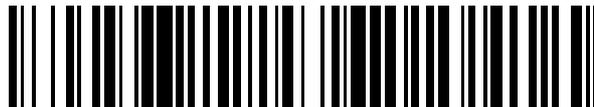


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 719 689**

51 Int. Cl.:

C12P 1/02 (2006.01)

C12P 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.11.2014 PCT/EP2014/074165**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.05.2015 WO15067800**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.11.2014 E 14796098 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2019 EP 3068890**

54 Título: **Cepas antifúngicas de penicillium, extrolitos fungicidas de las mismas y su uso**

30 Prioridad:

11.11.2013 EP 13192333

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

12.07.2019

73 Titular/es:

**BASF SE (100.0%)
Carl-Bosch-Strasse 38
67056 Ludwigshafen am Rhein, DE**

72 Inventor/es:

**SIEPE, ISABELLA;
JABS, THORSTEN;
SCHÜFFLER, ANJA;
THINES, ECKHARD;
ANKE, HEIDRUN;
OPATZ, TILL y
SANDJO, LOUIS PERGAUD**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 719 689 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

Cepas antifúngicas de penicillium, extrolitos fungicidas de las mismas y su uso

La presente invención se refiere a cepas fúngicas, que son un miembro del género *Penicillium* y tienen actividad antifúngica, y a extractos libres de células de dichas cepas, medios de cultivo obtenibles mediante el cultivo de dichas cepas y extrolitos producidas por dichas cepas, todas las cuales tienen actividad fungicida. La presente invención se refiere además a composiciones que comprenden dichas cepas, extractos, medios de cultivo y extrolitos, y sus usos en el campo agroquímico y en el campo del control de hongos fitopatogénicos en particular.

Antecedentes de la invención

La naturaleza todavía representa la fuente más rica de compuestos bioactivos que pueden ser atractivos para la medicina, así como para la ciencia de los cultivos. En ambas áreas, el desarrollo omnipresente de las resistencias crea la necesidad de nuevos principios activos que solo pueden ser cubiertos parcialmente por la síntesis química.

El género *Penicillium* comprende más de 300 especies que producen una variedad de compuestos bioactivos. Los fármacos bien conocidos de este género son los antibióticos de penicilina producidos por *P. chrysogenum* y el metabolito antifúngico griseofulvina producido por *P. griseofulvum* y *P. patulum*, y varios otros metabolitos secundarios se han descrito a partir de especies de *Penicillium*.

Por ejemplo, *P. citrinum* es conocido por la producción del metabolito de micotoxina citrinina y el documento EP 0 052 366 describe productos de fermentación hipocolesterolémicos de *Penicillium citrinum* cepa ATCC 20606. Se encontró que *Penicillium* sp. FO-2295, un aislado de agua, produce una serie de compuestos anticoccidiales, designados como arohynapenes A y B [Masuma, et al., *Antibiot.* 1994, 47, 46-53], así como arohinapeno D [Tabata, et al., *J. Antibiot.*, 1995, 48, 83-84], pero se informó que estos compuestos no muestran actividad antimicrobiana in vitro a una concentración de 1 mg/ml contra una serie de bacterias y hongos. Además, se descubrió que el *Penicillium* sp. FO-1611, un aislado del suelo, produce una serie de compuestos anticoccidiales, designados como los hiapenos A, B y C [Tabata, et al., *J. Antibiot.*, 1993, 46, 1849-1853]. También se informó que estos hiapapenos muestran actividad antimicrobiana in vitro a una concentración de 1 mg/ml contra un número de bacterias y hongos, incluyendo *Pyricularia oryzae*, el anamorfo de *Magnaporthe oryzae*.

Los ácidos tanzawaicos A, B, C y D se han aislado del *Penicillium citrinum* obtenido del área de Tanzawa en Japón, y se encontró que los ácidos tanzawaicos A y B inhiben la producción de aniones superóxido en neutrófilos humanos [Kuramoto, et al., *Chem. Letón.* 1997, 26, 885-886.]. Se encontró que ninguno de los ácidos tanzawaicos A, B, C y D mostraran actividad anti-microtúbulos [Kobayashi, et al., *Tetrahedron* 59 (2003) 455-459]. Los ácidos tanzawaicos E y F se han aislado de un aislado de *Penicillium steckii* obtenido de un tunicado no identificado [Malmstrom, et al., *C. Phytochemistry* 2000, 54, 301-309]. Se han aislado ácidos tanzawaicos G y H a partir de un aislado de *Penicillium citrinum* obtenido de los tejidos del tallo interno de la planta marroquí *Ceratonia siqua* L. [El-Neketi et al., *Journal of natural products*, 76 (6), 1099-1104. doi: 10.1021/np4001366]. Sin embargo, ni los ácidos tanzawaicos G ni H se encontraron activos contra un número de bacterias a una concentración de 64 g/ml. Se obtuvo otra cepa de *Penicillium steckii* del ambiente salino de la planta de manglar *Avicennia marina* y se evaluó la actividad antifúngica en agar de dextrosa de patata contra patógeno muerta de la rosa [Sabat and Gupta, *African Journal of Microbiology Research* vol. 4 (3), pp. 126-135, 4 de febrero de 2010].

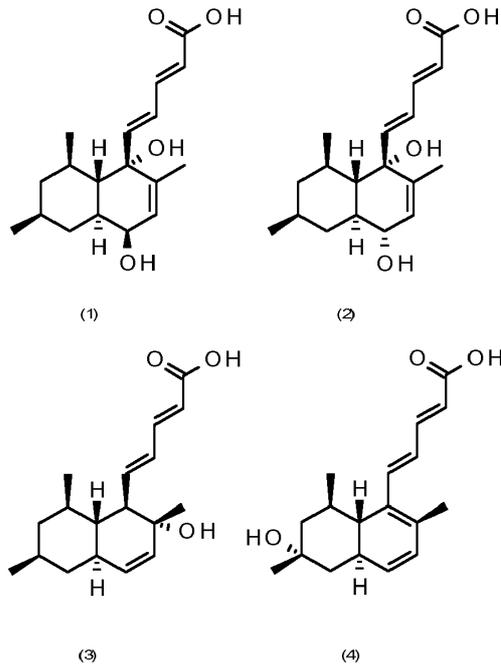
Aunque es bien conocido en el campo técnico del control de hongos fitopatogénicos para la aplicación de bioplaguicidas, tal como bacterias u hongos que no son perjudiciales para la planta o el cultivo que se va a tratar, existe la necesidad de obiplaguicidas adicionales.

Resumen de la invención

Dicha necesidad se satisface con la provisión de una novedosa cepa fúngica del género *Penicillium* aislada de una muestra de suelo. Se demostró que este hongo es efectivo para controlar hongos dañinos tales como *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea* y *Phytophthora infestans* en tomates, y el medio de cultivo de este hongo mostró actividad inhibitoria contra la germinación conidial del hongo de estallido del arroz *Magnaporthe oryzae*, la principal amenaza fúngica para arroz cultivado. El fraccionamiento guiado por bioactividad de los extractos orgánicos condujo al aislamiento de novedosos ácidos tanzawaicos, cuyas estructuras se explicaron mediante espectroscopia de RMN 2D y espectrometría de masas.

La presente invención se refiere así a la cepa IBWF104-06 de *Penicillium* depositada con DSMZ bajo el número de depósito DSM 27859. La presente invención se refiere además a extractos libres de células de la cepa de la invención y a medios de cultivo obtenibles mediante el cultivo de la cepa de la invención en un medio de cultivo y separando el medio del caldo de cultivo.

La presente invención se refiere además a los ácidos tanzawaicos de fórmula (1), (2), (3) y (4):



5 y las sales agrícolamente aceptables de los mismos, y a los métodos para preparar los ácidos tanzawaicos de la invención, cuyo método comprende cultivar la cepa de la invención y aislar dichos ácidos tanzawaicos del caldo de cultivo.

10 La presente invención se refiere además a composiciones que comprenden la cepa, extractos libres de células, medios de cultivo y ácidos tanzawaicos y sales de la invención, respectivamente, así como a su uso para controlar o suprimir patógenos de plantas o prevenir la infección de patógenos de plantas, y para métodos correspondientes que comprenden tratar los patógenos, su hábitat o los materiales o plantas a proteger contra el ataque de patógenos, o el

15 Se divulgan realizaciones adicionales de la invención en las reivindicaciones y figuras y en la siguiente descripción detallada de la invención.

Breve descripción de los dibujos:

15 La Figura 1 muestra la secuencia ITS de la cepa IBWF104-06 de *Penicillium steckii* (SEQ ID NO: 1).

Figure 1 shows the ITS sequence of *Penicillium steckii* strain IBWF104-06 (SEQ ID NO:1).

Descripción detallada de la invención:

La invención se refiere a la cepa IBWF104-06. Esta cepa se depositó bajo el tratado de Budapest con DSMZ el 9 de octubre de 2013 y se le asignó el número de depósito DSM 27859.

20 Se determinó que la cepa IBWF104-06 pertenece al género *Penicillium* basándose en observaciones morfológicas que son consistentes con que la cepa IBWF104-06 es una cepa de *Penicillium steckii* (véase Houbraken, et al., *Fungal Diversity* (2010) 44:117-133). Esto se confirma por su secuencia ITS que tiene un alto grado de identidad con otras cepas de *Penicillium steckii*, tal como la cepa CBS 122389 de *Penicillium steckii*, la cepa CBS 122388 de *Penicillium steckii* y la cepa CBS 122390 de *Penicillium steckii*. El Espaciador Transcrito Interno (ITS) se refiere a una pieza de

25 ARN no funcional situada entre los ARN ribosómicos estructurales (ARNr) en un transcrito precursor común y la comparación de secuencias de la región ITS se usa ampliamente en taxonomía y filogenia molecular para dilucidar las relaciones entre las especies congéneras y los géneros estrechamente relacionados.

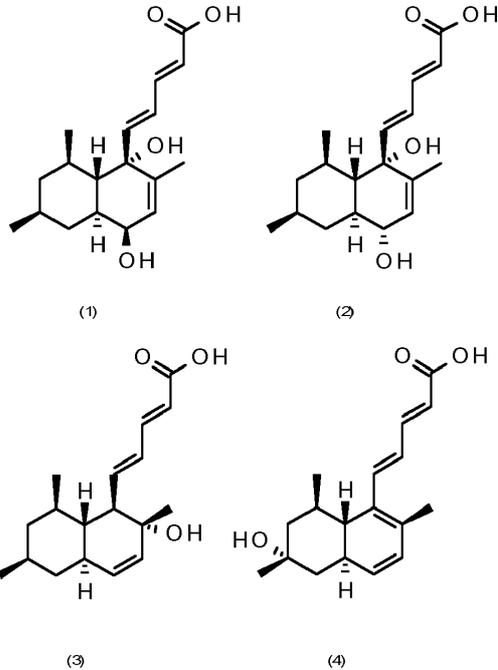
30 Se determinó además que la cepa IBWF104-06 tiene una potente actividad antifúngica. En particular, se encontró que era efectiva contra la infestación con patógenos de plantas, incluyendo *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria solani*.

La cepa IBWF104-06 se determinó además para producir ciertos extrolitos.

El término "extrolito" se refiere a los metabolitos secundarios producidos por un microorganismo (tal como hongos y bacterias, en particular las cepas de la invención) que tiene actividad pesticida o mejora el crecimiento de las plantas,

la eficiencia del uso del agua de la planta, la salud de la planta, la apariencia de la planta, o la población de microorganismos benéficos en el suelo alrededor de la actividad de la planta.

Los extrolitos producidos por la cepa IBWF104-06 incluyen los siguientes ácidos tanzawaicos de fórmula (1), (2), (3) y (4):



5

Los extrolitos producidos por la cepa IBWF104-06 incluyen además arohynapene A, arohynapene B, ácido tanzawaico A, y ácido tanzawaico E.

10

Además de la cepa IBWF104-06, la divulgación describe cualquier cepa de *Penicillium*, ya sea derivada físicamente del depósito original de la cepa IBWF104-06 o independientemente aislada, siempre que conserven al menos una de las características de identificación de la cepa IBWF104-06 de *Penicillium* depositada. Tales cepas de *Penicillium* incluyen cualquier progenie de la cepa IBWF104-06, incluyendo mutantes de dicha cepa.

15

Las cepas mutantes de la cepa IBWF104-06 de *Penicillium* se pueden obtener por métodos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, tales mutantes se pueden obtener aplicando un agente químico mutagénico, tal como la N-metilnitrosoguanidina, rayos X o radiación UV. Después de dicho tratamiento, se puede realizar un cribado de cepas mutantes que muestre las características deseadas. Por lo tanto, el término mutante pretende designar una cepa de *Penicillium* obtenida por selección directa de mutantes, pero también incluye cepas de *Penicillium* que han sido mutagenizadas o manipuladas de otra manera (por ejemplo, a través de la introducción de un plásmido). Por consiguiente, tanto los mutantes de origen natural como los inducidos artificialmente se describen en el presente documento.

20

En particular, las cepas de *Penicillium* se caracterizan porque son capaces de retener al menos una de las características de identificación, cuando se cultivan entre aproximadamente 20 y aproximadamente 27 °C en:

Medio YMG (4 g/l de extracto de levadura, 10 g/l de extracto de malta, 10 g/l de glucosa, pH 5.5) y/o

Medio YM (4 g/l de extracto de levadura, 10 g/l de extracto de malta, 4 g/l de glucosa, pH 5.5) y/o

25

Medio DM (40 g/l de extracto de malta, pH 5.5) y/o

Medio PDA (24 g/l de caldo de dextrosa de patata Difco).

Las cepas de *Penicillium* son preferiblemente capaces de retener al menos una de las características de identificación, cuando se cultivan entre aproximadamente 20 y aproximadamente 27 °C en todos dichos medios.

Las cepas son en particular cepas de *Penicillium steckii*.

30

De acuerdo con un aspecto, una cepa de *Penicillium steckii* puede ser una cuya secuencia ITS tenga al menos un 95%, preferiblemente al menos un 98% y en particular al menos un 99% de identidad de secuencia de nucleótidos con la secuencia ITS de la cepa IBWF104-06, es decir, SEQ ID NO: 1.

De acuerdo con un aspecto adicional, una cepa de *Penicillium steckii* puede ser una que tenga las siguientes características morfológicas:

Sin crecimiento en CYA a 37 °C, colores inversos en CYA en tonos crema (crema, crema pálida, crema amarilla o crema marrón) y conidios ampliamente elipsoidales,

5 opcionalmente en combinación con una o más (en particular todas) de las siguientes características morfológicas:

Diámetro de la colonia, 7 días, en mm: CYA 24 - 32; MEA 21-30; YES 29 - 40;

Esporulación moderada o buena en CYA con conidios de color verde grisáceo, ausencia de pigmentos solubles, reverso en tonos de crema;

10 Esporulación de moderada a buena en YES, conidios gris o verde opaco, amarillo claro inverso, ausencia de pigmento soluble;

Colonias en MEA gris verde o verde opaco;

No hay reacción con la prueba de Ehrlich;

Conidióforos de hifas superficiales, biverticilados simétricamente;

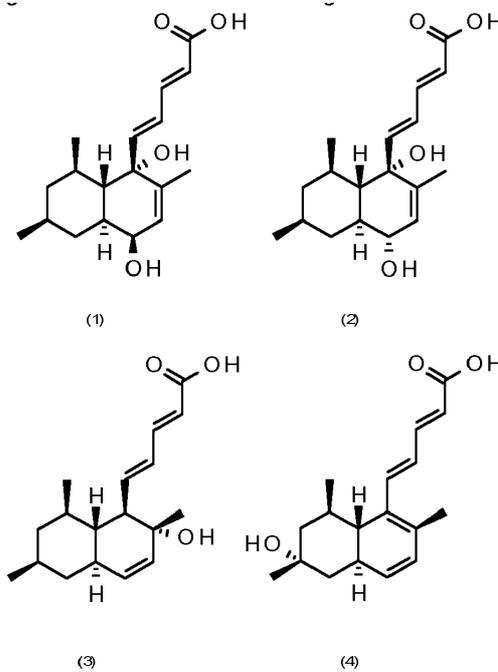
Métula 13 - 18 x 2.1 - 3.3 µm;

15 Phialides ampulliform, 7 - 10 x 2.0 - 3.0 µm;

Conidios de paredes lisas, ampliamente elipsoidales, 2.0 - 3.1 x 2.0 - 2.6 µm.

20 "Identidad" entre dos secuencias de nucleótidos significa la identidad de los residuos en toda la longitud de las secuencias alineadas, tal como, por ejemplo, la identidad calculada (para secuencias bastante similares) con la ayuda del programa BioEdit Versión 7.2.2 (Hall, TA 1999. BioEdit: un editor de alineación de secuencias biológicas y un programa de análisis fáciles de usar para Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41:95-98.) usando parámetros predeterminados para "alineación por pares (alineación GLOBAL óptima)".

Una característica identificativa de la cepa IBWF104-06 de *Penicillium* depositada es que es capaz de producir al menos uno de los siguientes ácidos tanzawaicos:



25

o una sal agrícolamente aceptable de los mismos.

Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto de la invención, la cepa *Penicillium* de la invención es capaz de producir uno o más de dichos ácidos tanzawaicos, preferiblemente al menos ácido tanzawaico de fórmula (3) o ácido tanzawaico de fórmula (4), más preferiblemente al menos tanto del ácido tanzawaico de fórmula (3) como del ácido tanzawaico de fórmula (4), y particularmente de los cuatro ácidos tanzawaicos, o las sales respectivas de los mismos.

30

En particular, la cepa *Penicillium* de la invención se caracteriza porque son capaces de producir dichos ácidos tanzawaicos cuando se cultivan entre aproximadamente 20 y aproximadamente 27 °C en:

Medio YMG (4 g/l de extracto de levadura, 10 g/l de extracto de malta, 10 g/l de glucosa, pH 5.5) y/o

Medio YM (4 g/l de extracto de levadura, 10 g/l de extracto de malta, 4 g/l de glucosa, pH 5.5) y/o

5 Medio DM (40 g/l de extracto de malta, pH 5.5) y/o

Medio PDA (24 g/l caldo de dextrosa de patata Difco).

La cepa de *Penicillium* de la invención es preferiblemente capaz de producir dichos ácidos tanzawaicos entre aproximadamente 20 y aproximadamente 27 °C en todos dichos medios.

10 Otra característica de identificación de la cepa IBWF104-06 de *Penicillium* depositada es que es capaz de producir al menos un compuesto seleccionado del grupo que consiste en arohynapene A, arohynapene B, ácido tanzawaico A y ácido tanzawaico E, además de su capacidad de producir uno o más de los ácidos tanzawaicos de fórmula (1), (2), (3) y (4).

15 Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto adicional de la invención, la cepa de *Penicillium* de la invención es capaz de producir uno o más de los ácidos tanzawaicos de fórmula (1), (2), (3) y (4), o sus respectivas sales. como se divulga en el presente documento, y de producir al menos un compuesto seleccionado del grupo que consiste en arohinapeno A, arohinapeno B, ácido tanzawaico A y ácido tanzawaico E.

Una característica identificativa adicional de la cepa IBWF104-06 de *Penicillium* depositada es su actividad antifúngica. En particular, se encontró que es efectiva contra la infestación con patógenos de plantas, incluyendo *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria solani*. Es más efectiva contra la infestación con *Fusarium graminearum*.

20 Por lo tanto, de acuerdo con un aspecto adicional de la invención, la cepa *Penicillium* de la invención tiene actividad antifúngica, particularmente contra un patógeno vegetal seleccionado del grupo que consiste en *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria solani*. Más particularmente, la cepa de *Penicillium* de la invención tiene actividad antifúngica contra al menos dos o contra todos de dichos patógenos. La cepa *Penicillium* de la invención puede tener alternativamente o adicionalmente actividad antifúngica contra *Fusarium graminearum*.

25 La actividad antifúngica de las cepas de *Penicillium* contra patógenos de plantas se puede determinar en un ensayo de confrontación *in vitro* utilizando el patógeno de la planta deseada, en particular un hongo fitopatógeno tal como *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* o *Alternaria solani* como sigue:

30 El patógeno de la planta, en particular el hongo fitopatógeno, se cultiva en medio ISP2 que comprende por litro: 10 g de extracto de malta (Sigma Aldrich, 70167); 4 g de extracto de levadura Bacto (Becton Dickinson, 212750); 4 g de glucosa monohidrato (Sigma Aldrich, 16301); 20 g de agar (Becton Dickinson, 214510), pH de aproximadamente 7, Aqua bidest. Alternativamente, se usa medio V8 que comprende por litro: 200 ml de jugo vegetal, 3 g de carbonato de calcio (Merck Millipore, 1020660250); 30 g de agar (Becton Dickinson, 214510), pH 6,8, Aq. bidest. El medio ISP2 es particularmente útil si el hongo fitopatógeno es *Botrytis cinerea* o *Alternaria solani*. El medio V8 es particularmente útil si el hongo fitopatógeno es *Phytophthora infestans*.

35 Las cepas de *Penicillium* se inoculan por puntos en un lado de una placa de agar. En el centro de la placa se coloca un bloque de agar (aproximadamente 0.3 cm²) que contiene un patógeno fúngico de plantas en crecimiento activo. Después de incubar durante 7-14 días a aproximadamente 25 °C, se examina el crecimiento del patógeno de la planta, especialmente para las zonas de inhibición. De acuerdo con la invención, una cepa de *Penicillium* tiene actividad antifúngica si existe uno o más de los siguientes: (i) antibiosis (determinada al evaluar el diámetro de la zona libre de patógenos (zona de inhibición)); (ii) competencia (determinada mediante la comparación del diámetro del crecimiento del patógeno fúngico en las placas con la cepa en comparación con las placas de control) y/o (iii) micoparasitismo (interrumpida por la observación microscópica de que la cepa sobrecrece el patógeno fúngico y micoparásitos del patógeno).

Más específicamente, la presente invención se refiere a la cepa IBWF104-06 depositada.

45 De acuerdo con una realización de la invención, la cepa de la invención se proporciona en forma aislada o sustancialmente purificada.

50 Los términos "aislado" o "sustancialmente purificado" pretenden indicar que las cepas de la invención se han retirado de un entorno natural y se han aislado o separado, y están al menos 60% libres, preferiblemente al menos 75% libres, y más preferiblemente al menos 90% libres, incluso más preferiblemente al menos 95% libres, y lo más preferiblemente al menos 100% libre de otros componentes con los que estaban asociados de forma natural. Un aislado obtenido cultivando una única colonia microbiana es un ejemplo de una cepa aislada de la invención.

La cepa de la invención se puede proporcionar en cualquier estado fisiológico tal como activo o latente. Las cepas latentes pueden proporcionarse, por ejemplo, congeladas, secas o liofilizadas o parcialmente desecadas (los

procedimientos para producir organismos parcialmente desecados se dan en el documento WO 2008/002371) o en forma de esporas.

De acuerdo con una realización de la invención, la cepa de la invención se proporciona en forma de esporas, por ejemplo en forma de conidiosporas.

- 5 Las conidiosporas (también llamadas conidios) son esporas asexuales que se generan a través de la mitosis.

De acuerdo con una realización adicional de la invención, la cepa de la invención se proporciona como un cultivo de caldo completo que comprende una cepa de la invención. "Cultivo de caldo completo" se refiere a un cultivo líquido que contiene tanto células como medios. Un cultivo de caldo completo puede comprender la cepa en un medio de crecimiento sin aditivos o materiales adicionales o en combinación con mezclas de nutrientes adecuadas.

- 10 El cultivo es preferiblemente un cultivo aislado o sustancialmente purificado.

Un "cultivo aislado" o "cultivo sustancialmente purificado" se refiere a un cultivo de las cepas de la invención que no incluye cantidades significativas de otros materiales que normalmente se encuentran en el hábitat natural en el que crece la cepa y/o del cual la cepa normalmente se puede obtener. Tal "cultivo aislado" o "cultivo sustancialmente purificado" normalmente no incluye ningún otro microorganismo en cantidades suficientes para interferir con la replicación de la cepa de la invención. Sin embargo, los cultivos aislados de la invención se pueden combinar para preparar un cultivo mixto de las cepas de la invención y un biopesticida microbiano adicional.

- 15 La cepa de la invención se puede cultivar de forma continua o discontinua en el proceso por lotes o en el proceso alimentado por lotes o en los procesos alimentados por lotes repetidos. Una revisión de los métodos de cultivo conocidos se encontrará en el libro de texto de Chmiel (Bioprozesstechnik 1. Einführung in die Bioverfahrenstechnik (Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1991)) o en el libro de texto de Storhas (Bioreaktoren und periphere Einrichtungen (Vieweg Verlag, Braunschig/Wiesbaden, 1994)). El medio de cultivo que se va a utilizar debe satisfacer los requisitos de las cepas particulares de manera adecuada. Las descripciones de los medios de cultivo para diversos microorganismos se encuentran en el manual "Manual of Methods for General Bacteriology" de la American Society for Bacteriology (Washington D. C., USA, 1981). Estos medios de cultivo que pueden usarse de acuerdo con la invención generalmente comprenden una o más fuentes de carbono, fuentes de nitrógeno, sales inorgánicas, vitaminas y/o elementos traza. Las fuentes preferidas de carbono son los azúcares, tales como los mono, di o polisacáridos. Muy buenas fuentes de carbono son, por ejemplo, glucosa, fructosa, manosa, galactosa, ribosa, sorbosa, ribulosa, lactosa, maltosa, sacarosa, rafinosa, almidón o celulosa. Los azúcares también se pueden agregar a los medios a través de compuestos complejos, como la melaza u otros subproductos del refinado de azúcar. También puede ser ventajoso agregar mezclas de diversas fuentes de carbono. Otras posibles fuentes de carbono son los aceites y grasas tal como el aceite de soja, el aceite de girasol, el aceite de cacahuete y el aceite de coco, los ácidos grasos tal como el ácido palmítico, el ácido esteárico o el ácido linoleico, los alcoholes tal como el glicerol, el metanol o el etanol y los ácidos orgánicos tal como el ácido acético o ácido láctico. Las fuentes de nitrógeno suelen ser compuestos orgánicos o inorgánicos de nitrógeno o materiales que contienen estos compuestos. Ejemplos de fuentes de nitrógeno incluyen gas amoníaco o sales de amonio, tal como sulfato de amonio, cloruro de amonio, fosfato de amonio, carbonato de amonio o nitrato de amonio, nitratos, urea, aminoácidos o fuentes complejas de nitrógeno, tal como licor de maíz, harina de soja, proteína de soja, extracto de levadura, extracto de carne y otros. Las fuentes de nitrógeno se pueden utilizar por separado o como una mezcla. Los compuestos de sales inorgánicas que pueden estar presentes en los medios comprenden las sales de cloruro, fosfato o sulfato de calcio, magnesio, sodio, cobalto, molibdeno, potasio, manganeso, zinc, cobre y hierro. Como fuentes de azufre pueden usarse compuestos inorgánicos que contienen azufre, por ejemplo sulfatos, sulfitos, ditionitos, tetrationsatos, tiosulfatos, sulfuros, pero también compuestos orgánicos de azufre, tal como mercaptanos y tioles. Como fuentes de fósforo pueden usarse ácido fosfórico, dihidrogenofosfato de potasio o hidrogenofosfato dipotásico o las sales correspondientes que contienen sodio. Se pueden agregar agentes quelantes al medio para mantener los iones metálicos en solución. Los agentes quelantes especialmente adecuados comprenden dihidroxifenoles, tales como catecol o protococatechuate, o ácidos orgánicos, tales como ácido cítrico. Los medios de cultivo utilizados también pueden contener otros factores de crecimiento, tales como vitaminas o promotores del crecimiento, que incluyen, por ejemplo, biotina, riboflavina, tiamina, ácido fólico, ácido nicotínico, pantotenato y piridoxina. Los factores de crecimiento y las sales frecuentemente provienen de componentes complejos de los medios, tal como el extracto de levadura, la melaza, el licor de maíz y similares. Además, pueden añadirse precursores adecuados al medio de cultivo. La composición precisa de los compuestos en el medio depende en gran medida del experimento particular y debe decidirse individualmente para cada caso específico. La información sobre la optimización de los medios se puede encontrar en "Applied Microbiol. Physiology, A Practical Approach" (Publ. P.M. Rhodes, P.F. Stanbury, IRL Press (1997) p. 53-73, ISBN 0 19 963577 3). Los medios de cultivo también pueden obtenerse de proveedores comerciales, tal como el Estándar 1 (Merck) o BHI(Brain heart infusion, DIFCO) etc. Todos los componentes del medio se esterilizan, ya sea por calentamiento (20 min a 2.0 bar y 121 °C) o por filtración estéril. Los componentes pueden esterilizarse juntos o, si es necesario, por separado. Todos los componentes del medio pueden estar presentes al comienzo del crecimiento, u opcionalmente pueden agregarse de forma continua o mediante alimentación por lotes. La temperatura del cultivo del microorganismo respectivo está normalmente entre 20 °C y 35 °C, preferiblemente de 20 °C a 30 °C y se puede mantener constante o se puede variar durante el experimento. El valor de pH del medio debe estar en el rango de 5 a 7, preferiblemente alrededor de 5.5. El valor de pH para el crecimiento se puede controlar durante el crecimiento mediante la adición de

5 compuestos básicos como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, amoníaco o agua de amoniaco o compuestos ácidos tales como ácido fosfórico o ácido sulfúrico. Agentes antiespumantes, por ejemplo ésteres de poliglicol de ácido graso, se pueden utilizar para controlar la formación de espuma. Para mantener la estabilidad de los plásmidos, sustancias adecuadas con acción selectiva, por ejemplo antibióticos, se pueden añadir al medio. Oxígeno o mezclas de gases que contienen oxígeno, por ejemplo el aire ambiente, se alimenta en el cultivo con el fin de mantener las condiciones aeróbicas. La temperatura del cultivo es normalmente de 20 °C a 35 °C. El cultivo continúa hasta que se ha formado un máximo del producto deseado. Esto normalmente se logra dentro de 11 días a 13 días.

10 En particular, la cepa de la invención se puede cultivar en medios sólidos de malta al 2% durante 3-4 días a una temperatura de 20 a 30 °C. En cultivo líquido, se pueden producir condiosporas. En grandes cultivos líquidos, puede ser necesaria la aeración. Las células fúngicas (células vegetales y esporas) se pueden lavar y concentrar (por ejemplo, mediante centrifugación a temperatura ambiente durante aproximadamente 15 minutos a 7000 x g).

15 La invención también se refiere al medio de cultivo que puede obtenerse mediante el cultivo de las cepas de la invención en un medio de cultivo y medio de separación del caldo de cultivo, por ejemplo, el sobrenadante de un cultivo de caldo completo, es decir, el caldo líquido restante cuando se eliminan las células cultivadas en caldo por centrifugación, filtración, sedimentación u otros medios bien conocidos en la técnica.

Tal medio de cultivo contiene extrolitos pesticidas que son producidos por la cepa cultivada.

La invención también se refiere a extractos libres de células de las cepas de la invención.

20 El término "extracto libre de células" se refiere a un extracto de las células vegetativas, esporas y/o todo el caldo de cultivo de una cepa de la invención, que se puede obtener mediante métodos de ruptura celular conocidos en la técnica, tal como los métodos basados en solventes (por ejemplo, disolventes orgánicos tales como alcoholes a veces en combinación con sales adecuadas), métodos basados en la temperatura, aplicación de fuerzas de corte, ruptura de células con un ultrasonizador, ultrasonido de alta frecuencia, por alta presión, por ejemplo en una celda de presión francesa, por osmólisis, por la acción de detergentes, enzimas líticas, por medio de homogeneizadores o por una combinación de varios de los métodos enumerados. El extracto deseado puede concentrarse mediante técnicas de concentración convencionales tales como secado, evaporación, centrifugación o similares. Ciertas etapas de lavado que utilizan solventes orgánicos y/o medios a base de agua también se pueden aplicar al extracto crudo preferiblemente antes de su uso.

Tal extracto contiene extrolitos pesticidas producidos por la cepa cultivada.

30 Los extrolitos fungicidas que son específicos de las cepas de la invención pueden recuperarse de dicho medio o extracto de acuerdo con métodos convencionales, en particular cuando las cepas de la invención se han cultivado en medio YMG (extracto de levadura 4.0 g/L, extracto de malta 10 g/L, glucosa 10 g/L, con el valor de pH ajustado a 5.5 antes de someter a autoclave). Se pueden aplicar los mismos métodos a las cepas de la invención que se han cultivado en medio HA, medio DM, medio PDA o similares.

35 La metodología de aislamiento o purificación convencional conocida en la técnica incluye, pero no se limita a, tratamiento con una resina convencional (por ejemplo, resina de intercambio de aniones o cationes, resina de adsorción no iónica, etc.), tratamiento con un adsorbente convencional (por ejemplo, carbón activado, ácido silícico, sílica gel, celulosa, alúmina, etc.), alteración del pH, extracción con solvente (por ejemplo, con un solvente convencional tal como alcohol, acetato de etilo, hexano y similares), destilación, diálisis, filtración, concentración, cristalización, recristalización, ajuste de pH, liofilización y similares. Por ejemplo, el agente puede recuperarse de los medios de cultivo eliminando primero los microorganismos. El caldo restante se pasa luego a través o sobre una resina de intercambio catiónico para eliminar los cationes no deseados y luego a través o sobre una resina de intercambio aniónico para eliminar los aniones inorgánicos y ácidos orgánicos no deseados.

45 Los extrolitos pesticidas de las cepas de la invención se seleccionan en particular de los ácidos tanzawaicos de fórmula (1), (2), (3) y (4), que pueden extraerse y aislarse de cultivos de las cepas de la invención. Además, dichos ácidos tanzawaicos pueden sintetizarse, ya que el ácido tanzawaico A está sintéticamente disponible [Arimoto, et al., Tetrahedron Letters 39 (1998) 9513-9516].

50 La invención también se refiere a las sales agrícolamente aceptables, particularmente sales de adición de base de dichos ácidos tanzawaicos. Dichas sales se pueden obtener por métodos convencionales bien conocidos en la técnica, por ejemplo haciendo reaccionar los compuestos de la invención con una base adecuada para formar una sal de adición de base, o con un alcohol o amina adecuados para formar un éster o amida.

55 Los cationes adecuados para formar las sales de la invención son en particular los iones de los metales alcalinos, preferiblemente litio, sodio y potasio, de los metales alcalinotérreos, preferiblemente calcio, magnesio y bario, y de los metales de transición, preferiblemente manganeso, cobre, zinc y hierro, y también amonio (NH₄⁺) y amonio sustituido en el que uno a cuatro de los átomos de hidrógeno están reemplazados por alquilo C1-C4, hidroxialquilo C1-C4, alcoxi C1-C4, alcoxi C1-C4-C1 -C4-alquilo, hidroxialcoxi-C1-C4-alcoxi-C1-C4-alquilo, fenilo o bencilo. Los ejemplos incluyen los iones de los que se incluyen, los de amonio, los que se incluyen, los de metilamonio, los de dimetilamonio, los de diisopropilamonio, los de trimetilamonio, los de tetrametilamonio, los de los que se utilizan, los

Plantas que han sido modificadas por reproducción, mutagénesis o ingeniería genética, por ejemplo se han vuelto tolerantes a las aplicaciones de clases específicas de herbicidas, tales como los herbicidas auxina tales como el dicamba o 2,4-D; herbicidas blanqueadores tales como inhibidores de la hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD) o inhibidores de la fitoeno desaturasa (PDS); inhibidores de la acetolactato sintasa (ALS), tales como sulfonilureas o imidazolinonas; inhibidores de enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), tales como glifosato; inhibidores de la glutamina sintetasa (GS) tales como glufosinato; inhibidores de la protoporfirinógeno-IX oxidasa; inhibidores de la biosíntesis de lípidos, tales como inhibidores de acetil CoA carboxilasa (ACCCase); o los herbicidas oxinil (es decir, bromoxinil o ioxinil) como resultado de los métodos convencionales de reproducción o ingeniería genética. Adicionalmente, las plantas se han vuelto resistentes a múltiples clases de herbicidas a través de múltiples modificaciones genéticas, tales como la resistencia tanto al glifosato como al glufosinato o al glifosato y a un herbicida de otra clase tal como los inhibidores de la ALS, inhibidores de la HPPD, los herbicidas auxina o los inhibidores de la ACCasa. Estas tecnologías de resistencia a herbicidas son por ejemplo descritas en Pest Managem. Sci. 61, 2005, 246; 61, 2005, 258; 61, 2005, 277; 61, 2005, 269; 61, 2005, 286; 64, 2008, 326; 64, 2008, 332; Weed Sci. 57, 2009, 108; Austral. J. Agricult. Res. 58, 2007, 708; Science 316, 2006, 1185; y referencias citadas en los mismos. Varias plantas cultivadas se han vuelto tolerantes a los herbicidas por métodos convencionales de reproducción (mutagénesis), por ejemplo la colza de verano Clearfield® (Canola, BASF SE, Alemania) es tolerante a las imidazolinonas, por ejemplo Imazamox, o girasoles ExpressSun® (DuPont, EE. UU.) que son tolerantes a las sulfonilureas, por ejemplo tribenuron. Los métodos de ingeniería genética se han utilizado para producir plantas cultivadas tales como la soja, el algodón, el maíz, la remolacha y la colza, tolerantes a herbicidas como el glifosato y el glufosinato, algunos de los cuales están disponibles comercialmente bajo los nombres comerciales RoundupReady® (tolerante al glifosato, Monsanto, USA), Cultivance® (tolerante a la imidazolinona, BASF SE, Alemania) y LibertyLink® (tolerante al glufosinato, Bayer CropScience, Alemania).

Adicionalmente, también se cubren plantas mediante el uso de técnicas de ADN recombinante capaces de sintetizar una o más proteínas insecticidas, especialmente las conocidas del género bacteriano *Bacillus*, particularmente de *Bacillus thuringiensis*, tales como las endotoxinas, por ejemplo CryIA(b), CryIA(c), CryIF, CryIF(a2), CryIIA(b), CryIIIA, CryIIIB(b1) o Cry9c; proteínas insecticidas vegetativas (VIP), por ejemplo VIP1, VIP2, VIP3 o VIP3A; proteínas insecticidas de bacterias que colonizan nematodos, por ejemplo *Photorhabdus* spp. o *Xenorhabdus* spp.; toxinas producidas por animales, tales como toxinas de escorpión, toxinas arácnidas, toxinas de avispa u otras neurotoxinas específicas de insectos; toxinas producidas por hongos, tales como toxinas de estreptomicetos, lectinas de plantas, tales como lectinas de guisantes o de cebada; aglutininas; inhibidores de proteinasa, tales como inhibidores de tripsina, inhibidores de serina proteasa, inhibidores de patatina, cistatina o papaína; proteínas inactivadoras de ribosomas (RIP), tal como ricina, RIP de maíz, abrina, lufina, saporina o briodina; enzimas del metabolismo de los esteroides, tal como la 3-hidroxiesteroide oxidasa, ecdisteroide-IDP-glicosil-transferasa, colesterol oxidasa, inhibidores de la ecdisona o HMG-CoA-reductasa; bloqueadores de los canales iónicos, tal como los bloqueadores de los canales de sodio o calcio; hormona juvenil esterasa; receptores de hormonas diuréticas (receptores de helicoquinina); estilbena sintasa, bibencil sintasa, quitinasas o glucanasas. En el contexto de la presente invención, estas proteínas o toxinas insecticidas deben entenderse expresamente también como pre-toxinas, proteínas híbridas, proteínas truncadas o de otra manera modificadas. Las proteínas híbridas se caracterizan por una nueva combinación de dominios de proteínas (véase, por ejemplo, el documento WO 02/015701). Ejemplos adicionales de tales toxinas o plantas modificadas genéticamente capaces de sintetizar tales toxinas se divulgan, por ejemplo, en los documentos EP-A 374 753, WO 93/007278, WO 95/34656, EP-A 427 529, EP-A 451 878, WO 03/18810 y WO 03/52073.

Los métodos para producir tales plantas modificadas genéticamente son generalmente conocidos por el experto en la técnica y se describen, por ejemplo en las publicaciones mencionadas anteriormente. Estas proteínas insecticidas contenidas en las plantas modificadas genéticamente transmiten a las plantas que producen estas proteínas tolerancia a plagas dañinas de todos los grupos taxonómicos de artrópodos, especialmente a los escarabajos (Coeloptera), insectos de dos alas (Diptera) y polillas (Lepidoptera) y nematodos. (Nematoda). Las plantas modificadas genéticamente capaces de sintetizar una o más proteínas insecticidas son, por ejemplo, descritas en las publicaciones mencionadas anteriormente, y algunas de las cuales están disponibles comercialmente, tal como YieldGard® (cultivares de maíz que producen la toxina Cry1Ab), YieldGard® Plus (cultivares de maíz que producen las toxinas Cry1Ab y Cry3Bb1), Starlink® (cultivares de maíz que producen la Toxina Cry9c), Herculex® RW (cultivares de maíz que producen Cry34Ab1, Cry35Ab1 y la enzima fosfinotricina-N-acetiltransferasa [PAT]); NuCOTN® 33B (cultivares de algodón que producen la toxina Cry1Ac), Bollgard® I (cultivares de algodón que producen la toxina Cry1Ac), Bollgard® II (cultivares de algodón que producen las toxinas Cry1Ac y Cry2Ab2); VIPCOT® (cultivares de algodón que producen una toxina VIP); NewLeaf® (cultivares de patata que producen la toxina Cry3A); Bt-Xtra®, NatureGard®, KnockOut®, BiteGard®, Protecta®, Bt11 (por ejemplo, Agrisure® CB) y Bt176 de Syngenta Seeds SAS, Francia, (cultivares de maíz que producen la toxina Cry1Ab y la enzima PAT), MIR604 de Syngenta Seeds SAS, Francia (cultivares de maíz que producen una versión modificada de la toxina Cry3A, cf WO 03/018810), MON 863 de Monsanto Europe SA, Bélgica (cultivares de maíz que producen la toxina Cry3Bb1), IPC 531 de Monsanto Europe SA, Bélgica (cultivares de algodón que producen una versión modificada de la toxina Cry1Ac) y 1507 de Pioneer Overseas Corporation, Bélgica (cultivares de maíz que producen la toxina Cry1F y la enzima PAT).

Adicionalmente, las plantas también están cubiertas por el uso de técnicas de ADN recombinante capaces de sintetizar una o más proteínas para aumentar la resistencia o tolerancia de esas plantas a patógenos bacterianos, virales o fúngicos. Ejemplos de tales proteínas son las llamadas "proteínas relacionadas con la patogénesis" (proteínas PR,

véase, por ejemplo, EP-A 392 225), genes de resistencia a enfermedades de las plantas (por ejemplo, cultivares de patata, que expresan genes de resistencia que actúan contra *Phytophthora infestans* derivados de la patata silvestre mexicana *Solanum bulbocastanum*) o T4-lisozimo (por ejemplo, cultivares de patata capaces de sintetizar estas proteínas con mayor resistencia contra bacterias como *Erwinia amylovora*). Los métodos para producir tales plantas modificadas genéticamente son generalmente conocidos por el experto en la técnica y se describen, por ejemplo en las publicaciones mencionadas anteriormente.

Adicionalmente, las plantas también están cubiertas por el uso de técnicas de ADN recombinante capaces de sintetizar una o más proteínas para aumentar la productividad (por ejemplo, producción de biomasa, rendimiento de grano, contenido de almidón, contenido de aceite o proteína), tolerancia a la sequía, salinidad u otros factores ambientales que limitan el crecimiento o la tolerancia a plagas y patógenos fúngicos, bacterianos o virales de esas plantas.

Adicionalmente, también están cubiertas plantas que contienen mediante el uso de técnicas de ADN recombinante una cantidad modificada de sustancias de contenido o nuevas sustancias de contenido, específicamente para mejorar la nutrición humana o animal, por ejemplo cultivos oleaginosos que producen ácidos grasos omega-3 de cadena larga que promueven la salud o ácidos grasos omega-9 insaturados (por ejemplo, colza Nexera®, DOW Agro Sciences, Canadá).

Adicionalmente, también se cubren plantas que contienen mediante el uso de técnicas de ADN recombinante una cantidad modificada de sustancias de contenido o nuevas sustancias de contenido, específicamente para mejorar la producción de materia prima, por ejemplo patatas que producen mayores cantidades de amilopectina (por ejemplo, patata Amflora®, BASF SE, Alemania).

Las cepas, los extractos libres de células, los medios de cultivo, las extrolitos y las composiciones de la invención, respectivamente, son particularmente adecuadas para controlar las siguientes enfermedades de las plantas:

The strains, cell-free extracts, culture media, extrolites, and compositions of the invention, respectively, are particularly suitable for controlling the following plant diseases:

Albugo spp. (roya blanca) en plantas ornamentales, vegetales (por ejemplo, *A. candida*) y girasoles (por ejemplo, *A. tragopogonis*); *Alternaria* spp. (Mancha de la hoja de *Alternaria*) en vegetales, colza (*A. brassicola* o *brassicae*), remolacha azucarera (*A. tenuis*), frutas, arroz, frijoles de soja, patatas (por ejemplo, *A. solani* o *A. alternata*), tomates (por ejemplo, *A. solani* o *A. alternata*) y trigo; *Aphanomyces* spp. en remolacha azucarera y hortalizas; *Ascochyta* spp. en cereales y hortalizas, por ejemplo *A. tritici* (antracnosis) en trigo y *A. hordei* en cebada; *Bipolaris* y *Drechslera* spp. (teleomorfo: *Cochliobolus* spp.), por ejemplo Tizón de la hoja del sur (*D. maydis*) o tizón de la hoja del norte (*B. zeicola*) en el maíz, por ejemplo mancha de puntos (*B. sorokiniana*) en cereales y por ejemplo *B. oryzae* en arroz y grama; *Blumeria* (anteriormente *Erysiphe*) *graminis* (mildiú pulverulento) en cereales (por ejemplo, en trigo o cebada); *Botrytis cinerea* (teleomorfo: *Botryotinia fuckeliana*: moho gris) en frutas y bayas (por ejemplo, Fresas), hortalizas (por ejemplo lechuga, zanahorias, apio y coles), colza, flores, vides, plantas forestales y trigo; *Bremia lactucae* (mildiú veloso) en lechuga; *Ceratocystis* (sin. *Ophiostoma*) spp. (podredumbre o marchitamiento) en árboles de hoja ancha y árboles de hoja perenne, por ejemplo *C. ulmi* (enfermedad del olmo holandés) en olmos; *Cercospora* spp. (Manchas de la hoja de *Cercospora*) en el maíz (por ejemplo, Mancha de la hoja gris: *C. zea-maydis*), arroz, remolacha azucarera (por ejemplo, *C. beticola*), caña de azúcar, hortalizas, café, frijoles de soja (por ejemplo, *C. sojina* o *C. kikuchii*) y arroz; *Cladosporium* spp. en tomates (por ejemplo, *C. fulvum*: moho de la espiga) y cereales, por ejemplo *C. herbarum* (espiga negra) en el trigo; *Claviceps purpurea* (ergot) en cereales; *Cochliobolus* (anamorfo: helmintosporio de *Bipolaris*) spp. (manchas foliares) en maíz (*C. carbonum*), cereales (por ejemplo, *C. sativus*, anamorfo: *B. sorokiniana*) y arroz (por ejemplo, *C. miyabeanus*, anamorfo: *H. oryzae*); *Colletotrichum* (teleomorfo: *Glomerella*) spp. (antracnosis) en algodón (por ejemplo, *C. gossypii*), maíz (por ejemplo, *C. graminicola*: podredumbre del tallo de antracnosis), frutos suaves, patatas (por ejemplo, *C. coccodes*: punto negro), frijoles (por ejemplo, *C. lindemutianum*) y frijoles de soja (por ejemplo, *C. truncatum* o *C. gloeosporioides*); *Corticium* spp., por ejemplo *C. sasakii* (tizón de la vaina) sobre el arroz; *Corinespora cassicola* (manchas foliares) en soja y ornamentales; *Cicloconium* spp., por ejemplo *C. oleaginum* en árboles de oliva; *Cylindrocarpon* spp. (por ejemplo, cancro de árboles frutales o declive de la vid joven, teleomorfo: *Nectria* o *Neonectria* spp.) en frutales, vides (por ejemplo, *C. liriiodendri*, teleomorfo: *Neonectria liriiodendri*: Enfermedad del pie negro) y plantas ornamentales; *Dematophora* (teleomorfo: *Rosellinia*) *necatrix* (podredumbre de la raíz y el tallo) en la soja; *Diaporthe* spp., por ejemplo *D. phaseolorum* (podrición del pie) en soja; *Drechslera* (sin. *Helminthosporium*, teleomorph: *Pirenophora*) spp. en el maíz, cereales, tales como la cebada (por ejemplo, *D. teres*, manchas en red) y el trigo (por ejemplo, *D. tritici-repentis*: manchas color bronce), arroz y césped; *Esca* (dieback, apoplejía) en vides, causada por *Formitiporia* (sin. *Phellinus*) *punctata*, *F. mediterranea*, *Phaeoconiella chlamydospora* (anteriormente *Phaeoacremonium chlamydosporum*), *Phaeoacremonium aleophilum* o *Botryosphaeria derusa*; *Elsinoe* spp. en frutos de pepita (*E. piri*), frutos suaves (*E. veneta*: antracnosis) y enredaderas (*E. ampelina*: antracnosis); *Etyloma oryzae* (tizón de hoja) en arroz; *Epicoccum* spp. (moho negro) en el trigo; *Erysiphe* spp. (mildiú pulverulento) en remolacha azucarera (*E. betae*), hortalizas (por ejemplo, *E. pisi*), tales como cucurbitáceas (por ejemplo, *E. cichoracearum*), coles, colza (por ejemplo, *E. cruciferarum*); *Eutypa lata* (*Eutypa canker* o marchitamiento, anamorfo: *Cytosporina lata*, sin. *Libertella blepharis*) en árboles frutales, vides y bosques ornamentales; *Exserohilum* (sin. *Helminthosporium*) spp. en maíz (por ejemplo, *E. turcicum*); *Fusarium* (teleomorfo: *Gibberella*) spp. (marchitamiento, podredumbre de la raíz o del tallo) en diversas plantas, tales como *F. graminearum* o *F. culmorum* (podrición de la raíz, costra o tizón de la cabeza) en cereales (por ejemplo, trigo o cebada), *F. oxysporum* en tomates,

F. solani (f. lycines ahora sin. F. virguliforme) y F. tucumaniae y F. brasiliense causando el síndrome de muerte súbita en la soja, y F. verticillioides en el maíz; Gaeumannomyces graminis (take-all) en cereales (por ejemplo, trigo o cebada) y maíz; Gibberella spp. en cereales (por ejemplo, G. zeae) y arroz (por ejemplo, G. fujikuroi: enfermedad de Bakanae); Glomerella cingulata en vides, frutas de pepita y otras plantas y G. gossypii en algodón; complejo de tinción del grano en arroz; Guignardia bidwellii (podredumbre negra) en vides; Gymnosporangium spp. en plantas rosáceas y enebros, por ejemplo G. sabinae (roya) en las peras; Helminthosporium spp. (sin. Drechslera, teleomorph: Cochliobolus) en maíz, cereales y arroz; Hemileia spp., por ejemplo H. vastatrix (roya de la hoja de café) en el café; Isariopsis clavispora (sin. Cladosporium vitis) en vides; Macrophomina phaseolina (sin. Phaseoli) (podredumbre de raíz y tallo) en soja y algodón; Microdochium (sin. Fusarium) nivale (moho de la nieve rosa) en cereales (por ejemplo, trigo o cebada); Microsphaera diffusa (mildió pulverulento) en soja; Monilinia spp., por ejemplo M. laxa, M. fructicola y M. fructigena (tizón de la floración y la ramita, podredumbre parda) en frutas de hueso y otras plantas rosáceas; Mycosphaerella spp. en cereales, plátanos, frutos suaves y nueces molidas, tales como por ejemplo M. graminicola (anamorph: Septoria tritici, mancha Septoria) en trigo o M. fijiensis (enfermedad de Sigatoka negra) en plátanos; Peronospora spp. (mildió veloso) en repollo (por ejemplo, P. brassicae), colza (por ejemplo, P. parasitica), cebollas (por ejemplo, P. destructor), tabaco (P. tabacina) y frijoles de soja (por ejemplo, P. manshurica); Phakopsora pachyrhizi y P. meibomiae (roya de la soja) en la soja; Phialophora spp. por ejemplo en vides (por ejemplo, P. tracheiphila y P. tetraspora) y frijoles de soja (por ejemplo, P. gregata: podredumbre del tallo); Phoma lingam (podredumbre de la raíz y el tallo) en colza y repollo y P. betae (podredumbre de la raíz, mancha foliar y pudrición del pie) en remolacha azucarera; Phomopsis spp. en girasoles, vides (por ejemplo, P. viticola: lata y mancha foliar) y frijoles de soja (por ejemplo, pudrición del tallo: P. phaseoli, teleomorph: Diaporthe phaseolorum); Physoderma maydis (manchas marrones) en el maíz; Phytophthora spp. (marchitamiento, raíz, hoja, fruta y raíz del tallo) en diversas plantas, como paprika y cucurbitáceas (por ejemplo, P. capsici), frijoles de soja (por ejemplo, P. megasperma, sin. P. sojae), patatas y tomates (por ejemplo, P. infestans: tizón tardío) y árboles de hoja ancha (por ejemplo, P. ramorum: muerte repentina del roble); Plasmodiophora brassicae (raíz de club) en coles, coles, rábanos y otras plantas; Plasmopara spp., por ejemplo P. viticola (moho veloso) en vides y P. halstedii en girasoles; Podosphaera spp. (mildió pulverulento) en plantas rosáceas, lúpulo, pepita y frutos suaves, por ejemplo P. leucotricha en manzanas; Polymyxa spp., por ejemplo en cereales, tales como la cebada y el trigo (P. graminis) y la remolacha azucarera (P. betae) y, por lo tanto, transmiten enfermedades virales; Pseudocercospora herpotrichoides (mancha ocular, teleomorph: Tapesia yallundae) en cereales, por ejemplo trigo o cebada Pseudoperonospora (mildió veloso) en diversas plantas, por ejemplo P. cubensis en cucurbitáceas o P. humili en lúpulo; Pseudopezicula tracheiphila (enfermedad del fuego rojo o, rotbrenner, anamorph: Phialophora) en vides; Puccinia spp. (royas) en diversas plantas, por ejemplo P. triticina (roya marrón o de hoja), P. striiformis (raya o roya amarilla), P. hordei (roya enana), P. graminis (roya negra o de tallo) o P. recondita (roya marrón o de la hoja) en cereales, tales como por ejemplo trigo, cebada o centeno, P. kuehnii (roya naranja) en la caña de azúcar y P. asparagi en los espárragos; Pirenophora (anamorph: Drechslera) tritici-repentis (mancha canela) en trigo o P. teres (mancha en red) en cebada; Pircularia spp., por ejemplo P. oryzae (teleomorph: Magnaporthe grisea, explosión de arroz) en arroz y P. grisea en césped y cereales; Pythium spp. (pudredumbre del pie) en grama, arroz, maíz, trigo, algodón, colza, girasoles, soja, remolacha azucarera, hortalizas y otras plantas (por ejemplo, P. ultimum o P. aphanidermatum); Ramularia spp., por ejemplo R. collo-cygni (Manchas foliares de Ramularia, Manchas foliares fisiológicas) en cebada y R. beticola en remolacha azucarera; Rhizoctonia spp. en algodón, arroz, patatas, grama, maíz, colza, patatas, remolacha azucarera, hortalizas y otras plantas, por ejemplo R. solani (podredumbre de la raíz y el tallo) en la soja, R. solani (tizón de la vaina) en el arroz o R. cerealis (tizón de la manantial de Rhizoctonia) en el trigo o la cebada; Rhizopus stolonifer (moho negro, podredumbre blanda) en fresas, zanahorias, coles, enredaderas y tomates; Rhinchosporium secalis (escalda) en cebada, centeno y triticale; Sarocladium oryzae y S. attenuatum (podredumbre de la vaina) en arroz; Sclerotinia spp. (pudrición del tallo o moho blanco) en hortalizas y cultivos de campo, tales como colza, girasoles (por ejemplo, S. sclerotiorum) y frijoles de soja (por ejemplo, S. rolfsii o S. sclerotiorum); Septoria spp. en diversas plantas, por ejemplo S. glycines (mancha marrón) en semillas de soja, S. tritici (mancha Septoria) en trigo y S. (sin. Stagonospora) nodorum (mancha Stagonospora) en cereales; Uncinula (sin. Erysiphe) necator (mildió pulverulento, anamorph: Oidium tuckeri) en vides; Setosphaeria spp. (tizón de la hoja) en el maíz (por ejemplo, S. turcicum, sin. Helminthosporium turcicum) y césped; Sphaerotheca spp. (tizne) en maíz, (por ejemplo, S. reiliana: tizne de cabeza), sorgo y caña de azúcar; Sphaerotheca fuliginea (mildió pulverulento) en cucurbitáceas; Spongospora subterranea (costra en polvo) en patatas y, por lo tanto, transmite enfermedades virales; Stagonospora spp. en cereales, por ejemplo S. nodorum (Stagonospora blotch, teleomorph: Leptosphaeria [sin. Phaeosphaeria] nodorum) en el trigo; Sinchytrium endobioticum en patatas (enfermedad de la verruga de la patata); Taphrina spp., por ejemplo T. deformans (enfermedad de la curvatura de la hoja) en melocotones y T. pruni (bolsillo de ciruela) en ciruelas; Thielaviopsis spp. (podredumbre de la raíz negra) en tabaco, frutas pomáceas, verduras, soja y algodón, por ejemplo T. basicola (sin. Chalara elegans); Tilletia spp. (apestoso común o tizón hediondo) en los cereales, como por ejemplo T. tritici (sin. T. caries,apestoso del trigo) y T. controversa (apestoso enano) en trigo; Typhula incarnata (moho gris de la nieve) en cebada o trigo; Urocystis spp., por ejemplo U. occulta (apestoso del tallo) en centeno; Uromyces spp. (roya) en hortalizas, tal como frijoles (por ejemplo, U. appendiculatus, sin. U. phaseoli) y remolacha azucarera (por ejemplo, U. betae); Ustilago spp. (apestoso suelto) en cereales (por ejemplo, U. nuda y U. avenae), maíz (por ejemplo, U. maydis: maíz) y caña de azúcar; Venturia spp. (sarna) en manzanas (por ejemplo, V. inaequalis) y peras; y Verticillium spp. (marchitez) en diversas plantas, tales como frutas y ornamentales, vides, frutos suaves, hortalizas y cultivos de campo, por ejemplo V. dahliae en fresas, colza, patatas y tomates.

La cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo, los extrolitos y las composiciones de la invención, respectivamente, también son adecuados para controlar los hongos dañinos en la protección de productos almacenados o en la cosecha y en la protección de materiales.

5 Debe entenderse que el término "protección de materiales" denota la protección de materiales técnicos y no vivos, tales como adhesivos, pegamentos, madera, papel y cartón, textiles, cuero, dispersiones de pintura, plásticos, lubricantes colectores, fibras o tejidos, contra la infestación y destrucción por microorganismos nocivos, tal como hongos y bacterias. En cuanto a la protección de la madera y otros materiales, se presta especial atención a los siguientes hongos nocivos: ascomicetos tal como *Ophiostoma* spp., *Ceratocystis* spp., *Aureobasidium pullulans*, *Sclerophoma* spp., *Chaetomium* spp., *Humicola* spp., *Petriella* spp., *Trichurus* spp.; Basidiomicetos tal como *Coniophora* spp., *Coriolus* spp., *Gloeophyllum*spp., *Lentinus* spp., *Pleurotus* spp., *Poria* spp., *Serpula* spp. y *Tyromyces* spp., Deuteromicetos tal como *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Penicillium* spp., *Trichorma* spp., *Alternaria* spp., *Paecilomyces* spp. y *Zygomycetes* tal como *Mucorspp.*, y además, en la protección de los productos almacenados y la recolección, son dignos de mención los siguientes hongos de levadura: *Candida* spp. y *Saccharomyces cerevisae*.

15 El método de tratamiento de acuerdo con la invención también se puede usar en el campo de la protección de productos almacenados o cosecha contra el ataque de hongos y microorganismos. De acuerdo con la presente invención, se entiende que el término "productos almacenados" denota sustancias naturales de origen vegetal o animal y sus formas procesadas, que se han tomado del ciclo de vida natural y para las cuales se desea una protección a largo plazo. Los productos almacenados de origen vegetal, tales como plantas o partes de las mismas, por ejemplo, tallos, hojas, tubérculos, semillas, frutas o granos, pueden protegerse en estado recién cosechado o en forma procesada, como pre-secado, humedecido, triturado, molido, prensado o tostado, proceso que también se conoce como tratamiento poscosecha. También se incluye en la definición de productos almacenados la madera, ya sea en forma de madera en bruto, tal como madera de construcción, torres y barreras eléctricas, o en forma de artículos terminados, tal como muebles u objetos hechos de madera. Los productos almacenados de origen animal son pieles, cueros, pelajes, pelos y similares. Las combinaciones de acuerdo con la presente invención pueden evitar efectos desventajosos tales como decaimiento, decoloración o moho. Preferiblemente, se entiende que "productos almacenados" denota sustancias naturales de origen vegetal y sus formas procesadas, más preferiblemente frutos y sus formas procesadas, tales como pepitas, frutas de hueso, frutas suaves y cítricos y sus formas procesadas.

20 La cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo, los extrolitos y las composiciones de la invención, respectivamente, se pueden usar para mejorar la salud de una planta. La invención también se refiere a un método para mejorar la salud de la planta mediante el tratamiento de una planta, su material de propagación y/o el lugar donde la planta está creciendo o ha de crecer con una cantidad efectiva de la cepa, extractos libres de células, medios de cultivo, extrolitos, y composiciones.

25 Debe entenderse que el término "salud de la panta" denota una condición de la planta y/o sus productos que está determinada por varios indicadores solos o en combinación entre sí, tal como el rendimiento (por ejemplo, mayor biomasa y/o mayor contenido de ingredientes valiosos), vigor de la planta (por ejemplo, mejor crecimiento de la planta y/o hojas más verdes ("efecto de enverdecimiento"), calidad (por ejemplo, mejor contenido o composición de ciertos ingredientes) y tolerancia al estrés abiótico y/o biótico. Los indicadores identificados anteriormente para la condición de salud de una planta pueden ser interdependiente o puede resultar una de otra.

30 La cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo, los extrolitos y las composiciones de la invención, respectivamente, se emplean como tales o en forma de composiciones al tratar los hongos o las plantas, los materiales de propagación de plantas, tal como las semillas, el suelo, las superficies, materiales o cuartos que deben protegerse del ataque de hongos con una cantidad de sustancias activas con efectos fungicidas. La aplicación puede llevarse a cabo tanto antes como después de la infección de las plantas, materiales de propagación de plantas, tal como semillas, suelo, superficies, materiales o cuartos por los hongos.

35 El término "cantidad efectiva" denota una cantidad que es suficiente para controlar los hongos dañinos en las plantas cultivadas o en la protección de materiales y que no produce un daño sustancial a las plantas tratadas. Tal cantidad puede variar en un amplio rango y depende de diversos factores, tal como las especies de hongos que se van a controlar, la planta o material cultivado tratado, las condiciones climáticas y el ácido tanzawaico o la sal utilizados.

40 Los materiales de propagación de plantas se pueden tratar con la cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo, los extrolitos y las composiciones de la invención, respectivamente, de forma profiláctica, antes o después de la siembra o el trasplante.

La cepa de la invención se puede fórmular como un inoculante para una planta. El término "inoculante" significa una composición que incluye una cepa aislada de la invención y, opcionalmente, un vehículo, que puede incluir un medio biológicamente aceptable.

45 Tales inoculantes y otras composiciones adecuadas pueden prepararse como composiciones que comprenden, además de los ingredientes activos, al menos un agente auxiliar (ingrediente inerte) por medios habituales (véase, por ejemplo, H.D. Burges: *Formulation of Micobial Biopesticides*, Springer, 1998). Los tipos habituales adecuados de tales composiciones son suspensiones, polvos, pastas, gránulos, prensados, cápsulas y mezclas de los mismos.

- 5 Ejemplos de tipos de composición son suspensiones (por ejemplo, SC, OD, FS), cápsulas (por ejemplo, CS, ZC), pastas, pastillas, pulverizables humectables o polvos (por ejemplo, WP, SP, WS, DP, DS), prensados (por ejemplo, BR, TB), DT), gránulos (por ejemplo, WG, SG, GR, FG, GG, MG), artículos insecticidas (por ejemplo, LN), así como fórmulaciones en gel para el tratamiento de materiales de propagación de plantas tales como semillas (por ejemplo, GF). Aquí, se debe tener en cuenta que cada tipo de fórmula o selección del agente auxiliar no debe influir en la viabilidad del microorganismo durante el almacenamiento de la composición y cuando se aplica finalmente al suelo, planta o material de propagación de la planta. Las fórmulaciones adecuadas son, por ejemplo mencionadas en los documentos WO 2008/002371, US 6955,912, US 5,422,107.
- 10 Ejemplos de agentes auxiliares adecuados son los mencionados en el presente documento, en los que se debe tener cuidado de que la selección y las cantidades de tales auxiliares no influyan en la viabilidad de los pesticidas microbianos en la composición. Especialmente para bactericidas y solventes, se debe tener en cuenta la compatibilidad con el microorganismo respectivo del pesticida microbiano respectivo. Además, las composiciones con pesticidas microbianos pueden contener además estabilizadores o nutrientes y protectores contra los rayos UV. Los estabilizadores o nutrientes adecuados son, por ejemplo alfa-tocoferol, trehalosa, glutamato, sorbato de potasio, diversos azúcares como glucosa, sacarosa, lactosa y maltodextrina (H.D. Burges: Formulation of Microbial Biopesticides, Springer, 1998). Los protectores UV adecuados son, por ejemplo compuestos inorgánicos como el dióxido de titanio, óxido de zinc y pigmentos de óxido de hierro o compuestos orgánicos como las benzofenonas, benzotriazoles y feniltriazinas. Las composiciones comprenden opcionalmente de 0.1 a 80% de estabilizadores o nutrientes y de 0.1 a 10% de protectores UV, además de los agentes auxiliares mencionados en el presente documento para composiciones que comprenden extractos libres de células, medios de cultivo y extrolitos.
- 15 Para producir una fórmula seca, las células fúngicas, preferiblemente las esporas, pueden suspenderse en un vehículo seco adecuado (por ejemplo, arcilla). Para producir una fórmula líquida, las células, preferiblemente las esporas, pueden resuspenderse en un vehículo líquido adecuado (por ejemplo, a base de agua) a la densidad de esporas deseada. El número de esporas de densidad de esporas por ml se puede determinar identificando el número de unidades formadoras de colonias (CFU) en medio de agar, por ejemplo agar con dextrosa de patata después de la incubación durante varios días a temperatura ambiente °C.
- 20 Cuando se emplea la cepa de la invención en la protección de cultivos, las tasas de aplicación oscilan preferiblemente entre aproximadamente 1×10^6 y 5×10^{15} (o más) CFU/ha. Preferiblemente, la concentración de esporas es de aproximadamente 1×10^7 a aproximadamente 1×10^{11} CFU/ha.
- 25 Cuando la cepa de la invención se emplea en el tratamiento de semillas, las tasas de aplicación con respecto al material de propagación de plantas varían preferiblemente de aproximadamente 1×10^6 a 1×10^{12} (o más) CFU/semilla. Preferiblemente, la concentración es de aproximadamente 1×10^6 a aproximadamente 1×10^{11} CFU/semilla. Alternativamente, las tasas de aplicación con respecto al material de propagación de plantas varían preferiblemente de aproximadamente 1×10^7 a 1×10^{14} (o más) CFU por 100 kg de semilla, preferiblemente de 1×10^9 a aproximadamente 1×10^{11} CFU por 100 kg de semilla.
- 30 Los extractos libres de células, medios de cultivo y extrolitos de la invención pueden convertirse en tipos habituales de composiciones agroquímicas, por ejemplo soluciones, emulsiones, suspensiones, polvos, pulverizables, pastas, gránulos, prensados, cápsulas y mezclas de los mismos. Ejemplos de tipos de composición son suspensiones (por ejemplo, SC, OD, FS), concentrados emulsionables (por ejemplo, EC), emulsiones (por ejemplo, EW, EO, ES, ME), cápsulas (por ejemplo, CS, ZC), pastas, pastillas, polvos o polvos humectables (por ejemplo, WP, SP, WS, DP, DS), prensados (por ejemplo, BR, TB, DT), gránulos (por ejemplo, WG, SG, GR, FG, GG, MG), artículos insecticidas (por ejemplo, LN), así como fórmulaciones en gel para el tratamiento de materiales de propagación de plantas tales como semillas (por ejemplo, GF). Estos y otros tipos de composiciones se definen en el "Catalogue of pesticide formulation types and international coding system", Technical Monograph No. 2, 6th Ed. May 2008, CropLife International.
- 35 Las composiciones se preparan de una manera conocida, tal como se describe por Mollet y Grubemann, Formulation technology, Wiley VCH, Weinheim, 2001; o Knowles, New developments in crop protection product formulation, Agrow Reports DS243, T&F Informa, Londres, 2005.
- 40 Los agentes auxiliares adecuados son solventes, vehículos líquidos, vehículos o agentes de rellenos sólidos, surfactantes, dispersantes, emulsionantes, humectantes, adyuvantes, solubilizantes, mejoradores de la penetración, coloides protectores, agentes de adhesión, espesantes, humectantes, repelentes, atrayentes, estimulantes de alimentación, compatibilizadores, bactericidas, agentes anticongelantes, agentes antiespumantes, colorantes, agentes de pegajosidad y aglutinantes.
- 45 Los disolventes y vehículos líquidos adecuados son agua y disolventes orgánicos, tales como las fracciones de aceite mineral de punto de ebullición medio a alto, por ejemplo queroseno, aceite diesel; aceites de origen vegetal o animal; hidrocarburos alifáticos, cíclicos y aromáticos, por ejemplo tolueno, parafina, tetrahidronaftaleno, naftalenos alquilados; alcoholes, por ejemplo etanol, propanol, butanol, alcohol bencílico, ciclohexanol; glicoles; DMSO; cetonas, por ejemplo ciclohexanona; ésteres, por ejemplo lactatos, carbonatos, ésteres de ácidos grasos, gamma-butirolactona; ácidos grasos; fosfonatos; aminas amidas, por ejemplo N-metilpirrolidona, dimetilamidas de ácidos grasos; y mezclas de los mismos.
- 50
- 55

- 5 Los portadores sólidos o agentes de relleno adecuados son tierras minerales, por ejemplo silicatos, geles de sílice, talco, caolines, piedra caliza, cal, tiza, arcillas, dolomita, tierra de diatomeas, bentonita, sulfato de calcio, sulfato de magnesio, óxido de magnesio; polisacáridos, por ejemplo, celulosa, almidón; fertilizantes, por ejemplo sulfato de amonio, fosfato de amonio, nitrato de amonio, ureas; productos de origen vegetal, por ejemplo harina de cereal, harina de corteza de árbol, harina de madera, harina de cáscara de nuez y mezclas de los mismos.
- 10 Los surfactantes adecuados son compuestos con actividad de superficie, tales como surfactantes aniónicos, catiónicos, no iónicos y anfotéricos, polímeros de bloques, polielectrolitos y mezclas de los mismos. Tales surfactantes se pueden usar como emulsificantes, dispersantes, solubilizantes, humedecedores, mejoradores de la penetración, coloides protectores o adyuvantes. Ejemplos de surfactantes se enumeran en McCutcheon's, Vol.1: Emulsifiers & Detergents, McCutcheon's Directories, Glen Rock, USA, 2008 (International Ed. or North American Ed.).
- 15 Los surfactantes aniónicos adecuados son sales alcalinas, alcalinotérricas o de amonio de sulfonatos, sulfatos, fosfatos, carboxilatos y mezclas de los mismos. Ejemplos de sulfonatos son: alquilarilsulfonatos, difenilsulfonatos, sulfonatos de alfa-olefina, sulfonatos de lignina, sulfonatos de ácidos grasos y aceites, sulfonatos de alquilfenoles etoxilados, sulfonatos de arilfenoles alcoxilados, sulfonatos de naftalenos condensados, sulfonatos de dodecil y tridecibencenos, sulfonatos de naftalenos y alquilnaftalenos, sulfosuccinatos o sulfosuccinatos. Ejemplos de sulfatos son sulfatos de ácidos grasos y aceites, de alquilfenoles etoxilados, de alcoholes, de alcoholes etoxilados o de ésteres de ácidos grasos. Ejemplos de fosfatos son los ésteres de fosfato. Ejemplos de carboxilatos son carboxilatos de alquilo y alcohol carboxilado o etoxilatos de alquilfenol.
- 20 Los surfactantes no iónicos adecuados son alcoxilatos, amidas de ácidos grasos N-sustituídos, óxidos de amina, ésteres, surfactantes a base de azúcar, surfactantes poliméricos y mezclas de los mismos. Ejemplos de alcoxilatos son compuestos tales como alcoholes, alquilfenoles, aminas, amidas, arilfenoles, ácidos grasos o ésteres de ácidos grasos que han sido alcoxilados con 1 a 50 equivalentes. Se puede emplear óxido de etileno y/o óxido de propileno para la alcoxilación, preferiblemente óxido de etileno. Ejemplos de amidas de ácidos grasos N-sustituídos son glucamidas de ácidos grasos o alcanolamidas de ácidos grasos. Ejemplos de ésteres son ésteres de ácidos grasos, ésteres de glicerol o monoglicéridos. Ejemplos de surfactantes basados en azúcares son sorbitanos, sorbitanos etoxilados, ésteres de sacarosa y glucosa o alquilpoliglucósidos. Ejemplos de surfactantes poliméricos son los copolímeros de vinilpirrolidona, vinil-alcoholes o vinilacetato.
- 25 Los surfactantes catiónicos adecuados son surfactantes cuaternarios, por ejemplo compuestos de amonio cuaternario con uno o dos grupos hidrófobos, o sales de aminas primarias de cadena larga. Los surfactantes anfotéricos adecuados son alquilbetinas e imidazolininas. Los polímeros de bloque adecuados son polímeros de bloque del tipo A-B o A-B-A que comprenden bloques de óxido de polietileno y óxido de polipropileno, o del tipo A-B-C que comprenden alcohol, óxido de polietileno y óxido de polipropileno. Los polielectrolitos adecuados son poliácidos o polibases. Ejemplos de poliácidos son sales alcalinas de ácido poliacrílico o polímeros en peine poliácidos. Ejemplos de polibases son polivinilaminas o polietilenaminas.
- 30 Adyuvantes adecuados son compuestos, que tienen una despreciable o incluso ninguna actividad pesticida, y que mejoran el rendimiento biológico del extracto libre de células, medio de cultivo o extracto en el blanco. Algunos ejemplos son surfactantes, aceites minerales o vegetales y otros agentes auxiliares. Ejemplos adicionales se listan en Knowles, Adjuvants and additives, Agrow Reports DS256, T&F Informa Reino Unido, 2006, capítulo 5.
- 35 Espesantes adecuados son polisacáridos (por ejemplo, goma de xantano, carboximetilcelulosa), arcillas inorgánicas (orgánicamente modificadas o no modificadas), policarboxilatos y silicatos.
- 40 Bactericidas adecuados son bronopol y derivados de isotiazolinona tales como alquilisotiazolinonas y bencisotiazolinonas.
- Agentes anticongelantes adecuados son etilenglicol, propilenglicol, urea y glicerina.
- Agentes antiespumantes adecuados son siliconas, alcoholes de cadena larga y sales de ácidos grasos.
- 45 Colorantes adecuados (por ejemplo, en rojo, azul o verde) son pigmentos de baja solubilidad en agua y tintes solubles en agua. Ejemplos son colorantes inorgánicos (por ejemplo, óxido de hierro, óxido de titanio, hexacianoferrato de hierro) y colorantes orgánicos (por ejemplo, colorantes de alizarina, azo y ftalocianina).
- Agentes de pegajosidad o aglutinantes adecuados son polivinilpirrolidonas, polivinilacetatos, polivinilalcoholes, poliacrilatos, ceras biológicas o sintéticas y éteres de celulosa.
- 50 Las composiciones agroquímicas comprenden generalmente entre 0.01 y 95%, preferiblemente entre 0.1 y 90%, y en particular entre 0.5 y 75% en peso de sustancia activa. Las sustancias activas se emplean en una pureza de 90% a 100%, preferiblemente de 95% a 100% (de acuerdo con el espectro de RMN).
- Ejemplos de tipos de composición y su preparación son:
- i) Concentrados solubles en agua (SL, LS)

10-60% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención y 5-15% en peso de agente humectante (por ejemplo, alcoxilatos de alcohol) se disuelven en agua y/o en un disolvente soluble en agua (por ejemplo, alcoholes) al 100% en peso. La sustancia activa se disuelve en dilución con agua.

ii) Concentrados dispersables (DC)

- 5 Se disuelve 5-25% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención y 1-10% en peso de dispersante (por ejemplo, polivinilpirrolidona) en un disolvente orgánico (por ejemplo, ciclohexanona) al 100% en peso. La dilución con agua da una dispersión.

iii) Concentrados emulsionables (CE)

- 10 15-70% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención y 5-10% en peso de emulsionantes (por ejemplo, dodecilbencenosulfonato de calcio y etoxilato de aceite de ricino) se disuelven en un disolvente orgánico insoluble en agua (por ejemplo, hidrocarburo aromático) al 100 % en peso. La dilución con agua da una emulsión.

iv) Emulsiones (EW, EO, ES)

- 15 Se disuelven 5-40% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención y 1-10% en peso de emulsionantes (por ejemplo, dodecilbencenosulfonato de calcio y etoxilato de aceite de ricino) en 20-40% en peso de disolvente orgánico insoluble en agua (por ejemplo, hidrocarburo aromático). Esta mezcla se introduce en agua al 100% en peso mediante una máquina emulsionante y se convierte en una emulsión homogénea. La dilución con agua da una emulsión.

v) Suspensiones (SC, OD, FS)

- 20 En un molino de bolas con agitación, 20-60% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención se trituran con la adición de 2-10% en peso de dispersantes y agentes humectantes (por ejemplo, lignosulfonato de sodio y etoxilato de alcohol), 0.1- 2% en peso de espesante (por ejemplo goma de xantano) y agua adicionada al 100% en peso para dar una suspensión fina de principio activo. La dilución con agua proporciona una suspensión estable de la sustancia activa. Para la composición de tipo FS se agrega hasta un 40% en peso de aglutinante (por ejemplo, alcohol polivinílico).
- 25

vi) Gránulos dispersables en agua y gránulos solubles en agua (WG, SG)

- 30 El 50-80% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención se tritura finamente con la adición de dispersantes y agentes humectantes (por ejemplo, lignosulfonato de sodio y etoxilato de alcohol) al 100% en peso y se prepara como gránulos dispersables en agua o solubles en agua por medio de aparatos técnicos (por ejemplo, extrusión, torre de aspersion, lecho fluidizado). La dilución con agua proporciona una dispersión o solución estable de la sustancia activa.

vii) Polvos dispersables en agua y polvos solubles en agua (WP, SP, WS)

- 35 El 50-80% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención se muele en un molino de rotor-estator con la adición de 1-5% en peso de dispersantes (por ejemplo, lignosulfonato de sodio), 1-3% en peso de agentes humectantes (por ejemplo, etoxilato de alcohol) y vehículo sólido (por ejemplo, sílica gel) al 100% en peso. La dilución con agua proporciona una dispersión o solución estable de la sustancia activa.

viii) Gel (GW, GF)

- 40 En un molino de bolas con agitación, 5-25% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención se trituran con la adición de 3-10% en peso de dispersantes (por ejemplo, lignosulfonato de sodio), 1-5% en peso de espesante (por ejemplo, carboximetilcelulosa) y agua al 100% en peso para dar una suspensión fina de la sustancia activa. La dilución con agua proporciona una suspensión estable de la sustancia activa.

ix) Microemulsión (ME)

- 45 5-20% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención se agregan a 5-30% en peso de mezcla de disolventes orgánicos (por ejemplo, ácido graso dimetilamida y ciclohexanona), 10-25% en peso de mezcla de agente surfactante (por ejemplo, alcohol etoxilato y etoxilato de arilfenol), y agua al 100%. Esta mezcla se agita durante 1 h para producir espontáneamente una microemulsión termodinámicamente estable.

x) Microcápsulas (CS)

- 50 Una fase oleosa que comprende 5-50% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención, 0-40% en peso de disolvente orgánico insoluble en agua (por ejemplo, hidrocarburo aromático), 2-15% en peso de monómeros acrílicos (por ejemplo, metacrilato de metilo, ácido metacrílico y un di o triacrilato se dispersan en una solución acuosa de un coloide protector (por ejemplo, alcohol polivinílico). La polimerización radical iniciada

- 5 por un iniciador de radicales da como resultado la formación de microcápsulas de poli(met)acrilato. Alternativamente, una fase oleosa que comprende 5-50% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención, 0-40% en peso de disolvente orgánico insoluble en agua (por ejemplo, hidrocarburo aromático) y un monómero de isocianato (por ejemplo, difenilmetileno-4, 4'-diisocianato) se dispersan en una solución acuosa de un coloide protector (por ejemplo, alcohol polivinílico). La adición de una poliamina (por ejemplo, hexametilendiamina) da como resultado la formación de microcápsulas de poliurea. Los monómeros ascienden a 1-10% en peso. El % en peso se relaciona con la composición total de CS.
- xi) Polvos pulverizables (DP, DS)
- 10 1-10% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención se tritura finamente y se mezcla íntimamente con un vehículo sólido (por ejemplo, caolín finamente dividido) adicionado hasta el 100% en peso.
- xii) Gránulos (GR, FG)
- El 0.5-30% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención se tritura finamente y se asocia con un vehículo sólido (por ejemplo, silicato) adicionado hasta el 100% en peso. La granulación se logra mediante extrusión, secado por aspersión o lecho fluidizado.
- 15 xiii) Líquidos de volumen ultrabajo (UL)
- 1-50% en peso de un extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención se disuelven en un disolvente orgánico (por ejemplo, hidrocarburo aromático) adicionado hasta el 100% en peso.
- Los tipos de composiciones i) a xiii) pueden comprender opcionalmente agentes auxiliares adicionales, tales como 0.1-1% en peso de bactericidas, 5-15% en peso de agentes anticongelantes, 0.1-1% en peso de agentes antiespumantes y 0.1-1% en peso de colorantes.
- 20 Cuando se emplean en la protección de plantas, las cantidades de sustancias activas aplicadas son, dependiendo del tipo de efecto deseado, de 0.001 a 2 kg por ha, preferiblemente de 0.005 a 2 kg por ha, más preferiblemente de 0.05 a 0.9 kg por ha, y en particular de 0.1 a 0,75 kg por ha.
- En el tratamiento de materiales de propagación de plantas tales como semillas, por ejemplo pulverizando, recubriendo o empapando semillas, se requieren generalmente cantidades de sustancia activa de 0.1 a 1000 g, preferiblemente de 1 a 1000 g, más preferiblemente de 1 a 100 g y lo más preferiblemente de 5 a 100 g, por 100 kilogramos de material de propagación de plantas (preferiblemente semillas) son generalmente requeridas.
- 25 Cuando se utiliza en la protección de materiales o productos almacenados, la cantidad de sustancia activa aplicada depende del tipo de área de aplicación y del efecto deseado. Las cantidades que se aplican habitualmente en la protección de materiales son de 0.001 ga 2 kg, preferiblemente de 0.005 ga 1 kg, de sustancia activa por metro cúbico de material tratado.
- 30 Soluciones para el tratamiento de semillas (LS), suspoemulsiones (SE), concentrados fluidos (FS), polvos para el tratamiento en seco (DS), polvos dispersables en agua para el tratamiento de lodos (WS), polvos solubles en agua (SS), emulsiones (ES) concentrados emulsionables (EC) y geles (GF) se emplean generalmente para el tratamiento de materiales de propagación de plantas, particularmente semillas.
- 35 Los ejemplos preferidos de tipos de fórmula de tratamiento de semillas o aplicación en el suelo para composiciones de premezcla son de tipo WS, LS, ES, FS, WG o CS.
- Típicamente, una fórmula de premezcla para la aplicación de tratamiento de semillas comprende del 0.5 al 99.9 por ciento, especialmente del 1 al 95 por ciento de los ingredientes deseados, y del 99.5 al 0.1 por ciento, especialmente del 99 al 5 por ciento, de un adyuvante sólido o líquido (incluido, por ejemplo, un solvente tal como agua), donde los auxiliares pueden ser un surfactante en una cantidad de 0 a 50 por ciento, especialmente 0.5 a 40 por ciento, basado en la fórmula de premezcla. Mientras que los productos comerciales se formularán preferiblemente como concentrados (por ejemplo, composición de premezcla (fórmula)), el usuario final normalmente empleará fórmulas diluidas (por ejemplo, composición de mezcla en tanque).
- 40 Los métodos de tratamiento de semillas para aplicar o tratar la cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo, los extrolitos y las composiciones de la invención, respectivamente, al material de propagación de plantas, especialmente las semillas, son conocidos en la técnica e incluyen métodos de aplicación de cubrimientos, recubrimientos, recubrimientos de película, granulación, y remojo del material de propagación. Tales métodos también son aplicables a las combinaciones de acuerdo con la invención. En una realización preferida, la cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo, los extrolitos y las composiciones de la invención, respectivamente, se aplican o tratan sobre el material de propagación de la planta mediante un método tal que la germinación no se vea afectada negativamente. Por consiguiente, ejemplos de métodos adecuados para aplicar (o tratar) un material de propagación de plantas, tal como una semilla, son el cubrimiento de semillas, el recubrimiento de semillas o la granulación de semillas y similares.
- 45
- 50

Se prefiere que el material de propagación de la planta sea una semilla, una pieza de semilla (es decir, un tallo) o un bulbo de semilla.

5 Aunque se cree que el presente método se puede aplicar a una semilla en cualquier estado fisiológico, se prefiere que la semilla esté en un estado lo suficientemente durable como para que no sufra daños durante el proceso de
tratamiento. Típicamente, la semilla sería una semilla que haya sido cosechada del campo; retirada de la planta; y
separada de cualquier mazorca, tallo, cáscara exterior y pulpa circundante u otro material vegetal que no sea semilla.
Preferiblemente, la semilla también sería biológicamente estable en la medida en que el tratamiento no cause daño
biológico a la semilla. Se cree que el tratamiento se puede aplicar a la semilla en cualquier momento entre la cosecha
de la semilla y la siembra de la semilla o durante el proceso de siembra (aplicaciones dirigidas a la semilla). La semilla
10 también puede imprimirse antes o después del tratamiento.

Se desea una distribución uniforme de los ingredientes en la cepa, extractos libres de células, medios de cultivo,
extrolitos y composiciones de la invención, respectivamente, y la adherencia de los mismos a las semillas durante el
tratamiento del material de propagación. El tratamiento puede variar desde una película delgada (cubrimiento) de la
15 formulación que contiene la combinación, por ejemplo, una mezcla de ingrediente (s) activo (s), sobre un material de
propagación de plantas, tal como una semilla, donde el tamaño y/o la forma original son reconocibles a un estado
intermedio (tal como un recubrimiento) y luego a una película más gruesa (tal como la granulación con muchas capas
de diferentes materiales (tal como los portadores, por ejemplo, arcillas; diferentes formulaciones, tal como la de otros
ingredientes activos; polímeros y colorantes) donde la forma y/o tamaño original de la semilla ya no es reconocible.

20 Un aspecto de la presente invención incluye la aplicación de la cepa, los extractos libres de células, los medios de
cultivo, los extrolitos y las composiciones de la invención, respectivamente, sobre el material de propagación de la
planta de manera selectiva, que incluye colocar los ingredientes en la combinación sobre todo el material de
propagación de la planta o solo en partes del mismo, incluso en un solo lado o una porción de un solo lado. Un experto
en la técnica entenderá estos métodos de aplicación a partir de la descripción proporcionada en los documentos
EP954213B1 y WO06/112700.

25 La cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo, los extrolitos y las composiciones de la invención,
respectivamente, también pueden usarse en forma de una "píldora" o "pella" o un sustrato adecuado y colocar, o
sembrar, la píldora tratada, o sustrato, junto a un material de propagación vegetal. Tales técnicas son conocidas en la
técnica, particularmente en los documentos EP1124414, WO07/67042 y WO07/67044. La aplicación de la cepa, los
extractos libres de células, los medios de cultivo, los extrolitos y las composiciones, respectivamente, que se describen
30 en el presente documento sobre el material de propagación de plantas también incluye la protección del material de
propagación de plantas tratado con la combinación de la presente invención colocando una o más partículas que
contienen pesticidas a continuación a una semilla tratada con pesticida, en donde la cantidad de pesticida es tal que
la semilla tratada con pesticida y las partículas que contienen pesticida juntas contienen una Dosis Efectiva del
pesticida y la dosis de pesticida contenida en la semilla tratada con pesticida es menor o igual a la dosis máxima no
35 fitotóxica del pesticida. Tales técnicas son conocidas en la técnica, particularmente en el documento WO2005/120226.

La aplicación de la cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo, los extrolitos y las composiciones de la
invención, respectivamente, sobre la semilla también incluye recubrimientos de liberación controlada sobre las
semillas, en donde los ingredientes de las combinaciones se incorporan a los materiales que liberan los ingredientes
a lo largo del tiempo. Ejemplos de tecnologías de tratamiento de semillas de liberación controlada son generalmente
40 conocidos en la técnica e incluyen películas de polímeros, ceras u otros recubrimientos de semillas, en donde los
ingredientes pueden incorporarse en el material de liberación controlada o aplicarse entre capas de materiales, o
ambos.

La semilla se puede tratar aplicando los compuestos presentes en las mezclas de la invención en cualquier secuencia
deseada o simultáneamente.

45 El tratamiento de semillas se aplica a una semilla sin cultivar, y el término "semilla sin cultivar" incluye semillas en
cualquier período entre la cosecha de la semilla y la siembra de la semilla en el suelo con el propósito de la germinación
y el crecimiento de la planta. El tratamiento para una semilla no cultivada no pretende incluir aquellas prácticas en las
que el ingrediente activo se aplica al suelo, sino que incluiría cualquier práctica de aplicación que se dirija a la semilla
durante el proceso de plantación.

50 Preferiblemente, el tratamiento se produce antes de sembrar la semilla, de modo que la semilla sembrada ha sido
tratada previamente con la cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo, los extrolitos y las composiciones
de la invención, respectivamente. En particular, se prefieren el recubrimiento de semillas o la granulación de semillas.
Como resultado del tratamiento, los ingredientes se adhieren a la semilla y, por lo tanto, están disponibles para el
control de plagas.

55 Las semillas tratadas se pueden almacenar, manipular, sembrar y cultivar de la misma manera que cualquier otra
semilla tratada con ingrediente activo.

En particular, la presente invención se refiere a un método para la protección del material de propagación de plantas
contra las plagas y/o la mejora de la salud de las plantas que crecen a partir de dicho material de propagación de

plantas, en donde el suelo, donde se siembra el material de propagación de plantas, se trata con una cantidad efectiva de una cepa, extracto libre de células, medio de cultivo, extrolito o composición de la invención, respectivamente.

5 En particular, la presente invención se refiere a un método para la protección del material de propagación de plantas de las plagas, en donde el suelo, en el que se siembra el material de propagación de plantas, se trata con una cantidad efectiva de una cepa, extracto libre de células, medio de cultivo, extrolito o composición de la invención, respectivamente.

10 En particular, la presente invención se refiere a un método para la protección del material de propagación de la planta de hongos dañinos, en donde el suelo, en el que se siembra el material de propagación de la planta, se trata con una cantidad efectiva de una cepa, extracto libre de células, medio de cultivo, extrolito, o composición de la invención, respectivamente.

En particular, la presente invención se refiere a un método para la protección de material de propagación de plantas contra plagas de animales (insectos, ácaros o nematodos), en donde el suelo, en el que se siembra material de propagación de plantas, se trata con una cantidad efectiva de una cepa, extracto libre de células, medio de cultivo, extrolito o composición de la invención, respectivamente.

15 El usuario aplica las composiciones de la invención generalmente desde un dispositivo de predosificación, un rociador de mochila, un tanque de aspersión, un avión de aspersión o un sistema de irrigación. Usualmente, la composición agroquímica se compone de agua, regulador y/o agentes auxiliares adicionales para la concentración de aplicación deseada y se obtiene así el licor de pulverización listo para usar o la composición agroquímica según la invención. Por lo general, se aplican de 20 a 2000 litros, preferiblemente de 50 a 400 litros, del licor de pulverización listo para usar por hectárea de área útil para la agricultura.

20 Cuando se trata del tratamiento del material de propagación de plantas, especialmente de las semillas, las composiciones divulgadas en este documento proporcionan, después de una dilución de dos a diez veces, concentraciones de sustancia activa de 0.01 a 60% en peso, preferiblemente de 0.1 a 40%, en las preparaciones listas para el uso. La aplicación puede realizarse antes o durante la siembra. Los métodos para aplicar una cepa, extracto libre de células, medio de cultivo, extrolito o composición de la invención, respectivamente, sobre material de propagación de plantas, especialmente semillas, incluyen cubrimiento, recubrimiento, granulación, espolvoreo, remojo y métodos de aplicación en surco del material de propagación. Preferiblemente, la cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo, los extrolitos o las composiciones de la invención, respectivamente, se aplican sobre el material de propagación de la planta por un método tal que no se induce la germinación, por ejemplo por cubrimiento de semillas, granulación, recubrimiento y espolvoreado.

30 De acuerdo con una realización, los componentes individuales de la composición de la invención, tales como partes de un kit o partes de una mezcla binaria o ternaria, pueden ser mezclados por el propio usuario en un tanque de rociado o en cualquier otro tipo de recipiente utilizado para aplicaciones (por ejemplo, tambores de tratamiento de semillas, maquinaria de granulación de semillas, rociador de mochila) y se pueden agregar agentes auxiliares adicionales, si corresponde.

35 Si los microorganismos vivos, tales como la cepa de la invención, forman parte de tal kit, debe tenerse cuidado de que la selección y las cantidades de los componentes (por ejemplo, agentes pesticidas químicos) y de los agentes auxiliares adicionales no deben influir en la viabilidad de los microorganismos en la composición mezclada por el usuario. Especialmente para los bactericidas y disolventes, se debe tener en cuenta la compatibilidad con los microorganismos respectivos.

40 Pueden añadirse diversos tipos de aceites, humectantes, adyuvantes, fertilizantes o micronutrientes, y pesticidas adicionales (por ejemplo, herbicidas, insecticidas, fungicidas, reguladores del crecimiento, protectores, bioplaguicidas) a las sustancias activas o las composiciones que las contengan como premezcla o, si es apropiado no hasta inmediatamente antes de usar (mezcla en tanque). Estos agentes pueden mezclarse con las composiciones de acuerdo con la invención en una relación en peso de 1:100 a 100:1, preferiblemente de 1:10 a 10:1.

45 Un pesticida es generalmente un agente químico o biológico (tal como un virus, bacteria, antimicrobiano o desinfectante) que a través de su efecto disuade, incapacita, mata o desalienta a las plagas. Las plagas objetivo pueden incluir insectos, patógenos de plantas, malezas, moluscos, aves, mamíferos, peces, nematodos (gusanos redondos) y microbios que destruyen propiedades, causan molestias, propagan enfermedades o son vectores de enfermedades. El término pesticidas incluye también reguladores del crecimiento de las plantas que alteran el crecimiento esperado, la floración o la tasa de reproducción de las plantas; defoliantes que causan que las hojas u otro follaje caigan de una planta, generalmente para facilitar la cosecha; desecantes que promueven el secado de los tejidos vivos, tal como las plantas no deseadas; activadores de plantas que activan la fisiología de las plantas para la defensa contra ciertas plagas; protectores que reducen la acción herbicida no deseada de los pesticidas en las plantas de cultivo; y promotores del crecimiento de las plantas que afectan la fisiología de las plantas para aumentar el crecimiento de las plantas, la biomasa, el rendimiento o cualquier otro parámetro de calidad de los productos aprovechables de una planta de cultivo.

Los bioplaguicidas se crean típicamente mediante el crecimiento y la concentración de organismos de origen natural y/o sus metabolitos, incluidas las bacterias y otros microbios, hongos, virus, nematodos, proteínas, etc. Frecuentemente se consideran componentes importantes de los programas de manejo integrado de plagas (IPM).

Los bioplaguicidas se clasifican en dos clases principales, pesticidas microbianos y bioquímicos:

5 (1) Los pesticidas microbianos consisten en bacterias, hongos o virus (y con frecuencia incluyen los metabolitos que producen las bacterias y los hongos). Los nematodos entomopatogénicos también se clasifican como pesticidas microbianos, aunque son multicelulares.

(2) Los pesticidas bioquímicos son sustancias de origen natural que controlan las plagas o brindan otros usos de protección de cultivos como se define a continuación, pero son relativamente no tóxicos para los mamíferos.

10 La mezcla de la cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo, los extrolitos y las composiciones de la invención, respectivamente, en la forma de uso como fungicidas con otros fungicidas da como resultado en muchos casos una expansión del espectro de actividad fungicida que se obtiene o en una prevención de desarrollo de resistencia a fungicidas. Adicionalmente, en muchos casos, se obtienen efectos sinérgicos.

15 La siguiente lista de pesticidas II (por ejemplo, sustancias activas como pesticidas y bioplaguicidas), junto con las cepas, extractos libres de células, medios de cultivo y extrolitos de la invención, respectivamente, pueden utilizarse para ilustrar las posibles combinaciones. pero no los limita:

A) Inhibidores de la respiración.

inhibidores del complejo III en el sitio Q_o (por ejemplo estrobilurinas): azoxiestrobina (A.1.1), coumetoxiestrobina (A.1.2), coumoxiestrobina (A.1.3), dimoxiestrobina (A.1.4), enestrobina (A.1.5), fenaminastrobina (A.1.6), fenoxiestrobina/flufoxiestrobina (A.1.7), fluoxaestrobina (A.1.8), kresoxim-metil (A.1.9), mandestrobina (A.1.10), metominoestrobina (A.1.11), orisaestrobina (A.1.12), picoxiestrobina (A.1.13), piracloestrobina (A.1.14), pirametoestrobina (A.1.15), piraxiestrobina (A.1.16), trifloxiestrobina (A.1.17), 2-(2-(3-(2,6-diclorofenil)-1-metilalilidenoaminooxi-metil)-fenil)-2-metoxiimino-N-metil-acetamida (A.1.18), piribencarb (A.1.19), triclopiricarb/clorodincarb (A.1.20), famoxadona (A.1.21), fenamidona (A.1.21),

25 inhibidores del complejo III en el sitio Q_i: ciazofamid (A.2.1), amisulbrom (A.2.2), [(3S,6S,7R,8R)-8-bencil-3-[(3-acetoxi-4-metoxi-piridin-2-carbonil)amino]-6-metil-4,9-dioxo-1,5-dioxonan-7-il] 2-metilpropanoato (A.2.3), [(3S,6S,7R,8R)-8-bencil-3-[(3-(acetoximetoxi)-4-metoxi-piridin-2-carbonil)amino]-6-metil-4,9-dioxo-1,5-dioxonan-7-il] 2-metilpropanoato (A.2.4), [(3S,6S,7R,8R)-8-bencil-3-[(3-isobutoxicarboniloxi-4-metoxi-piridin-2-carbonil)amino]-6-metil-4,9-dioxo-1,5-dioxonan-7-il] 2-metilpropanoato (A.2.5), [(3S,6S,7R,8R)-8-bencil-3-[(3-(1,3-benzodioxol-5-ylmetoxi)-4-metoxi-piridin-2-carbonil)amino]-6-metil-4,9-dioxo-1,5-dioxonan-7-il] 2-metilpropanoato (A.2.6); (3S,6S,7R,8R)-3-[[3-(3-hidroxi-4-metoxi-2-piridinil)carbonil]amino]-6-metil-4,9-dioxo-8-(fenilmetil)-1,5-dioxonan-7-il 2-metilpropanoato (A.2.7),

30 inhibidores del complejo II (por ejemplo carboxamidas): benodanil (A.3.1), benzovindiflupir (A.3.2), bixafen (A.3.3), boscalid (A.3.4), carboxin (A.3.5), fenfuram (A.3.6), fluopiram (A.3.7), flutolanil (A.3.8), fluxapiraxad (A.3.9), furametpir (A.3.10), isofetamid (A.3.11), isopirazam (A.3.12), mepronil (A.3.13), oxicarboxin (A.3.14), penflufen (A.3.14), pentiopirad (A.3.15), sedaxano (A.3.16), tecloflalam (A.3.17), tifulzamida (A.3.18), N-(4'-trifluorometiltiobifenil-2-il)-3-difluorometil-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida (A.3.19), N-(2-(1,3,3-trimetil-butil)-fenil)-1,3-dimetil-5-fluoro-1H-pirazol-4-carboxamida (A.3.20), 3-(difluorometil)-1-metil-N-(1,1,3-trimetilindan-4-il)pirazol-4-carboxamida (A.3.21), 3-(trifluorometil)-1-metil-N-(1,1,3-trimetilindan-4-il)pirazol-4-carboxamida (A.3.22), 1,3-dimetil-N-(1,1,3-trimetilindan-4-il)pirazol-4-carboxamida (A.3.23), 3-(trifluorometil)-1,5-dimetil-N-(1,1,3-trimetilindan-4-il)pirazol-4-carboxamida (A.3.24), 1,3,5-trimetil-N-(1,1,3-trimetilindan-4-il)pirazol-4-carboxamida (A.3.25), N-(7-fluoro-1,1,3-trimetil-indan-4-il)-1,3-dimetil-pirazol-4-carboxamida (A.3.26), N-[2-(2,4-diclorofenil)-2-metoxi-1-metil-etil]-3-(difluorometil)-1-metilpirazol-4-carboxamida (A.3.27);

45 otros inhibidores de la respiración (por ejemplo complejo I, desacopladores): diflumerim (A.4.1), (5,8-difluoroquinazolin-4-il)-{2-[2-fluoro-4-(4-trifluorometilpiridin-2-iloxi)-fenil]-etil}-amina (A.4.2); derivados de nitrofenilo: binapacril (A.4.3), dinobuton (A.4.4), dinocap (A.4.5), fluazinam (A.4.6); ferimzone (A.4.7); compuestos organometálicos: sales de fentina, tales como acetato de fentina (A.4.8), cloruro de fentina (A.4.9) o hidroxido de fentina (A.4.10); ametocradina (A.4.11); y siltiofam (A.4.12);

B) Inhibidores de la biosíntesis de esteroides (fungicidas SBI)

50 C14 inhibidores de la desmetilasa (fungicidas DMI): triazols: azaconazol (B.1.1), bitertanol (B.1.2), bromuconazol (B.1.3), ciproconazol (B.1.4), difenoconazol (B.1.5), diniconazol (B.1.6), diniconazol-M (B.1.7), epoxiconazol (B.1.8), fenbuconazol (B.1.9), fluquinconazol (B.1.10), flusilazol (B.1.11), flutriafol (B.1.12), hexaconazol (B.1.13), imibenconazol (B.1.14), ipconazol (B.1.15), metconazol (B.1.17), miclobutanil (B.1.18), oxpoconazol (B.1.19), paclobutrazol (B.1.20), penconazol (B.1.21), propiconazol (B.1.22), protriociconazol (B.1.23), simeconazol (B.1.24), tebuconazol (B.1.25), tetraconazol (B.1.26), triadimefon (B.1.27), triadimenol (B.1.28), triticonazol (B.1.29), uniconazol (B.1.30), 1-[*rel*-(2S;3R)-3-(2-clorofenil)-2-(2,4-difluorofenil)-oxiranilmetil]-5-tio-cianato-1H-[1,2,4]triazolo (B.1.31), 2-[*rel*-(2S;3R)-3-(2-clorofenil)-2-(2,4-difluorofenil)-oxiranilmetil]-2H-[1,2,4]triazol-3-tiol (B.1.32), 2-[2-cloro-4-(4-

- clorofenoxi)fenil]-1-(1,2,4-triazol-1-il)pentan-2-ol (B.1.33), 1-[4-(4-clorofenoxi)-2-(trifluorometil)fenil]-1-ciclopropil-2-(1,2,4-triazol-1-il)etanol (B.1.34), 2-[4-(4-cloro-fenoxi)-2-(trifluorometil)fenil]-1-(1,2,4-triazol-1-il)butan-2-ol (B.1.35), 2-[2-cloro-4-(4-clorofenoxi)fenil]-1-(1,2,4-triazol-1-il)butan-2-ol (B.1.36), 2-[4-(4-clorofenoxi)-2-(trifluorometil)fenil]-3-metil-1-(1,2,4-triazol-1-il)butan-2-ol (B.1.37), 2-[4-(4-clorofenoxi)-2-(trifluorometil)fenil]-1-(1,2,4-triazol-1-il)propan-2-ol (B.1.38), 2-[2-cloro-4-(4-clorofenoxi)fenil]-3-metil-1-(1,2,4-triazol-1-il)butan-2-ol (B.1.39), 2-[4-(4-clorofenoxi)-2-(trifluorometil)fenil]-1-(1,2,4-triazol-1-il)pentan-2-ol (B.1.40), 2-[4-(4-fluorofenoxi)-2-(trifluorometil)fenil]-1-(1,2,4-triazol-1-il)propan-2-ol (B.1.41); imidazoles: imazalil (B.1.42), pefurazoato (B.1.43), procloraz (B.1.44), triflumizol (B.1.45); pirimidinas, piridinas y piperazinas: fenarimol (B.1.46), nuarimol (B.1.47), pirifenox (B.1.48), triforine (B.1.49), [3-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-5-(2,4-difluorofenil)isoxazol-4-il]-(3-piridil)metanol (B.1.50);
- 5
- 10 Inhibidores de la Delta14-reductasa: aldimorph (B.2.1), dodemorph (B.2.2), dodemorph-acetato (B.2.3), fenpropimorph (B.2.4), tridemorph (B.2.5), fenpropidin (B.2.6), piperalin (B.2.7), espiroxamina (B.2.8);
- Inhibidores de la 3-ceto reductasa: fenhexamid (B.3.1);
- C) Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos
- 15 fenilamidas o fungicidas de acil aminoácido: benalaxil (C.1.1), benalaxil-M (C.1.2), kiralaxil (C.1.3), metalaxil (C.1.4), metalaxil-M (mefenoxam, C.1.5), ofurace (C.1.6), oxadixil (C.1.7);
- otros: himexazol (C.2.1), octilinona (C.2.2), ácido oxolínico (C.2.3), bupirimato (C.2.4), 5-fluorocotosina (C.2.5), 5-fluoro-2-(p-toluilmetoxi)pirimidin-4-amina (C.2.6), 5-fluoro-2-(4-fluorofenilmetoxi)pirimidin-4-amina (C.2.7);
- D) Inhibidores de la división celular y del citoesqueleto.
- 20 inhibidores de la tubulina, tales como benzimidazoles, tiofanatos: benomil (D1.1), carbendazim (D1.2), fuberidazol (D1.3), tiabendazol (D1.4), tiofanato-metilo (D1.5); triazolopirimidinas: 5-cloro-7-(4-metilpiperidin-1-il)-6-(2,4,6-trifluorofenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina (D1.6);
- Otros inhibidores de la división celular: dietofencarb (D2.1), etaboxam (D2.2), pencicuron (D2.3), fluopicolide (D2.4), zoxamida (D2.5), metrafenona (D2.6), piriufenona (D2.7);
- E) Inhibidores de la síntesis de aminoácidos y proteínas
- 25 Inhibidores de la síntesis de metionina (anilino-pirimidinas): ciprodinil (E.1.1), mepanipirim (E.1.2), pirimetanil (E.1.3);
- Inhibidores de la síntesis de proteínas: blasticidin-S (E.2.1), kasugamicina (E.2.2), hidrato/clorhidrato de kasugamicina (E.2.3), mildiomicina (E.2.4), estreptomycin (E.2.5), oxitetraciclina (E.2.6), polioxina (E.2.7), validamicina A (E.2.8);
- F) Inhibidores de la transducción de señales
- 30 Inhibidores de MAP/histidina quinasa: fluoroimid (F.1.1), iprodiona (F.1.2), procimidona (F.1.3), vinclozolin (F.1.4), fenciclonil (F.1.5), fludioxonil (F.1.6);
- G) Inhibidores de la proteína: quinoxifeno (F.2.1);
- G) Inhibidores de la síntesis de lípidos y membranas.
- Inhibidores de la biosíntesis de fosfolípidos: edifenfos (G.1.1), iprobenfos (G.1.2), pirazofos (G.1.3), isoprotiolan (G.1.4);
- 35 Peroxidación lipídica: dicloran (G.2.1), quintozene (G.2.2), tecnazeno (G.2.3), tolclofos-metil (G.2.4), bifenilo (G.2.5), cloroneb (G.2.6), etridiazol (G.2.7);
- biosíntesis de fosfolípidos y deposición de la pared celular: dimetomorph (G.3.1), flumorph (G.3.2), mandipropamid (G.3.3), pirimorph (G.3.4), benthiavalicarb (G.3.5), iprovalicarb (G.3.6), valifenalate (G.3.7) y (4-fluorofenil) éster del ácido N-(1-(1-(4-ciano-fenil)etanosulfonil)-but-2-il) carbámico (G.3.8);
- 40 compuestos que afectan la permeabilidad de la membrana celular y ácidos grasos: propamocarb (G.4.1);
- inhibidores de la amida hidrolasa de ácidos grasos: oxatiapiprolin (G.5.1)
- H) Inhibidores con acción multisitio
- sustancias inorgánicas activas: mezcla de Bordeaux (H.1.1), acetato de cobre (H.1.2), hidróxido de cobre (H.1.3), oxiclóruo de cobre (H.1.4), sulfato de cobre básico (H.1.5), azufre (H.1.6);
- 45 tio- y ditiocarbamatos: ferbam (H.2.1), mancozeb (H.2.2), maneb (H.2.3), metam (H.2.4), metiram (H.2.5), propineb (H.2.6), thiram (H.2.7), zineb (H.2.8), ziram (H.2.9);

compuestos organoclorados (por ejemplo ftalimidias, sulfamidias, cloronitrilos): anilazine (H.3.1), clorotalonil (H.3.2), captafol (H.3.3), captan (H.3.4), folpet (H.3.5), diclofluanid (H.3.6), diclorofen (H.3.7), hexaclorobenceno (H.3.8), pentaclorfenol (H.3.9) y sus sales, ftalide (H.3.10), toluilfluand (H.3.11), N-(4-cloro-2-nitro-fenil)-N-etil-4-metil-bencenosulfonamida (H.3.12);

- 5 guanidinas y otros: guanidina (H.4.1), dodina (H.4.2), base libre de dodina (H.4.3), guazatina (H.4.4), guazatina-acetato (H.4.5), iminoctadina (H.4.6), iminoctadin-triacetato (H.4.7), iminoctadin-tris(albesilati) (H.4.8), ditianon (H.4.9), 2,6-dimetil-1H,5H-[1,4]dithiino[2,3-c:5,6-c']dipirrol-1,3,5,7(2H,6H)-tetraona (H.4.10);

I) Inhibidores de la síntesis de la pared celular.

Inhibidores de la síntesis de glucano: validamicina (1.1.1), polioxina B (1.1.2);

- 10 Inhibidores de la síntesis de melanina: piroquilon (1.2.1), triciclazol (1.2.2), carpropamid (1.2.3), diciclotet (1.2.4), fenoxanil (1.2.5);

J) Inductores de defensa vegetal.

acibenzolar-S-metil (J.1.1), probenazol (J.1.2), isotianil (J.1.3), tiadinil (J.1.4), prohexadiona-calcio (J.1.5); fosfonatos: fosetil (J.1.6), fosetil-aluminio (J.1.7), ácido fosforoso y sus sales (J.1.8), bicarbonato de potasio o sodio (J.1.9);

- 15 K) Modo de acción desconocido.

bronopol (K.1.1), quinometionat (K.1.2), ciflufenamid (K.1.3), cimoxanil (K.1.4), dazomet (K.1.5), debacarb (K.1.6), diclomezina (K.1.7), difenzoquat (K.1.8), difenzoquat-metilsulfato (K.1.9), difenilamin (K.1.10), fempirazamina (K.1.11), flumetover (K.1.12), flusulfamida (K.1.13), flutianil (K.1.14), metasulfocarb (K.1.15), nitrapirin (K.1.16), nitrotalisopropil (K.1.18), oxatiapiprolin (K.1.19), tolprocarb (K.1.20), oxin-cobre (K.1.21), pro-quinazid (K.1.22), tebufloquin (K.1.23), tecloftalam (K.1.24), triazóxido (K.1.25), 2-butoxi-6-yodo-3-propilcromen-4-ona (K.1.26), 2-[3,5-bis(difluorometil)-1H-pirazol-1-il]-1-[4-(4-{5-[2-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il)piperidin-1-il]etanona (K.1.27), 2-[3,5-bis(difluorometil)-1H-pirazol-1-il]-1-[4-(4-{5-[2-fluoro-6-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il)piperidin-1-il]etanona (K.1.28), 2-[3,5-bis(difluorometil)-1H-pirazol-1-il]-1-[4-(4-{5-[2-cloro-6-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il)piperidin-1-il]etanona (K.1.29), N-(ciclo-propilmetoxiimino-(6-difluoro-metoxi-2,3-difluoro-fenil)-metil)-2-fenilo acetamida (K.1.30), N'-(4-(4-cloro-3-trifluorometil-fenoxi)-2,5-dimetil-fenil)-N-etil-N-metil formamida (K.1.31), N'-(4-(4-fluoro-3-trifluorometil-fenoxi)-2,5-dimetil-fenil)-N-etil-N-metil formamida (K.1.32), N'-(2-metil-5-trifluorometil-4-(3-trimetilsilanil-propoxi)-fenil)-N-etil-N-metil formamida (K.1.33), N'-(5-difluorometil-2-metil-4-(3-trimetilsilanil-propoxi)-fenil)-N-etil-N-metil formamida (K.1.34), 6-tert-butil-8-fluoro-2,3-dimetil-quinolin-4-il éster del ácido metoxi-acético (K.1.35), 3-[5-(4-metilfenil)-2,3-dimetil-isoxazolidin-3-il]-piridina (K.1.36), 3-[5-(4-cloro-fenil)-2,3-dimetil-isoxazolidin-3-il]-piridina (pirisoxazol) (K.1.37), amida del ácido N-(6-metoxi-piridin-3-il) ciclopropanecarboxílico (K.1.38), 5-cloro-1-(4,6-dimetoxi-pirimidin-2-il)-2-metil-1H-benzoimidazol (K.1.39), 2-(4-cloro-fenil)-N-[4-(3,4-dimetoxi-fenil)-isoxazol-5-il]-2-prop-2-iniloxi-acetamida, etil (Z)-3-amino-2-ciano-3-fenil-prop-2-enoato (K.1.40), picarbutrazox (K.1.41), N-[6-[[Z]-[1-metiltetrazol-5-il]-fenil-metilen]amino]oximetil]-2-piridil]carbamato de pentilo (K.1.42), 2-[2-[(7,8-difluoro-2-metil-3-quinolil)oxi]-6-fluorofenil]propan-2-ol (K.1.43), 2-[2-fluoro-6-[(8-fluoro-2-metil-3-quinolil)oxi]fenil]propan-2-ol (K.1.44), 3-(5-fluoro-3,3,4,4-tetrametil-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)quinolina (K.1.45), 3-(4,4-difluoro-3,3-dimetil-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)quinolina (K.1.46), 3-(4,4,5-trifluoro-3,3-dimetil-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)quinolina (K.1.47);

L) Bioplaguicidas

L1) Pesticidas microbianos con actividad activadora de defensa fungicida, bactericida, viricida y/o vegetal:
 40 *Ampelomyces quisqualis*, *Aspergillus flavus*, *Aureobasidium pullulans*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. mojavensis*, *B. pumilus*, *B. simplex*, *B. solisalsi*, *B. subtilis*, *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens*, *Candida oleophila*, *C. saitoana*, *Clavibacter michiganensis* (bacteriophages), *Coniothyrium minitans*, *Cryphonectria parasitica*, *Cryptococcus albidus*, *Dilophosphora alopecuri*, *Fusarium oxysporum*, *Clonostachys rosea* f. *catenulate* (también denominado *Gliocladium catenulatum*), *Gliocladium roseum*, *Lysobacter antibioticus*, *L. enzymogenes*,
 45 *Metschnikowia fructicola*, *Microdochium dimerum*, *Microsphaeropsis ochracea*, *Muscodora albus*, *Paenibacillus polymyxa*, *Pantoea vagans*, *Phlebiopsis gigantea*, *Pseudomonas* sp., *Pseudomonas chloraphis*, *Pseudozyma flocculosa*, *Pichia anomala*, *Pythium oligandrum*, *Sphaerodes mycoparasitica*, *Streptomyces griseoviridis*, *S. lydicus*, *S. violaceusniger*, *Talaromyces flavus*, *Trichoderma asperellum*, *T. atroviride*, *T. fertile*, *T. gamsii*, *T. harzianum*, *T. harzianum*; mezcla de *T. harzianum* y *T. viride*; mezcla de *T. polysporum* y *T. harzianum*; *T. stromaticum*, *T. virens*
 50 (también llamado *Gliocladium virens*), *T. viride*, *Typhula phacorrhiza*, *Ulocladium oudemansii*, *Verticillium dahlia*, virus del mosaico amarillo del calabacín (cepa avirulenta);

L2) Pesticidas bioquímicos con actividad activadora de defensa fungicida, bactericida, viricida y/o vegetal: quitosán (hidrolizado), proteína harpin, laminarina, aceite de pescado Menhaden, natamicina, proteína de la capa del virus de la viruela del ciruelo, bicarbonato de potasio o sodio, extracto de *sachlinensis* de *Reinoutria*, ácido salicílico, aceite de árbol de té;

55

- 5 L3) Pesticidas microbianos con actividad insecticida, acaricida, molusquida y / o nematocida: *Agrobacterium radiobacter*, *Bacillus cereus*, *B. firmus*, *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis* ssp. *aizawai*, *B. t.* ssp. *israelensis*, *B. t.* ssp. *galleriae*, *B. t.* ssp. *kurstaki*, *B. t.* ssp. *tenebrionis*, *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Burkholderia* sp., *Chromobacterium subtsugae*, *Cydia pomonella* *granulosis* virus, *Cryptophlebia leucotreta* *granulovirus* (CrLeGV), *Isaria fumosorosea*, *Heterorhabditis bacteriophora*, *Lecanicillium longisporum*, *L. muscarium* (formerly *Verticillium lecanii*), *Metarhizium anisopliae*, *M. anisopliae* var. *acidum*, *Nomuraea rileyi*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *P. lilacinus*, *Paenibacillus popilliae*, *Pasteuria* spp., *P. nishizawae*, *P. penetrans*, *P. ramosa*, *P. reneformis*, *P. thornea*, *P. usgae*, *Pseudomonas fluorescens*, *Steinernema carpocapsae*, *S. feltiae*, *S. kraussei*;
- 10 L4) Plaguicidas bioquímicos con actividad insecticida, acaricida, molusquida, feromona y / o nematocida: L-carvona, citral, (E, Z) -7,9-dodecadien-1-il acetato, formiato de etilo, (E, Z) -2,4-etil decadienoato (éster de pera), (Z, Z, E) -7,11,13-hexadecatrienal, butirato de heptilo, miristato de isopropilo, senecioato de lavanulilo, cis-jasmona, 2-metil 1-butanol, metil eugenol, metil jasmonato, (E, Z) -2,13-octadecadien-1-ol, (E, Z) -2,13-octadecadien-1-ol acetato, (E, Z) -3,13-octadecadien-1-ol, R-1-octen-3-ol, pentatermanona, silicato de potasio, sorbitol actanoato, (E, Z, Z) -3,8,11-tetradecatrienil acetato, (Z, E) -9,12-tetradecadien-1-ilato acetato, Z-7-tetradecen-2-ona, Z-9-tetradecen-1-il acetato, Z-11-tetradecenal, Z-11-tetradecen-1-ol, extracto de Acacia negra, extracto de semillas y pulpa de pomelo, extracto de *Chenopodium ambrosioides*, aceite de Catnip, aceite de Neem, extracto de Quillay, aceite de Tagetes;
- 15 L5) Pesticidas microbianos que reducen el estrés de las plantas, regulan el crecimiento de las plantas, promueven el crecimiento de las plantas y / o aumentan la actividad: *Azospirillum amazonense* A. *brasiliense*, A. *lipoferum*, A. *irakense*, A. *halopraeferens*, *Bradyrhizobium* sp., *B. elkanii*, *B. japonicum*, *B. liaoningense*, *B. lupini*, *Delftia acidovorans*, *Glomus intraradices*, *Mesorhizobium* sp., *Paenibacillus alvei*, *Penicillium bilaiae*, *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseolii*, R. I. *trifolii*, R. I. bv. *viciae*, R. *tropici*, *Sinorhizobium meliloti*;
- 20 L6) Plaguicidas bioquímicos con reducción del estrés de las plantas, regulador del crecimiento de la planta y / o actividad que mejora el rendimiento de la planta: ácido abscísico, silicato de aluminio (caolín), 3-decen-2-ona, formononetina, genisteína, hesperetina, homobrassinolide, humatos, ácido jasmónico o sales o derivados de los mismos, lisofosfatidil etanolamina, naringenina, ácido jasmónico o sus derivados, lisofosfatidil etanolamina, naringenina, polihidroxiácido polimérico, extracto de *Ascophyllum nodosum* (alga noruega) y extracto de *Ecklonia maxima* (algas marinas);
- M) Reguladores del crecimiento.
- 30 ácido abscísico (M.1.1), amidoclor, ancimidol, 6-bencilaminopurina, brassinolide, butralin, cloromequat (cloruro de cloromequat), cloruro de la colina, ciclanilide, daminozide, dikegulac, dimetipin, 2,6-dimetilpuridina, etefon, flumetralin, flurprimidol, flutiacet, forclorfenuron, ácido giberélico, inabenfida, ácido indol-3-acético, hidrazida maleica, mefluidida, mepiquat (cloruro de mepiquat), ácido naftalenacético, N-6-benciladenina, paclobutrazol, prohexadiona (prohexadiona-calcio), prohidro-jasmon, tidiazurón, triapentanol, tributil fosforotritioato, ácido 2,3,5-tri-yodobenzoico, trinexapac-etilo y uniconazol;
- 35 N) Herbicidas
- acetamidas: acetoclor (N.1.1), alaclor, butaclor, dimetacloro, dimetenamida (N.1.2), flufenacet (N.1.3), mefenacet (N.1.4), metolaclor (N.1.5), metazaclor (N.1.6), napropamida, naproanilida, petoxamida, pretilaclor, propacloro, tenilclor;
- derivados de aminoácidos: bilanafos, glifosato (N.2.1), glufosinato (N.2.2), sulfosato (N.2.3);
- 40 ariloxifenoxipropionatos: clodinafop (N.3.1), cihalofop-butilo, fenoxaprop (N.3.2), fluazifop (N.3.3), haloxifop (N.3.4), metamifop, propaquizafop, quizalofop, quizalofop-P-tefurilo;
- Bipiridilos: diquat, paraquat (N.4.1);
- (thio)carbamatos: asulam, butilato, carbetamida, desmedifam, dimepiperato, ep-tam (EPTC), esprocarb, molinato, orbencarb, fenmedifam (N.5.1), prosulfocarb, piributicarb, tiobencarb, trialato;
- 45 ciclohexanodionas: butoxidim, cletodim (N.6.1), cicloxidim (N.6.2), profoxidim (N.6.3), setoxidim (N.6.4), tepraloxidim (N.6.5), tralkoxidim;
- dinitroanilinas: benfluralina, etalfluralina, orizalina, pendimetalina (N.7.1), prodiamina (N.7.2), trifluralina (N.7.3);
- difenil éteres: acifluorfen (N.8.1), aclonifen, bifenox, diclofop, etoxifen, fomesafen, lactofen, oxifluorfen;
- hidroxibenzonitrilos: bomoxinilo (N.9.1), diclobenilo, ioxinilo;
- 50 imidazolinonas: imazametabenz, imazamox (N.10.1), imazapic (N.10.2), imazapir (N.10.3), imazaquin (N.10.4), imazetapir (N.10.5);

ácidos fenoxiacéticos: clomeprop, ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (N.11.1), 2,4-DB, diclorprop, MCPA, MCPA-tioetilo, MCPB, Mecoprop;

pirazinas: cloridazona (N.11.1), flufenpir-etil, fluthiacet, norflurazon, piridato;

5 piridinas: aminopiridid, clopiralid (N.12.1), diflufenican, ditiopir, fluridona, fluroxipir (N.12.2), picloram (N.12.3), picolinafen (N.12.4), tiazopir;

10 sulfonilureas: amidosulfuron, azimsulfuron, bensulfuron (N.13.1), clorimuron-etilo (N.13.2), clorsulfuron, cinosulfuron, ciclosulfamuron (N.13.3), etoxisulfuron, flazasulfuron, flupirsulfuron, foramsulfuron, halosulfuron, imazosulfuron, yodosulfuron (N.13.4), mesosulfuron (N.13.5), metazosulfuron, metsulfuronmetilo (N.13.6), nicosulfuron (N.13.7), oxasulfuron, primisulfuron, prosulfuron, pirazosulfuron, rimsulfuron (N.13.8), sulfometuron, sulfosulfuron, tifensulfuron, tri-asulfuron, tribenuron, trifloxisulfuron, triflusulfuron (N.13.9), tritosulfuron, 1-((2-cloro-6-propil-imidazo[1,2-b]piridazin-3-il)sulfonil)-3-(4,6-dimetoxi-pirimidin-2-il)urea;

triazinas: ametrina, atrazina (N.14.1), cianazina, dimethametrin, etiozin, hexazinona (N.14.2), metamitron, metribuzin, prometrin, simazina, terbutilazina, terbutrin, triaziflam;

ureas: clorotoluron, daimuron, diuron (N.15.1), fluometuron, isoproturon, linuron, methabenztiuron, tebutiuron;

15 Otros inhibidores de la acetolactato sintasa: bispiribac-sodio, cloransulam-metilo, diclosulam, florasulam (N.16.1), flucarbazona, flumetsulam, metosulam, ortho-sulfamuron, penoxsulam, propoxycarbazona, piribambenz-propilo, piribenzoxim, pirifthalid, piriminobac-metilo, pirimisulfan, pirithiobac, piroxasulfona (N.16.2), piroxsulam;

20 otros: amicarbazona, aminotriazol, anilofos, beflubutamid, benazolin, bencarbazona, benfluresato, benzofenap, bentazona (N.17.1), benzobiclon, biciclopirona, bromacil, bromobutide, butafenacil, butamifos, cafenstrole, carfentrazona, cinidon-etilo (N.17.2), clorthal, cinmetilin (N.17.3), clomazone (N.17.4), cumyluron, cyprosulfamida, dicamba (N.17.5), difenzoquat, diflufenzopir (N.17.6), *Drechslera monoceras*, endothal, ethofumesate, etobenzanid, fenoxasulfona, fentrazamida, flumiclorac-pentilo, flumioxazin, flupoxam, flurocloridone, flurtamone, indanofan, isoxaben, isoxaflutol, lenacil, propanil, propizamida, quincloclorac (N.17.7), quinmerac (N.17.8), mesotrione (N.17.9), ácido metil arsónico, naptalam, oxadiargil, oxadiazon, oxaziclomefone, pentoxazona, pinoxaden, piraclonil, piraflufen-etilo, pirasulfotole, pirazoxifen, pirazolinato, quincloamine, saflufenacil (N.17.10), sulcotrione (N.17.11), sulfentrazona, 25 terbacil, tefuriltrione, tembotrione, thiencarbazona, topramezone (N.17.12), etil éster del ácido (3-[2-cloro-4-fluoro-5-(3-metil-2,6-dioxo-4-trifluorometil-3,6-dihydro-2H-pirimidin-1-il)-fenoxi]-piridin-2-iloxi)-acético, metil éster del ácido 6-amino-5-cloro-2-ciclopropil-pirimidin-4-carboxílico, ácido 6-cloro-3-(2-ciclopropil-6-metil-fenoxi)-piridazin-4-ol, 4-amino-3-cloro-6-(4-cloro-fenil)-5-fluoro-piridin-2-carboxílico, metil éster del ácido 4-amino-3-cloro-6-(4-cloro-2-fluoro-3-methoxi-fenil)-piridin-2-carboxílico, y metil éster del ácido 4-amino-3-cloro-6-(4-cloro-3-dimetilamino-2-fluoro-fenil)-piridin-2-carboxílico;

O) Insecticidas

35 organo(tio)fosfatos: acefato (O.1.1), azamethifos (O.1.2), azinfos-metil (O.1.3), clorpirifos (O.1.4), clorpirifos-metil (O.1.5), clorfenvinfos (O.1.6), diazinon (O.1.7), diclorvos (O.1.8), dicrotofos (O.1.9), dimetoato (O.1.10), disulfoton (O.1.11), ethion (O.1.12), fenitrothion (O.1.13), fenthion (O.1.14), isoxathion (O.1.15), malathion (O.1.16), methamidofos (O.1.17), methidathion (O.1.18), metil-parathion (O.1.19), mevinfos (O.1.20), monocrotofos (O.1.21), oxidemeton-metil (O.1.22), paraoxon (O.1.23), parathion (O.1.24), fentoato (O.1.25), fosalone (O.1.26), fosmet (O.1.27), fosfamidon (O.1.28), forate (O.1.29), foxim (O.1.30), pirimifos-metil (O.1.31), profenofos (O.1.32), prothiofos (O.1.33), sulprofos (O.1.34), tetracloclorinfos (O.1.35), terbufos (O.1.36), triazofos (O.1.37), triclorfon (O.1.38);

40 carbamatos: alanicarb (O.2.1), aldicarb (O.2.2), bendiocarb (O.2.3), benfuracarb (O.2.4), carbaril (O.2.5), carbofuran (O.2.6), carbosulfan (O.2.7), fenoxicarb (O.2.8), furathiocarb (O.2.9), methiocarb (O.2.10), metomil (O.2.11), oxamil (O.2.12), pirimicarb (O.2.13), propoxur (O.2.14), tiodicarb (O.2.15), triazamato (O.2.16);

45 piretroides: aletrin (O.3.1), bifentrin (O.3.2), cyflutrin (O.3.3), cihalotrin (O.3.4), cyfenotrin (O.3.5), cipermetrin (O.3.6), alfa-cipermetrin (O.3.7), beta-cipermetrin (O.3.8), zeta-cipermetrin (O.3.9), deltametrin (O.3.10), esfen-valerato (O.3.11), etofenprox (O.3.11), fenpropatrin (O.3.12), fenvalerato (O.3.13), imiprotrin (O.3.14), lambda-cihalotrin (O.3.15), permetrin (O.3.16), pralletrin (O.3.17), pyretrin I y II (O.3.18), resmetrin (O.3.19), silafluofen (O.3.20), tau-fluvalinato (O.3.21), teflutrin (O.3.22), tetrametrin (O.3.23), tralometrin (O.3.24), transflutrin (O.3.25), proflutrin (O.3.26), dimeflutrin (O.3.27);

50 Reguladores del crecimiento de insectos: a) Inhibidores de la síntesis de quitina: benzoilureas:clorfluazuron (O.4.1), ciramazin (O.4.2), diflubenzuron (O.4.3), flucicloخورon (O.4.4), flufenoxuron (O.4.5), hexaflumuron (O.4.6), lufenuron (O.4.7), novaluron (O.4.8), teflubenzuron (O.4.9), triflumuron (O.4.10); buprofezin (O.4.11), diofenolan (O.4.12), hexithiazox (O.4.13), etoxazol (O.4.14), clofentazine (O.4.15); b) antagonistas de ecdisona: halofenozide (O.4.16), methoxifenozide (O.4.17), tebufenozide (O.4.18), azadirachtin (O.4.19); c) juvenoides: piriproxifen (O.4.20), metopreno (O.4.21), fenoxicarb (O.4.22); d) Inhibidores de la biosíntesis de lípidos: espiroclorfen (O.4.23), espiromesifen (O.4.24), 55 espirotetramat (O.4.24);

- Compuestos agonistas / antagonistas del receptor nicotínico: clotianidina (0.5.1), dinotefuran (0.5.2), flupiradifurone (0.5.3), imidacloprid (0.5.4), tiamethoxam (0.5.5), niten-piram (0.5.6), acetamiprid (0.5.7), thiacloprid (0.5.8), 1-2-cloro-thiazol-5-ilmetil)-2-nitrimino-3,5-dimetil-[1,3,5]triazinano (0.5.9);
- 5 Compuestos antagonistas de GABA: endosulfan (0.6.19), ethiprole (0.6.2), fipronil (0.6.3), vaniliprole (0.6.4), pirafloprole (0.6.5), piriprole (0.6.6), amida del ácido 5-amino-1-(2,6-dicloro-4-metil-fenil)-4-sulfinaoil-1H-pirazol-3-carbotioico (0.6.7);
- Insecticidas macrocíclicos de lactona: abamectin (0.7.1), emamectin (0.7.2), milbemectin (0.7.3), lepimectin (0.7.4), espinosad (0.7.5), espinetoram (0.7.6);
- 10 Inhibidores del transporte de electrones mitocondriales (METI) I acaricidas: fenazaquin (0.8.1), piridaben (0.8.2), tebufenpirad (0.8.3), tolfenpirad (0.8.4), flufenerim (0.8.5);
- Compuestos METI II y III: acequinocil (0.9.1), fluaciprim (0.9.2), hidrametilnon (0.9.3);
- Desacopladores: clorfenapir (0.10.1);
- inhibidores de la fosforilación oxidativa: cihexatina (0.11.1), diafenthuron (0.11.2), óxido de fenbutatina (0.11.3), propargita (0.11.4);
- 15 compuestos disruptores de la muda: criomazina (0.12.1);
- inhibidores de la oxidasa de función mixta: butóxido de piperonilo (0.13.1);
- bloqueadores de los canales de sodio: indoxacarb (0.14.1), metaflumizone (0.14.2);
- Inhibidores del receptor de rianodina: clorantraniliprol (0.15.1), cianraniliprol (0.15.2), flubendiamida (0.15.3), N-[4,6-dicloro-2-[(dietil-lambda-4-sulfaniliden)carbamoil]-fenil]-2-(3-cloro-2-piridil)-5-(trifluorometil)pirazol-3-carboxamida (0.15.4); N-[4-cloro-2-[(dietil-lambda-4-sulfaniliden)carbamoil]-6-metilfenil]-2-(3-cloro-2-piridil)-5-(trifluorometil)pirazol-3-carboxamida (0.15.5); N-[4-cloro-2-[(di-2-propil-lambda-4-sulfaniliden)carbamoil]-6-metil-fenil]-2-(3-cloro-2-piridil)-5-(trifluorometil)pirazol-3-carboxamida (0.15.6); N-[4,6-di-cloro-2-[(di-2-propil-lambda-4-sulfanilide)carbamoil]-fenil]-2-(3-cloro-2-piridil)-5-(trifluorometil)pirazol-3-carboxamida (0.15.7); N-[4,6-dicloro-2-[(dietil-lambda-4-sulfaniliden)carbamoil]-fenil]-2-(3-cloro-2-piridil)-5-(difluorometil)pirazol-3-carboxamida (0.15.8); N-[4,6-dibromo-2-[(di-2-propil-lambda-4-sulfaniliden)carbamoil]-fenil]-2-(3-cloro-2-piridil)-5-(trifluorometil)pirazol-3-carboxamida (0.15.9); N-[4-cloro-2-[(di-2-propil-lambda-4-sulfaniliden)carbamoil]-6-ciano-fenil]-2-(3-cloro-2-piridil)-5-(trifluorometil)pirazol-3-carboxamida (0.15.10); N-[4,6-dibromo-2-[(dietil-lambda-4-sulfaniliden)carbamoil]-fenil]-2-(3-cloro-2-piridil)-5-(trifluorometil)pirazol-3-carboxamida (0.15.11);
- 20 Otros: benclotiaz (0.16.1), bifenazato (0.16.2), artap (0.16.3), flonicamid (0.16.4), piridalil (0.16.5), pimetrozina (0.16.6), azufre (0.16.7), tiociclam (0.16.8), cienopirafen (0.16.9), flupirazofos (0.16.10), ciflumetofen (0.16.11), amidoflumet (0.16.12), imicifas (0.16.13), bistrifluron (0.16.14), pirifluquinazon (0.16.15) y éster del ácido 1,1'-[[3S,4R,4aR,6S,6aS,12R,12aS,12bS)-4-[[[(2-ciclopropilacetil)-oxi]metil]-1,3,4,4a,5,6,6a,12,12a,12b-decahidro-12-hidroxi-4,6a,12b-trimetil-11-oxo-9-(3-piridinil)-2H,11H-nafto[2,1-b]pirano[3,4-e]pirano[3,6-dii]ciclo-propanoacético (0.16.16).
- 35 La presente invención se refiere además a composiciones agroquímicas que comprenden una mezcla de al menos una cepa, extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención (componente 1) y al menos una sustancia activa adicional útil para la protección de las plantas, por ejemplo seleccionado de los grupos A) a O) (componente 2), en particular un fungicida adicional, por ejemplo uno o más fungicidas de los grupos A) a K), como se describió anteriormente, y si se desea, un solvente adecuado o un vehículo sólido. Estas mezclas son de particular
- 40 interés, ya que muchas de ellas con la misma tasa de aplicación muestran mayores eficiencias contra hongos dañinos. Adicionalmente, combaten hongos dañinos con una mezcla de cepas, extractos libres de células, medios de cultivo o extrolitos de la invención y al menos un fungicida de los grupos A) a L), como se describió anteriormente, es más eficiente que combatir esos hongos con cepas individuales, extractos libres de células, medios de cultivo o extrolitos de la invención o fungicidas individuales de los grupos A) a L). Al aplicar la cepa, los extractos libres de células, los
- 45 medios de cultivo o los extrolitos de la invención junto con al menos una sustancia activa de los grupos A) a O) se puede obtener un efecto sinérgico, es decir, se obtiene más que una simple adición de los efectos individuales (mezclas sinérgicas).
- Esto puede obtenerse aplicando la cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo o los extrolitos de la invención y al menos una sustancia activa adicional simultáneamente, ya sea conjuntamente (por ejemplo, como
- 50 mezcla en tanque) o por separado, o en sucesión, en donde el intervalo de tiempo entre las aplicaciones individuales se selecciona para garantizar que la sustancia activa aplicada primero todavía ocurra en el sitio de acción en una cantidad suficiente en el momento de la aplicación de la (s) sustancia (s) activa (s). El orden de aplicación no es esencial para el funcionamiento de la presente invención.

- 5 Cuando se aplica la cepa, extractos libres de células, medios de cultivo o exrolitos de la invención y un pesticida II secuencialmente, el tiempo entre ambas aplicaciones puede variar, por ejemplo entre 2 horas y 7 días. También es posible un rango más amplio que varía de 0.25 horas a 30 días, preferiblemente de 0.5 horas a 14 días, particularmente de 1 hora a 7 días o de 1.5 horas a 5 días, incluso más preferido de 2 horas a 1 día. En el caso de una mezcla que comprende un pesticida II seleccionado del grupo L), se prefiere que el pesticida II se aplique como último tratamiento.
- De acuerdo con la invención, el material sólido (materia seca) de los bioplaguicidas (con la excepción de aceites tal como el aceite de Neem, el aceite de Tagetes, etc.) se consideran componentes activos (por ejemplo, que se obtienen después del secado o la evaporación del medio de extracción o el medio de suspensión en caso de fórmulaciones líquidas de los pesticidas microbianos).
- 10 De acuerdo con la presente invención, las relaciones en peso y los porcentajes utilizados en el presente documento para un extracto biológico tal como el extracto de Quillay se basan en el peso total del contenido seco (material sólido) del (los) extracto (s) respectivo (s).
- Las relaciones en peso total de las composiciones que comprenden al menos un pesticida microbiano en forma de células microbianas viables que incluyen formas latentes, se pueden determinar usando la cantidad de CFU del microorganismo respectivo para calcular el peso total del componente activo respectivo con la siguiente ecuación que 1×10^9 CFU equivale a un gramo de peso total del componente activo respectivo. La unidad formadora de colonias es una medida de células microbianas viables, en particular células fúngicas y bacterianas. Además, aquí "CFU" también puede entenderse como el número de nematodos individuales (juveniles) en el caso de bioplaguicidas nematodos (entomopatogénicos), tal como *Steinernema feltiae*.
- 15
- 20 En las mezclas y composiciones binarias de acuerdo con la invención, la relación en peso del componente 1) y el componente 2) generalmente depende de las propiedades de los componentes activos utilizados, generalmente está en el rango de 1:100 a 100:1. regularmente en el rango de 1:50 a 50:1, preferiblemente en el rango de 1:20 a 20:1, más preferiblemente en el rango de 1:10 a 10:1, aún más preferiblemente en el rango de de 1:4 a 4:1 y, en particular, en el rango de 1:2 a 2:1.
- 25 De acuerdo con formas de realización adicionales de las mezclas y composiciones binarias, la relación en peso del componente 1) y el componente 2) generalmente está en el rango de 1000:1 a 1:1, frecuentemente en el rango de 100:1 a 1:1, regularmente en el rango de 50:1 a 1:1, preferiblemente en el rango de 20:1 a 1:1, más preferiblemente en el rango de 10:1 a 1:1, incluso más preferiblemente en el rango de 4:1 a 1:1 y en particular en el rango de 2:1 a 1:1.
- 30 De acuerdo con unas realizacionea adicionales de las mezclas y composiciones binarias, la relación en peso del componente 1) y el componente 2) usualmente está en el rango de 1:1 a 1:1000, frecuentemente en el rango de 1:1 a 1:100, regularmente en el rango de 1:1 a 1:50, preferiblemente en el rango de 1:1 a 1:20, más preferiblemente en el rango de 1:1 a 1:10, incluso más preferiblemente en el rango de 1:1 a 1:4 y en particular en el rango de 1:1 a 1:2.
- 35 En las mezclas ternarias, es decir, composiciones de acuerdo con la invención que comprenden el componente 1) y el componente 2) y un compuesto III (componente 3), la relación en peso del componente 1) y el componente 2) depende de las propiedades de las sustancias activas utilizadas, usualmente está en el rango de 1:100 a 100:1, regularmente en el rango de 1:50 a 50:1, preferiblemente en el rango de 1:20 a 20:1, más preferiblemente en el rango de de 1:10 a 10:1 y en particular en el rango de 1:4 a 4:1, y la relación en peso del componente 1) y el componente 3) usualmente está en el rango de 1:100 a 100:1, regularmente en el rango de 1:50 a 50:1, preferiblemente en el rango de 1:20 a 20:1, más preferiblemente en el rango de 1:10 a 10:1 y en particular en el rango de 1:4 a 4:1.
- 40
- Cualquier componente activo adicional se agrega, si se desea, en una relación de 20:1 a 1:20 al componente 1).
- Estas relaciones también son adecuadas para mezclas aplicadas por tratamiento de semillas.
- También se da preferencia a las mezclas que comprenden como componente 2) al menos una sustancia activa seleccionada del grupo A), que se selecciona particularmente de (A.1.1), (A.1.4), (A.1.8), (A.1.9), (A.1.12), (A.1.13), (A.1.14), (A.1.17), (A.1.19), (A.1.21), (A.2.1), (A.2.2), (A.3.2), (A.3.3), (A.3.4), (A.3.7), (A.3.8), (A.3.9), (A.3.12), (A.3.14), (A.3.15), (A.3.16), (A.3.19), (A.3.20), (A.3.21), (A.3.22), (A.3.23), (A.3.24), (A.3.25), (A.3.26), (A.3.27); (A.4.5), (A.4.6), (A.4.8), (A.4.9) y (A.4.11).
- 45
- Se da preferencia a las mezclas que comprenden como componente 2) al menos una sustancia activa seleccionada del grupo B), que se selecciona particularmente de (B.1.4), (B.1.5), diniconazol (B.1.6), (B.1.8), (B.1.10), (B.1.11), (B.1.12), (B.1.17), (B.1.18), (B.1.21), (B.1.22), (B.1.23), (B.1.25), (B.1.26), (B.1.27), (B.1.28), (B.1.29), uni (B.1.31), (B.1.32), (B.1.33), (B.1.34), (B.1.35), (B.1.36), (B.1.37), (B.1.38), (B.1.39), (B.1.40), (B.1.41), (B.1.42), (B.1.44), (B.1.46), (B.1.49) y (B.1.50; (B.2.2), (B.2.4), (B.2.5), (B.2.6), piperalín (B.2.7), (B.2.8); y (B.3.1).
- 50
- Se da preferencia a las mezclas que comprenden como componente 2) al menos una sustancia activa seleccionada del grupo C), que se selecciona particularmente de (C.1.4), C.1.5), (C.1.6), y (C.2.4).

- Se da preferencia a las mezclas que comprenden como componente 2) al menos una sustancia activa seleccionada del grupo D), que se selecciona particularmente de (D1.1), (D1.2), (D1.4), (D1.5); (D2.2), (D2.4), (D2.5), (D2.6) y (D2.7);
- 5 También se da preferencia a las mezclas que comprenden como componente 2) al menos una sustancia activa seleccionada del grupo E), que se selecciona particularmente de (E.1.1), (E.1.2), y (E.1.3);
- También se da preferencia a las mezclas que comprenden como componente 2) al menos una sustancia activa seleccionada del grupo F), que se selecciona particularmente de (F.1.2), (F.1.4), (F.1.5), (F.1.6) y (F.2.1).
- También se da preferencia a las mezclas que comprenden como 2) al menos una sustancia activa seleccionada del grupo G), que se selecciona particularmente de (G.3.1), (G.3.2), (G.3.3), (G.3.4), (G.3.5), (G.3.6), (G.4.1) y (G.5.1).
- 10 También se da preferencia a las mezclas que comprenden como componente 2) al menos una sustancia activa seleccionada del grupo H), que se selecciona particularmente de (H.1.2), (H.1.3), oxiclورو de cobre (H.1.4), (H.1.5), (H.1.6); (H.2.2), (H.2.5), (H.2.7), (H.3.2), (H.3.3), (H.3.4), (H.3.5), (H.3.6), (H.3.12); (H.4.2), (H.4.6), ditianon (H.4.9) y (H.4.10).
- 15 También se da preferencia a las mezclas que comprenden como componente 2) al menos una sustancia activa seleccionada del grupo I), que se selecciona particularmente de (I.2.3) y (I.2.5).
- También se da preferencia a las mezclas que comprenden como componente 2) al menos una sustancia activa seleccionada del grupo J), que se selecciona particularmente de (J.1.1), (J.1.2), (J.1.3), (J.1.4), (J.1.6), (J.1.7), (J.1.8) y (J.1.9).
- 20 También se da preferencia a las mezclas que comprenden como componente 2) al menos una sustancia activa seleccionada del grupo K), que se selecciona particularmente de (K.1.4), (K.1.5), (K.1.8), (K.1.12), (K.1.14), (K.1.15), (K.1.19) y (K.1.22).
- Se conocen los bioplaguicidas del grupo L) de pesticidas II, su preparación y su actividad pesticida, por ejemplo contra hongos o insectos dañinos (e-Pesticide Manual V 5.2 (ISBN 978 1 901396 85 0) (2008-2011); <http://www.epa.gov/opp00001/biopesticides/>, véase las listas de productos en el mismo; <http://www.omri.org/omri-lists>, véase las listas en el mismo; Base de datos de bio-pesticidas BPDB <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/bpdb/>, véase el enlace de la A a la Z en el mismo).
- 25 Los bioplaguicidas del grupo L1) y/o L2 también pueden tener actividad potenciadora insecticida, acaricida, molusquido, de feromonas, nematocida, reductor de estrés de las plantas, regulador del crecimiento de las plantas, promotor del crecimiento de las plantas y/o del rendimiento. Los bioplaguicidas del grupo L3) y/o L4 también pueden tener actividad potenciadora fungicida, bactericida, viricida, activador de defensa de la planta, reductor de estrés de la planta, regulador del crecimiento de la planta, que promueve el crecimiento de la planta y/o el rendimiento. Los bioplaguicidas del grupo L5) y/o L6 también pueden tener actividad fungicida, bactericida, viricida, activadora de defensa de plantas, insecticida, acaricida, molusquida, feromona y/o nematocida.
- 30 Muchos de estos bioplaguicidas están registrados y/o están disponibles comercialmente: silicato de aluminio (Screen™ Duo de Certis LLC, EE. UU.), *Agrobacterium radiobacter* K1026 (por ejemplo NoGall® de Becker Underwood Pty Ltd., Australia), *A. radiobacter* K84 (Nature 280 , 697-699, 1979; por ejemplo, GallTroll® de AG Biochem, Inc., C, EE. UU.), *Ampelomyces quisqualis* M-10 (por ejemplo, AQ 10® de Intrachem Bio GmbH & Co. KG, Alemania), extracto o filtrado de *Ascophillum nodosum* (alga noruega, algas marrones) (por ejemplo, ORKA GOLD de Becker Underwood, Sudáfrica; o Goemar® de Laboratoires Goemar, Francia), *Aspergillus flavus* NRRL 21882 aislado de un maní en Georgia en 1991 por el USDA, National Peanut Research Laboratory (por ejemplo, en Afla-Guard® de Syngenta, CH), mezclas de *Aureobasidium pullulans* DSM14940 y DSM 14941 (por ejemplo, blastosporas en BlossomProtect® de bio-ferm GmbH, Alemania), *Azospirillum brasilense* XOH (por ejemplo, AZOS de Xtreme Gardening, EE. UU. O RTI Reforestation Technologies International; USA), *Bacillus amiloliquefaciens* FZB42 (por ejemplo, en RhizoVital® 42 de AbiTEP GmbH, Berlín, Alemania), *B. amiloliquefaciens* IN937a (J. Microbiol. Biotechnol. 17 (2), 280-286, 2007; por ejemplo, en BioYield® de Gustafson LLC, TX, EE. UU.), *B. amiloliquefaciens* IT-45 (CNCM I-3800) (por ejemplo, Rhizocell C de ITHEC, Francia), *B. amiloliquefaciens* subsp. *plantarum* MBI600 (NRRL B-50595, depositado en el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos) (por ejemplo, Integral®, Subtilex® NG de Becker Underwood, EE. UU.), *B. cereus* CNCM I-1562 (EE. UU. 6,406,690), *B. firmus* CNCM I-1582 (WO 2009/126473, WO 2009/124707, US 6,406,690; Votivo® de Bayer Crop Science LP, EE. UU.), *B. pumilus* GB34 (ATCC 700814; por ejemplo, en YieldShield® de Gustafson LLC, TX, EE. UU.) Y *Bacillus pumilus* KFP9F (NRRL B-50754) (por ejemplo, en BAC-UP o FUSION-P de Becker Underwood South Africa), *B. pumilus* QST 2808 (NRRL B-30087) (por ejemplo, Sonata® y Ballad® Plus de AgraQuest Inc., EE. UU.), *B. subtilis* GB03 (por ejemplo, Kodiak® o BioYield® de Gustafson, Inc., EE. UU.; O Companion® de Growth Products, Ltd., White Plains, NY 10603, EE. UU.), *B. subtilis* GB07 (Epic® de Gustafson, Inc., EE. UU.), *B. subtilis* QST-713 (NRRL B-21661 en Rhapsody®, Serenade® MAX y Serenade® ASO de AgraQuest Inc., EE. UU.), *B. subtilis* var. *amiloliquefaciens* FZB24 (por ejemplo, Taegro® de Novozyme Biologicals, Inc., EE. UU.), *B. subtilis* var. *amiloliquefaciens* D747 (por ejemplo, Double Nickel 55 de Certis LLC, EE. UU.), *B. thuringiensis* ssp. *aizawai* ABTS-1857 (por ejemplo, en XenTari® de BioFa AG, Münsingen, Alemania), *B. t.* ssp. *aizawai* SAN 401 I, ABG-6305 y ABG-6346, *Bacillus t.* ssp. *israelensis* AM65-52 (por ejemplo, en VectoBac® de Valent
- 35
40
45
50
55

BioSciences, IL, EE. UU.), *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* SB4 (NRRL B-50753; por ejemplo, Beta Pro® de Becker Underwood, Sudáfrica), *B. t. ssp. kurstaki* ABTS-351 idéntico a HD-1 (ATCC SD-1275; por ejemplo, en Dipel® DF de Valent BioSciences, IL, EE. UU.), *B. t. ssp. kurstaki* EG 2348 (por ejemplo, en Lepinox® o Rapax® de CBC (Europe) S.r.l., Italy), *B. t. ssp. tenebrionis* DSM 2803 (EP 0 585 215 B1; idéntico a NRRL B-15939; Mycogen Corp.), *B. t. ssp. tenebrionis* NB-125 (DSM 5526; EP 0 585 215 B1; también denominado SAN 418 I o ABG-6479; antigua cepa de producción de Novo-Nordisk), *B. t. ssp. tenebrionis* NB-176 (o NB-176-1) un mutante de alto rendimiento inducido por gamma-irradiado de la cepa NB-125 (DSM 5480; EP 585 215 B1; Novodor® de Valent BioSciences, Suiza), *Beauveria bassiana* ATCC 74040 (por ejemplo, en Naturalis® de CBC (Europe) Srl, Italia), *B. bassiana* DSM 12256 (US 200020031495; por ejemplo, BioExpert® SC de Live Sytems Technology SA, Colombia), *B. bassiana* GHA (BotaniGard® 22WGP de Laverlam Int. Corp., EE. UU.), *B. bassiana* PPRI 5339 (número ARSEF 5339 en la colección USDA ARS de cultivos de hongos entomopatógenos; NRRL 50757) (por ejemplo, BroadBand® de Becker Underwood, Sudáfrica), *B. brongniartii* (por ejemplo, en Melocont® de Agrifutur, Agrianello, Italia, para el control del abejorro; J. Appl. Microbiol. 100 (5), 1063-72, 2006), *Bradyrhizobium* sp. (por ejemplo, Vault® de Becker Underwood, EE. UU.), *B. japonicum* (por ejemplo, VAULT® de Becker Underwood, EE. UU.), *Candida oleophila* I-182 (NRRL Y-18846; por ejemplo, Aspire® de Ecogen Inc., EE. UU., Phytoparasitica 23 (3), 231-234, 1995), *C. oleophila* cepa O (NRRL Y-2317; Biological Control 51, 403-408, 2009), *Candida saitoana* (por ejemplo, Biocure® (en mezcla con lisozima) y BioCoat® de Micro Flo Company, EE. UU. (BASF SE) y Arysta), Chitosan (por ejemplo, Armor-Zen® de BotriZen Ltd., NZ), *Clonostachys rosea* f. *catenulata*, también llamada *Gliocladium catenulatum* (por ejemplo, aislamiento J 1446: Prestop® de Verdera Oy, Finlandia), *Chromobacterium subtsugae* PRAA4-1 aislada del suelo bajo una cicuta oriental (*Tsuga canadensis*) en la región de Catoctin Mountain en Mariland central (por ejemplo, en GRANDEVO desde Marrone Bio Innovations, EE. UU.), *Coniothyrium minitans* CON/M/91-08 (por ejemplo Contans® WG de Prophya, Alemania), *Cryphonectria parasitica* (por ejemplo, *Endothia parasitica* de CNICM, Francia), *Cryptococcus albidus* (por ejemplo, YIELD PLUS® de Anchor Bio- Technologies, Sudáfrica), *Cryptophlebia leucotreta* granulovirus (CrleGV) (por ejemplo, en CRYPTEX de Adermatt Biocontrol, Suiza), *Cydia pomonella* granulovirus (CpGV) V03 (DSM GV-0006; por ejemplo, en MADEX Max de Adermatt Biocontrol, Suiza), CpGV V22 DSM GV-0014; por ejemplo, en MADEX Twin de Adermatt Biocontrol, Suiza), *Delftia acidovorans* RAY209 (ATCC PTA-4249; WO 2003/57861; por ejemplo, en BIOBOOST de Brett Young, Winnipeg, Canadá), *Dilophosphora alopecuri* (Twist Fungus de Becker Underwood, Australia), extracto de *Ecklonia maxima* (kelp) (por ejemplo, KELPAK SL de Kelp Products Ltd, Sudáfrica), formononetin (por ejemplo, en MYCONATE de Plant Health Care plc, Reino Unido), *Pythium oligandrum* DV 74 (ATCC 38472; por ejemplo, POLYVERSUM® de Remeslo SSRO, Biopreparaty, Rep. Checa y GOWAN, EE. UU., EE. UU. 2013/0035230), extracto de *Reynoutria sachlinensis* (por ejemplo, REGALIA® SC de Marrone BioInnovations, Davis, CA, EE. UU.) *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseolii* (por ejemplo, RHIZO-STICK de Becker Underwood, EE. UU.), *R. l. trifolii* RP113-7 (por ejemplo, DORMAL de Becker Underwood, EE. UU.; Appl. Environ. Microbiol. 44 (5), 1096-1101), *R. l. bv. viciae* P1NP3Cst (también conocido como 1435; New Phytol 179 (1), 224-235, 2008; por ejemplo, en NODULATOR PL Peat Granule de Becker Underwood, EE. UU., o en NODULATOR XL PL de Becker Underwood, Canadá), *R. l. bv. viciae* SU303 (por ejemplo, NODULAID Grupo E de Becker Underwood, Australia), *R. l. bv. viciae* WSM1455 (por ejemplo NODULAID Grupo F de Becker Underwood, Australia), *R. tropici* SEMIA 4080 (idéntico a PRF 81; Soil Biology & Biochemistry 39, 867- 876, 2007), *Sinorhizobium meliloti* MSDJ0848 (INRA, Francia) también se refirió a cepa 2011 o RCR2011 (Mol Gen Genomics (2004) 272: 1-17; por ejemplo DORMAL ALFALFA de Becker Underwood, EE. UU.; NITRAGIN® Gold de Novozymes Biologicals BioAg Group, Canadá), *Sphaerodes mycoparasitica* IDAC 301008-01 (WO 2011/022809), *Steinernema carpocapsae* (por ejemplo, MILLENIUM® de Becker Underwood Ltd., Reino Unido), *S. feltiae* (NEMASHIELD® de BioWorks, Inc., EE. UU.; NEMASYS® de Becker Underwood Ltd., Reino Unido), *S. kraussei* L137 (NEMASYS® L de Becker Underwood Ltd., Reino Unido), *Streptomyces griseoviridis* K61 (por ejemplo, MYCOSTOP® de Verdera Oy, Espoo, Finlandia; Crop Protection 25, 468-475, 2006), *S. lydicus* WYEC 108 (por ejemplo, Actinovate® de Natural Industries, Inc., USA, US 5,403,584), *S. violaceusniger* YCED-9 (por ejemplo, DT-9® de Natural Industries, Inc., USA, US 5,968,503), *Talaromyces flavus* V117b (por ejemplo, PROTUS® de Prophya, Alemania), *Trichoderma asperellum* SKT-1 (por ejemplo, ECO-HOPE® de Kumiai Chemical Industry Co., Ltd., Japón), *T. asperellum* ICC 012 (por ejemplo, en TENET WP, REMDIER WP, BIOTEN WP de Isagro NC, EE. UU., BIO-TAM de AgraQuest, EE. UU.), *T. atroviride* LC52 (por ejemplo, SENTINEL® de Agrimm Technologies Ltd, NZ), *T. atroviride* CNCM I-1237 (por ejemplo, En Esquive WG de Agrauxine SA, Francia, por ejemplo, contra enfermedades por heridas de poda en patógenos de vid y raíces de plantas), *T. fertile* JM41R (NRRL 50759; por ejemplo, RICHPLUS™ de Becker Underwood Bio Ag SA Ltd, Sudáfrica), *T. gamsii* ICC 080 (por ejemplo, en TENET WP, REMDIER WP, BIOTEN WP de Isagro NC, EE. UU., BIO-TAM de AgraQuest, EE. UU.), *T. harzianum* T-22 (por ejemplo, PLANTSHIELD® der Firma BioWorks Inc., EE. UU.), *T. harzianum* TH 35 (por ejemplo, ROOT PRO® de Mycontrol Ltd., Israel), *T. harzianum* T-39 (por ejemplo, TRICHODEX® y TRICHODERMA 2000® de Mycontrol Ltd., Israel y Makhteshim Ltd., Israel), *T. harzianum* y *T. viride* (por ejemplo, TRICHOPEL de Agrimm Technologies Ltd, NZ), *T. harzianum* ICC012 y *T. viride* ICC080 (por ejemplo, REME-DIER® WP de Isagro Ricerca, Italia), *T. polysporum* y *T. harzianum* (por ejemplo, BINAB® de BINAB Bio-Innovation AB, Suecia), *T. stromaticum* (por ejemplo, TRICOVAB® de CEPLAC, Brasil), *T. virens* GL-21 (también llamado *Gliocladium virens*) (por ejemplo, SOIL-GARD® de Certis LLC, EE. UU.), *T. viride* (por ejemplo, TRIECO® de Ecosense Labs. (India) Pvt. Ltd., Indien), *BIOCURE® F* de T. Stanes & Co. Ltd., Indien), *T. viride* TV1 (por ejemplo, *T. viride* TV1 de Agribiotec srl, Italia) y *Ulocladium oudemansii* HRU3 (por ejemplo, en BOTRY-ZEN® de Botry-Zen Ltd, NZ).

Las cepas pueden obtenerse de recursos genéticos y centros de deposición: American Type Culture Collection, 10801 University Blvd., Manassas, VA 20110-2209, EE. UU. (Cepas con prefijo ATCC); CABI Europa - International Mycological Institute, Bakeham Lane, Egham, Surrey, TW20 9TYNRRL, Reino Unido (cepas con prefijo CABI e IMI);

5 Centraalbureau voor Schimmelcultures, Fungal Biodiversity Center, Uppsalaan 8, PO Box 85167, 3508 AD Utrecht, Países Bajos (cepas con prefijo CBS); Division of Plant Industry, CSIRO, Canberra, Australia (cepas con prefijo CC); Collection Nationale de Cultures de Microorganismes, Institut Pasteur, 25 rue du Docteur Roux, F-75724 PARIS Cedex 15 (cepas con el prefijo CNCM); Leibniz-Institut DSMZ-Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstraße 7 B, 38124 Braunschweig, Alemania (cepas con el prefijo DSM); International Depository Authority of Canada Collection, Canadá (cepas con el prefijo IDAC); International Collection of Micro-organisms from Plants, Landcare Research, Private Bag 92170, Auckland Mail Centre, Auckland 1142, Nueva Zelanda (cepas con el prefijo ICMP); IITA, PMB 5320, Ibadan, Nigeria (cepas con el prefijo IITA); The National Collections of Industrial and Marine Bacteria Ltd., Torry Research Station, P.O. Box 31, 135 Abbey Road, Aberdeen, AB9 8DG, Scotland (cepas con el prefijo NCIMB); ARS Culture Collection of the National Center for Agricultural Utilization Research, Agricultural Research Service, U.S. Department of Agriculture, 1815 North University Street, Peoria, Illinois 61604, USA (cepas con el prefijo NRRL); Department of Scientific and Industrial Research Culture Collection, Applied Biochemistry Division, Palmerston North, Nueva Zelanda (cepas con el prefijo NZP); FEP-AGRO-Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária, Rua Gonçalves Dias, 570, Bairro Menino Deus, Porto Alegre/RS, Brasil (cepas con el prefijo SEMIA); SARDI, Adelaide, Sur de Australia (cepas con el prefijo SRDI); U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Soybean and Alfalfa Research Laboratory, BARC-West, 10300 Baltimore Boulevard, Building 011, Room 19-9, Beltsville, MD 20705, USA (cepas con el prefijo USDA: Beltsville Rhizobium Culture Collection Catalog March 1987 USDA-ARS ARS-30:http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNAAW891.pdf); y Murdoch University, Perth, Western Australia (cepas con el prefijo WSM). Se pueden encontrar otras cepas en el catálogo global de Microorganisms:<http://gcm.wfcc.info/> y <http://www.landcareresearch.co.nz/resources/collections/icmp> y otras referencias a las colecciones de cepas y sus prefijos en <http://refs.wdcm.org/collections.htm>.

25 *Bacillus amiloliquefaciens* subsp. *plantarum* MBI600 (NRRL B-50595) está depositado bajo el número de acceso NRRL B-50595 con la designación de cepa *Bacillus subtilis* 1430 (e idéntica a NCIMB 1237). Recientemente, MBI 600 ha sido reclasificado como *Bacillus amiloliquefaciens* subsp. *plantarum* basado en pruebas polifásicas que combinan métodos microbiológicos clásicos basados en una mezcla de herramientas tradicionales (tales como los métodos basados en cultivos) y herramientas moleculares (tales como el análisis de genotipos y ácidos grasos). Por lo tanto, *Bacillus subtilis* MBI600 (o MBI 600 o MBI-600) es idéntico a *Bacillus amiloliquefaciens* subsp. *plantarum* MBI600, anteriormente *Bacillus subtilis* MBI600. *Bacillus amiloliquefaciens* MBI600 se conoce como tratamiento de semilla de arroz que promueve el crecimiento de plantas de Int. J. Microbiol. Res. 3 (2) (2011), 120-130 y se describe además por ejemplo en US 2012/0149571 A1. Esta cepa MBI600 está, por ejemplo, disponible comercialmente como producto de formulación líquida INTEGRAL® (Becker-Underwood Inc., EE. UU.).

35 La cepa FB17 de *Bacillus subtilis* se aisló originalmente de las raíces de la remolacha roja en América del Norte (System Appl. Microbiol 27 (2004) 372-379). Esta cepa de *B. subtilis* promueve la salud de las plantas (US 2010/0260735 A1; WO 2011/109395 A2). *B. subtilis* FB17 también se ha depositado en ATCC bajo el número PTA-11857 el 26 de abril de 2011. La cepa de *Bacillus subtilis* FB17 puede denominarse en otro lugar como UD1022 o UD10-22.

40 *Bacillus amiloliquefaciens* AP-136 (NRRL B-50614), *B. amiloliquefaciens* AP-188 (NRRL B-50615), *B. amiloliquefaciens* AP-218 (NRRL B-50618), *B. amiloliquefaciens* AP-219 (NRRL B-50619), *B. amiloliquefaciens* AP-295 (NRRL B-50620), *B. japonicum* SEMIA 5079 (por ejemplo, Gelfix 5 o Adhere 60 de Nitral Urbana Laboratories, Brasil, una compañía de BASF), *B. japonicum* SEMIA 5080 (por ejemplo, GELFIX 5 o ADHERE 60 de Nitral Urbana Laboratories, Brasil, una compañía de BASF), *B. mojavensis* AP-209 (NRRL B-50616), *B. solisalsi* AP-217 (NRRL B-50617), cepa INR-7 de *B. pumilus* (de otro modo denominada como BU-F22 (NRRL B-50153) y BU-F33 (NRRL B-50185), *B. simplex* ABU 288 (NRRL B-50340) y *B. amiloliquefaciens* subsp. *plantarum* MBI600 (NRRL B-50595) han sido mencionadas i.a. en la solicitud de patente de EE.UU. 20120149571, US 8,445,255, WO 2012/079073. *Bradyrhizobium japonicum* USDA 3 se conoce a partir de la patente US 7,262,151.

50 El ácido jasmónico o las sales (jasmonatos) o derivados incluyen, sin limitación, jasmonato de potasio, jasmonato de sodio, jasmonato de litio, jasmonato de amonio, jasmonato de dimetilamonio, jasmonato de isopropilamonio, jasmonato de diolamonio, jasmonato de dietrietanolamonio, metil éster del ácido jasmónico, amida del ácido jasmónico, metilamida del ácido jasmónico, conjugados de ácido jasmónico-L-aminoácidos (enlazado a amida) (por ejemplo, conjugados con L-isoleucina, L-valina, L-leucina, or L-fenilalanina), ácido 12-oxo-fitodienoico, coronatina, coronafacoil-L-serina, coronafacoil-L-treonina, metil ésteres de 1-oxo-indanoil-isoleucina, metil ésteres de 1-oxo-indanoil-leucina, coronalon (metil éster del ácido 2-[(6-etil-1-oxo-indano-4-carbonil)-amino]-3-metil-pentanoico), ácido linoleico o sus derivados y cis-jasmona, o combinaciones de cualquiera de los anteriores.

55 Los humatos son ácidos húmicos y fúlvicos extraídos de una forma de lignito, carbón y arcilla, conocidos como leonardita. Los ácidos húmicos son ácidos orgánicos que se producen en el humus y otros materiales derivados orgánicamente, tales como la turba y cierto carbón blando. Se ha demostrado que aumentan la eficiencia de los fertilizantes en la absorción de fosfatos y micronutrientes por parte de las plantas, así como en el desarrollo de sistemas de raíces de plantas.

60 De acuerdo con una realización de las mezclas de la invención, el al menos un pesticida II se selecciona de los grupos L1) a L6):

L1) Pesticidas microbianos con actividad activadora de defensa fungicida, bactericida, viricida y/o de la plana: *Ampelomyces quisqualis* M-10 (L.1.1), *Aspergillus flavus* NRRL 21882 (L.1.2), *Aureobasidium pullulans* DSM 14940 (L.1.3), *A. pullulans* DSM 14941 (L.1.4), *Bacillus amyloliquefaciens* AP-136 (NRRL B-50614) (L.1.5), *B. amyloliquefaciens* AP-188 (NRRL B-50615) (L.1.6), *B. amyloliquefaciens* AP-218 (NRRL B-50618) (L.1.7), *B. amyloliquefaciens* AP-219 (NRRL B-50619) (L.1.8), *B. amyloliquefaciens* AP-295 (NRRL B-50620) (L.1.9), *B. amyloliquefaciens* FZB42 (L.1.10), *B. amyloliquefaciens* IN937a (L.1.11), *B. amyloliquefaciens* IT-45 (CNCM I-3800) (L.1.12), *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* MBI600 (NRRL B-50595) (L.1.13), *B. mojavensis* AP-209 (NRRL B-50616) (L.1.15), *B. pumilus* INR-7 (referido de otra manera como BU-F22 (NRRL B-50153) y BU-F33 (NRRL B-50185)) (L.1.14), *B. pumilus* KFP9F (L.1.15), *B. pumilus* QST 2808 (NRRL B-30087) (L.1.16), *B. pumilus* GHA 181 (L.1.17), *B. simplex* ABU 288 (NRRL B-50340) (L.1.18), *B. solisalsi* AP-217 (NRRL B-50617) (L.1.19), *B. subtilis* CX-9060 (L.1.20), *B. subtilis* GB03 (L.1.21), *B. subtilis* GB07 (L.1.22), *B. subtilis* QST-713 (NRRL B-21661) (L.1.23), *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* FZB24 (L.1.24), *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* D747 (L.1.25), *Candida oleophila* I-82 (L.1.26), *C. oleophila* O (L.1.27), *C. saitoana* (L.1.28), *Clavibacter michiganensis* (bacteriophages) (L.1.29), *Coniothyrium minitans* CON/M/91-08 (L.1.30), *Cryphonectria parasitica* (L.1.31), *Cryptococcus albidus* (L.1.32), *Dilophosphora alopecuri* (L.1.33), *Fusarium oxysporum* (L.1.34), *Clonostachys rosea* f. *catenulata* J1446 (también denominado *Gliocladium catenulatum*) (L.1.35), *Gliocladium roseum* 321U (L.1.36), *Metschnikowia fructicola* NRRL Y-30752 (L.1.37), *Microdochium dimerum* (L.1.38), *Microsphaeropsis ochracea* P130A (L.1.39), *Muscodor albus* QST 20799 (L.1.40), *Paenibacillus polymyxa* PKB1 (ATCC 202127) (L.1.41), *Pantoea vagans* C9-1 (L.1.42), *Phlebiopsis gigantea* (L.1.43), *Pichia anomala* WRL-76 (L.1.44), *Pseudozyma flocculosa* PF-A22 UL (L.1.45), *Pythium oligandrum* DV 74 (L.1.46), *Sphaeroderma mycoparasitica* IDAC 301008-01 (L.1.47), *Streptomyces griseoviridis* K61 (L.1.48), *S. lydicus* WYEC 108 (L.1.49), *S. violaceusniger* XL-2 (L.1.50), *S. violaceusniger* YCED-9 (L.1.51), *Talaromyces flavus* V117b (L.1.52), *Trichoderma asperellum* T34 (L.1.53), *T. asperellum* SKT-1 (L.1.54), *T. asperellum* ICC 012 (L.1.55), *T. atroviride* LC52 (L.1.56), *T. atroviride* CNCM I-1237 (L.1.57), *T. fertile* JM41R (L.1.58), *T. gamsii* ICC 080 (L.1.59), *T. harmatum* TH 382 (L.1.60), *T. harzianum* TH-35 (L.1.61), *T. harzianum* T-22 (L.1.62), *T. harzianum* T-39 (L.1.63); mezcla de *T. harzianum* ICC012 y *T. viride* ICC080 (L.1.64); mezcla de *T. polysporum* y *T. harzianum* (L.1.65); *T. stromaticum* (L.1.66), *T. virens* (también denominado *Gliocladium virens*) GL-21 (L.1.67), *T. virens* G41 (L.1.68), *T. viride* TV1 (L.1.69), *Typhula phacorrhiza* 94671 (L.1.70), *Ulocladium oudemansii* HRU3 (L.1.71), *Verticillium dahlia* (L.1.72), virus del mosaico amarillo del calabacín (cepa avirulenta) (L.1.73);

L2) Pesticidas bioquímicos con actividad activadora de defensa fungicida, bactericida, viricida y/o vegetal: quitosán (hidrolizado) (L.2.1), proteína harpin (L.2.2), laminarina (L.2.3), aceite de pescado Menhaden (L.2.4), natamicina (L.2.5), proteína de la capa del virus Plum pox (L.2.6), bicarbonato de potasio (L.2.7), extracto de *Reynoutria sachlinensis* (L.2.8), ácido salicílico (L.2.9), bicarbonato de potasio o sodio (L.2.10), aceite de árbol de té (L.2.11);

L3) Pesticidas microbianos con actividad insecticida, acaricida, molusquida y / o nematocida: *Agrobacterium radiobacter* K1026 (L.3.1), *A. radiobacter* K84 (L.3.2), *Bacillus firmus* I-1582 (L.3.3); *B. thuringiensis* ssp. *aizawai* strains ABTS-1857 (L.3.4), SAN 401 I (L.3.5), ABG-6305 (L.3.6) y ABG-6346 (L.3.7); *B. t.* ssp. *israelensis* AM65-52 (L.3.8), *B. t.* ssp. *israelensis* SUM-6218 (L.3.9), *B. t.* ssp. *galleriae* SDS-502 (L.3.10), *B. t.* ssp. *kurstaki* EG 2348 (L.3.11), *B. t.* ssp. *kurstaki* SB4 (L.3.12), *B. t.* ssp. *kurstaki* ABTS-351 (HD-1) (L.3.13), *Beauveria bassiana* ATCC 74040 (L.3.14), *B. bassiana* GHA (L.3.15), *B. bassiana* H123 (L.3.16), *B. bassiana* DSM 12256 (L.3.17), *B. bassiana* PPRI 5339 (L.3.18), *B. brongniartii* (L.3.19), *Burkholderia* sp. A396 (L.3.20), *Chromobacterium subtsugae* PRAA4-1 (L.3.21), *Cydia pomonella* *granulosis* virus V22 (L.3.22), virus de la *granulosis* *Cydia pomonella* V1 (L.3.23), *Isaria fumosorosea* Apopka-97 (L.3.24), *Lecanicillium longisporum* KV42 (L.3.25), *L. longisporum* KV71 (L.3.26), *L. muscarium* (formerly *Verticillium lecanii*) KV01 (L.3.27), *Metarhizium anisopliae* FI-985 (L.3.28), *M. anisopliae* FI-1045 (L.3.29), *M. anisopliae* F52 (L.3.30), *M. anisopliae* CIPE 69 (L.3.31), *M. anisopliae* var. *acridum* IMI 330189 (L.3.32); *Nomuraea rileyi* strains SA86101 (L.3.33), GU87401 (L.3.34), SR86151 (L.3.35), CG128 (L.3.36) y VA9101 (L.3.37); *Paecilomyces fumosoroseus* FE 9901 (L.3.38), *P. lilacinus* 251 (L.3.39), *P. lilacinus* DSM 15169 (L.3.40), *P. lilacinus* BCP2 (L.3.41), *Paenibacillus popilliae* Dutky-1940 (NRRL B-2309 = ATCC 14706) (L.3.42), *P. popilliae* KLN 3, *P. popilliae* Dutky 1 (L.3.43), *Pasteuria* spp. Ph3 (L.3.44), *Pasteuria* spp. ATCC PTA-9643 (L.3.45), *Pasteuria* spp. ATCC SD-5832 (L.3.46), *P. nishizawae* PN-1 (L.3.46), *P. penetrans* (L.3.47), *P. ramosae* (L.3.48), *P. reneformis* Pr-3 (L.3.49), *P. thornea* (L.3.50), *P. usgae* (L.3.51), *Pseudomonas fluorescens* CL 145A (L.3.52), *Steinernema carpocapsae* (L.3.53), *S. feltiae* (L.3.54), *S. krausei* L137 (L.3.55);

L4) Plaguicidas bioquímicos con actividad insecticida, acaricida, molusquida, feromona y/o nematocida: L-carvone (L.4.1), citral (L.4.2), (E,Z)-7,9-dodecadien-1-il acetato (L.4.3), etil formiato (L.4.4), (E,Z)-2,4-etil decadienoato (éster de pera) (L.4.5), (Z,Z,E)-7,11,13-hexadecatrienal (L.4.6), heptil butirato (L.4.7), isopropil miristato (L.4.8), cis-jasmona (L.4.9), lavanulil senecioato (L.4.10), 2-metil 1-butanol (L.4.11), metil eugenol (L.4.12), metil jasmonato (L.4.13), (E,Z)-2,13-octadecadien-1-ol (L.4.14), (E,Z)-2,13-octadecadien-1-ol acetato (L.4.15), (E,Z)-3,13-octadecadien-1-ol (L.4.16), R-1-octen-3-ol (L.4.17), pentatermanona (L.4.18), silicato de potasio (L.4.19), sorbitol actanoato (L.4.20), (E,Z,Z)-3,8,11-tetradecatrienil acetato (L.4.21), (Z,E)-9,12-tetradecadien-1-il acetato (L.4.22), Z-7-tetradecen-2-ona (L.4.23), Z-9-tetradecen-1-il acetato (L.4.24), Z-11-tetradecenal (L.4.25), Z-11-tetradecen-1-ol (L.4.26), extracto de *Acacia negra* (L.4.27), Extracto de semillas y pulpa de pomelo. (L.4.28), Extracto de *Chenopodium ambrosioidae* (L.4.29), aceite de Nébeda (L.4.30), aceite de Neem (L.4.31), Extracto de quillay (L.4.32), Aceite de tagetes (L.4.33);

L5) Pesticidas microbianos que reducen el estrés de las plantas, regulan el crecimiento de las plantas, promueven el crecimiento de las plantas y / o aumentan la actividad: *Azospirillum amazonense* BR 11140 (SpY2T) (L.5.1), *A. brasilense* AZ39 (L.5.2), *A. brasilense* XOH (L.5.3), *A. brasilense* BR 11005 (Sp245) (L.5.4), *A. brasilense* BR 11002

(L.5.5), *A. lipoferum* BR 11646 (Sp31) (L.5.6), *A. irakense* (L.5.7), *A. halopraeferens* (L.5.8), *Bradyrhizobium* sp. PNL01 (L.5.9), *B. sp.* (*Arachis*) CB1015 (L.5.10), *B. sp.* (*Arachis*) USDA 3446 (L.5.11), *B. sp.* (*Arachis*) SEMIA 6144 (L.5.12), *B. sp.* (*Arachis*) SEMIA 6462 (L.5.13), *B. sp.* (*Arachis*) SEMIA 6464 (L.5.14), *B. sp.* (*Vigna*) (L.5.15), *B. elkanii* SEMIA 587 (L.5.16), *B. elkanii* SEMIA 5019 (L.5.17), *B. elkanii* U-1301 (L.5.18), *B. elkanii* U-1302 (L.5.19), *B. elkanii* USDA 74 (L.5.20), *B. elkanii* USDA 76 (L.5.21), *B. elkanii* USDA 94 (L.5.22), *B. elkanii* USDA 3254 (L.5.23), *B. japonicum* 532c (L.5.24), *B. japonicum* CPAC 15 (L.5.25), *B. japonicum* E-109 (L.5.26), *B. japonicum* G49 (L.5.27), *B. japonicum* TA-11 (L.5.28), *B. japonicum* USDA 3 (L.5.29), *B. japonicum* USDA 31 (L.5.30), *B. japonicum* USDA 76 (L.5.31), *B. japonicum* USDA 110 (L.5.32), *B. japonicum* USDA 121 (L.5.33), *B. japonicum* USDA 123 (L.5.34), *B. japonicum* USDA 136 (L.5.35), *B. japonicum* SEMIA 566 (L.5.36), *B. japonicum* SEMIA 5079 (L.5.37), *B. japonicum* SEMIA 5080 (L.5.38), *B. japonicum* WB74 (L.5.39), *B. liaoningense* (L.5.40), *B. lupini* LL13 (L.5.41), *B. lupini* WU425 (L.5.42), *B. lupini* WSM471 (L.5.43), *B. lupini* WSM4024 (L.5.44), *Glomus intraradices* RTI-801 (L.5.45), *Mesorhizobium* sp. WSM1271 (L.5.46), *M. sp.* WSM1497 (L.5.47), *M. ciceri* CC1192 (L.5.48), *M. huakii* (L.5.49), *M. loti* CC829 (L.5.50), *M. loti* SU343 (L.5.51), *Paenibacillus alvei* NAS6G6 (L.5.52), *Penicillium bilaiae* (L.5.53), *Rhizobium leguminosarum* bv. phaseolii (L.5.54), *R. I. trifolii* RP113-7 (L.5.55), *R. I. bv. viciae* SU303 (L.5.56), *R. I. bv. viciae* WSM1455 (L.5.57), *R. I. bv. viciae* P1NP3Cst (L.5.58) *R. tropici* SEMIA 4088 (L.5.59), *Sinorhizobium meliloti* MSDJ0848 (L.5.60);

L6) Pesticidas bioquímicos con reductor de estrés vegetal, regulador del crecimiento de la planta y/o actividad que mejora el rendimiento de la planta: ácido abscísico (L.6.1), silicato de aluminio (caolín) (L.6.2), 3-decen-2-ona (L.6.3), formononectina (L.6.4), genisteína (L.6.5), hesperetina (L.6.6), homobrassinlida (L.6.7), humatos (L.6.8), metil jasmonato (L.6.9), cis-jasmona (L.6.10), lisofosfatidil etanlamina (L.6.11), naringenina (L.6.12), polihidroxiácido polimérico (L.6.13), ácido salicílico (L.6.14), extracto de *Ascophyllum nodosum* (alga noruega, alga marrón) (L.6.15) y extracto de *Ecklonia maxima* (alga) (L.6.16).

La presente invención se refiere además a composiciones agroquímicas que comprenden una mezcla de la cepa, extractos libres de células, medios de cultivo o extrolitos de la invención (componente 1) y al menos un biopesticida seleccionado del grupo L) (componente 2), en particular al menos un biopesticida fungicida adicional seleccionado de los grupos L1) y L2), como se describió anteriormente, y si se desea, al menos un agente auxiliar adecuado.

También se da preferencia a las mezclas que comprenden como pesticida II (componente 2) un biopesticida del grupo L1), preferiblemente seleccionado de *Bacillus amyloliquefaciens* AP-136 (NRRL B-50614 y B-50330), *B. amyloliquefaciens* AP-188 (NRRL B-50615 y B-50331), *B. amyloliquefaciens* AP-218 (NRRL B-50618), *B. amyloliquefaciens* AP-219 (NRRL B-50619 y B-50332), *B. amyloliquefaciens* AP-295 (NRRL B-50620 y B-50333), *B. amyloliquefaciens* IT-45 (CNCM I-3800), *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* MBI600 (NRRL B-50595), *B. mojavensis* AP-209 (NRRL B-50616), *B. pumilus* INR-7 (referido de otra manera como BU-F22 (NRRL B-50153) y BU-F33 (NRRL B-50185)), *B. pumilus* KFP9F, *B. pumilus* QST 2808 (NRRL B-30087), *B. pumilus* GHA 181, *B. simplex* ABU 288 (NRRL B-50340), *B. solisalsi* AP-217 (NRRL B-50617), *B. subtilis* CX-9060, *B. subtilis* GB03, *B. subtilis* GB07, *B. subtilis* QST-713 (NRRL B-21661), *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* FZB24, *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* D747, *Paenibacillus alvei* NAS6G6, *Paenibacillus polymyxa* PKB1 (ATCC 202127), *Sphaerodes mycoparasitica* IDAC 301008-01 y *Trichoderma fertile* JM41R, incluso más preferiblemente de *Bacillus amyloliquefaciens* AP-136 (NRRL B-50614), *B. amyloliquefaciens* AP-188 (NRRL B-50615), *B. amyloliquefaciens* AP-218 (NRRL B-50618), *B. amyloliquefaciens* AP-219 (NRRL B-50619), *B. amyloliquefaciens* AP-295 (NRRL B-50620), *B. amyloliquefaciens* IT-45 (CNCM I-3800), *B. mojavensis* AP-209 (NRRL B-50616), *B. pumilus* INR-7 (referido de otra manera como BU-F22 (NRRL B-50153) y BU-F33 (NRRL B-50185)), *B. pumilus* QST 2808 (NRRL B-30087), *B. simplex* ABU 288 (NRRL B-50340), *B. subtilis* QST-713 (NRRL B-21661), *B. subtilis* MBI600 (NRRL B-50595), *Paenibacillus alvei* NAS6G6, *Sphaerodes mycoparasitica* IDAC 301008-01 y *Trichoderma fertile* JM41R.

De acuerdo con una realización de las mezclas de la invención, el al menos un pesticida II es *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* MBI600. Estas mezclas son particularmente adecuadas en soja.

De acuerdo con otra realización de las mezclas de la invención, el al menos un pesticida II es la cepa INR-7 de *B. pumilus*. Estas mezclas son particularmente adecuadas en soja y maíz.

De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II es *Bacillus simplex*, preferiblemente *B. simplex*, cepa ABU 288. Estas mezclas son particularmente adecuadas en soja y maíz.

De acuerdo con una realización de las mezclas de la invención, el al menos un pesticida II se selecciona de *Bacillus amyloliquefaciens* AP-136, *B. amyloliquefaciens* AP-188, *B. amyloliquefaciens* AP-218, *B. amyloliquefaciens* AP-219, *B. amyloliquefaciens* AP-295, *B. amyloliquefaciens* FZB42, *B. amyloliquefaciens* IN937a, *B. amyloliquefaciens* IT-45, *B. amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* MBI600, *B. mojavensis* AP-209, *B. pumilus* GB34, *B. pumilus* INR-7, *B. pumilus* KFP9F, *B. pumilus* QST 2808, *B. pumilus* GHA 181, *B. simplex* ABU 288, *B. solisalsi* AP-217, *B. subtilis* CX-9060, *B. subtilis* GB03, *B. subtilis* GB07, *B. subtilis* QST-713, *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* FZB24 y *B. subtilis* var. *amyloliquefaciens* D747. Estas mezclas son particularmente adecuadas en soja y maíz, en particular para el tratamiento de semillas.

De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II se selecciona de *Streptomyces* spp. Preferiblemente de *S. griseoviridis*, *S. lydicus* y *S. violaceusniger*, en particular de las cepas *S. griseoviridis* K61, *S. lydicus* WYEC 108, *S. violaceusniger* XL-2 y *S. violaceusniger* YCED-9.

De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II es *Sphaerodes mycoparasitica*, preferiblemente la cepa IDAC 301008-01 de *Sphaerodes mycoparasitica* (también denominada cepa SMCD2220-01). Estas mezclas son particularmente adecuadas en la soja, los cereales y el maíz, en particular el maíz, especialmente para combatir el tizón de cabeza de *Fusarium*.

- 5 La presente invención también se refiere a mezclas en las que el al menos un pesticida II se selecciona de las siguientes levaduras y hongos: *Ampelomyces quisqualis*, en particular la cepa AQ 10, *Aureobasidium pullulans*, en particular las blastosporas de la cepa DSM14940 o blastosporas de la cepa DSM 14941 o mezclas de las mismas; *Candida oleophila*, en particular las cepas I-182 y O, *Coniothyrium minitans*, en particular la cepa CON/M/91-8; *Dilophosphora alopecuri*, que reduce la toxicidad anual del raigrás (ARGT), una enfermedad del ganado que resulta de la ingesta anual de cabezas de semillas de raigrás que han sido infectadas por la bacteria productora de toxinas *Rathayibacter toxicus*; *Gliocladium catenulatum*, en particular la cepa J 1446; *Metschnikovia fructicola*, en particular la cepa NRRL Y-30752, *Microsphaeropsis ochracea*, en particular la cepa P130A para el control de la costra de la manzana; (2.13) *Muscodorus albus*, en particular la cepa QST 20799, *Pichia anomala*, en particular la cepa WRL-076, *Pseudozyma flocculosa*, en particular la cepa PF-A22 UL; *Pythium oligandrum*, en particular la cepa DV74;
- 10
- 15 La presente invención también se refiere a mezclas en las que al menos un pesticida II se selecciona del género fúngico *Trichoderma*, preferiblemente de las cepas *Trichoderma asperellum* T34, *T. asperellum* SKT-1, *T. asperellum* ICC 012, *T. atroviride* LC52, *T. atroviride* CNCM I-1237, *T. fertile* JM41R, *T. gamsii* ICC 080, *T. harzianum* TH 382, *T. harzianum* TH-35, *T. harzianum* T-22, *T. harzianum* T-39; mezcla de *T. harzianum* ICC012 y *T. viride* ICC080; mezcla de *T. polysporum* y *T. harzianum*; *T. stromaticum*, *T. virens* GL-21, *T. virens* G41 y *T. viride* TV1; en particular *T. fertile* JM41R.
- 20

La presente invención también se refiere a mezclas en las que el al menos un pesticida II se selecciona del género de hongos *Ulocladium*, en particular *U. oudemansii* HRU3.

- También se da preferencia a mezclas que comprenden como pesticida II (componente 2) un biopesticida del grupo L2, preferiblemente seleccionado de quitosano (hidrolizado), metil-jasmonato, cis-jasmona, laminarina, extracto de *Reynoutria sachlinensis* y aceite de árbol de té; aún más preferible de metil jasmonato y laminarin.
- 25

- También se da preferencia a las mezclas que comprenden como pesticida II (componente 2) un biopesticida del grupo L3), preferiblemente seleccionadas de *Agrobacterium radiobacter* K1026, *Bacillus firmus* I-1582, *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* SB4, *Beauveria bassiana* GHA, *B. bassiana* H123, *B. bassiana* DSM 12256, *B. bassiana* PPRI 5339, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* IMI 330189, *M. anisopliae* FI-985, *M. anisopliae* FI-1045, *M. anisopliae* F52, *M. anisopliae* ICPE 69, *Paecilomyces lilacinus* DSM 15169, *P. lilacinus* BCP2, *Paenibacillus popilliae* Dutky-1940 (NRRL B-2309 = ATCC 14706), *P. popilliae* KLN 3 y *P. popilliae* Dutky 1, incluso más preferiblemente de *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* SB4, *B. bassiana* DSM 12256, *B. bassiana* PPRI 5339, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* IMI 330189, *M. anisopliae* FI-985, *M. anisopliae* FI-1045, *Paecilomyces lilacinus* DSM 15169, *P. lilacinus* BCP2, *Paenibacillus popilliae* Dutky-1940 (NRRL B-2309 = ATCC 14706), *P. popilliae* KLN 3 and *P. popilliae* Dutky 1.
- 30

- 35 De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II es *Beauveria bassiana*, preferiblemente seleccionado de *Beauveria bassiana* ATCC 74040, *B. bassiana* GHA, *B. bassiana* H123, *B. bassiana* DSM 12256 y *B. bassiana* PPRI 5339, en particular *Beauveria bassiana* cepa PPRI 5339. Estas mezclas son particularmente adecuadas para un amplio rango de plagas de artrópodos, tales como moscas blancas, trips, áfido, pulgones, tñidos y todas sus etapas de desarrollo (huevos, estados inmaduros y adultos) que infestan numerosos cultivos (vegetales, cucurbitáceas, frutas solanáceas, fresa, flores y ornamentales, vid, cítricos, frutas de pepitas y de hueso, etc.). Estudios recientes han demostrado que estas cepas fúngicas antagónicas pueden controlar eficazmente también los gorgojos de la nuez, los gusanos de alambre (*Agriotes* spp.) y las moscas *Tephritid*, tales como la mosca de la fruta mediterránea, *Ceratitis capitata*, la mosca de la fruta de la cereza, *Rhagoletis cerasi* y la mosca del olivo, *Bactrocera oleae*. También son útiles en soja y maíz.
- 40

- 45 De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II es *Beauveria brongniartii*.

De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II es *Metarhizium anisopliae* o *M. anisopliae* var. *acridio*, preferiblemente seleccionado de *M. anisopliae* FI-1045, *M. anisopliae* F52, *M. anisopliae* var. *acridum* FI-985 e IMI 330189, en particular la cepa IMI 330189. Estas mezclas son particularmente adecuadas para el control de plagas de artrópodos en la soja y el maíz.

- 50 De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II es *Lecanicillium* sp., Preferiblemente seleccionado de *Lecanicillium longisporum* KV42, *L. longisporum* KV71 y *L. muscarium* (anteriormente *Verticillium lecanii*) KV01.

De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II es *Paecilomyces fumosoroseus*, preferiblemente la cepa FE 9901, especialmente para el control de la mosca blanca.

- 55 De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II se selecciona de *Nomuraea rileyi*, preferiblemente cepas SA86101, GU87401, SR86151, CG128 y VA9101; y *P. lilacinus*, preferiblemente cepas 251, DSM 15169 o BCP2, en particular BCP2, cuyas cepas controlan especialmente el crecimiento de nematodos patogénicos de plantas.

De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II es *Bacillus firmus*, preferiblemente esporas de la cepa CNCM I-1582, preferible para el tratamiento de semillas de soja y maíz contra nematodos e insectos.

De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II es *B. cereus*, preferiblemente esporas de CNCM I-1562, preferible para el tratamiento de semillas de soja y maíz contra nematodos e insectos.

- 5 De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II es una mezcla de esporas de *B. firmus* y *B. cereus*, preferiblemente mezclas de esporas de cepas CNCM I-1582 y CNCM I-1562, preferibles para el tratamiento de semillas de soja y maíz contra nematodos e insectos.

10 De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II se selecciona de *Bacillus thuringiensis*, preferiblemente *B. thuringiensis* ssp. *aizawai*, en particular *B. t.* ssp. *Aizawai* cepas ABTS-18, SAN 401 I, ABG-6305 y ABG-6346, que son efectivas contra diferentes especies de lepidópteros, incluyendo también noctuidae.

De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II se selecciona de *Bacillus t.* ssp. *israelensis*, preferiblemente AM65-52, SAN 402 I y ABG-6164, que se aplican contra larvas de diversas plagas de dípteros, por ejemplo mosquitos y nematoceros.

15 De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II se selecciona de *Bacillus t.* ssp. *kurstaki* preferentemente de las cepas EG 2348, SB4 y ABTS-351 (HD-1), en particular *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* SB4. Estas cepas se utilizan para el control de larvas de lepidópteros, pero sin noctuidae.

De acuerdo con otra realización, el al menos un pesticida II se selecciona de *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis*, preferiblemente las cepas DSM 2803, NB-125 y NB-176, en particular NB-176, que protegen todas las plantas, por ejemplo contra larvas del escarabajo de la hoja.

20 También se prefieren las mezclas que comprenden como pesticida II (componente 2) un biopesticida del grupo L4, preferiblemente seleccionado de metil jasmonato, extracto de Acacia negra, extracto de semillas y pulpa de pomelo, aceite de Nébeda, aceite de Neem, extracto de Quillay y aceite de Tagetes, en particular, metil jasmonato o extracto de Quillay a base de agua.

25 También se prefieren las mezclas que comprenden como pesticida II (componente 2) un biopesticida del grupo L5, preferiblemente seleccionado de *Azospirillum amazonense* BR 11140 (SpY2T), *A. brasilense* XOH, *A. brasilense* BR 11005 (Sp245), *A. brasilense* BR 11002, *A. lipoferum* BR 11646 (Sp31), *A. irakense*, *A. halopraeferens*, *Bacillus amyloliquefaciens* AP-136 (NRRL B-50614), *Bradyrhizobium* sp. (*Vigna*), *B. japonicum* USDA 3, *B. japonicum* USDA 31, *B. japonicum* USDA 76, *B. japonicum* USDA 110, *B. japonicum* USDA 121, *Glomus intraradices* RTI-801, *Paenibacillus alvei* NAS6G6, *Penicillium bilaiae*, *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseolii*, *R. I. trifolii*, *R. I. bv. viciae*, y *Sinorhizobium meliloti*, más preferiblemente seleccionados de *Azospirillum brasilense* BR 11005 (Sp245), *Bradyrhizobium* sp. (*Vigna*), *B. japonicum* USDA 3, *B. japonicum* USDA 31, *B. japonicum* USDA 76, *B. japonicum* USDA 110, *B. japonicum* USDA 121, *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseolii*, *R. I. trifolii* RP113-7, *R. I. bv. viciae* SU303, *R. I. bv. viciae* WSM1455, *R. tropici* SEMIA 4088 y *Sinorhizobium meliloti*.

30 De acuerdo con otra realización de las mezclas de la invención, *Bradyrhizobium* sp. (es decir, cualquier especie y/o cepa de *Bradyrhizobium*) como pesticida II es *Bradyrhizobium japonicum* (*B. japonicum*). Estas mezclas son particularmente adecuadas en soja. Las cepas de *B. japonicum* se cultivaron utilizando medios y técnicas de fermentación conocidas en la técnica, por ejemplo en caldo de extracto de levadura-manitol (YEM) a 27 °C durante aproximadamente 5 días.

35 La presente invención también se refiere a mezclas, en donde el al menos un pesticida II se selecciona de *Bradyrhizobium japonicum* (*B. japonicum*) y además comprende un compuesto III, en donde el compuesto III se selecciona de ácido jasmónico o sales o derivados del mismo incluyendo *cis*-jasmona, preferiblemente metil-jasmonato o *cis*-jasmona.

40 Las referencias para diversas cepas de *B. japonicum* se dan, por ejemplo en US 7,262,151 (cepas de *B. japonicum* USDA 110 (= IITA 2121, SEMIA 5032, RCR 3427, ARS 1-110, Nitragin 61A89; aislado de *Glycine max* en Florida en 1959, Serogroup 110; *Appl Environ Microbiol* 60, 940-94, 1994), USDA 31 (= Nitragin 61A164; aislado de *Glycine max* en Wisoconsin en 1941, EE. UU., Serogroup 31), USDA 76 (pasaje de la planta de la cepa USDA 74 que se ha aislado de *Glycine max* en California, EE. UU., en 1956, Serogroup 76), USDA 121 (aislado de *Glycine max* en Ohio, EE. UU., en 1965), USDA 3 (aislado de *Glycine max* en Virginia, EE. UU., en 1914, Serogroup 6), USDA 121 (*Crop Science* 26 (5), 911-916, 1986) y USDA 136 (= CB 1809, SEMIA 586, Nitragin 61A136, RCR 3407; aislado de *Glycine max* en Beltsville, Maryland en 1961; *Appl Environ Microbiol* 60, 940-94, 1994). Además, se describe la cepa G49 de *B. japonicum* adecuada (INRA, Angers, Francia) en Fernandez-Flouret, D. & Cleyet-Marel, JC (1987) *CR Acad Agric Fr* 73, 163-171), especialmente para la soja cultivada en Europa. en particular en Francia. Además, la cepa TA-11 (TA11 NOD +) (NRRL B-18466) adecuada es i.a. descrita en el documento US 5.021.076; *Appl Environ Microbiol* (1990) 56, 2399-2403 y disponible comercialmente como inculante líquido para la soja. (VAULT® NP, Becker Underwood, USA).

45 Otras cepas de *B. japonicum* como ejemplo para el pesticida II se describen en US2012/0252672A. Más adecuado y especialmente en Canadá, cepa 532c disponible comercialmente (The Nitragin Company, Milwaukee, Wisconsin, EE. UU., Aislado de campo de Wisconsin; colección de cepas de Nitragin No. 61A152; *Can J Plant Sci* 70 (1990), 661-

666) (por ejemplo, en RHIZOFLO, HIS-TICK, HICOAT Super de Becker Underwood, Canadá). Preferiblemente, *B. japonicum* se selecciona de las cepas TA-11 y 532c, más preferiblemente una mezcla de las cepas de *B. japonicum* TA-11 y 532c.

5 Otras cepas de *B. japonicum* adecuadas y disponibles comercialmente (véase, por ejemplo, Appl Environ Microbiol 2007, 73 (8), 2635) son SEMIA 566 (aisladas de inoculante norteamericano en 1966 y utilizadas en inoculantes comerciales brasileños desde 1966 a 1978), SEMIA 586 (= CB 1809; originalmente aislado en Mariland, EE. UU. Pero recibido de Australia en 1966 y utilizado en inoculantes brasileños en 1977), CPAC 15 (= SEMIA 5079; una variedad natural de SEMIA 566 utilizada en inoculantes comerciales desde 1992) y CPAC 7 (= SEMIA 5080; una variante natural de SEMIA 586 usada en inoculantes comerciales desde 1992). Estas cepas son especialmente adecuadas para la soja cultivada en Australia o América del Sur, en particular en Brasil. En particular, son adecuadas las mezclas de *B. japonicum* SEMIA 5079 y SEMIA 5080. Algunas de las cepas mencionadas anteriormente se han reclasificado como una nueva especie de *Bradyrhizobium elkanii*, por ejemplo cepa USDA 76 (Can. J. Microbiol., 1992, 38, 501-505).

15 Otra cepa de *B. japonicum* adecuada y disponible comercialmente es la E-109 (variante de la cepa USDA 138, véase, por ejemplo, Eur. J. Soil Biol. 45 (2009) 28-35; Biol Fertil Soils (2011) 47: 81-89, depositada en el Laboratorio de Recolección Agrícola del Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMYZA), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Castelar, Argentina). Esta variedad es especialmente adecuada para la soja cultivada en América del Sur, en particular en Argentina.

20 Otra cepa de *B. japonicum* adecuada y disponible comercialmente es WB74 o WB74-1 (por ejemplo, de Stimulant CC, Sudáfrica o de SoyGro Bio-Fertilizer Ltd, Sudáfrica). Estas cepas son especialmente adecuadas para la soja cultivada en América del Sur y África, en particular en Sudáfrica.

25 La presente invención también se refiere a mezclas, en las que el al menos un pesticida II se selecciona de *Bradyrhizobium elkanii* y *Bradyrhizobium liaoningense* (*B. elkanii* y *B. liaoningense*), más preferiblemente de *B. elkanii*. Estas mezclas son particularmente adecuadas en soja. *B. elkanii* y *liaoningense* se cultivaron utilizando medios y técnicas de fermentación conocidas en la técnica, por ejemplo en caldo de extracto de levadura-manitol (YEM) a 27 °C durante aproximadamente 5 días.

La presente invención también se refiere a mezclas en las que el al menos un pesticida II se selecciona de *B. elkanii* y *B. liaoningense* y comprende además un compuesto III, en donde el compuesto III se selecciona de ácido jasmónico o sales o derivados del mismo, incluyendo cis-jasmona, preferiblemente metil-jasmonato o cis-jasmona.

30 Las cepas de *B. elkanii* adecuadas y disponibles comercialmente son SEMIA 587 y SEMIA 5019 (= 29W) (véase, por ejemplo, Appl Environ Microbiol 2007, 73 (8), 2635) y USDA 3254 y USDA 76 y USDA 94. Preferiblemente, mezclas de *B. elkanii* Las cepas SEMIA 587 y SEMIA 5019 son útiles (por ejemplo, en Gelfix 5 de Nitral Urbana Laboratories, Brasil, una compañía de BASF). Otras cepas de *B. elkanii* disponibles comercialmente son U-1301 y U-1302 (por ejemplo, producto Nitroagin® Optimize de Novozymes Bio As S.A., Brasil o NITRASEC para soja de LAGE y Cia, Brasil). Estas cepas son especialmente adecuadas para la soja cultivada en Australia o América del Sur, en particular en Brasil.

40 La presente invención también se refiere a mezclas, en las que el pesticida II se selecciona de *Bradyrhizobium sp.* (*Arachis*) (*B. sp. Arachis*), que describirá el grupo de inoculación cruzada miscelánea de caupí que incluye, entre otros, *bradyrhizobia* indígena de caupí en caupí (*Vigna unguiculata*), siratro (*Macroptilium atropurpureum*), frijol lima (*Phaseolus lunatus*) y maní (*Arachis hypogaea*). Esta mezcla comprende como plaguicida II *B. sp. Arachis* es especialmente adecuado para su uso en maní, caupí, frijol mungo, frijol polilla, frijol duna, frijol arroz, frijol serpiente y *vigna* rastrera, en particular el maní.

La presente invención también se refiere a mezclas en las que el al menos un pesticida II se selecciona de *B. sp.* (*Arachis*) y además comprende un compuesto III, en el que el compuesto III se selecciona de ácido jasmónico o sales o derivados del mismo que incluyen cis-jasmona, preferiblemente metil-jasmonato o cis-jasmona.

45 La cepa adecuada y comercialmente disponible *B. sp.* (*Arachis*) es CB1015 (= IITA 1006, USDA 3446 presumiblemente originalmente recolectada en India; del Australian Inoculants Research Group; véase, por ejemplo, http://www.qaseeds.com.au/inoculant_applic.php). Estas cepas son especialmente adecuadas para el maní cultivado en Australia, América del Norte o América del Sur, en particular en Brasil. Otra cepa adecuada es *Bradyrhizobium sp.* PNL01 (Becker Underwood,; Bisson and Mason, April 29, 2010, Project report, Worcester Polytechnic Institute, Worcester, MA, USA: <http://www.wpi.edu/Pubs/E-project/Available/E-project-042810-163614/>).

50 Las cepas adecuadas y comercialmente disponibles *Bradyrhizobium sp.* (*Arachis*) especialmente para caupí y maní, pero también para soja son *Bradyrhizobium* SEMIA 6144, SEMIA 6462 (= BR 3267) y SEMIA 6464 (= BR 3262; véase, por ejemplo, FEMS Microbiology Letters (2010) 303 (2), 123- 131; Revista Brasileira de Ciencia del Solo (2011) 35 (3); 739-742, ISSN 0100-0683).

55 La presente invención también se refiere a mezclas, en las que el al menos un pesticida II se selecciona de *Bradyrhizobium sp.* (*Lupin*) (también llamado *B. lupini*, *B. lupines* o *Rhizobium lupini*). Esta mezcla es especialmente adecuada para su uso en frijoles secos y *lupinus*.

La presente invención también se refiere a mezclas en las que el al menos un pesticida II se selecciona de *Bradyrhizobium* sp. (*Lupin*) (*B. lupini*) y además comprende un compuesto III, en el que el compuesto III se selecciona de ácido jasmónico o sales o derivados del mismo que incluyen cis-jasmona, preferiblemente metil-jasmonato o cis-jasmona.

- 5 La cepa *B. lupini* adecuada y disponible comercialmente es LL13 (aislada de nódulos de *Lupinus iuteus* de suelos franceses; depositada en INRA, Dijon y Angers, Francia; <http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/ch20060216.pdf>). Esta cepa es especialmente adecuada para *lupinus* cultivados en Australia, América del Norte o Europa, en particular en Europa.

- Cepas adicionales adecuadas y disponibles comercialmente de *B. lupini* WU425 (aisladas en Esperance, Australia Occidental a partir de una leguminosa no australiana *Ornithopus compressus*), WSM4024 (aisladas de *lupins* en Australia por CRS durante una inspección de 2005) y WSM471 (aisladas de *Ornithopus pinnatus* en Oyster Harbour, Australia Occidental) se describen, por ejemplo, en Palta J.A. and Berger J.B. (eds), 2008, Proceedings 12th International Lupin Conference, 14-18 Sept. 2008, Fremantle, Western Australia. International Lupin Association, Canterbury, New Zealand, 47-50, ISBN 0-86476-153-8: <http://www.lupins.org/pdf/conference/2008/Agronomy%20and%20Production/John%20Howieson%20and%20G%20Hara.pdf>; Appl. Environ. Microbiol. 71, 7041-7052, 2005; Australian J. Exp. Agricult. 36(1), 63-70, 1996.
- 10
- 15

La presente invención también se refiere a mezclas, en las que el al menos un pesticida II se selecciona de *Mesorhizobium* sp. (es decir, cualquier especie y/o cepa de *Mesorhizobium*), más preferiblemente *Mesorhizobium ciceri*. Estas mezclas son particularmente adecuadas en el caupí.

- 20 La presente invención también se refiere a mezclas en las que el al menos un pesticida II se selecciona de *Mesorhizobium* sp. y comprende además un compuesto III, en el que el compuesto III se selecciona de ácido jasmónico o sales o derivados del mismo que incluyen cis-jasmona, preferiblemente metil-jasmonato o cis-jasmona.

- Las cepas adecuadas y comercialmente disponibles de *Mesorhizobium* sp. son por ejemplo *M. ciceri* CC1192 (= UPM 848, CECT 5549; de Horticultural Research Station, Gosford, Australia; recolectada en Israel de los nódulos de *Cicer arietinum*; Can J Microbiol (2002) 48, 279-284) y *Mesorhizobium* sp. WSM1271 (recolectada en Cerdeña, Italia, de la planta *Biserrula pelecinus*), WSM 1497 (recolectada en Mykonos, Grecia, de la planta *Biserrula pelecinus*), *M. loti* cepas CC829 (inoculante comercial para *Lotus pedunculatus* y *L. ulginosus* en Australia, aislado de los nódulos de *L. ulginosus* en los Estados Unidos; NZP 2012), *M. loti* SU343 (un inoculante comercial para *Lotus corniculatus* en Australia; aislado de los nódulos del huésped en los Estados Unidos). Para referencias véase, por ejemplo, Soil Biol Biochem (2004) 36 (8), 1309-1317; Plant and Soil (2011) 348 (1-2), 231-243).
- 25
- 30

Las cepas adecuadas y disponibles comercialmente de *M. loti* son, por ejemplo *M. loti* CC829 para *Lotus pedunculatus*.

- La presente invención también se refiere a mezclas en las que el al menos un pesticida II se selecciona de *Mesorhizobium huakuii*, también denominado *Rhizobium huakuii* (véase, por ejemplo, Appl. Environ. Microbiol. 2011, 77 (15), 5513-5516). Estas mezclas son particularmente adecuadas en *Astragalus*, por ejemplo *Astragalus sinicus* (Chinese milkwetch), *Thermopsis*, por ejemplo *Thermopsis luinoides* (Goldenbanner) y similares.
- 35

La presente invención también se refiere a mezclas en las que el al menos un pesticida II se selecciona de *Mesorhizobium huakuii* y comprende además un compuesto III, en donde el compuesto III se selecciona de ácido jasmónico o sales o derivados del mismo que incluyen cis-jasmona, preferiblemente metil-jasmonato o cis-jasmona.

- La cepa adecuada y disponible comercialmente de *M. huakuii* es HN3015, que se aisló de *Astragalus sinicus* en un campo de cultivo de arroz en el sur de China (véase, por ejemplo, World J. Microbiol. Biotechn. (2007) 23 (6), 845-851, ISSN 0959-3993).
- 40

- La presente invención también se refiere a mezclas, en donde el al menos un pesticida II se selecciona de *Azospirillum amazonense*, *A. brasilense*, *A. lipoferum*, *A. irakense* y *A. halopraeferens*, más preferiblemente de *A. brasilense*, en particular seleccionado de las cepas *A. brasilenses* BR 11005 (Sp245) y AZ39, que se usan comercialmente en Brasil y se pueden obtener de EMBRAPA-Agribiologia, Brasil. Estas mezclas son particularmente adecuadas en soja.
- 45

La presente invención también se refiere a mezclas en las que el al menos un pesticida II se selecciona de *A. amazonense*, *A. brasilense*, *A. lipoferum*, *A. irakense* y *A. halopraeferens*, más preferiblemente *A. brasilense*, y comprende además un compuesto III, en donde el compuesto III se selecciona de ácido jasmónico o sales o derivados del mismo incluyendo cis-jasmona, preferiblemente metiljasmonato o cis-jasmona.

- La presente invención también se refiere a mezclas en las que el al menos un pesticida II se selecciona de *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseolii*; *R. I. trifolii*, especialmente la cepa RP113-7 de la misma, *R. I. bv. viciae*, en particular cepas SU303, WSM1455 y P1 NP3Cst de los mismos; *R. tropici*, especialmente la cepa SEMIA 4088 de la misma; y *Sinorhizobium meliloti*, especialmente la cepa MSDJ0848 de la misma. *Sinorhizobium meliloti* está disponible comercialmente de Becker Underwood como producto Dormal® Alfalfa & Luzerne. *Rhizobium leguminosarum* bv. *Phaseoli* está disponible comercialmente de Becker Underwood como producto Rhizo Stick. Estas cepas son
- 50
- 55

particularmente adecuadas como inoculantes para diversas leguminosas tales como la alfalfa, el trébol, los guisantes, los frijoles, las lentejas, la soja, el maní y otros.

5 La presente invención también se refiere a mezclas en las que el al menos un pesticida II se selecciona de *R. leguminosarum* bv. *phaseolii*, *R. I. trifolii*, *R. I. bv. viciae*, *R. tropici* y *Sinorhizobium meliloti*, y además comprende un compuesto III, en el que el compuesto III se selecciona de ácido jasmónico o sales o derivados del mismo que incluyen *cis*-jasmona, preferiblemente metiljasmonato o *cis*-jasmona.

De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II se selecciona de *Delftia acidovorans*, en particular la cepa RAY209, especialmente en soja y canola.

10 De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II se selecciona de *Lysobacter* spp., Preferiblemente se selecciona de *L. antibioticus*, en particular cepas 13-1 y HS124, preferiblemente en arroz o pimienta para el control de *Phytophthora* o tizón bacteriano de la hoja. De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II se selecciona de *L. enzymogenes*, en particular la cepa 3.1T8.

De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II se selecciona de *Lysobacter* spp., Preferiblemente se selecciona de *Pseudomonas* spp., En particular la cepa MA 342 y *Pseudomonas* sp. DSM 13134.

15 De acuerdo con una realización adicional, el al menos un pesticida II se selecciona de *Penicillium bilaiae*.

También se prefieren las mezclas que comprenden como pesticida II (componente 2) un biopesticida del grupo L6, preferiblemente seleccionado de ácido abscísico, silicato de aluminio (caolín), humatos, *Ascophillum nodosum* (alga noruega, alga marrón) y extracto de *Ecklonia maxima* (alga).

20 También se da preferencia a las mezclas que comprenden como pesticida II un biopesticida seleccionado de las isoflavonas formonennitina, hesperetina y naringenina.

Por consiguiente, la presente invención se refiere además a composiciones que comprenden una cepa, extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención (componente 1) y un pesticida II (componente 2), pesticida II que se selecciona de la columna "Co. 2" de las líneas B-1 a B-810 de la Tabla B.

25 Una realización adicional se refiere a las composiciones B-1 a B-810 listadas en la Tabla B, donde una fila de la Tabla B corresponde en cada caso a una composición fungicida que comprende como componentes activos uno de los compuestos individualizados de la presente especificación de fórmula I (componente 1) y el respectivo plaguicida II de los grupos A) a O) (componente 2) se indican en la fila en cuestión. Preferiblemente, las composiciones descritas comprenden los componentes activos en cantidades sinérgicamente efectivas.

Tabla B: Composiciones que comprenden como componentes activos una cepa individualizada, extracto libre de células, medio de cultivo o extrolito de la invención (de aquí en adelante denominado como grupo I) (en la Columna Co. 1 y como componente 2) (en la Columna Co.2) un pesticida de los grupos A) a O) [que está codificado por ejemplo como (A.1.1) para azoxystrobin como se define más arriba]

Mex.	Co.1	Co. 2
B-1	(I)	(A.1.1)
B-2	(I)	(A.1.2)
B-3	(I)	(A.1.3)
B-4	(I)	(A.1.4)
B-5	(I)	(A.1.5)
B-6	(I)	(A.1.6)
B-7	(I)	(A.1.7)
B-8	(I)	(A.1.8)
B-9	(I)	(A.1.9)
B-10	(I)	(A.1.10)
B-11	(I)	(A.1.11)
B-12	(I)	(A.1.12)
B-13	(I)	(A.1.13)
B-14	(I)	(A.1.14)
B-15	(I)	(A.1.15)
B-16	(I)	(A.1.16)
B-17	(I)	(A.1.17)
B-18	(I)	(A.1.18)
B-19	(I)	(A.1.19)
B-20	(I)	(A.1.20)
B-21	(I)	(A.1.21)
B-22	(I)	(A.2.1)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-23	(I)	(A.2.2)
B-24	(I)	(A.2.3)
B-25	(I)	(A.2.4)
B-26	(I)	(A.2.5)
B-27	(I)	(A.2.6)
B-28	(I)	(A.2.7)
B-29	(I)	(A.3.1)
B-30	(I)	(A.3.2)
B-31	(I)	(A.3.3)
B-32	(I)	(A.3.4)
B-33	(I)	(A.3.5)
B-34	(I)	(A.3.6)
B-35	(I)	(A.3.7)
B-36	(I)	(A.3.8)
B-37	(I)	(A.3.9)
B-38	(I)	(A.3.10)
B-39	(I)	(A.3.11)
B-40	(I)	(A.3.12)
B-41	(I)	(A.3.13)
B-42	(I)	(A.3.14)
B-43	(I)	(A.3.15)
B-44	(I)	(A.3.16)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-45	(I)	(A.3.17)
B-46	(I)	(A.3.18)
B-47	(I)	(A.3.19)
B-48	(I)	(A.3.20)
B-49	(I)	(A.3.21)
B-50	(I)	(A.3.22)
B-51	(I)	(A.3.23)
B-52	(I)	(A.3.24)
B-53	(I)	(A.3.25)
B-54	(I)	(A.3.26)
B-55	(I)	(A.3.27)
B-56	(I)	(A.4.1)
B-57	(I)	(A.4.2)
B-58	(I)	(A.4.3)
B-59	(I)	(A.4.4)
B-60	(I)	(A.4.5)
B-61	(I)	(A.4.6)
B-62	(I)	(A.4.7)
B-63	(I)	(A.4.8)
B-64	(I)	(A.4.9)
B-65	(I)	(A.4.10)
B-66	(I)	(A.4.11)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-67	(I)	(A.4.12)
B-68	(I)	(B.1.1)
B-69	(I)	(B.1.2)
B-70	(I)	(B.1.3)
B-71	(I)	(B.1.4)
B-72	(I)	(B.1.5)
B-73	(I)	(B.1.6)
B-74	(I)	(B.1.7)
B-75	(I)	(B.1.8)
B-76	(I)	(B.1.9)
B-77	(I)	(B.1.10)
B-78	(I)	(B.1.11)
B-79	(I)	(B.1.12)
B-80	(I)	(B.1.13)
B-81	(I)	(B.1.14)
B-82	(I)	(B.1.15)
B-83	(I)	(B.1.16)
B-84	(I)	(B.1.17)
B-85	(I)	(B.1.18)
B-86	(I)	(B.1.19)
B-87	(I)	(B.1.20)
B-88	(I)	(B.1.21)
B-89	(I)	(B.1.22)
B-90	(I)	(B.1.23)
B-91	(I)	(B.1.24)
B-92	(I)	(B.1.25)
B-93	(I)	(B.1.26)
B-94	(I)	(B.1.27)
B-95	(I)	(B.1.28)
B-96	(I)	(B.1.29)
B-97	(I)	(B.1.30)
B-98	(I)	(B.1.31)
B-99	(I)	(B.1.32)
B-100	(I)	(B.1.33)
B-101	(I)	(B.1.34)
B-102	(I)	(B.1.35)
B-103	(I)	(B.1.36)
B-104	(I)	(B.1.37)
B-105	(I)	(B.1.38)
B-106	(I)	(B.1.39)
B-107	(I)	(B.1.40)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-108	(I)	(B.1.41)
B-109	(I)	(B.1.42)
B-110	(I)	(B.1.43)
B-111	(I)	(B.1.44)
B-112	(I)	(B.1.45)
B-113	(I)	(B.1.46)
B-114	(I)	(B.1.47)
B-115	(I)	(B.1.48)
B-116	(I)	(B.1.49)
B-117	(I)	(B.1.50)
B-118	(I)	(B.2.1)
B-119	(I)	(B.2.2)
B-120	(I)	(B.2.3)
B-121	(I)	(B.2.4)
B-122	(I)	(B.2.5)
B-123	(I)	(B.2.6)
B-124	(I)	(B.2.7)
B-125	(I)	(B.2.8)
B-126	(I)	(B.3.1)
B-127	(I)	(C.1.1)
B-128	(I)	(C.1.2)
B-129	(I)	(C.1.3)
B-130	(I)	(C.1.4)
B-131	(I)	(C.1.5)
B-132	(I)	(C.1.6)
B-133	(I)	(C.1.7)
B-134	(I)	(C.2.1)
B-135	(I)	(C.2.2)
B-136	(I)	(C.2.3)
B-137	(I)	(C.2.4)
B-138	(I)	(C.2.5)
B-139	(I)	(C.2.6)
B-140	(I)	(C.2.7)
B-141	(I)	(D.1.1)
B-142	(I)	(D.1.2)
B-143	(I)	(D.1.3)
B-144	(I)	(D.1.4)
B-145	(I)	(D.1.5)
B-146	(I)	(D.1.6)
B-147	(I)	(D.2.1)
B-148	(I)	(D.2.2)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-149	(I)	(D.2.3)
B-150	(I)	(D.2.4)
B-151	(I)	(D.2.5)
B-152	(I)	(D.2.6)
B-153	(I)	(D.2.7)
B-154	(I)	(E.1.1)
B-155	(I)	(E.1.2)
B-156	(I)	(E.1.3)
B-157	(I)	(E.2.1)
B-158	(I)	(E.2.2)
B-159	(I)	(E.2.3)
B-160	(I)	(E.2.4)
B-161	(I)	(E.2.5)
B-162	(I)	(E.2.6)
B-163	(I)	(E.2.7)
B-164	(I)	(E.2.8)
B-165	(I)	(F.1.1)
B-166	(I)	(F.1.2)
B-167	(I)	(F.1.3)
B-168	(I)	(F.1.4)
B-169	(I)	(F.1.5)
B-170	(I)	(F.1.6)
B-171	(I)	(F.2.1)
B-172	(I)	(G.1.1)
B-173	(I)	(G.1.2)
B-174	(I)	(G.1.3)
B-175	(I)	(G.1.4)
B-176	(I)	(G.2.1)
B-177	(I)	(G.2.2)
B-178	(I)	(G.2.3)
B-179	(I)	(G.2.4)
B-180	(I)	(G.2.5)
B-181	(I)	(G.2.6)
B-182	(I)	(G.2.7)
B-183	(I)	(G.3.1)
B-184	(I)	(G.3.2)
B-185	(I)	(G.3.3)
B-186	(I)	(G.3.4)
B-187	(I)	(G.3.5)
B-188	(I)	(G.3.6)
B-189	(I)	(G.3.7)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-190	(I)	(G.3.8)
B-191	(I)	(G.4.1)
B-192	(I)	(G.5.1)
B-193	(I)	(H.1.1)
B-194	(I)	(H.1.2)
B-195	(I)	(H.1.3)
B-196	(I)	(H.1.4)
B-197	(I)	(H.1.5)
B-198	(I)	(H.1.6)
B-199	(I)	(H.2.1)
B-200	(I)	(H.2.2)
B-201	(I)	(H.2.3)
B-202	(I)	(H.2.4)
B-203	(I)	(H.2.5)
B-204	(I)	(H.2.6)
B-205	(I)	(H.2.7)
B-206	(I)	(H.2.8)
B-207	(I)	(H.2.9)
B-208	(I)	(H.3.1)
B-209	(I)	(H.3.2)
B-210	(I)	(H.3.3)
B-211	(I)	(H.3.4)
B-212	(I)	(H.3.5)
B-213	(I)	(H.3.6)
B-214	(I)	(H.3.7)
B-215	(I)	(H.3.8)
B-216	(I)	(H.3.9)
B-217	(I)	(H.3.10)
B-218	(I)	(H.3.11)
B-219	(I)	(H.4.1)
B-220	(I)	(H.4.2)
B-221	(I)	(H.4.3)
B-222	(I)	(H.4.4)
B-223	(I)	(H.4.5)
B-224	(I)	(H.4.6)
B-225	(I)	(H.4.7)
B-226	(I)	(H.4.8)
B-227	(I)	(H.4.9)
B-228	(I)	(H.4.10)
B-229	(I)	(I.1.1)
B-230	(I)	(I.1.2)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-231	(I)	(I.2.1)
B-232	(I)	(I.2.2)
B-233	(I)	(I.2.3)
B-234	(I)	(I.2.4)
B-235	(I)	(I.2.5)
B-236	(I)	(J.1.1)
B-237	(I)	(J.1.2)
B-238	(I)	(J.1.3)
B-239	(I)	(J.1.4)
B-240	(I)	(J.1.5)
B-241	(I)	(J.1.6)
B-242	(I)	(J.1.7)
B-243	(I)	(J.1.8)
B-244	(I)	(J.1.9)
B-245	(I)	(K.1.1)
B-246	(I)	(K.1.2)
B-247	(I)	(K.1.3)
B-248	(I)	(K.1.4)
B-249	(I)	(K.1.5)
B-250	(I)	(K.1.6)
B-251	(I)	(K.1.7)
B-252	(I)	(K.1.8)
B-253	(I)	(K.1.9)
B-254	(I)	(K.1.10)
B-255	(I)	(K.1.11)
B-256	(I)	(K.1.12)
B-257	(I)	(K.1.13)
B-258	(I)	(K.1.14)
B-259	(I)	(K.1.15)
B-260	(I)	(K.1.16)
B-261	(I)	(K.1.17)
B-262	(I)	(K.1.18)
B-263	(I)	(K.1.19)
B-264	(I)	(K.1.20)
B-265	(I)	(K.1.21)
B-266	(I)	(K.1.22)
B-267	(I)	(K.1.23)
B-268	(I)	(K.1.24)
B-269	(I)	(K.1.25)
B-270	(I)	(K.1.26)
B-271	(I)	(K.1.27)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-272	(I)	(K.1.28)
B-273	(I)	(K.1.29)
B-274	(I)	(K.1.30)
B-275	(I)	(K.1.31)
B-276	(I)	(K.1.32)
B-277	(I)	(K.1.33)
B-278	(I)	(K.1.34)
B-279	(I)	(K.1.35)
B-280	(I)	(K.1.36)
B-281	(I)	(K.1.37)
B-282	(I)	(K.1.38)
B-283	(I)	(K.1.39)
B-284	(I)	(K.1.40)
B-285	(I)	(K.1.41)
B-286	(I)	(K.1.42)
B-287	(I)	(K.1.43)
B-288	(I)	(K.1.44)
B-289	(I)	(K.1.45)
B-290	(I)	(K.1.46)
B-291	(I)	(K.1.47)
B-292	(I)	(M.1.1)
B-293	(I)	(M.1.2)
B-294	(I)	(M.1.3)
B-295	(I)	(M.1.4)
B-296	(I)	(M.1.5)
B-297	(I)	(M.1.6)
B-298	(I)	(M.1.7)
B-299	(I)	(M.1.8)
B-300	(I)	(M.1.9)
B-301	(I)	(M.1.10)
B-302	(I)	(M.1.11)
B-303	(I)	(M.1.12)
B-304	(I)	(M.1.13)
B-305	(I)	(M.1.14)
B-306	(I)	(M.1.15)
B-307	(I)	(M.1.16)
B-308	(I)	(M.1.17)
B-309	(I)	(M.1.18)
B-310	(I)	(M.1.19)
B-311	(I)	(M.1.20)
B-312	(I)	(M.1.21)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-313	(I)	(M.1.22)
B-314	(I)	(M.1.23)
B-315	(I)	(M.1.24)
B-316	(I)	(M.1.25)
B-317	(I)	(M.1.26)
B-318	(I)	(M.1.27)
B-319	(I)	(M.1.28)
B-320	(I)	(M.1.29)
B-321	(I)	(M.1.30)
B-322	(I)	(M.1.31)
B-323	(I)	(M.1.32)
B-324	(I)	(M.1.33)
B-325	(I)	(M.1.34)
B-326	(I)	(M.1.35)
B-327	(I)	(M.1.36)
B-328	(I)	(M.1.37)
B-329	(I)	(M.1.38)
B-330	(I)	(M.1.39)
B-331	(I)	(M.1.40)
B-332	(I)	(M.1.41)
B-333	(I)	(M.1.42)
B-334	(I)	(M.1.43)
B-335	(I)	(M.1.44)
B-336	(I)	(M.1.45)
B-337	(I)	(M.1.46)
B-338	(I)	(M.1.47)
B-339	(I)	(M.1.48)
B-340	(I)	(M.1.49)
B-341	(I)	(M.1.50)
B-342	(I)	(N.1.1)
B-343	(I)	(N.1.2)
B-344	(I)	(N.1.3)
B-345	(I)	(N.1.4)
B-346	(I)	(N.1.5)
B-347	(I)	(N.2.1)
B-348	(I)	(N.2.2)
B-349	(I)	(N.2.3)
B-350	(I)	(N.3.1)
B-351	(I)	(N.3.2)
B-352	(I)	(N.3.3)
B-353	(I)	(N.3.4)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-354	(I)	(N.4.1)
B-355	(I)	(N.5.1)
B-356	(I)	(N.6.1)
B-357	(I)	(N.6.2)
B-358	(I)	(N.6.3)
B-359	(I)	(N.6.4)
B-360	(I)	(N.6.5)
B-361	(I)	(N.7.1)
B-362	(I)	(N.7.2)
B-363	(I)	(N.7.3)
B-364	(I)	(N.8.1)
B-365	(I)	(N.9.1)
B-366	(I)	(N.10.1)
B-367	(I)	(N.10.2)
B-368	(I)	(N.10.3)
B-369	(I)	(N.10.4)
B-370	(I)	(N.10.5)
B-371	(I)	(N.11.1)
B-372	(I)	(N.12.1)
B-373	(I)	(N.12.2)
B-374	(I)	(N.12.3)
B-375	(I)	(N.12.4)
B-376	(I)	(N.13.1)
B-377	(I)	(N.13.2)
B-378	(I)	(N.13.3)
B-379	(I)	(N.13.4)
B-380	(I)	(N.13.5)
B-381	(I)	(N.13.6)
B-382	(I)	(N.13.7)
B-383	(I)	(N.13.8)
B-384	(I)	(N.13.9)
B-385	(I)	(N.14.1)
B-386	(I)	(N.14.2)
B-387	(I)	(N.15.1)
B-388	(I)	(N.16.1)
B-389	(I)	(N.16.2)
B-390	(I)	(N.17.1)
B-391	(I)	(N.17.2)
B-392	(I)	(N.17.3)
B-393	(I)	(N.17.4)
B-394	(I)	(N.17.5)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-395	(I)	(N.17.6)
B-396	(I)	(N.17.7)
B-397	(I)	(N.17.8)
B-398	(I)	(N.17.9)
B-399	(I)	(N.17.10)
B-400	(I)	(N.17.11)
B-401	(I)	(N.17.12)
B-402	(I)	(O.1.1)
B-403	(I)	(O.1.2)
B-404	(I)	(O.1.3)
B-405	(I)	(O.1.4)
B-406	(I)	(O.1.5)
B-407	(I)	(O.1.6)
B-408	(I)	(O.1.7)
B-409	(I)	(O.1.8)
B-410	(I)	(O.1.9)
B-411	(I)	(O.1.10)
B-412	(I)	(O.1.11)
B-413	(I)	(O.1.12)
B-414	(I)	(O.1.13)
B-415	(I)	(O.1.14)
B-416	(I)	(O.1.15)
B-417	(I)	(O.1.16)
B-418	(I)	(O.1.17)
B-419	(I)	(O.1.18)
B-420	(I)	(O.1.19)
B-421	(I)	(O.1.20)
B-422	(I)	(O.1.21)
B-423	(I)	(O.1.22)
B-424	(I)	(O.1.23)
B-425	(I)	(O.1.24)
B-426	(I)	(O.1.25)
B-427	(I)	(O.1.26)
B-428	(I)	(O.1.27)
B-429	(I)	(O.1.28)
B-430	(I)	(O.1.29)
B-431	(I)	(O.1.30)
B-432	(I)	(O.1.31)
B-433	(I)	(O.1.32)
B-434	(I)	(O.1.33)
B-435	(I)	(O.1.34)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-436	(I)	(O.1.35)
B-437	(I)	(O.1.36)
B-438	(I)	(O.1.37)
B-439	(I)	(O.1.38)
B-440	(I)	(O.2.1)
B-441	(I)	(O.2.2)
B-442	(I)	(O.2.3)
B-443	(I)	(O.2.4)
B-444	(I)	(O.2.5)
B-445	(I)	(O.2.6)
B-446	(I)	(O.2.7)
B-447	(I)	(O.2.8)
B-448	(I)	(O.2.9)
B-449	(I)	(O.2.10)
B-450	(I)	(O.2.11)
B-451	(I)	(O.2.12)
B-452	(I)	(O.2.13)
B-453	(I)	(O.2.14)
B-454	(I)	(O.2.15)
B-455	(I)	(O.2.16)
B-456	(I)	(O.3.1)
B-457	(I)	(O.3.2)
B-458	(I)	(O.3.3)
B-459	(I)	(O.3.4)
B-460	(I)	(O.3.5)
B-461	(I)	(O.3.6)
B-462	(I)	(O.3.7)
B-463	(I)	(O.3.8)
B-464	(I)	(O.3.9)
B-465	(I)	(O.3.10)
B-466	(I)	(O.3.11)
B-467	(I)	(O.3.12)
B-468	(I)	(O.3.13)
B-469	(I)	(O.3.14)
B-470	(I)	(O.3.15)
B-471	(I)	(O.3.16)
B-472	(I)	(O.3.17)
B-473	(I)	(O.3.18)
B-474	(I)	(O.3.19)
B-475	(I)	(O.3.20)
B-476	(I)	(O.3.21)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-477	(I)	(O.3.22)
B-478	(I)	(O.3.23)
B-479	(I)	(O.3.24)
B-480	(I)	(O.3.25)
B-481	(I)	(O.3.26)
B-482	(I)	(O.3.27)
B-483	(I)	(O.4.1)
B-484	(I)	(O.4.2)
B-485	(I)	(O.4.3)
B-486	(I)	(O.4.4)
B-487	(I)	(O.4.5)
B-488	(I)	(O.4.6)
B-489	(I)	(O.4.7)
B-490	(I)	(O.4.8)
B-491	(I)	(O.4.9)
B-492	(I)	(O.4.10)
B-493	(I)	(O.4.11)
B-494	(I)	(O.4.12)
B-495	(I)	(O.4.13)
B-496	(I)	(O.4.14)
B-497	(I)	(O.4.15)
B-498	(I)	(O.4.16)
B-499	(I)	(O.4.17)
B-500	(I)	(O.4.18)
B-501	(I)	(O.4.19)
B-502	(I)	(O.4.20)
B-503	(I)	(O.4.21)
B-504	(I)	(O.4.22)
B-505	(I)	(O.4.23)
B-506	(I)	(O.4.24)
B-507	(I)	(O.5.1)
B-508	(I)	(O.5.2)
B-509	(I)	(O.5.3)
B-510	(I)	(O.5.4)
B-511	(I)	(O.5.5)
B-512	(I)	(O.5.6)
B-513	(I)	(O.5.7)
B-514	(I)	(O.5.8)
B-515	(I)	(O.5.9)
B-516	(I)	(O.6.1)
B-517	(I)	(O.6.2)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-518	(I)	(O.6.3)
B-519	(I)	(O.6.4)
B-520	(I)	(O.6.5)
B-521	(I)	(O.6.6)
B-522	(I)	(O.6.7)
B-523	(I)	(O.7.1)
B-524	(I)	(O.7.2)
B-525	(I)	(O.7.3)
B-526	(I)	(O.7.4)
B-527	(I)	(O.7.5)
B-528	(I)	(O.7.6)
B-529	(I)	(O.8.1)
B-530	(I)	(O.8.2)
B-531	(I)	(O.8.3)
B-532	(I)	(O.8.4)
B-533	(I)	(O.8.5)
B-534	(I)	(O.9.1)
B-535	(I)	(O.9.2)
B-536	(I)	(O.9.3)
B-537	(I)	(O.10.1)
B-538	(I)	(O.11.1)
B-539	(I)	(O.11.2)
B-540	(I)	(O.11.3)
B-541	(I)	(O.11.4)
B-542	(I)	(O.12.1)
B-543	(I)	(O.13.1)
B-544	(I)	(O.14.1)
B-545	(I)	(O.14.2)
B-546	(I)	(O.15.1)
B-547	(I)	(O.15.2)
B-548	(I)	(O.15.3)
B-549	(I)	(O.15.4)
B-550	(I)	(O.15.5)
B-551	(I)	(O.15.6)
B-552	(I)	(O.15.7)
B-553	(I)	(O.15.8)
B-554	(I)	(O.15.9)
B-555	(I)	(O.15.10)
B-556	(I)	(O.15.11)
B-557	(I)	(O.16.1)
B-558	(I)	(O.16.2)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-559	(I)	(O.16.3)
B-560	(I)	(O.16.4)
B-561	(I)	(O.16.5)
B-562	(I)	(O.16.6)
B-563	(I)	(L.1.1)
B-564	(I)	(L.1.2)
B-565	(I)	(L.1.3)
B-566	(I)	(L.1.4)
B-567	(I)	(L.1.5)
B-568	(I)	(L.1.6)
B-569	(I)	(L.1.7)
B-570	(I)	(L.1.8)
B-571	(I)	(L.1.9)
B-572	(I)	(L.1.10)
B-573	(I)	(L.1.11)
B-574	(I)	(L.1.12)
B-575	(I)	(L.1.13)
B-576	(I)	(L.1.14)
B-577	(I)	(L.1.15)
B-578	(I)	(L.1.16)
B-579	(I)	(L.1.17)
B-580	(I)	(L.1.18)
B-581	(I)	(L.1.19)
B-582	(I)	(L.1.20)
B-583	(I)	(L.1.21)
B-584	(I)	(L.1.22)
B-585	(I)	(L.1.23)
B-586	(I)	(L.1.24)
B-587	(I)	(L.1.25)
B-588	(I)	(L.1.26)
B-589	(I)	(L.1.27)
B-590	(I)	(L.1.28)
B-591	(I)	(L.1.29)
B-592	(I)	(L.1.30)
B-593	(I)	(L.1.31)
B-594	(I)	(L.1.32)
B-595	(I)	(L.1.33)
B-596	(I)	(L.1.34)
B-597	(I)	(L.1.35)
B-598	(I)	(L.1.36)
B-599	(I)	(L.1.37)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-600	(I)	(L.1.38)
B-601	(I)	(L.1.39)
B-602	(I)	(L.1.40)
B-603	(I)	(L.1.41)
B-604	(I)	(L.1.42)
B-605	(I)	(L.1.43)
B-606	(I)	(L.1.44)
B-607	(I)	(L.1.45)
B-608	(I)	(L.1.46)
B-609	(I)	(L.1.47)
B-610	(I)	(L.1.48)
B-611	(I)	(L.1.49)
B-612	(I)	(L.1.50)
B-613	(I)	(L.1.51)
B-614	(I)	(L.1.52)
B-615	(I)	(L.1.53)
B-616	(I)	(L.1.54)
B-617	(I)	(L.1.55)
B-618	(I)	(L.1.56)
B-619	(I)	(L.1.57)
B-620	(I)	(L.1.58)
B-621	(I)	(L.1.59)
B-622	(I)	(L.1.60)
B-623	(I)	(L.1.61)
B-624	(I)	(L.1.62)
B-625	(I)	(L.1.63)
B-626	(I)	(L.1.64)
B-627	(I)	(L.1.65)
B-628	(I)	(L.1.66)
B-629	(I)	(L.1.67)
B-630	(I)	(L.1.68)
B-631	(I)	(L.1.69)
B-632	(I)	(L.1.70)
B-633	(I)	(L.1.71)
B-634	(I)	(L.1.72)
B-635	(I)	(L.1.73)
B-636	(I)	(L.2.1)
B-637	(I)	(L.2.2)
B-638	(I)	(L.2.3)
B-639	(I)	(L.2.4)
B-640	(I)	(L.2.5)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-641	(I)	(L.2.6)
B-642	(I)	(L.2.7)
B-643	(I)	(L.2.8)
B-644	(I)	(L.2.9)
B-645	(I)	(L.2.10)
B-646	(I)	(L.2.11)
B-647	(I)	(L.3.1)
B-648	(I)	(L.3.2)
B-649	(I)	(L.3.3)
B-650	(I)	(L.3.4)
B-651	(I)	(L.3.5)
B-652	(I)	(L.3.6)
B-653	(I)	(L.3.7)
B-654	(I)	(L.3.8)
B-655	(I)	(L.3.9)
B-656	(I)	(L.3.10)
B-657	(I)	(L.3.11)
B-658	(I)	(L.3.12)
B-659	(I)	(L.3.13)
B-660	(I)	(L.3.14)
B-661	(I)	(L.3.15)
B-662	(I)	(L.3.16)
B-663	(I)	(L.3.17)
B-664	(I)	(L.3.18)
B-665	(I)	(L.3.19)
B-666	(I)	(L.3.20)
B-667	(I)	(L.3.21)
B-668	(I)	(L.3.22)
B-669	(I)	(L.3.23)
B-670	(I)	(L.3.24)
B-671	(I)	(L.3.25)
B-672	(I)	(L.3.26)
B-673	(I)	(L.3.27)
B-674	(I)	(L.3.28)
B-675	(I)	(L.3.29)
B-676	(I)	(L.3.30)
B-677	(I)	(L.3.31)
B-678	(I)	(L.3.32)
B-679	(I)	(L.3.33)
B-680	(I)	(L.3.34)
B-681	(I)	(L.3.35)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-682	(I)	(L.3.36)
B-683	(I)	(L.3.37)
B-684	(I)	(L.3.38)
B-685	(I)	(L.3.39)
B-686	(I)	(L.3.40)
B-687	(I)	(L.3.41)
B-688	(I)	(L.3.42)
B-689	(I)	(L.3.43)
B-690	(I)	(L.3.44)
B-691	(I)	(L.3.45)
B-692	(I)	(L.3.46)
B-693	(I)	(L.3.47)
B-694	(I)	(L.3.48)
B-695	(I)	(L.3.49)
B-696	(I)	(L.3.50)
B-697	(I)	(L.3.51)
B-698	(I)	(L.3.52)
B-699	(I)	(L.3.53)
B-700	(I)	(L.3.54)
B-701	(I)	(L.3.55)
B-702	(I)	(L.4.1)
B-703	(I)	(L.4.2)
B-704	(I)	(L.4.3)
B-705	(I)	(L.4.4)
B-706	(I)	(L.4.5)
B-707	(I)	(L.4.6)
B-708	(I)	(L.4.7)
B-709	(I)	(L.4.8)
B-710	(I)	(L.4.9)
B-711	(I)	(L.4.10)
B-712	(I)	(L.4.11)
B-713	(I)	(L.4.12)
B-714	(I)	(L.4.13)
B-715	(I)	(L.4.14)
B-716	(I)	(L.4.15)
B-717	(I)	(L.4.16)
B-718	(I)	(L.4.17)
B-719	(I)	(L.4.18)
B-720	(I)	(L.4.19)
B-721	(I)	(L.4.20)
B-722	(I)	(L.4.21)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-723	(I)	(L.4.22)
B-724	(I)	(L.4.23)
B-725	(I)	(L.4.24)
B-726	(I)	(L.4.25)
B-727	(I)	(L.4.26)
B-728	(I)	(L.4.27)
B-729	(I)	(L.4.28)
B-730	(I)	(L.4.29)
B-731	(I)	(L.4.30)
B-732	(I)	(L.4.31)
B-733	(I)	(L.4.32)
B-734	(I)	(L.4.33)
B-735	(I)	(L.5.1)
B-736	(I)	(L.5.2)
B-737	(I)	(L.5.3)
B-738	(I)	(L.5.4)
B-739	(I)	(L.5.5)
B-740	(I)	(L.5.6)
B-741	(I)	(L.5.7)
B-742	(I)	(L.5.8)
B-743	(I)	(L.5.9)
B-744	(I)	(L.5.10)
B-745	(I)	(L.5.11)
B-746	(I)	(L.5.12)
B-747	(I)	(L.5.13)
B-748	(I)	(L.5.14)
B-749	(I)	(L.5.15)
B-750	(I)	(L.5.16)
B-751	(I)	(L.5.17)
B-752	(I)	(L.5.18)
B-753	(I)	(L.5.19)
B-754	(I)	(L.5.20)
B-755	(I)	(L.5.21)
B-756	(I)	(L.5.22)
B-757	(I)	(L.5.23)
B-758	(I)	(L.5.24)
B-759	(I)	(L.5.25)
B-760	(I)	(L.5.26)
B-761	(I)	(L.5.27)
B-762	(I)	(L.5.28)
B-763	(I)	(L.5.29)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-764	(I)	(L.5.30)
B-765	(I)	(L.5.31)
B-766	(I)	(L.5.32)
B-767	(I)	(L.5.33)
B-768	(I)	(L.5.34)
B-769	(I)	(L.5.35)
B-770	(I)	(L.5.36)
B-771	(I)	(L.5.37)
B-772	(I)	(L.5.38)
B-773	(I)	(L.5.39)
B-774	(I)	(L.5.40)
B-775	(I)	(L.5.41)
B-776	(I)	(L.5.42)
B-777	(I)	(L.5.43)
B-778	(I)	(L.5.44)
B-779	(I)	(L.5.45)
B-780	(I)	(L.5.46)
B-781	(I)	(L.5.47)
B-782	(I)	(L.5.48)
B-783	(I)	(L.5.49)
B-784	(I)	(L.5.50)
B-785	(I)	(L.5.51)
B-786	(I)	(L.5.52)
B-787	(I)	(L.5.53)
B-788	(I)	(L.5.54)
B-789	(I)	(L.5.55)
B-790	(I)	(L.5.56)
B-791	(I)	(L.5.57)
B-792	(I)	(L.5.58)
B-793	(I)	(L.5.59)
B-794	(I)	(L.5.60)
B-795	(I)	(L.6.1)
B-796	(I)	(L.6.2)
B-797	(I)	(L.6.3)
B-798	(I)	(L.6.4)
B-799	(I)	(L.6.5)
B-800	(I)	(L.6.6)
B-801	(I)	(L.6.7)
B-802	(I)	(L.6.8)
B-803	(I)	(L.6.9)
B-804	(I)	(L.6.10)

Mex.	Co.1	Co. 2
B-805	(I)	(L.6.11)
B-806	(I)	(L.6.12)
B-807	(I)	(L.6.13)
B-808	(I)	(L.6.14)
B-809	(I)	(L.6.15)
B-810	(I)	(L.6.16)

- Las sustancias activas referidas como componente 2, su preparación y su actividad, por ejemplo se conoce contra hongos dañinos (cf. <http://www.alanwood.net/pesticides/>); Estas sustancias están disponibles comercialmente. Los compuestos descritos por la nomenclatura IUPAC, su preparación y su actividad fungicida también son conocidos. (cf. Can. J. Plant Sci. 48(6), 587-94, 1968; EP-A 141 317; EP-A 152 031; EP-A226 917; EP-A243 970; EP-A 256 503; EP-A 428 941; EP-A 532 022; EP-A 1 028 125; EP-A 1 035 122; EP-A 1 201 648; EP-A 1 122 244, JP 2002316902; DE 19650197; DE 10021412; DE 102005009458; US 3,296,272; US 3,325.503; WO 98/46608; WO 99/14187; WO 99/24413; WO 99/27783; WO 00/29404; WO 00/46148; WO 00/65913; WO 01/54501; WO 01/56358; WO 02/22583; WO 02/40431; WO 03/10149; WO 03/11853; WO 03/14103; WO 03/16286; WO 03/53145; WO 03/61388; WO 03/66609; WO 03/74491; WO 04/49804; WO 04/83193; WO 05/120234; WO 05/123689; WO 05/123690; WO 05/63721; WO 05/87772; WO 05/87773; WO 06/15866; WO 06/87325; WO 06/87343; WO 07/82098; WO 07/90624, WO 11/028657, WO2012/168188, WO 2007/006670, WO 2011/77514; WO13/047749, WO 10/069882, WO 13/047441, WO 03/16303, WO 09/90181, WO 13/007767, WO 13/010862, PCT/EP2012/065650 y PCT/EP2012/065651).
- 15 Las mezclas de sustancias activas pueden prepararse como composiciones que comprenden, además de los ingredientes activos, al menos un ingrediente inerte (auxiliar) por los medios habituales, por ejemplo por los medios dados para las composiciones de la cepa, extractos libres de células, medios de cultivo o extrolitos de la invención.
- Una realización de la invención es un kit para preparar una composición pesticida utilizable, comprendiendo el kit a) una composición que comprende el componente 1) como se define en el presente documento y al menos un agente auxiliar; y b) una composición que comprende el componente 2) como se define aquí y al menos un agente auxiliar; y opcionalmente c) una composición que comprende al menos un agente auxiliar y opcionalmente un componente activo adicional 3) como se define en el presente documento.
- Con respecto a los ingredientes habituales de tales composiciones, se hace referencia a las explicaciones dadas para las composiciones que contienen la cepa, extractos libres de células, medios de cultivo o extrolitos de la invención.
- 25 Las mezclas de la invención son adecuadas como fungicidas, como lo son la cepa, los extractos libres de células, los medios de cultivo o los extrolitos de la invención. Se distinguen por una eficacia sobresaliente contra un amplio espectro de hongos fitopatogénicos, especialmente de las clases de Ascomycetes, Basidiomycetes, Deuteromycetes y Perono-sporomycetes (syn. Oomycetes). Además, se hace referencia a las explicaciones con respecto a la actividad fungicida de la cepa, extractos libres de células, medios de cultivo o extrolitos de la invención.
- 30 La presente invención se describirá con mayor detalle por medio de los siguientes ejemplos. Los siguientes ejemplos tienen fines ilustrativos y no pretenden limitar el alcance de la invención.

Parte experimental

- La rotación óptica se midió en un polarímetro Perkin Elmer modelo 241 a 545 y 578 nm y se extrapolaron a 589 nm usando la ecuación de Drude [Lippke, G.; Thaler, H. Starch 1970, 22, 344-351]. Los espectros de ¹H, ¹³C y RMN en 2D se registraron en un espectrómetro Bruker AVANCE III 600 MHz equipado con un cabezal de sonda inversa criogénica TCI de 5 mm (gradiente z) usando secuencias de pulso estándar. Los espectros APCI-MS se midieron a partir de una solución del analito en MeCN/H₂O con un Hewlett Packard MSD 1100 usando una temperatura del evaporador de 400 °C, una temperatura del gas de secado de 350 °C a un flujo de 6 L/h (N₂). En el modo de ionización positiva, el voltaje capilar ascendió a 3.5 kV, la corriente de descarga de corona fue de 4 µA. En el modo de ionización negativa, el voltaje capilar ascendió a 2.2 kV, la corriente de descarga de corona fue de 6 µA. Los datos de HR-ESI-MS se registraron en un Q-ToF ULTIMA-111 (Waters) equipado con una interfaz LockSpray. Se usaron un espectrómetro Bruker IFS48 FTIR y un espectrofotómetro Perkin-Elmer Lambda-16 para medir los espectros IR y UV, respectivamente.

Ejemplo 1: Aislamiento y depósito de la cepa fúngica IBWF104-06

- 45 El hongo IBWF104-06 se aisló de una muestra de suelo. La cepa IBWF104-06 se ha depositado en virtud del Tratado de Budapest con la colección de cultivos de Leibniz Institute DSMZ-Colección alemana de microorganismos y cultivos celulares, Braunschweig, Alemania, y se le ha asignado el número de depósito DSM 27859.

Para el mantenimiento, el hongo se cultivó en inclinaciones de agar en agar YMG (extracto de levadura 4.0 g/L, extracto de malta 10 g/L, glucosa 10 g/L, el valor de pH se ajustó a 5.5 antes del autoclave). Los medios sólidos contenían 2.0% de agar.

Ejemplo 2: Análisis morfológico

- 5 Se determinó que la cepa es una especie de *Penicillium* con base en las siguientes observaciones morfológicas:

Diámetro de la colonia, 7 días, en mm: CYA aprox. 25; CYA30 °C aprox. 24; CYA37 °C sin crecimiento; MEA aprox. 25; YES aprox. 33;.

Buena esporulación en CYA con conidios gris verdosos, inverso en tonos crema.

- 10 Buena esporulación en YES, conidios de color verde grisáceo, reverso ligeramente amarillo, todos los medios: ausencia de pigmento soluble. Colonias sobre conidios verdes MEA gris. No hay reacción con la prueba de Ehrlich. Conidióforos simétricamente biverticilados, mótulas 13 - 17 x 2.3 - 2.9 µm; fialides ampulliformes, 8 - 10 x 2 - 3 µm; Conidios lisos, ampliamente elipsoidales, 2.0 - 2.5 x 2.3 - 3 µm.

Distribución y ecología: esta especie se ha aislado de una muestra de suelo (Mehlinger Heide, Mehlingen, Alemania).

Ejemplo 3: Análisis filogenético

- 15 La secuencia ITS del hongo IBWF104-06 (SEQ ID NO: 1) se muestra en la Figura 1, con las partes subrayadas de la secuencia que corresponden a los cebadores utilizados (ITS-1F: CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA; ITS-4: TCCTCCGCTTATTGATATGC; ITS-4 complemento inverso GCATATCAATAAGCGGAGGA) [Gardes, M., and T. D. Bruns. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.* 2: 113-118; White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322 In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, eds. Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White. Academic Press, Inc., Nueva York].

- 20 La secuencia ITS para IBWF104-06 consiste en ARNr parcial 18S (conservado), ITS1, 5.8S ARNr, ITS2, parcial 28S ARNr (conservado), con los dos espaciadores (ITS1, ITS2), incluyendo el gen 5.8S, usualmente referida como la región ITS; para la taxonomía, esta secuencia se describe como una secuencia de código de barras fúngica universal [Schoch, et al., *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(16), 6241- 6. doi:10.1073/pnas.1117018109].

- 25 Se encontró que las secuencias de ITS GenBank para la *Penicillium steckii* cepa CBS 122389, *Penicillium steckii* cepa CBS 122388 y *Penicillium steckii* strain CBS 122390 son 100% idénticas a la secuencia ITS de IBWF104-06 (véase las siguientes alineaciones A-C). Se encontró que otras siete secuencias depositadas de cepas de *Penicillium steckii* muestran identidades entre 99.8 y 99.4% con la secuencia ITS de IBWF104-06 (véase las siguientes alineaciones D-J).

Alineación por pares A

Secuencia 1:104-06 ITS

- 35 Secuencia 2: gi|310769718|gb|GU944592.1| *Penicillium steckii* strain CBS 122389 gen del ARN ribosomal 18S, secuencia parcial; espaciador transcrito interno 1, gen del ARN ribosomal 5.8S, y espaciador transcrito interno 2, secuencia completa; y gen del ARN ribosomal 28S, secuencia parcial

Alineación global óptima

Puntuación de alineación: 1090

Identidad: 1,0000000

- 40 Alineación por pares B

Secuencia 1:104-06 ITS

Secuencia 2: gi|310769717|gb|GU944591.1| *Penicillium steckii* strain CBS 122388 gen del ARN ribosomal 18S, secuencia parcial; espaciador transcrito interno 1, gen del ARN ribosomal 5.8S, y espaciador transcrito interno 2, secuencia completa; y gen del ARN ribosomal 28S, secuencia parcial

- 45 Alineación global óptima

Puntuación de alineación: 1090

Identidad: 1,0000000

Alineación por pares C

Secuencia 1:104-06 ITS

5 Secuencia 2: g|310769716|gb|GU944590.1| *Penicillium steckii*strain CBS 122390 122390 gen del ARN ribosomal 18S, secuencia parcial; espaciador transcrito interno 1, gen del ARN ribosomal 5.8S, y espaciador transcrito interno 2, secuencia completa; y gen del ARN ribosomal 28S, secuencia parcial

Alineación global óptima

Puntuación de alineación: 1090

Identidad: 1,0000000

Alineación por pares D

10 Secuencia 1:104-06 ITS

Secuencia 2: g|74135519|gb|DQ123665.1| *Penicillium steckii*strain NRRL 35367 gen del ARN ribosomal 18S, secuencia parcial; espaciador transcrito interno 1, gen del ARN ribosomal 5.8S, y espaciador transcrito interno 2, secuencia completa; y gen del ARN ribosomal 28S, secuencia parcial

Alineación global óptima

15 Puntuación de alineación: 1087

Identidad: 0,9981685

Alineación por pares E

Secuencia 1:104-06 ITS

20 Secuencia 2: g|310769723|gb|GU944597.1| *Penicillium steckii*strain CBS 260.55 gen del ARN ribosomal 18S, secuencia parcial; espaciador transcrito interno 1, gen del ARN ribosomal 5.8S, y espaciador transcrito interno 2, secuencia completa; y gen del ARN ribosomal 28S, secuencia parcial

Alineación global óptima

Puntuación de alineación: 1087

Identidad: 0,9981651

25 Alineación por pares F

Secuencia 1:104-06 ITS

Sequence 1:104-06 ITS

30 Secuencia 2: g|74135520|gb|DQ123666.1| *Penicillium steckii*strain NRRL 354633 gen del ARN ribosomal 18S, secuencia parcial; espaciador transcrito interno 1, gen del ARN ribosomal 5.8S, y espaciador transcrito interno 2, secuencia completa; y gen del ARN ribosomal 28S, secuencia parcial >g|156891115|gb|EF634431.1| *Penicillium steckii* isolate NRRL 35463 gen del ARN ribosomal 18S, secuencia parcial; espaciador transcrito interno 1, gen del ARN ribosomal 5.8S, y espaciador transcrito interno 2, secuencia completa; y gen del ARN ribosomal 28S, secuencia parcial

Alineación global óptima

35 Puntuación de alineación: 1084

Identidad: 0,9963303

Alineación por pares G

Secuencia 1:104-06 ITS

40 Secuencia 2: g|310769721|gb|GU944595.1| *Penicillium steckii*strain CBS 789.70 gen del ARN ribosomal 18S, secuencia parcial; espaciador transcrito interno 1, gen del ARN ribosomal 5.8S, y espaciador transcrito interno 2, secuencia completa; y gen del ARN ribosomal 28S, secuencia parcial

Alineación global óptima

Puntuación de alineación: 1084

Identidad: 0,9963303

Alineación por pares H

Secuencia 1:104-06 ITS

- 5 Secuencia 2: gj|310769720|gb|GU944594.1| *Penicillium steckii* strain CBS 325.59 gen del ARN ribosomal 18S, secuencia parcial; espaciador transcrito interno 1, gen del ARN ribosomal 5.8S, y espaciador transcrito interno 2, secuencia completa; y gen del ARN ribosomal 28S, secuencia parcial

Alineación global óptima

Puntuación de alineación: 1084

- 10 Identidad: 0,9963303

Alineación de pares I

Secuencia 1:104-06 ITS

- 15 Secuencia 2: gj|310769719|gb|GU944593.1| *Penicillium steckii* strain CBS 122391 gen del ARN ribosomal 18S, secuencia parcial; espaciador transcrito interno 1, gen del ARN ribosomal 5.8S, y espaciador transcrito interno 2, secuencia completa; y gen del ARN ribosomal 28S, secuencia parcial

Alineación global óptima

Puntuación de alineación: 1084

Identidad: 0,9963303

Alineación de pares J

- 20 Secuencia 1:104-06 ITS

Secuencia 2: gj|141452972|gb|EF200085.1| *Penicillium steckii* isolate NRRL 35625 espaciador interno transcrito 1, gen del ARN ribosomal 5.8S, y espaciador interno transcrito 2, secuencia completa; y gen del ARN ribosomal 28S, secuencia parcial

Alineación global óptima

- 25 Puntuación de alineación: 1081

Identidad: 0,9945055

Por lo tanto, con base en la comparación de secuencias de ITS, el hongo IBWF104-06 es una cepa de *Penicillium steckii*.

Ejemplo 4: Cultivo de *Penicillium steckii* cepa IBWF104-06

- 30 Se cultivó la cepa IBWF 104-06 de *Penicillium steckii* en medio sólido de malta al 2% durante 3-4 días a temperatura ambiente. Las esporas se lavaron con un 2% de medio líquido de malta y se filtraron a través de GAZE. Las esporas se contaron utilizando un hemocitómetro y se ajustaron a aproximadamente 1×10^8 cfu/ml.

Ejemplo 5: Actividad antifúngica de *Penicillium steckii* cepa IBWF104-06

- 35 Para probar la actividad antifúngica contra *Phytophthora infestans*, *Botrytis cinerea* y *Alternaria solani*, se utilizaron plántulas de tomate jóvenes disponibles comercialmente ("Goldene Königin") para el ensayo de invernadero descrito. Se utilizaron 2 réplicas (macetas con 1 planta cada una) por tratamiento. Las plantas se cultivaron en un sustrato disponible comercialmente (Universal, Floragard) a aproximadamente 22 °C en el invernadero. La humedad se controló utilizando un dispositivo especial (~90% de humedad). Las plantas se pulverizaron hasta la escorrentía con caldo de cultivo crudo de cultivos de 3-6 días de edad de *Penicillium steckii* cepa IBWF104-06 usando una cabina de pulverización. Las condiciones de cultivo fueron las descritas en el Ejemplo 4. Un día después de la aplicación, las plantas tratadas se inocularon con una suspensión de i) esporangios de *Phytophthora infestans*, ii) esporas de *Botrytis cinerea* o iii) esporas de *Alternaria solani*. Después de la inoculación, las plantas del ensayo fueron inmediatamente transferidas a una cámara húmeda. La extensión del ataque de hongos en las hojas se evaluó visualmente 5-7 días después de la inoculación.
- 40

Para probar la actividad antifúngica contra *Fusarium graminearum*, se utilizaron plantas de 8 semanas de edad de trigo súper enano, plántulas de tomate jóvenes disponibles comercialmente ("Goldene Königin") y plántulas de pimiento jóvenes comercialmente disponibles ("Neusiedler Ideal") para el ensayo de invernadero descrito. Se utilizaron 2 repeticiones por tratamiento. Las plantas se cultivaron en un sustrato disponible comercialmente (Universal, Floragard) a aproximadamente 21-22 °C en el invernadero. La humedad se controló utilizando un dispositivo especial (~60% -90% de humedad dependiendo del patógeno). Las plantas se rociaron con suspensiones de conidios de cultivos de 7 días de *Penicillium steckii* cepa IBWF104-06 usando una cabina de rociado. Un día después de la aplicación, las plantas tratadas se inocularon con una suspensión de conidios de i) esporangios de *Phytophthora infestans*, ii) esporas de *Botrytis cinerea* o iii) esporas de *Alternaria solani* iiiii) esporas de *Fusarium graminearum*. Después de la inoculación, las plantas de prueba se transfirieron inmediatamente a una cámara húmeda. La extensión del ataque de hongos en las hojas se evaluó visualmente 5-7 días después de la inoculación.

Tabla 1: Actividad fungicida - Porcentaje de infestación

% de ataque (UTC set to 100%)	BOTRCI	ALTESO	PHYTIN	FUSAGR	CFU/ml
<i>Penicillium steckii</i> cepa IBWF 104-06	1	9	13		1.0E+08
<i>Penicillium steckii</i> cepa IBWF 104-06				0	8.16E+07
% de ataque		BOTRCI	ALTESO	PHYTIN	FUSAGR
UTC		100	42.5	95	76.3
<i>Penicillium steckii</i> cepa IBWF 104-06		1	4	12.5	0
PHYTIN <i>Phytophthora infestans</i>					
BOTRCI <i>Botrytis cinerea</i>					
ALTESO <i>Alternaria solani</i>					
FUSAGR <i>Fusarium graminearum</i>					

15 Ejemplo 6: Crecimiento (fermentabilidad) de cepas y aislamiento de ácidos tanzawaicos

Se cultivó *Penicillium steckii* cepa IBWF 104-06 en medio YMG en un fermentador de 20 L (Braun, Melsungen) a 22-24 °C con agitación (120 rpm) y aireación (3 l/min). Para la inoculación se utilizó un cultivo de batido bien crecido (medio YMG, 250 ml). Durante la fermentación, los principios bioactivos se cuantificaron por HPLC y 13 días después de la inoculación, se pronunció la producción y se detuvo la fermentación. El fluido de cultivo (14,5 l) se separó del micelio por filtración y se extrajo con acetato de etilo (10 l). El disolvente se evaporó y el extracto crudo aceitoso (2.2 g) se aplicó a una columna rellena con sílica gel (Merck 60, 0.063-0.2 mm). La elución con una mezcla de ciclohexano/acetato de etilo (3:2 v/v) produjo la fracción oleosa 1 (700 mg), el ciclohexano/acetato de etilo 2:3 eluyó la fracción oleosa 2 (560 mg) y el ciclohexano/acetato de etilo 1:4 eluyó la fracción oleosa 3 (100 mg). El tratamiento adicional de la fracción 1 por extracción en fase sólida con 1:1 de acetonitrilo/agua generó el intermedio A (600 mg) y con 1:4 de acetonitrilo/agua el intermedio B (50 mg). La HPLC preparativa con intermedio A (Waters SunFire, Prep C18 OBD, 5 µm, 19x250 mm, 17 mL/min, condiciones isocráticas, 1:1 acetonitrilo/ácido fórmico al 0.1%) dio como resultado arohynapene A (173 mg, RT 9 min) y ácido tanzawaico E (143 mg, RT 13 min). El intermedio B produjo ácido tanzawaico A (7, 20 mg, RT 24 min) mediante HPLC preparativa (Waters SunFire, Prep C18 OBD, 5 µm, 19x250 mm, 17 mL/min, condiciones isocráticas, 13:7 acetonitrilo/ácido fórmico al 0.1%). El tratamiento de la fracción 2 por HPLC preparativa (Waters SunFire, Prep C18 OBD, 5 µm, 19x250 mm, 17 mL/min, condiciones isocráticas, 11:9 acetonitrilo/ácido fórmico al 0.1%) generó el compuesto de fórmula (3) (denominado ácido tanzawaico K; 54 mg, RT 16.5 min) y el intermedio C (RT 7-13 min, 320 mg). El intermedio C produjo el compuesto de fórmula (4) (denominado ácido tanzawaico L, 29 mg, RT 25.5 min) y arohynapene B (14 mg, RT 31 min) mediante una segunda HPLC preparativa (Agilent Prep HT, Zorbax, XDB-C8, 21.2 x150 mm, 5 µm, 21 ml/min, condiciones isocráticas, 7:13 acetonitrilo/ácido fórmico al 0.1%). La fracción 3 se aplicó a una columna de extracción en fase sólida (Macherey-Nagel, Chromabond C18ec) y la extracción con acetonitrilo 2:3/ácido fórmico al 0.1% dio el intermedio D (87 mg) que se usó para HPLC preparativa (Waters SunFire, Prep C18 OBD) , 5 µm, 19x250 mm, 16 mL/min, condiciones isocráticas, 2:3 acetonitrilo/ácido fórmico al 0.1%) para producir el compuesto de fórmula (1) (denominado ácido

tanzawaico I; 7.7 mg, RT 9 min) y el compuesto de fórmula (2) (denominado ácido tanzawaico J; 12.6 mg, RT 10.5 min).

5 Acido tanzawaico I: fórmula (1); aceite de color amarillo; UV (MeOH) (λ_{\max} log ϵ): 261 (4.45); $[\alpha]_D^{20}$ - 262 (0.4, MeOH); IR (ν cm^{-1}) 3414, 2950, 2923, 1689, 1640, 1457, 1380, 1248; HR-ESI-MS: m/z 329.1744 (calc. for 329.1729 $[\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_4+\text{Na}]^+$); APCI-MS (neg) m/z 305.1 $[\text{M} - \text{H}]^-$, APCI-MS (pos) 289.2 $[\text{M} - \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$, 271.2 $[\text{M} - 2\text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$.

Acido tanzawaico J: fórmula (2); aceite de color amarillo; UV (MeOH) (λ_{\max} , log ϵ): 261 (4.45); $[\alpha]_D^{20}$ + 73.7 (0.4, MeOH); IR (ν cm^{-1}) 3369, 2947, 2835, 1638, 1451, 1032; HR-ESI-MS: m/z 329.1744 (calc. for 329.1729 $[\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_4+\text{Na}]^+$); APCI-MS modo negativo m/z 305.1 $[\text{M} - \text{H}]^-$, APCI-MS modo positivo 289.2 $[\text{M} - \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$, 271.2 $[\text{M} - 2\text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$.

10 Acido tanzawaico K: fórmula (3); aceite de color amarillo; UV (MeOH) (λ_{\max} log ϵ): 257 (4.59); $[\alpha]_D^{20}$ - 20.1 (0.38, MeOH); IR (ν cm^{-1}) 3432, 2909, 1688, 1638, 1456, 1275; HR-ESI-MS: m/z 313.1788 (calc. for 313.1780 $[\text{C}_{18}\text{H}_{26}\text{O}_3+\text{Na}]^+$); APCI-MS (neg) m/z 289.1 $[\text{M} - \text{H}]^-$, APCI-MS (pos) 273.2 $[\text{M} - \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$.

15 Acido tanzawaico L: fórmula (4); aceite de color amarillo; UV (MeOH) (λ_{\max} log ϵ): 255 (3.70), 286 (3.68); $[\alpha]_D^{20}$ - 126.7 (0.32, MeOH); IR (ν cm^{-1}) 3409, 2961, 2965, 1698, 1638, 1377, 1247; HR-ESI-MS: m/z 311.1630 (calc. for 311.1623 $[\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3+\text{Na}]^+$); APCI-MS (neg) m/z 287.1 $[\text{M} - \text{H}]^-$, APCI-MS (pos) 271.1 $[\text{M} - \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$, 253.1 $[\text{M}-2\text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$.

Table 2 Datos de $^1\text{-H-RMN}$ de los compuestos de fórmula (1)-(4) CD_3OD 600 MHz)

Posición	Compuesto (1)	Compuesto (2)	Compuesto (3)	Compuesto (4)
1	-	-	-	-
2	5.86 (1H, d, 15.3)	5.83 (1H, d, 15.3)	5.80 (1H, d, 15.3)	5.87 (1H, d, 15.1)
3	7.28 (1H, dd, 11.2, 15.3)	7.28 (1H, dd, 11.2, 15.3)	7.32 (1H, dd, 10.9, 15.3)	7.37 (1H, dd, 11.1, 15.1)
4	6.45 (1H, dd, 11.2, 15.2)	6.45 (1H, dd, 11.2, 15.5)	6.20 (1H, dd, 11.0, 15.0)	6.33 (1H, dd, 11.1, 15.6)
5	6.10 (1H, d, 15.2)	6.16 (1H, d, 15.5)	6.31 (1H, dd, 10.6, 15.0)	6.74 (1H, d, 15.6)
6	-	-	2.40 (1H, t, 10.6)-	-
7	1.39 (1H, m)	1.52 (1H, d, 11.0)	1.09 (1H, m)	1.56 (1H, m)
8	1.39 (1H, m)	1.75 (1H, m)	1.39 (1H, m)	2.03 (1H, m)
9	0.72 (1H $_{\beta}$, q, 11.8) 1.54 (1H $_{\alpha}$, m)	0.78 (1H $_{\beta}$, q, 12.3) 1.57 (1H $_{\alpha}$, m)	0.77 (1H $_{\beta}$, m) 1.65 (1H $_{\alpha}$, <i>pseudo</i> -dd, 3.1, 13.3)	1.06 (1H $_{\beta}$, dd, 11.9, 13.9) 1.73 (1H $_{\alpha}$, m)
10	1.45 (1H, d, 6.6)	1.50 (1H, m)	1.54 (1H, m)	-
11	1.17 (1H $_{\beta}$, q, 12.3) 1.54 (1H $_{\alpha}$, m)	1.17 (1H $_{\beta}$, q, 12.4) 1.56 (1H $_{\alpha}$, m)	0.72 (1H $_{\beta}$, m) 1.71 (1H $_{\alpha}$, <i>pseudo</i> -dd, 3.0, 13.0)	1.33 (1H $_{\beta}$, t, 13.3) 1.69 (1H $_{\alpha}$, m)
12	1.59 (1H, m)	1.61 (1H, m)	1.94 (1H, <i>pseudo</i> -t, 11.0)	2.36 (1H, m)
13	3.80 (1H, t, 4.4)	3.75 (1H, dd., 2.7, 5.8)	5.41 (1H, d, 10.0)	5.74 (1H, dd, 2.2, 9.2)

Posición	Compuesto (1)	Compuesto (2)	Compuesto (3)	Compuesto (4)
14	5.69 (1H; d, 5.2)	5.79 (1H, d, 6.1)	5.48 (1H, dd, 2.4, 10.0)	5.97 (1H, dd, 2.8, 9.2)
15	-	-	-	-
16	1.62 (3H, s)	1.63 (3H, s)	1.18 (3H, s)	1.89 (3H, s)
17	0.90 (3H, d, 6.4)	0,91 (3H, d, 6.4)	0.89 (3H, d, 6.5)	1.20 (3H, s)
18	1.09 (3H, d, 5.3)	0,91 (3H, d, 6.4)	0.98 (3H, d, 6.3)	0.98 (3H, d. 6.2)

Tabla 3 Datos de ^{13}C -RMN data de los compuestos de fórmula (1)-(4) (CD_3OD , 150 MHz)

Posición	Compuesto (1)	Compuesto (2)	Compuesto (3)	Compuesto (4)
1	170.9	170.9	170.9	170.9
2	122.0	121.3	120.6	120.8
3	145.9	146.2	146.7	147.1
4	128.5	127.8	130.5	131.0
5	144.8	153.7	147.5	142.3
6	79.0	76.1	58.8	133.4
7	49.8	49.1	51.1	49.9
8	35.3	34.3	37.2	29.1
9	47.1	47.1	48.1	49.3
10	32.9	33.0	33.7	70.1
11	39.1	39.0	42.8	44.0
12	41.4	39.9	44.7	35.9
13	67.6	68.0	132.9	137.3
14	127.0	128.0	135.2	131.0
15	142.9	140.9	74.5	133.8
16	18.1	19.1	24.6	19.8
17	23.1	23.1	22.8	31.3
18	23.0	24.2	23.8	23.4

Ejemplo 7: Determinación de la actividad in vitro de los compuestos aislados

5 Las actividades antimicrobianas de los compuestos aislados contra bacterias y hongos se determinaron en el ensayo de difusión en placa de agar como se describió anteriormente [Anke, H.; Bergendorff, O.; Sterner, O. Food Chem. Toxicol. 1989, 27, 393-397]. La citotoxicidad se ensayó como se describió anteriormente [Zapf, S.; Hossfeld, M.; Anke, H.; Velten, R.; Steglich, W. J. Antibiot. 1995, 48, 36-41]. La línea celular HeLaS3 se cultivó en medio DMEM (Invitrogen). El medio se complementó con suero de ternera fetal inactivado por calor al 10% (Invitrogen), 65 mg/ml de penicilina G y 100 mg/ml de sulfato de estreptomicina. La viabilidad se evaluó visualmente después de 72 h. La geminación de esporas se probó con *Magnaporthe oryzae* como se describió anteriormente [Kettering, M.; Valdivia, C.; Sterner, O.; Anke, H.; Thines, E. J. Antibiot. 2005, 58, 390-396]. Este método se adaptó para el ensayo de germinación de esporas con *Phytophthora infestans* y *Botrytis cinerea*.

10 Se encontró que, aparte del ácido tanzawaico I y J, todos los compuestos aislados (incluido el ácido tanzawaico K y L) inhibían la germinación de esporas conidiales de *Magnaporthe oryzae* con concentraciones de 50 µg/mL o menos, mientras que la germinación del moho gris *Botrytis cinerea* el tizón de la patata que causa oomycete *Phytophthora infestans* no se inhibió hasta 50 µg/mL. Arohynapenes A y B inhibieron la germinación de esporas de *Magnaporthe oryzae* a 25 µg/mL (100%). Además, el ácido tanzawaico A mostró una ligera actividad en los ensayos de difusión en agar a 50 µg/filtro contra *Bacillus brevis*, *Mucor miehei* y *Paecilomyces variotii*, así como efectos citotóxicos contra células HeLaS3 a una concentración de 50 µg/ml. Sin embargo, ninguno de los otros compuestos mostró bioactividad en estos ensayos hasta 50 µg/mL.

Ejemplo 8: Producción de ácidos tanzawaicos en diferentes medios

20 Se cultivó la cepa cepa IBWF 104-06 de *Penicillium steckii* en cuatro medios y se evaluó la producción de ácidos tanzawaic.

Se cultivó como se describe en el Ejemplo 6 utilizando los siguientes medios:

Medio YMG (4 g/l de extracto de levadura, 10 g/l de extracto de malta, 10 g/l de glucosa, pH 5.5),

Medio YM (4 g/l de extracto de levadura, 10 g/l de extracto de malta, 4 g/l de glucosa, pH 5.5),

25 Medio DM (40 g/l de extracto de malta, pH 5.5) y

Medio PDA (24 g/l caldo de dextrosa de patata Difco).

Además de la temperatura ambiente, el cultivo también se llevó a cabo a 27 °C. Luego, se extrajeron ácidos tanzawaicos de cada uno de los medios usando el protocolo del Ejemplo 6.

30 Se encontró que la cepa IBWF 104-06 de *Penicillium steckii* producía los ácidos tanzawaicos en cada uno de los medios probados.

Listado de secuencias

<110> BASF SE

<120> Cepas antifúngicas de *penicillium*, extrolitos fungicidas de las mismas y su uso.

<130> PF76082_M54405

35 <150> EP 13192333.6

<151> 2013-11-11

<160> 4

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

40 <211> 624

<212> ADN

<213> *Penicillium steckii*

<400> 1

```

cttggtcatt tagaggaagt aaaagtcgta acaaggtttc cgtaggtgaa cctgcggaag      60
gatcattacc gagtgagggc cctctggggtc caacctccca cccgtgttgc acgaacctgt      120
gttgcttcgg cgggcccgcc gccagggcgc cggggggcat ccgcccccg gtccgcgcc      180
gccgaagccc ccctctgaac gctgtctgaa gttgcagtct gagacaacta gctaaattag      240
ttaaaacttt caacaacgga tctcttggtt ccggcatcga tgaagaacgc agcgaatgc      300
gataactaat gtgaattgca gaattcagtg aatcatcgag ttttgaacg cacattggc      360
cctctggtat tccggagggc atgcctgtcc gagcgtcatt gctgccctca agcacggctt      420
gtgtgttggg ccccgctccc cccgctccgg gggggacggg cccgaaaggc agcggcggca      480
ccgcgtccgg tcctcgagcg tatggggctt cgtcaccgc tctttaggc ccggccggcg      540
ccagccgacc cccaaccttt ttttttctt caggttgacc tcggatcagg tagggatacc      600
cgctgaactt aagcatatca ataa      624

```

<210> 2

<211> 22

<212> ADN

5 <213> Penicillium steckii

<400> 2

cttggtcatt tagaggaagt aa 22

<210> 3

<211> 20

10 <212> DNA

<213> Penicillium steckii

<400> 3

tcctccgctt atgatatgc 20

<210> 4

15 <211> 20

<212> ADN

<213> Penicillium steckii

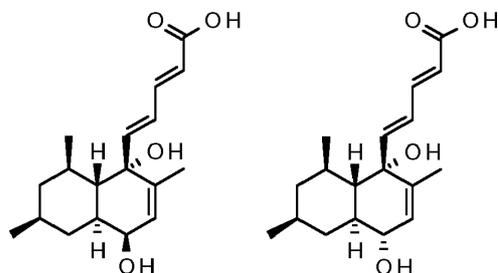
<400> 4

gcatatcaat aagcggagga 20

REIVINDICACIONES

1. La cepa IBWF104-06 de *Penicillium steckii* depositada en DSMZ bajo el número de depósito DSM 27859.

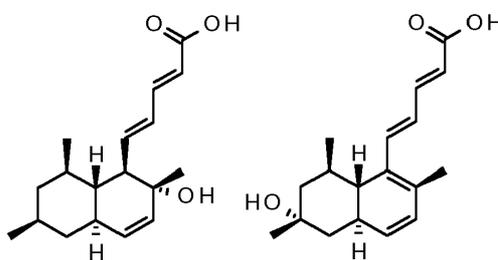
2. Un extracto libre de células de la cepa como se define en la reivindicación 1, que comprende uno o más de los siguientes ácidos tanzawaicos:



(1)

(2)

5

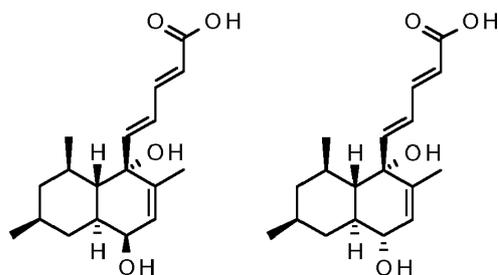


(3)

(4)

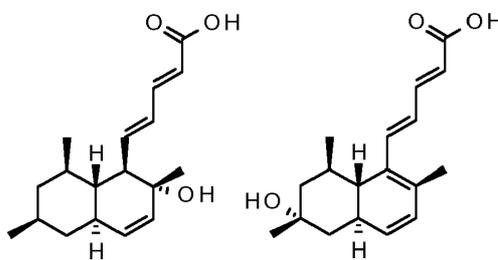
o una sal agrícolamente aceptable de los mismos.

3. Un medio de cultivo que comprende uno o más de los siguientes ácidos tanzawaicos:



(1)

(2)



(3)

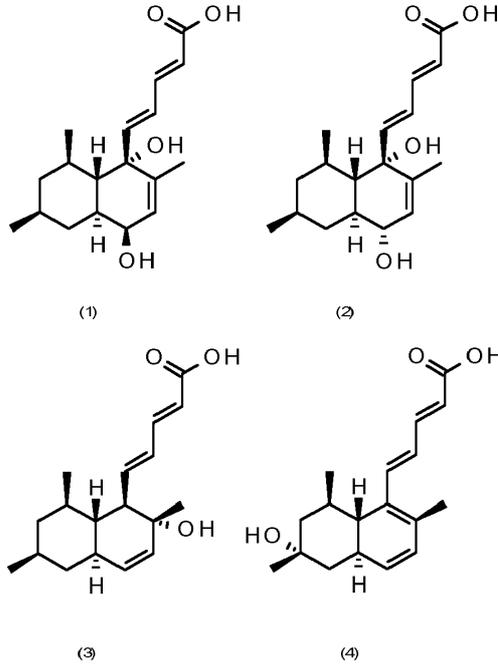
(4)

10

o una sal agrícolamente aceptable del mismo, obtenible mediante el cultivo de una cepa como se define en la reivindicación 1 en un medio de cultivo y separando el medio del caldo de cultivo.

4. El extracto libre de células de la reivindicación 2 o el medio de cultivo de la reivindicación 3, que tiene actividad fungicida.

5. Un ácido tanzawaico de fórmula (1), (2), (3) o (4):



o una sal agrícolamente aceptable de los mismos.

- 5 6. Un método para preparar un ácido tanzawaico o una sal de la reivindicación 5, método que comprende cultivar una cepa como se define en la reivindicación 1 y recuperar dicho ácido tanzawaico o sal del caldo de cultivo.
7. Una composición que comprende una cepa como se define en la reivindicación 1; un extracto libre de células como se define en la reivindicación 2; un medio de cultivo como se define en la reivindicación 3; o un ácido tanzawaico o sal como se define en la reivindicación 5.
- 10 8. La composición de la reivindicación 7, que comprende además un pesticida.
9. El uso de una cepa como se define en la reivindicación 1; un extracto libre de células como se define en la reivindicación 2; un medio de cultivo como se define en la reivindicación 3; un ácido tanzawaico o sal como se define en la reivindicación 5; o una composición como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8 para controlar o suprimir patógenos de plantas o prevenir la infección de patógenos de plantas.
- 15 10. Un método para controlar, suprimir patógenos de plantas o prevenir la infección de patógenos de plantas, en donde los patógenos, su hábitat o los materiales o plantas que se van a proteger contra el ataque de patógenos, o el suelo o material de propagación se tratan con una cantidad efectiva de una cepa como se define en la reivindicación 1; un extracto libre de células como se define en la reivindicación 2; un medio de cultivo como se define en la reivindicación 3; un ácido o sal tanzawaica como se define en la reivindicación 5; o una composición como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8.
- 20 11. El uso de la reivindicación 9 o el método de la reivindicación 10, en donde los patógenos se seleccionan de hongos dañinos.
12. Una semilla o plántula de una planta opcionalmente modificada genéticamente, o una planta opcionalmente modificada genéticamente, tratada con una cepa como se define en la reivindicación 1; un extracto libre de células como se define en la reivindicación 2; un medio de cultivo como se define en la reivindicación 3; un ácido o sal tanzawaica como se define en la reivindicación 5; o una composición como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 8, en donde los ingredientes se adhieren a la semilla, plántula o planta.
- 25

Fig. 1

<u>cttggtcatt</u>	tagaggaagt	aaaagtcgta	acaaggtttc	cgtaggtgaa	cctgcggaag	60
gatcattacc	gagtgagggc	cctctgggtc	caacctcca	ccogtgttgc	acgaacctgt	120
gttgcttcgg	cgggcccgcc	gccaggccgc	cggggggcat	ccgccccgg	gtccgcgccc	180
gccgaagccc	ccctctgaac	gctgtctgaa	gttgcagtct	gagacaacta	gctaaattag	240
ttaaaacttt	caacaacgga	tctcttggtt	ccggcatcga	tgaagaacgc	agcgaaatgc	300
gataactaat	gtgaattgca	gaattcagtg	aatcatcgag	tctttgaacg	cacattgcgc	360
cctctggtat	tccggagggc	atgectgtcc	gagcgtcatt	gctgcoctca	agcacggctt	420
gtgtgttggg	ccccgtcccc	cccgctccgg	gggggacggg	cccgaaaggc	agcggcggca	480
ccgcgtccgg	tctctgagcg	tatggggctt	cgtcaccgc	tcttgtaggc	ccggccggcg	540
ccagccgacc	cccaaccttt	tatTTTTTct	caggttgacc	toggatcagg	tagggatacc	600
cgctgaactt	<u>aagcatatca</u>	<u>ataa</u>				624