ultimum*; Enfermedades producidas por *Rhizoctonia*, causadas por ejemplo por *Rhizoctonia solani*; Enfermedades producidas por *Rhizopus*, causadas por ejemplo por *Rhizopus oryzae*; Enfermedades producidas por *Sclerotium*, causadas por ejemplo por *Sclerotium rolfsii*; Enfermedades producidas por *Septoria*, causadas por ejemplo por *Septoria nodonun*; Enfermedades producidas por *Typhula*, causadas por ejemplo por *Typhula incarnata*; Enfermedades producidas por *Verticillium*, causadas por ejemplo por *Verticillium dahliae*; Enfermedades causadas por hongos del carbón, tales como, por ejemplo, especies de *Sphacelotheca*, tales como, por ejemplo, *Sphacelotheca reiliana*; especies de *Tilletia*, tales como, por ejemplo, *Tilletia caries*; *Tilletia controversa*; especies de *Urocystis*, tales como, por ejemplo, *Urocystis occulta*; especies de *Ustilago*, tales como, por ejemplo, *Ustilago nuda*; *Ustilago nuda tritici*; podredumbre de la fruta causada, por ejemplo, por especies de *Aspergillus*, tales como, por ejemplo, *Aspergillus flavus*; especies de *Botrytis*, tales como, por ejemplo, *Botrytis cinerea*; especies de *Penicillium*, tales como, por ejemplo, *Penicillium expansum* y *Penicillium purpurogenum*; especies de *Rhizopus*, tales como, por ejemplo, *Rhizopus stolonifer*; especies de *Sclerotinia*, tales como, por ejemplo, *Sclerotinia sclerotiorum*; especies de *Verticillium*, tales como, por ejemplo, *Verticillium alboatrum*;

Enfermedades de la podredumbre y marchitamiento de las semillas y del suelo, y también enfermedades de las plántulas, causadas, por ejemplo, por especies de *Alternaria*, tales como, por ejemplo, *Alternaria brassicicola*; especies de *Aphanomyces*, tales como, por ejemplo, *Aphanomyces euteiches*; especies de *Ascochyta*, tales como, por ejemplo, *Ascochyta lentis*; especies de *Aspergillus*, tales como, por ejemplo, *Aspergillus flavus*; especies de *Cladosporium*, tales como, por ejemplo, *Cladosporium herbarum*; especies de *Cochliobolus*, tales como, por ejemplo, *Cochliobolus sativus* (conidiaform: *Drechslera*, *Bipolaris* Syn: *Helminthosporium*); especies de *Colletotrichum*, tales como, por ejemplo, *Colletotrichum coccodes*; especies de *Fusarium*, tales como, por ejemplo, *Fusarium culmorum*; especies de *Gibberella*, tales como, por ejemplo, *Gibberella zeae*; especies de *Macrophomina*, tales como, por ejemplo, *Macrophomina phaseolina*; especies de *Microdochium*, tales como, por ejemplo, *Microdochium nivale*; especies de *Monographella*, tales como, por ejemplo, *Monographella nivalis*; especies de *Penicillium*, tales como, por ejemplo, *Penicillium expansum*; especies de *Phoma*, tales como, por ejemplo, *Phoma lingam*; especies de *Phomopsis*, tales como, por ejemplo, *Phomopsis sojae*; especies de *Phytophthora*, tales como, por ejemplo, *Phytophthora cactorum*; especies de *Pyrenophora*, tales como, por ejemplo, *Pyrenophora graminea*; especies de *Pyricularia*, tales como, por ejemplo, *Pyricularia oryzae* especies de *Pythium*, tales como, por ejemplo, *Pythium ultimum*; especies de *Rhizoctonia*, tales como, por ejemplo, *Rhizoctonia solani*; especies de *Rhizopus*, tales como, por ejemplo, *Rhizopus oryzae*; especies de *Sclerotium*, tales como, por ejemplo, *Sclerotium rolfsii*; especies de *Septoria*, tales como, por ejemplo, *Septoria nodorum*; especies de *Typhula*, tales como, por ejemplo, *Typhula incarnate*; especies de *Verticillium*, tales como, por ejemplo, *Verticillium dahliae*;

Enfermedades cancerosas, agallas y escobas de brujas causadas, por ejemplo, por especies de *Nectria*, tales como, por ejemplo, *Nectria galligena*;

enfermedades del marchitamiento causadas, por ejemplo, por especies de *Monilinia*, tales como, por ejemplo,



5 poblaciones de plantas, tales como plantas silvestres deseadas y no deseadas o plantas de cultivo (que incluyen plantas de cultivo de origen natural). Las plantas de cultivo pueden ser plantas que pueden obtenerse mediante procedimientos convencionales de reproducción y optimización o mediante procedimientos biotecnológicos y recombinantes o combinaciones de estos procedimientos, incluidas las plantas transgénicas y las variedades vegetales que pueden o no estar protegidas por los derechos de los obtentores. Se entiende por partes de plantas a todas las partes y órganos aéreos y subterráneos de las plantas, tales como brotes, hojas, flores y raíces, ejemplos de los cuales que se pueden mencionar son hojas, agujas, cañas, tallos, flores, cuerpos frutales, frutas y semillas, y también raíces, tubérculos y rizomas. Las partes de la planta también incluyen material cosechado y también material de propagación vegetativa y generativa, por ejemplo, esquejes, tubérculos, rizomas, restos y semillas.

10 Como ya se ha mencionado anteriormente, todas las plantas y sus partes pueden tratarse de acuerdo con la invención. En una realización preferente, se tratan las especies y variedades de plantas, y sus partes, que crecen silvestres o que se obtienen mediante procedimientos de reproducción biológicos tradicionales, como la hibridación o la fusión de protoplastos. En una realización preferida adicional, se tratan las plantas transgénicas y variedades de plantas obtenidas mediante procedimientos recombinantes, si es apropiado en combinación con procedimientos tradicionales (organismos modificados genéticamente), y sus partes. Los términos "partes" o "partes de plantas" o "partes de la planta" se han explicado anteriormente. Las plantas de las variedades de plantas que están disponibles en el mercado o en uso en cada caso se tratan de manera especialmente preferente de acuerdo con la invención. Las variedades de plantas se entienden como plantas con rasgos novedosos que se han reproducido tanto por reproducción tradicional, por mutagénesis o por técnicas de ADN recombinante. Pueden tomar la forma de variedades, razas, biotipos y genotipos.

Las plantas preferidas son las del grupo de las plantas útiles, plantas ornamentales, césped, árboles de uso general que se emplean como ornamentales en los sectores público y doméstico, y árboles forestales. Los árboles forestales comprenden árboles para la producción de madera, celulosa, papel y productos hechos de partes de los árboles.

25 El término plantas útiles, tal como se utiliza en el presente contexto, se refiere a las plantas de cultivo que se emplean como plantas para obtener alimentos, alimentos para animales, combustibles o para uso industrial.

30 Las plantas útiles que pueden mejorarse usando o empleando el compuesto (I-3) y el al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenicos, y, opcionalmente, el inoculante, incluyen por ejemplo los siguientes tipos de plantas: césped, vides, cereales, por ejemplo trigo, cebada, centeno, avena, arroz, maíz y mijo/sorgo; remolacha, por ejemplo, remolacha azucarera y remolacha forrajera; frutos, por ejemplo fruta pomácea, fruta con hueso y fruta blanda, por ejemplo manzanas, peras, ciruelas, melocotones, almendras, cerezas y bayas, por ejemplo fresas, frambuesas, moras; legumbres, por ejemplo frijoles, lentejas, guisantes y soja; cultivos oleaginosos, por ejemplo, colza oleaginosa, mostaza, amapolas, aceitunas, girasoles, cocos, plantas de aceite de ricino, cacao y cacahuetes; cucurbitáceas, por ejemplo calabaza/calabacín, pepinos y melones; plantas de fibra, por ejemplo algodón, lino, cáñamo y yute; frutas cítricas, por ejemplo naranjas, limones, pomelos y mandarinas; hortalizas, por ejemplo espinacas, lechuga, espárragos, especies de la col, zanahorias, cebollas, tomates, patatas y pimientos; Lauraceae, por ejemplo, aguacate, Cinnamomum, alcanfor, o bien plantas como el tabaco, nueces, café, berenjena, caña de azúcar, té, pimienta, vides, lúpulo, plátanos, plantas de látex y ornamentales, por ejemplo flores, arbustos, árboles de hoja caduca y coníferas.

40 Las siguientes plantas se consideran cultivos objetivo particularmente adecuado para usar o emplear el compuesto (I-3) y el al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenicos, y, opcionalmente, el inoculante: algodón, berenjena, césped, frutas pomáceas, frutas con hueso, frutas blandos, maíz, trigo, cebada, pepino, tabaco, vides, arroz, cereales, pera, judías, soja, colza oleaginosa, tomate, pimienta, melones, col, patata y manzana.

45 Ejemplos de árboles son: *Abies* sp., *Eucalyptus* sp., *Picea* sp., *Pinus* sp., *Aesculus* sp., *Platanus* sp., *Tilia* sp., *Acer* sp., *Tsuga* sp., *Fraxinus* sp., *Sorbus* sp., *Betula* sp., *Crataegus* sp., *Ulmus* sp., *Quercus* sp., *Fagus* sp., *Salix* sp., *Populus* sp.

50 Los árboles preferidos que pueden mejorarse de acuerdo con el procedimiento de acuerdo con la invención son: de la especie arbórea *Aesculus*: *A. hippocastanum*, *A. pariflora*, *A. carnea*; de la especie arbórea *Platanus*: *P. aceriflora*, *P. occidentalis*, *P. racemosa*; de la especie arbórea *Picea*: *P. abies*; de la especie arbórea *Pinus*: *P. radiata*, *P. ponderosa*, *P. contorta*, *P. sylvestre*, *P. elliotii*, *P. montecola*, *P. albicaulis*, *P. resinosa*, *P. palustris*, *P. taeda*, *P. flexilis*, *P. jeffregii*, *P. baksiana*, *P. strobus*; de la especie arbórea *Eucalyptus*: *E. grandis*, *E. globulus*, *E. camadentis*, *E. nitens*, *E. obliqua*, *E. regnans*, *E. pilularis*.

55 Los árboles especialmente preferidos que pueden mejorarse de acuerdo con el procedimiento de acuerdo con la invención son: de la especie arbórea *Pinus*: *P. radiata*, *P. ponderosa*, *P. contorta*, *P. sylvestre*, *P. strobus*; de la especie arbórea *Eucalyptus*: *E. grandis*, *E. globulus*, *E. camadentis*.

Los árboles muy particularmente preferidos que pueden mejorarse de acuerdo con el procedimiento de acuerdo con la invención son: castaño de Indias, Platanaceae, árbol del tilo, árbol del arce.

La presente invención también se puede aplicar a cualquier pasto césped, incluyendo césped de temporada fría y césped de temporada cálida. Los ejemplos de pastos de césped de estación fría son gramíneas (*Poa* spp.), como pasto azul de Kentucky (*Poa pratensis* L.), poa común (*Poa trivialis* L.), poa de Canadá (*Poa compressa* L.), pastito de invierno (*Poa annua* L.), pasto azul de montaña (*Poa glaucantha* Gaudin), pasto azul de madera (*Poa nemoralis* L.) y pasto azul bulbosa (*Poa bulbosa* L.); bentgrasses (*Agrostis* spp.), tales como *bentgrass rastrera* (*Agrostis palustris* Huds.), *bentgrass colonial* (*Agrostis tenuis* Sibth.), *bentgrass aterciopelado* (*Agrostis canina* L.), *bentgrass mixta del sur de Alemania* (*Agrostis* spp., incluido *Agrostis tenuis* Sibth., *Agrostis canina* L., y *Agrostis palustris* Huds.) y enrojecimiento (*Agrostis alba* L.); festucas (*Festuca* spp.), como *festuca roja* (*Festuca rubra* L. spp. *rubra*), *festuca rastrera* (*Festuca rubra* L.), *mastines festuca* (*Festuca rubra commutata* Gaud.), *festuca de oveja* (*Festuca ovina* L.), *festuca dura* (*Festuca longifolia* Thuill.), *festuca del pelo* (*Festuca capillata* Lam.), *festuca alta* (*Festuca arundinacea* Schreb.) y *festuca del prado* (*Festuca elanor* L.); lóliumes (*Lolium* spp.), tal como el *lólium anual* (*Lolium multiflorum* Lam.), *lólium perenne* (*Lolium perenne* L.) y *lólium italiano* (*Lolium multiflorum* Lam.); y *pasto de trigo* (*Agropyron* spp.), tal como *pasto de trigo fairway* (*Agropyron cristatum* (L.) Gaertn.), *pasto de trigo crestado* (*Agropyron desertorum* (Fisch.) Schult.) y *pasto de trigo occidental* (*Agropyron smithii* Rydb.).

Ejemplos de otras gramíneas de césped de estación fría son los pastos marinos (*Ammophila breviligulata* Fern.), bromo liso (*Bromus inermis* Leyss.), colas de gato, tal como Timothy (*Phleum pratense* L.), *espadaña de arena* (*Phleum subulatum* L.), *pasto hortelano* (*Dactylis glomerata* L.), *pasto de sal lloroso* (*Puccinellia distans* (L.) Parl.) y *cola de perro con cresta* (*Cynosurus cristatus* L.).

Ejemplos de pastos de césped de estación cálida son Bermuda (*Cynodon* spp. L. C. Rich), *pasto de zoysia* (*Zoysia* spp. Willd.), *pasto agustino* (*Stenotaphrum secundatum* Walt Kuntze), *hierba ciempiés* (*Eremochloa ophiuroides* Munro Hack.), *grama brasieña* (*Axonopus affinis* Chase), *grama de Bahía* (*Paspalum notatum* Flugge), *hierba Kikuyu* (*Pennisetum clandestinum* Hochst. Ex Chiov.), *hierba de búfalo* (*Buchloe Dactyloids* (Nutt.) Engelm.), *grama azul* (*Bouteloua gracilis* (H.B.K.) Lag. ex. Griffiths), *paspalum de la orilla del mar* (*Paspalum vaginatum* Swartz) y *grama de la avena* (*Bouteloua curtipendula* (Michx. Torr.). Los pastos de césped de estación fría son generalmente preferidos para el uso de acuerdo con la invención. Especialmente preferidos son el pasto azul, bentgrass y redtop, festucas y lólium. Bentgrass es especialmente preferido.

Se entiende que si no se menciona de otra manera todas las referencias a la planta, las partes de plantas, semillas, las plantas que emergen de la semilla incluyen plantas convencionales o transgénicas, las partes de plantas, semillas, plantas que emergen de la semilla. Las plantas transgénicas (modificadas genéticamente) son plantas en las que un gen heterólogo se ha integrado de manera estable en el genoma. La expresión "gen heterólogo" significa esencialmente un gen que está provisto o ensamblado fuera de la planta y que, cuando se introduce en el núcleo, da lugar a la planta transformada nueva o agronómica mejorada u otras propiedades expresando una proteína o polipéptido de interés o regulando por defecto o silenciando otro(s) gen(es) que están presentes en la planta (usando, por ejemplo, tecnología de sentido contrario, tecnología de supresión simultánea, o tecnología de ARN de interferencia -ARNi-). Un gen heterólogo que se localiza en el genoma también se denomina transgén. Un transgén que se define por su localización particular en el genoma de la planta se denomina transformación o suceso transgénico.

Dependiendo de las especies de plantas o de los cultivos de plantas, su localización y las condiciones del crecimiento, clima, periodo de vegetación, dieta), utilizando o empleando el compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus y nematodos entomopatógenicos, y, opcionalmente, el inoculante, el tratamiento de acuerdo con la invención, también pueden producir efectos superaditivos ("sinérgicos"). Por lo tanto, por ejemplo, utilizando o empleando el compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus, y nematodos entomopatógenicos, y opcionalmente el inoculante en el tratamiento de acuerdo con la invención, reducción de las tasas de aplicación y/o una ampliación del espectro de actividad y/o un aumento de la actividad que mejora el crecimiento de las plantas, mayor tolerancia a altas o bajas temperaturas, mayor tolerancia a la sequía o a la salinidad el agua o del suelo, aumento del rendimiento de floración, recolección más sencilla, maduración acelerada, mayores rendimiento de la cosecha, grutas más grandes, altura de la planta mayor, color de las hojas más verde, floración más temprana, mayor calidad o mayor valor nutricional de los productos recolectados, mayor concentración de azúcar en las frutas, mejor estabilidad durante el almacenamiento o capacidad de procesamiento de las frutas recolectadas es por tanto posible, que supera los efectos que actualmente se pueden esperar.

A ciertas tasas de aplicación del compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular, bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus, y nematodos entomopatógenicos, y, opcionalmente, el inoculante, en el tratamiento de acuerdo con la invención también pueden tener un efecto de fortalecimiento en las plantas. Se moviliza el sistema de defensa de la planta contra el ataque de hongos y/o microorganismos fitopatógenos y/o virus no deseados. Debe entenderse que las sustancias que fortalecen las plantas (que inducen resistencia) significan, en el presente contexto, aquellas sustancias o combinaciones de sustancias que pueden estimular el sistema de defensa de las plantas de tal manera que, cuando se inocule posteriormente con hongos y/o microorganismos y/o virus fitopatógenos no deseados, las plantas tratadas muestran un grado sustancial de resistencia a estos hongos fitopatógenos o microorganismos o virus, Por lo tanto, utilizando o empleando el compuesto (I-3) y al menos un agente de control biológico seleccionado de bacterias, en particular,

bacterias formadoras de esporas, hongos o levaduras, protozoos, virus, y nematodos entomopatógenicos, y opcionalmente el inoculante en el tratamiento de acuerdo con la invención, las plantas pueden protegerse contra el ataque de los agentes patógenos antes mencionados dentro de un cierto período de tiempo después del tratamiento. El periodo de tiempo dentro del cual la protección se efectúa se extiende generalmente de 1 a 10 días, preferentemente de 1 a 7 días, después del tratamiento de las plantas con los compuestos activos.

Las plantas y cultivos de plantas que preferentemente también se van a tratar de acuerdo con la invención son resistentes contra uno o más estreses abióticos, es decir, dichas plantas muestran una defensa mejor frente a plagas animales y microbianas, tales como contra nematodos, insectos, ácaros, hongos fitopatógenos, bacterias, virus y/o viroides.

Las plantas y cultivos de plantas que también se pueden tratar de acuerdo con la invención son aquellas plantas que son resistentes a uno o más estreses abióticos. Las condiciones de estrés abiótico pueden incluir, por ejemplo, sequía, exposición a temperaturas frías, exposición al calor, estrés osmótico, inundaciones, aumento de la salinidad del suelo, exposición mineral aumentada, exposición al ozono, alta exposición a la luz, disponibilidad limitada de nutrientes nitrogenados, disponibilidad limitada de nutrientes fosforados, evitación de sombra.

Las plantas y cultivos de plantas que se pueden tratar también de acuerdo con la invención son aquellas plantas caracterizadas por características de aumento del rendimiento. El aumento del rendimiento en dichas plantas puede ser el resultado, por ejemplo, de una mejor fisiología, crecimiento y desarrollo de la planta, tal como eficiencia del uso del agua, eficiencia de retención de agua, uso de nitrógeno mejorado, asimilación de carbono potenciada, fotosíntesis mejorada, mayor eficacia de germinación y maduración acelerada. El rendimiento puede verse afectado además por una arquitectura vegetal mejorada (en condiciones de estrés y sin estrés), incluyendo, pero sin limitación, floración temprana, control de la floración para la producción de semillas híbridas, vigor de las plántulas, tamaño de la planta, distancia y número de entrenudos, crecimiento de la raíz, tamaño de la semilla, tamaño de la fruta, tamaño de la vaina, número de vainas o espigas, número de semillas por vaina o espiga, masa de las semillas, llenado potenciado de las semillas, reducción de la dispersión de las semillas, reducción de la dehiscencia de las vainas y resistencia a la caída por efecto del viento o la lluvia. Otros rasgos de rendimiento incluyen la composición de la semilla, tales como contenido de carbohidratos, contenido de proteínas, contenido y composición de los aceites, valor nutricional, reducción de compuestos antinutricionales, mejora en la procesabilidad y mejor estabilidad durante el almacenamiento.

Las plantas que se pueden tratar de acuerdo con la invención son plantas híbridas que expresan ya la característica de la heterosis o el vigor híbrido que da como resultado un rendimiento, vigor, salud y resistencia frente a factores de estrés bióticos y abióticos. Típicamente, dichas plantas se preparan cruzando una línea parental androestéril endogámica (parental hembra) con otra línea parental androfértil endogámica (parental masculino). La semilla híbrida se cosecha típicamente de las plantas masculinas estériles y se vende a los productores. Las plantas masculinas estériles pueden producirse algunas veces (por ejemplo, en el maíz) mediante descope, es decir, retirada mecánica de los órganos reproductores masculinos (o flores masculinas) pero, más típicamente, la esterilidad masculina es el resultado de determinantes genéticos en el genoma de la planta. En este caso, y especialmente cuando la semilla es el producto deseado que se va a cosechar a partir de las plantas híbridas, es típicamente útil garantizar que la androfertilidad en plantas híbridas se restablezca completamente. Esto puede conseguirse garantizando que los parentales masculinos tengan genes restauradores de fertilidad apropiados que son capaces de restablecer la androfertilidad en plantas híbridas que contienen los determinantes genéticos responsables de la androesterilidad. Los determinantes genéticos de la esterilidad masculina pueden ubicarse en el citoplasma. Los ejemplos de androesterilidad (CMS) se han descrito por ejemplo en especies de Brassica. Sin embargo, los determinantes genéticos para la esterilidad masculina también se pueden ubicar en el genoma nuclear. También pueden obtenerse plantas androestériles mediante procedimientos de biotecnología vegetal, tales como modificación por ingeniería genética. Un medio particularmente útil de obtener plantas masculinas estériles se describe en el documento WO 89/10396 en el que, por ejemplo, se expresa selectivamente una ribonucleasa tal como barnasa en las células del tapete en los estambres. La fertilidad puede restablecerse luego mediante la expresión en las células del tapete de un inhibidor de ribonucleasa como barstar.

Análogamente, las plantas o variedades cultivadas de plantas (obtenidas por procedimientos de biotecnología vegetal tales como ingeniería genética) que se pueden tratar de acuerdo con la invención son plantas tolerantes a herbicidas, es decir, plantas fabricadas tolerantes a uno o más herbicidas determinados. Dichas plantas pueden obtenerse mediante transformación genética o mediante la selección de plantas que contienen una mutación que transmite dicha tolerancia a herbicidas.

Las plantas tolerantes a herbicidas son, por ejemplo, plantas tolerantes al glifosato, es decir, plantas que son tolerantes al herbicida glifosato o sus sales. Las plantas se pueden convertir en tolerantes al glifosato por diferentes medios. Por ejemplo, las plantas tolerantes al glifosato se pueden obtener transformando la planta con un gen que codifica la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS). Ejemplos de dichos genes EPSPS son el gen AroA (mutante CT7) de la bacteria *Salmonella typhimurium*, el gen CP4 de la bacteria *Agrobacterium* sp, los genes que codifican una EPSPS de *Petunia*, una EPSPS de tomate o una EPSPS de Eleusine. También puede ser una EPSPS mutada. Las plantas tolerantes al glifosato también se pueden obtener mediante la expresión de un gen que codifica una enzima glifosato oxidoreductasa. Las plantas tolerantes al glifosato también se pueden obtener

mediante la expresión de un gen que codifica una enzima glifosato acetil transferasa. Las plantas tolerantes al glifosato también se pueden obtener seleccionando plantas que contienen mutaciones de origen natural de los genes anteriormente mencionados.

5 Otras plantas resistentes a herbicidas son, por ejemplo, las plantas que se han convertido en tolerantes a los herbicidas que inhiben la enzima glutamina sintasa, tales como bialafos, fosfinotricina o glufosinato. Dichas plantas pueden obtenerse mediante la expresión de una enzima que detoxifica el herbicida o una enzima glutamina sintasa mutante que es resistente a la inhibición. Una enzima detoxificante eficaz de este tipo es una enzima que codifica una fosfinotricin acetiltransferasa (tal como la proteína bar o pat de las especies de *Streptomyces*). También se han descrito plantas que expresan una fosfinotricina acetiltransferasa exógena se describen.

10 Adicionalmente, también se describen plantas que se han convertido en tolerantes a herbicidas que inhiben la enzima hidroxifenilpiruvatodioxigenasa (HPPD). Las hidroxifenilpiruvatodioxigenasas son enzimas que catalizan la reacción en la que el parahidroxifenilpiruvato (HPP) se transforma en homogentisato. Las plantas tolerantes a los inhibidores de HPPD se pueden transformar con un gen que codifica una enzima HPPD resistente de origen natural, o un gen que codifica una enzima HPPD mutada. La tolerancia a los inhibidores de HPPD también puede obtenerse mediante la transformación de plantas con genes que codifican determinadas enzimas que permiten la formación de homogentisato a pesar de la inhibición de la enzima HPPD nativa por el inhibidor de HPPD. La tolerancia de las plantas a los inhibidores de HPPD también se puede mejorar transformando las plantas con un gen que codifica una enzima pfenato deshidrogenasa además de un gen que codifica una enzima tolerante a HPPD.

20 Otras plantas resistentes a herbicidas son plantas que se hacen tolerantes a los inhibidores de la acetolacto sintasa (ALS). Los inhibidores de la ALS conocidos incluyen, por ejemplo, sulfonilurea, imidazolinona, triazolopirimidinas, pirimidinoxi (tio) benzoatos, y/o sulfonilaminocarbonilimidazolinona herbicidas. Se sabe que diferentes mutaciones en la enzima ALS (también conocida como acetohidroxiácido sintasa, AHAS) confieren tolerancia a diferentes herbicidas y grupos de herbicidas. La producción de plantas tolerantes a sulfonilurea y plantas tolerantes a imidazolinona se describe en el documento WO 1996/033270. También se han descrito otras plantas tolerantes a imidazolinona. Otras plantas tolerantes a la sulfonilurea y la imidazolinona también se describen en, por ejemplo el documento WO 2007/024782.

Se pueden obtener otras plantas tolerantes a la imidazolinona y/o la sulfonilurea mediante mutagénesis inducida, selección en cultivos celulares en presencia del herbicida o mediante cría de mutaciones como se describe, por ejemplo, para la soja, para el arroz, para la remolacha azucarera, para la lechuga o para el girasol.

30 Las plantas o cultivares de plantas (obtenidas por procedimientos de biotecnología vegetal tales como ingeniería genética) que también pueden tratarse de acuerdo con la invención son plantas transgénicas resistentes a insectos, es decir, plantas fabricadas resistentes al ataque de determinados insectos diana. Dichas plantas pueden obtenerse mediante transformación genética o mediante la selección de plantas que contienen una mutación que transmite dicha resistencia a los insectos.

35 Una "planta transgénica resistente a insectos", como se usa en el presente documento, incluye cualquier planta que contiene al menos un transgén que comprende una secuencia codificante que codifica:

1) una proteína cristalina insecticida de *Bacillus thuringiensis* o una porción insecticida de la misma, tal como las proteínas cristalinas insecticidas relacionadas en línea en la dirección: [http://www.lifesci.sussex.ac.uk/Home/Neil\\_Crickmore/Bt/](http://www.lifesci.sussex.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Bt/)), o porciones insecticidas de las mismas, por ejemplo, proteínas de las clases de proteínas Cry, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1F, Cry2Ab, Cry3Aa o Cry3Bb o porciones insecticidas de las mismas; o

2) una proteína cristalina de *Bacillus thuringiensis* o una porción de la misma que es insecticida en presencia de una segunda proteína cristalina de *Bacillus thuringiensis* o una porción de la misma, tal como la toxina binaria preparada a partir de las proteínas cristalinas Cry34 y Cry35; o

45 3) una proteína insecticida híbrida que comprende partes de diferentes proteínas cristalinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis*, tal como un híbrido de las proteínas de 1) anteriores o un híbrido de las proteínas de 2) anteriores, por ejemplo, la proteína Cry1A.105 producida por el acontecimiento MON98034 del maíz (documento WO 2007/027777); o

50 4) una proteína de uno cualquiera de 1) a 3) anteriores en la que algunos, particularmente de 1 a 10, aminoácidos han sido reemplazados por otro aminoácido para obtener una mayor actividad insecticida para una especie de insecto diana, y/o para ampliar el intervalo de especies de insectos diana afectadas, y/o debido a cambios introducidos en el ADN codificante durante la clonación o transformación, tal como la proteína Cry3Bb1 en los eventos de maíz MON863 o MON88017, o la proteína Cry3A en el evento de maíz MIR604;

55 5) una proteína insecticida secretada de *Bacillus thuringiensis* o *Bacillus cereus*, o una porción insecticida de la misma, tales como las proteínas insecticidas vegetativas (VIP) relacionadas en: [http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil\\_Crickmore/Bt/vip.html](http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/vip.html), por ejemplo, proteínas de la clase de proteínas VIP3Aa; o

60 6) proteína secretada de *Bacillus thuringiensis* o *Bacillus cereus* que es insecticida en presencia de una segunda proteína secretada de *Bacillus thuringiensis* o *Bacillus cereus*, tal como la toxina binaria preparada a partir de las proteínas VIP1A y VIP2A; o

7) proteína insecticida híbrida que comprende partes de diferentes proteínas secretadas de *Bacillus thuringiensis* o *Bacillus cereus*, tal como un híbrido de las proteínas en 1) anteriores o un híbrido de las proteínas en 2) anteriores; o

5 8) proteína de uno cualquiera de 1) a 3) anteriores en la que algunos, particularmente de 1 a 10, aminoácidos han sido reemplazados por otro aminoácido para obtener una mayor actividad insecticida para una especie de insecto diana, y/o para ampliar el intervalo de especies de insectos diana afectadas, y/o debido a cambios introducidos en el ADN codificante durante la clonación o transformación (aunque siguen codificando un proteína insecticida), tal como la proteína VIP3Aa en el evento de algodón COT102.

10 Las plantas o cultivares de plantas (obtenidas por procedimientos de biotecnología vegetal tales como ingeniería genética) que también pueden tratarse de acuerdo con la invención son plantas transgénicas resistentes a nematodos, es decir, plantas fabricadas resistentes al ataque de determinados nematodos diana. Dichas plantas pueden obtenerse mediante transformación genética o mediante la selección de plantas que contienen una mutación que transmite dicha resistencia a los insectos

15 Ejemplos de plantas resistentes a nematodos se describen en, por ejemplo, las solicitudes de patente de Estados Unidos N.º 11/765.491, 11/765.494, 10/926.819, 10/782.020, 12/032.479, 10/783.417, 10/782.096, 11/657.964, 12/192.904, 11/396.808, 12/166.253, 12/166.239, 12/166.124, 12/166.209, 11/762.886, 12/364.335, 11/763.947, 12/252.453, 12/209.354, 12/491.396 o 12/497.221.

20 Por supuesto, una planta transgénica resistente a insectos, como se usa en el presente documento, también incluye cualquier planta que comprende una combinación de genes que codifican las proteínas de cualquiera de las clases 1 a 8 anteriores. En una realización, una planta resistente a insectos contiene más de un transgén que codifica una proteína de una cualquiera de las anteriores clases 1 a 8, para ampliar el intervalo de especies de insectos diana afectadas cuando se usan diferentes proteínas dirigidas a diferentes especies de insectos diana, o para retrasar el desarrollo de la resistencia a insectos de las plantas utilizando diferentes proteínas insecticidas para la misma especie de insecto diana pero que tienen un modo de acción diferente, tal como la unión a diferentes sitios de unión del receptor en el insecto.

25 Las plantas o cultivares de plantas (obtenidas por procedimientos de biotecnología, tales como ingeniería genética) que también pueden tratarse de acuerdo con la invención son tolerantes a factores de estrés abiótico. Dichas plantas se pueden obtener por transformación genética, o mediante la selección de plantas que contienen una mutación que transmite dicha resistencia al estrés. Las plantas con tolerancia al estrés particularmente útiles incluyen:

- 30 a. plantas que contienen un transgén capaz de reducir la expresión y/o la actividad del gen de poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP) en células de plantas o plantas
- b. plantas que contienen un transgén que mejora la tolerancia al estrés capaz de reducir la expresión y/o la actividad de genes que codifican la poli(ADP-ribosa)glicohidrolasa PARG de las plantas o células de plantas.
- 35 c. plantas que contienen un transgén potenciador de la tolerancia al estrés que codifica una enzima vegetal funcional de la ruta de síntesis de ruta salvaje de la nicotinamida adenina dinucleótido que incluye nicotinamidas, nicotinato fosforribosiltransferasa, mononucleótido adenil transferasa del ácido nicotínico, nicotinamida adenina dinucleótido sintetasa o nicotina amida fosforribosiltransferasa.

40 Las plantas o cultivares de plantas (obtenidas mediante procedimientos de biotecnología vegetal tales como ingeniería genética) que también se pueden tratar de acuerdo con la invención muestran una cantidad, calidad y/o estabilidad de almacenamiento alteradas del producto cosechado y/o propiedades alteradas de ingredientes específicos del producto cosechado tales como:

- 45 1) plantas transgénicas que sintetizan un almidón modificado, que en sus características fisicoquímicas, en particular el contenido de amilosa o la relación amilosa/amilopectina, el grado de ramificación, la longitud media de la cadena, la distribución de la cadena lateral, el comportamiento de la viscosidad, la resistencia gelificante, el tamaño del grano de almidón y/o la morfología del grano de almidón, varía en comparación con el almidón sintetizado en las células vegetales o las plantas de tipo silvestre, de modo que es más adecuado para aplicaciones especiales.
- 50 2) las plantas transgénicas que sintetizan polímeros de hidratos de carbono no de almidón o que sintetizan polímeros de hidratos de carbono no de almidón con propiedades modificadas en comparación con las plantas silvestres sin modificación genética. Ejemplos son plantas que producen polifruktosa, especialmente del tipo de inulina y levan, plantas que producen alfa-1,4-glucanos, las plantas que producen alfa-1,4-glucanos ramificados en alfa-1,6, plantas que producen alternan,
- 3) plantas transgénicas que producen hialuronano.

55 Las plantas o variedades cultivadas de plantas (que se pueden obtener mediante procedimientos de biotecnología vegetal tales como ingeniería genética) que también se pueden tratar de acuerdo con la invención son plantas, tales como plantas de algodón, con características de fibras modificadas. Dichas plantas se pueden obtener por transformación genética, o mediante la selección de plantas que contienen una mutación que transmite dichas características alteradas de la fibra e incluyen:

- a) Plantas, tales como plantas de algodón, que contienen una forma modificada de genes de la celulosa sintasa,
- b) Plantas, tales como plantas de algodón, que contienen una forma alterada de ácidos nucleicos homólogos rsw2 o rsw3,
- c) Plantas, tales como plantas de algodón, con aumento en la expresión de la sacarosa fosfato sintasa,
- d) Plantas, tales como plantas de algodón, con aumento en la expresión de la sacarosa sintasa,
- e) Plantas, tales como plantas de algodón, en el que la temporalización del control plasmodesmatal en la base de la célula de la fibra está modificada, por ejemplo mediante regulación por defecto de la  $\beta$ -1,3-glucanasa selectiva para fibras,
- f) Plantas, tales como plantas de algodón, que tienen fibras con reactividad modificada, por ejemplo mediante la expresión del gen de la N-acetilglucosamina transferasa incluidos los genes nodC y de la quitina sintasa.

Las plantas o variedades cultivadas de plantas (que se pueden obtener mediante procedimientos de biotecnología vegetal tales como ingeniería genética) que también se pueden tratar de acuerdo con la invención son plantas, tales como colza o plantas Brassica relacionadas, con características del perfil de aceite alteradas. Dichas plantas se pueden obtener por transformación genética, o mediante la selección de plantas que contienen una mutación que transmite dichas características alteradas del aceite e incluyen:

- a) Plantas, tales como plantas de colza oleaginosa, que producen aceite que tiene un alto contenido de ácido oleico,
- b) Plantas tales como plantas de colza oleosa, que producen aceite que tiene un bajo contenido de ácido linolénico,
- c) Plantas tales como plantas de colza oleosa, que producen aceite que tiene un bajo nivel de ácidos grasos saturados.

Las plantas transgénicas particularmente útiles que pueden tratarse de acuerdo con la invención son plantas que comprenden uno o más genes que codifican una o más toxinas, tales como las siguientes, que se comercializan con los nombres comerciales YIELD GARD® (por ejemplo, maíz, algodón, soja), KnockOut® (por ejemplo, maíz), BiteGard® (por ejemplo, maíz), Bt-Xtra® (por ejemplo, maíz), StarLink® (por ejemplo, maíz), Bollgard® (algodón), NucoIn® (algodón), NucoIn 33B (algodón), NatureGard® (por ejemplo, maíz), Protecta® y NewLeaf® (papa). Ejemplos de plantas tolerantes a herbicidas que pueden mencionarse son las variedades de maíz, variedades de algodón y variedades de soja que se comercializan con los nombres comerciales Roundup Ready® (tolerancia a glifosato, por ejemplo, maíz, algodón, soja), Liberty Link® (tolerancia a la fosfinotricina, por ejemplo, colza oleaginosa), IMI® (tolerancia a imidazolinonas) y STS® (tolerancia a las sulfonilureas, por ejemplo, maíz). Las plantas resistentes a herbicidas (plantas criadas de manera convencional para la tolerancia a herbicidas) que pueden mencionarse incluyen las diversidades vendidas con el nombre Clearfield® (por ejemplo, maíz).

Las plantas transgénicas especialmente útiles que se pueden tratar de acuerdo con la invención son plantas que contienen eventos de transformación, o una combinación de eventos de transformación, y que se relacionan por ejemplo, en bases de datos de diferentes organismos reguladores nacionales o regionales, entre los que se incluyen el Evento 1143-14A (algodón, control de insectos, no depositado, descrito en el documento WO 06/128569); Evento 1143-51B (algodón, control de insectos, no depositado, descrito en el documento WO 06/128570); Evento 1445 (algodón, tolerancia a herbicidas, no depositado, descrito en los documentos US-A 2002-120964 o WO 02/034946); Evento 17053 (arroz, tolerancia a herbicidas, depositado como PTA-9843, descrito en el documento WO 10/117737); Evento 17314 (arroz, tolerancia a herbicidas, depositado como PTA-9844, descrito en el documento WO 10/117735); Evento 281-24-236 (algodón, control de insectos - tolerancia a herbicidas, depositado como PTA-6233, descrito en los documentos WO 05/103266 o US-A 2005-216969); Evento 3006-210-23 (algodón, control de insectos - tolerancia a herbicidas, depositado como PTA-6233, descrito en los documentos US-A 2007-143876 o WO 05/103266); Evento 3272 (maíz, rasgo de calidad, depositado como PTA-9972, descrito en los documentos WO 06/098952 o US-A 2006-230473); Evento 40416 (maíz, control de insectos - tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-11508, descrito en el documento WO 11/075593); Evento 43A47 (maíz, control de insectos - tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-11509, descrito en el documento WO 11/075595); Evento 5307 (maíz, control de insectos, depositado como ATCC PTA-9561, descrito en el documento WO 10/077816); Evento ASR-368 (césped de pradera, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-4816, descrito en los documentos US 2006-162007 o WO 04/053062); Evento B16 (maíz, tolerancia a herbicidas, no depositado, descrito en el documento US-A 2003-126634); Evento BPS-CV127-9 (soja, tolerancia a herbicidas, depositado como NCIMB N.º 41603, descrito en el documento WO 10/080829); Evento CE43-67B (algodón, control de insectos, depositado como DSM ACC2724, descrito en los documentos US 2009-217423 o WO 06/128573); Evento CE44-69D (algodón, control de insectos, no depositado, descrito en el documento US 2010-0024077); Evento CE44-69D (algodón, control de insectos, no depositado, descrito en el documento WO 06/128571); Evento CE46-02A (algodón, control de insectos, no depositado, descrito en el documento WO 06/128572); Evento COT102 (algodón, control de insectos, no depositado, descrito en los documentos US 2006-130175 o WO 04/039986); Evento COT202 (algodón, control de insectos, no depositado, descrito en los documentos US 2007-067868 o WO 05/054479); Evento COT203 (algodón, control de insectos, no depositado, descrito en el documento WO 05/054480); Evento DAS40278 (maíz, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-10244, descrito en el documento WO 11/022469); Evento DAS-59122-7 (maíz, control de insectos - tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA 11384, descrito en el documento US 2006-070139); Evento DAS-59132 (maíz, control de insectos - tolerancia a herbicidas, no depositado, descrito en el documento WO 09/100188); Evento DAS68416 (soja, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-10442,

descrito en los documentos WO 11/066384 o WO 11/066360); Evento DP-098140-6 (maíz, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-8296, descrito en los documentos US 2009-137395 o WO 08/112019); Evento DP-305423-1 (soja, rasgo de calidad, no depositado, descrito en los documentos US 2008-312082 o WO 08/054747); Evento DP-32138-1 (maíz, sistema de hibridación, depositado como ATCC PTA-9158, descrito en los documentos US-A 2009-0210970 o WO 09/103049); Evento DP-356043-5 (soja, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-8287, descrito en los documentos US 2010-0184079 o WO 08/002872); Evento EE-1 (brinjal, control de insectos, no depositado, descrito en el documento WO 07/091277); Evento FI117 (maíz, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC 209031, descrito en los documentos US 2006-059581 o WO 98/044140); Evento GA21 (maíz, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC 209033, descrito en los documentos US 2005-086719 o WO 98/044140); Evento GG25 (maíz, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC 209032, descrito en los documentos USA 2005-188434 o WO 98/044140); Evento GHB119 (algodón, control de insectos - tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-8398, descrito en el documento WO 08/151780); Evento GHB614 (algodón, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-6878, descrito en los documentos US 2010-050282 o WO 07/017186); Evento GJ11 (maíz, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC 209030, descrito en los documentos US 2005-188434 o WO 98/044140); Evento GM RZ13 (remolacha azucarera, resistencia a virus, depositado como NCIMB-41601, descrito en el documento WO 10/076212); Evento H7-1 (remolacha azucarera, tolerancia a herbicidas, depositado como NCIMB 41158 o NCIMB 41159, descrito en los documentos US 2004-172669 o WO 04/074492); Evento JOPLIN1 (trigo, tolerancia a enfermedades, no depositado, descrito en el documento US 2008-064032); Evento LL27 (soja, tolerancia a herbicidas, depositado como NCIMB41658, descrito en los documentos WO 06/108674 o US 2008-320616); Evento LL55 (soja, tolerancia a herbicidas, depositado como NCIMB 41660, descrito en los documentos WO 06/108675 o US 2008-196127); Evento LLCotton25 (algodón, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-3343, descrito en los documentos WO 03/013224 o US-A 2003-097687); Evento LLRICE06 (arroz, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC-23352, descrito en los documentos US 6.468.747 o WO 00/026345); Evento LLRICE601 (arroz, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-2600, descrito en los documentos US-A 2008-2289060 o WO 00/026356); Evento LY038 (maíz, rasgo de calidad, depositado como ATCC PTA-5623, descrito en los documentos US-A 2007-028322 o WO 05/061720); Evento MIR162 (maíz, control de insectos, depositado como PTA-8166, descrito en los documentos US-A 2009-300784 o WO 07/142840); Evento MIR604 (maíz, control de insectos, no depositado, descrito en los documentos US-A 2008-167456 o WO 05/103301); Evento MON15985 (algodón, control de insectos, depositado como ATCC PTA-2516, descrito en los documentos US 2004-250317 o WO 02/100163); Evento MON810 (maíz, control de insectos, no depositado, descrito en el documento USA 2002-102582); Evento MON863 (maíz, control de insectos, depositado como ATCC PTA-2605, descrito en los documentos WO 04/011601 o US 2006-095986); Evento MON87427 (maíz, control de la polinización, depositado como ATCC PTA-7899, descrito en el documento WO 11/062904); Evento MON87460 (maíz, tolerancia al estrés, depositado como ATCC PTA-8910, descrito en los documentos WO 09/111263 o US 2011-0138504); Evento MON87701 (soja, control de insectos, depositado como ATCC PTA-8194, descrito en los documentos US 2009-130071 o WO 09/064652); evento MON87705 (soja, rasgo de calidad - tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-9241, descrito en los documentos US 2010-0080887 o WO 10/037016); Evento MON87708 (soja, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA9670, descrito en el documento WO 11/034704); Evento MON87754 (soja, rasgo de calidad, depositado como ATCC PTA-9385, descrito en el documento WO 10/024976); Evento MON87769 (soja, rasgo de calidad, depositado como ATCC PTA-8911, descrito en los documentos US 2011-0067141 o WO 09/102873); Evento MON88017 (maíz, control de insectos - tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-5582, descrito en los documentos US 2008-028482 o WO 05/059103); Evento MON88913 (algodón, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-4854, descrito en los documentos WO 04/072235 o US 2006-059590); Evento MON89034 (maíz, control de insectos, depositado como ATCC PTA-7455, descrito en los documentos WO 07/140256 o US 2008-260932); evento MON89788 (soja, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-6708, descrito en los documentos US-A 2006-282915 o WO 06/130436); evento MS11 (colza oleaginosa, control de la polinización - tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-850 o PTA-2485, descrito en el documento WO 01/031042); evento MS8 (colza oleaginosa, control de la polinización - tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-730, descrito en los documentos WO 01/041558 o US-A 2003-188347); Evento NK603 (maíz, tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-2478, descrito en el documento US-A 2007-292854); Evento PE-7 (arroz, control de insectos, no depositado, descrito en el documento WO 08/114282); evento RF3 (colza oleaginosa, control de la polinización - tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-730, descrito en los documentos WO 01/041558 o US 2003-188347); evento RT73 (colza oleaginosa, tolerancia a herbicidas, no depositado, descrito en los documentos WO 02/036831 o US-A 2008-070260); Evento T227-1 (remolacha azucarera, tolerancia a herbicidas, no depositado, descrito en los documentos WO 02/44407 o US-A 2009-265817); Evento T25 (maíz, tolerancia a herbicidas, no depositado, descrito en los documentos US 2001-029014 o WO 01/051654); Evento T304-40 (algodón, control de insectos - tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-8171, descrito en los documentos US 2010-077501 o WO 08/122406); Evento T342-142 (algodón, control de insectos, no depositado, descrito en el documento WO 06/128568); Evento TC1507 (maíz, control de insectos - tolerancia a herbicidas, no depositado, descrito en los documentos US 2005-039226 o WO 04/099447); Evento VIP1034 (maíz, control de insectos - tolerancia a herbicidas, depositado como ATCC PTA-3925, descrito en el documento WO 03/052073), evento 32316 (maíz, control de insectos - tolerancia a herbicidas, depositado como PTA-11507, descrito en el documento WO 11/084632), evento 4114 (maíz, control de insectos - tolerancia a herbicidas, depositado como PTA-11506, descrito en el documento WO 11/084621).

65 Las plantas transgénicas particularmente útiles que pueden tratarse de acuerdo con la invención son plantas que

contienen eventos de transformación, o combinación de eventos de transformación, que se enumeran, por ejemplo, en las bases de datos de diversas agencias reguladoras nacionales o regionales (véase, por ejemplo, [http://gmoinfo.jrc.it/gmp\\_browse.aspx](http://gmoinfo.jrc.it/gmp_browse.aspx) y <http://www.agbios.com/dbase.php>).

La invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos sin restringir el ámbito de la invención:

5 **Fórmula para la eficacia de la combinación de dos compuestos**

La eficacia esperada de una combinación dada de dos compuestos se calcula de la siguiente manera (véase Colby, S.R., "Calculating Synergistic and Antagonistic Responses of Herbicide Combinations", Weeds 15, pág. 20-22, 1967):

10 X es la eficacia expresada en de mortalidad del control no tratado para el compuesto de prueba A a una concentración de m ppm o m g/ha,

Y es la eficacia expresada en de mortalidad del control no tratado para el compuesto de ensayo B a una concentración de n ppm o m g/ha,

E es la eficacia expresada en de mortalidad del control no tratado utilizando la combinación de A y B en m y n ppm o m y n g/ha,

15 
$$E = X + Y - \frac{X \cdot Y}{100}$$

Si la eficacia insecticida observada de la combinación es mayor que la calculada como "E", entonces la combinación de los dos compuestos es más que aditiva, es decir, hay un efecto sinérgico.

**Ejemplo 1:**

**Myzus persicae - aplicación foliar**

Disolvente: 7 Partes en peso de dimetilformamida  
Emulsionante: 2 partes en peso de alquilarilpoliglicoléter

20 Para producir una preparación adecuada de compuesto activo, 1 parte en peso de principio activo se mezcla con la cantidad indicada de disolvente y emulsionante, y el concentrado se diluye con agua que contiene emulsionante hasta la concentración deseada. Para producir una preparación adecuada de una suspensión biológica, las células o esporas se diluyen con agua que contiene emulsionante hasta la concentración deseada.

Las hojas de col (*Brassica oleracea*) que están muy infestadas por el pulgón verde del melocotón (*Myzus persicae*) se tratan mediante pulverización con la preparación del compuesto activo a la concentración deseada.

25 Después del período de tiempo especificado, se determina la mortalidad en %. 100 % significa que se ha matado a todos los pulgones; 0 % significa que no se ha matado a ninguno de los pulgones. Los valores de mortalidad así determinados se recalculan utilizando la fórmula de Colby.

La siguiente combinación de compuesto y agente biológico mostró un efecto sinérgico de acuerdo con la invención:

**Tabla 1-1: Myzus persicae - Prueba**

Principio activo/agente de control biológico	Concentración g pa/ha	Mortalidad en % después de 6 <sup>d</sup>
Compuesto (I-3)	100 g pa/ha	90
cepa NRRL Y-30752 de <i>Metschnikowia fructicola</i> , células de levadura	892,5 g de preparación de células de levadura/ha (≅ 10 <sup>13</sup> células/ha)	0
Compuesto (I-3) + <i>M. fructicola</i>	100 + 892,5	obs.* 100      cal.** 90

30

**Myzus persicae - prueba (aplicación por pulverización)**

Disolvente: 78,0 partes en peso de acetona  
1,5 partes en peso de dimetilformamida  
Emulsionant e: 0,5 partes en peso de alquilarilpoliglicoléter

Para producir una preparación adecuada de compuesto activo, 1 parte en peso de principio activo se mezcla con la cantidad indicada de disolvente y emulsionante, y el concentrado se diluye con agua que contiene emulsionante hasta la concentración deseada. Para producir una preparación adecuada de una suspensión biológica, las células o esporas se diluyen con agua que contiene emulsionante hasta la concentración deseada.

Discos foliares de col china (*Brassica pekinensis*) infectados con todos los estadios del pulgón verde (*Myzus persicae*), se pulverizan con una preparación del principio activo a la concentración deseada.

Después del período de tiempo especificado se determina la mortalidad en %. 100 % significa que se ha matado a todos los pulgones; 0 % significa que no se ha matado a ninguno de los pulgones.

- 5 Las siguientes combinaciones de compuesto y agente biológico mostraron un efecto sinérgico de acuerdo con la invención:

**Tabla 1-2: Myzus persicae - Prueba**

Principio activo/agente de control biológico	Concentración g pa/ha	Mortalidad en % después de 1 <sup>d</sup>
Compuesto (1-3)	20	0
cepa GB 03 de <i>Bacillus subtilis</i> (ATCC SD-1397)	2000 g de preparación de esporas/ha ( $\approx 3 \times 10^{12}$ esporas/ha)	0
Compuesto (1-3) + GB03 de <i>B. subtilis</i>	20 + 2000	obs.* <u>80</u> cal.** <u>0</u>
<i>Bacillus thuringiensis subsp. Aizawai</i> , cepa ABTS-1857, esporas	1000 g de preparación de esporas/ha ( $\approx 8,1 \times 10^9$ esporas/ha)	0
Compuesto (1-3) + <i>B. thuringiensis subsp. Aizawai</i> , cepa ABTS-1857	20 + 1000	obs.* <u>80</u> cal.** <u>0</u>
cepa 251 de <i>Paecilomyces lilacinus</i> con n.º de registro 89/030550	5000 g de preparación de esporas/ha ( $\approx 5 \times 10^{13}$ esporas/ha)	0
Compuesto (1-3) + <i>Paecilomyces lilacinus</i> cepa 251	20 + 5000	obs.* <u>70</u> cal.** <u>0</u>

**Ejemplo 2:**

**Phaedon cochleariae larvae - aplicación foliar**

Disolvente: 7 Partes en peso de dimetilformamida  
Emulsionante: 2 partes en peso de alquilarilpoliglicoléter

- 10 Para producir una preparación adecuada de compuesto activo, 1 parte en peso de principio activo se mezcla con la cantidad indicada de disolvente y emulsionante, y el concentrado se diluye con agua que contiene emulsionante hasta la concentración deseada. Para producir una preparación adecuada de una suspensión de esporas, las esporas se diluyen con agua que contiene emulsionante hasta la concentración deseada.

- 15 Las hojas de repollo (*Brassica oleracea*) se tratan mediante rociado con la preparación del compuesto activo de la concentración deseada y se infestan con larvas del escarabajo mostaza (*Phaedon cochleariae*) siempre que las hojas aún estén húmedas.

Después del período de tiempo especificado, se determina la mortalidad en %. 100 % significa que se ha matado a todas las larvas de escarabajo; 0 % significa que no se ha matado a ninguna de las larvas de escarabajo. Los valores de mortalidad así determinados se recalculan utilizando la fórmula de Colby.

La siguiente combinación de compuesto y agente biológico mostró un efecto sinérgico de acuerdo con la invención:

20

Tabla 2-1: *Phaedon cochleariae* larvae - Prueba

Principio activo/agente de control biológico	Concentración g pa/ha	Mortalidad en % después de 2 <sup>d</sup>
Compuesto (1-3)	60 g pa/ha	20
cepa NB 176 de <i>Bacillus thuringiensis subsp. tenebrionis</i> , esporas	150 g de preparación de esporas/ha ( $\approx 1,5 \times 10^9$ esporas/ha)	0
Compuesto (1-3) + <i>B. thuringiensis subsp. tenebrionis</i>	60+ 150	obs.* <u>45</u> cal.** <u>20</u>

**Phaedon cochleariae larvae - aplicación por rociado**

Disolvente: 78,0 partes en peso de acetona  
1,5 Partes en peso de dimetilformamida  
Emulsionante: 0,5 partes en peso de alquilarilpoliglicoléter

Para producir una preparación adecuada de compuesto activo, 1 parte en peso de principio activo se mezcla con la cantidad indicada de disolvente y emulsionante, y el concentrado se diluye con agua que contiene emulsionante hasta la concentración deseada. Para producir una preparación adecuada de una suspensión biológica, las células,

virus o esporas se diluyen con agua que contiene emulsionante hasta la concentración deseada.

Los discos de hojas de col china (*Brassica pekinensis*) se pulverizan con una preparación del principio activo de la concentración deseada. Una vez secos, los discos de las hojas se infestan con larvas de escarabajo de la mostaza (*Phaedon cochleariae*).

- 5 Después del período de tiempo especificado, se determina la mortalidad en %. 100 % significa que se ha matado a todas las larvas de escarabajo; 0 % significa que no se ha matado a ninguna de las larvas de escarabajo. Los valores de mortalidad así determinados se recalculan utilizando la fórmula de Colby.

Las siguientes combinaciones de compuesto y agente biológico mostraron un efecto sinérgico de acuerdo con la invención:

10

**Tabla 2-2: *Phaedon cochleariae* larvae - Prueba**

Principio activo/agente de control biológico	Concentración g pa/ha	Mortalidad en % después de 6 <sup>d</sup>
Compuesto (I-3)	100 g pa/ha	0
cepa GB03 de <i>Bacillus subtilis</i> (ATCC SD-1397)	2000 g de preparación de esporas/ha ( $\approx 3 \times 10^{12}$ esporas/ha)	0
Compuesto (I-3) + <i>Bacillus subtilis</i> GB03	100 + 2000	obs.* 33 cal.** 0
cepa FZB 42 de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (DSM 23117)	2000 g de preparación de esporas/ha ( $\approx 5 \times 10^{13}$ esporas/ha)	0
Compuesto (I-3) + FZB 42 de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	100 + 2000	obs.* 50 cal.** 0
cepa NRRL Y-30752 de <i>Metschnikowia fructicola</i> , células de levadura	1000 g de preparación de esporas/ha ( $\approx 2 \times 10^{13}$ células/ha)	0
Compuesto (I-3) + <i>Metschnikowia fructicola</i>	100 + 1000	obs.* 33 cal.** 0
Virus de la granulosis de <i>Cydia pomonella</i> (CpGV)	1000 g de preparación de esporas/ha	0
Compuesto (I-3) + Virus CpGV	100 + 1000	obs.* 67 cal.** 0
cepa F52 de <i>Metarhizium anisopliae</i> (DSM3884)	100 g de preparación de esporas/ha ( $\approx 9 \times 10^{10}$ esporas/ha)	0
Compuesto (I-3) + <i>Metarhizium anisopliae</i> F52	100 + 100	obs.* 67 cal.** 0

\* obs. = eficacia insecticida observada, \*\* cal. = eficacia calculada con la fórmula de Colby

**Ejemplo 3:**

**Prueba de *Diabrotica balteata*/larvas - aplicación en el suelo**

Disolvente: 7 Partes en peso de dimetilformamida  
Emulsionante: 2 partes en peso de alquilarilpoliglicoléter

Para producir una preparación adecuada de compuesto activo, 1 parte en peso de principio activo se mezcla con la cantidad indicada de disolvente y emulsionante, y el concentrado se diluye con agua que contiene emulsionante hasta la concentración deseada. Para producir una preparación adecuada de una suspensión de esporas, las esporas se diluyen con agua que contiene emulsionante hasta la concentración deseada.

15

La preparación que contiene el principio activo se mezcla completamente en el suelo. La concentración indicada se basa en la cantidad de principio activo por unidad de volumen de suelo (mg/l = ppm). El suelo tratado se rellena en macetas y se siembra con 5 semillas de maíz por maceta. 3 días después de la siembra, se colocan larvas del escarabajo del pepino (*Diabrotica balteata*) en el suelo.

20

Después del período de tiempo deseado, se determina el nivel de actividad expresado en %. El nivel de actividad se calcula sobre la base del número de plantas de maíz que han germinado con éxito. Los valores de eficacia determinados se recalculan utilizando la fórmula de Colby.

La siguiente combinación de compuesto y agente biológico mostró un efecto sinérgico de acuerdo con la invención:

**Tabla 3: Diabrotica balteata larvas - Prueba**

Principio activo/agente de control biológico	Concentración g pa/ha	Eficacia en % tras 5 <sup>d</sup>
Compuesto (1-3)	60 g pa/ha	75
cepa F52 de <i>Metarhizium anisopliae</i> (DSM3884)	2500 g de preparación de esporas/ha ( $\approx 2,25 \times 10^{12}$ esporas)	0
Compuesto (1-3) + <i>Metarhizium anisopliae</i> F52	60 + 2500	obs.* 90 cal.** 75
* obs. = eficacia insecticida observada; ** cal. = eficacia calculada con la fórmula de Colby		

**Ejemplo 4**

**Tratamiento de semillas - prueba de germinación de soja**

- 5 Las semillas de soja (*Glycine max*) se trataron mezclándolas con la cantidad deseada de compuesto activo y esporas y agua. Después de secarse, se sembraron 25 semillas en cada maceta llena de marga arenosa.

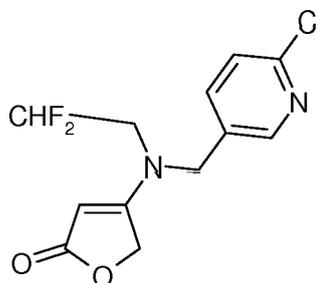
Después de 4 días se determinó el nivel de actividad expresado en %. El nivel de actividad se calculó sobre la base del número de plantas de soja que han germinado con éxito.

- 10 La siguiente combinación de compuesto y agente biológico mostró un efecto de germinación superior en comparación con los tratamientos individuales y el control:

Principio activo/agente de control biológico	Concentración g pa/kg semillas	Germinación en % en relación el control sin tratar Evaluación tras 4 <sup>d</sup>
Control (semillas sin tratamiento)		100
Compuesto (1-3)	0,3 g pa/ha	72,73
cepa FZB 42 de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> (DSM23117)	0,15 g de preparación de esporas/ha ( $\approx 3,75 \times 10^9$ esporas)	90,91
Compuesto (1-3) + FZB 42 de <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	0,3 + 0,15	105,45

## REIVINDICACIONES

1. Una combinación que comprende un compuesto de enamino-carbonilo de fórmula (I-3):



(I-3)

- 5
- y al menos un agente de control biológico seleccionado de Bacterias del subgrupo (3a) que consiste en *B. subtilis* y *B. amyloliquifaciens*, y el subgrupo (3b) que consiste en *B. thuringiensis*, hongos o levaduras seleccionados del grupo que consiste en *Metschnikowia fructicola*, *Metarhizium anisopliae* y *Paecilomyces lilacinus*, y el virus de la *granulosis Cydia pomonella*.
- 10 2. Un uso de un compuesto de enamino-carbonilo (I-3) en combinación con al menos un agente de control biológico como se define en la reivindicación 1, opcionalmente en presencia de inoculantes, para reducir el daño general de las plantas y sus partes, así como las pérdidas en las frutas o hortalizas cosechadas causadas por insectos, ácaros, nematodos y fitopatógenos.
- 15 3. El uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la parte de la planta es una semilla o una planta que emerge de la semilla.
4. El uso de acuerdo con la reivindicación 3, en la que la semilla es de una planta convencional o transgénica.
5. El uso de acuerdo con la reivindicación 3 o 4 en el que la planta es un cultivo hortícola seleccionado de zanahorias, calabaza, calabacita, calabacín, patata, maíz dulce, cebollas, plantas ornamentales, hierbas medicinales, hierbas culinarias, tomates, espinaca, pimiento, melón, lechuga, pepino, apio, remolachas, col, coliflor, brécol, coles de Bruselas, colirrábano, col, rábano, nabicol, nabo, espárragos, judías, guisante, manzanas, frambuesa, fresa, banana, mango, uvas, melocotones, peras, guayaba, piña, granada, ajo, cápsicum, chili, rábano, carambola, tapioca, nueces, limón, mandarina, mango, champiñón, aceituna, naranja, papaya, pimentón, fruta de la pasión, cacahuetes, nueces de pecana, ciruela, pistachos, caqui, toronja (pomelo), berenjena, endibia, arándano rojo, grosella espinosa, avellanas, kiwi, almendras, amaranto, melocotón, alcachofa, aguacate, zarzamora, anacardos, cereza, clementina, coco y melones cantaloup.
- 20
- 25 6. El uso de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, en el que la planta es un cultivo de acre amplio seleccionado de algodón, maíz, soja, cereales, canola, colza oleaginosa, caña de azúcar y arroz.
7. Un procedimiento para reducir el daño general de las plantas y partes de la planta, así como las pérdidas en las frutas o hortalizas cosechadas causadas por insectos ácaros, nematodos y/o fitopatógenos que comprenden la etapa de aplicar simultánea o secuencialmente un compuesto (I-3) como se define en la reivindicación 1 y al menos un agente de control biológico como se define en la reivindicación 1 y, opcionalmente, al menos un inoculante en la planta, partes de plantas, frutas u hortalizas recogidas.
- 30
8. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la parte de la planta es una semilla o una planta que emerge de la semilla.
- 35 9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en la que la semilla es de una planta convencional o transgénica.
10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, en el que la planta es un cultivo hortícola seleccionado de zanahorias, calabaza, calabacita, calabacín, patata, maíz dulce, cebollas, plantas ornamentales, hierbas medicinales, hierbas culinarias, tomates, espinaca, pimiento, melón, lechuga, pepino, apio, remolachas, col, coliflor, brécol, coles de Bruselas, colinabo, col, rábano, nabicol, nabo, espárragos, judías, guisante, manzanas, frambuesa, fresa, banana, mango, uvas, melocotones, peras, guayaba, piña, granada, ajo, cápsicum, chile, rábano, carambola, tapioca, nueces, limón, mandarina, mango, champiñón, aceituna, naranja, papaya, pimentón, fruta de la pasión, cacahuetes, nueces de pecana, ciruela, pistachos, caqui, toronja (pomelo), berenjena, endibia, arándano rojo, grosella espinosa, avellanas, kiwi, almendras, amaranto, melocotón, alcachofa, aguacate, zarzamora, anacardos, cereza, clementina, coco y melones cantaloup.
- 40
- 45

11. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, en el que la planta es un cultivo de acre amplio seleccionado de algodón, maíz, soja, cereales, canola, colza oleaginosa, caña de azúcar y arroz.

12. Una formulación que comprende un compuesto de fórmula (I-3) y al menos un agente de control biológico como se define en la reivindicación 1.

Figura 1: Genealogía de las bacterias del grupo 1 conforme a Ash y col., 1991

