



OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: 2 719 721

51 Int. Cl.:

A01N 43/653 (2006.01) A01N 47/30 (2006.01) A01N 55/02 (2006.01) A01N 63/00 (2006.01) A01N 63/04 (2006.01) A01N 59/20 (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: 03.05.2010 PCT/EP2010/055947

(87) Fecha y número de publicación internacional: 11.11.2010 WO10128003

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: 03.05.2010 E 10716343 (8)

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: 16.01.2019 EP 2427062

(54) Título: Un procedimiento para aumentar el rendimiento de cultivo de plantas agrícolas bajo presión por patógenos esencialmente no existente

(30) Prioridad:

08.05.2009 US 176511 P 06.05.2009 US 175818 P

Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente: 12.07.2019 (73) Titular/es:

BAYER CROPSCIENCE LP (100.0%) 2 T.W. Alexander Drive, P.O. Box 12014 Research Triangle Park, NC 27709, US

(72) Inventor/es:

FRANK, MARKUS y SILVA, DAVID, ERNEST

(74) Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario** 

### **DESCRIPCIÓN**

Un procedimiento para aumentar el rendimiento de cultivo de plantas agrícolas bajo presión por patógenos esencialmente no existente

La presente invención se refiere a un procedimiento para aumentar el rendimiento de cultivo de plantas agrícolas bajo presión por patógenos no existente como se caracteriza en las reivindicaciones, en el que se tratan las plantas, los propágulos vegetales, las semillas de las plantas y/o el lugar donde las plantas están creciendo o van a crecer con una cantidad eficaz de una composición que comprende

- a) la cepa de Bacillus subtilis con el N.º de referencia NRRL B-21661 como componente (I), y
- b) opcionalmente, al menos un compuesto químico como componente (II), seleccionado de los grupos de compuestos activos A) a J):
  - A) estrobilurinas seleccionadas del grupo que consiste en azoxistrobina, dimoxistrobina, enestroburina, fluoxastrobina, kresoxim-metilo, metominostrobina, orisastrobina, picoxistrobina, piraclostrobina, piribencarb, trifloxistrobina, 2-(2-(6-(3-cloro-2-metil-fenoxi)-5-fluoro-pirimidin-4-iloxi)-fenil)-2-metoxiimino-N-metil-acetamida, éster metílico del ácido 3-metoxi-2-(2-(N-(4-metoxifenil)-ciclopropano-carboximidoilsulfanilmetil)-fenil)-acrílico, metil (2-cloro-5-[1-(3-metilbenciloxiimino)etil]bencil)carbamato y 2-(2-(3-(2,6-diclorofenil)-1-metil-alilidenaminooximetil)-fenil)-2-metoxiimino-N-metil-acetamida;
  - B) carboxamidas seleccionadas del grupo que consiste en
    - carboxanilidas: benalaxilo, benalaxilo-M, benodanilo, bixafeno, boscalida, carboxina, fenfuram, fenhexamida, flutolanilo, furametpir, isopirazam, isotianilo, kiralaxilo, mepronilo, metalaxilo, metalaxilo-M (mefenoxam), ofurace, oxadixilo, oxicarboxina, pentiopirad, sedaxano, tecloftalam, tifluzamida, tiadinilo, 2-amino-4-metil-tiazol-5-carboxanilida, 2-cloro-N-(1,1,3-trimetil-indan-4-il)-nicotinamida, N-(3',4',5'-trifluorobifenil-2-il)-3-difluorometil-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-(4'-trifluorometiltiobifenil-2-il)-3-difluorometil-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-(2-(1,3-dimetil-butil)-fenil)-1,3-dimetil-5-fluoro-1H-pirazol-4-carboxamida;
    - morfolidas carboxílicas: dimetomorf, flumorf, pirimorf;
    - amidas de ácido benzoico: flumetover, fluopicolida, fluopiram, zoxamida, N-(3-Etil-3,5,5-trimetil-ciclohexil)-3-formilamino-2-hidroxi-benzamida;
    - otras carboxamidas: carpropamida, diciclomet, mandiproamida, oxitetraciclina, siltiofarm y amida del ácido N-(6-metoxi-piridin-3-il) ciclopropanocarboxílico;
- 30 C) azoles seleccionados del grupo que consiste en

5

10

15

20

25

35

45

50

- triazoles: azaconazol, bitertanol, bromuconazol, ciproconazol, difenoconazol, diniconazol, diniconazol-M, epoxiconazol, fenbuconazol, fluquinconazol, flusilazol, flutriafol, hexaconazol, imibenconazol, ipconazol, metconazol, miclobutanilo, oxpoconazol, paclobutrazol, penconazol, propiconazol, proticonazol, simeconazol, tebuconazol, tetraconazol, triadimefona, triadimenol, triticonazol, uniconazol, 1-(4-clorofenil)-2-([1,2,4]triazol-1-il)-cicloheptanol;
- imidazoles: ciazofamida, imazalilo, pefurazoato, procloraz, triflumizol;
- benzimidazoles: benomilo, carbendazim, fuberidazol, tiabendazol;
- otros: etaboxam, etridiazol, himexazol y 2-(4-cloro-fenil)-N-[4-(3,4-dimetoxi-fenil)-isoxazol-5-il]-2-prop-2-iniloxi-acetamida;
- 40 D) compuestos heterocíclicos seleccionados del grupo que consiste en
  - piridinas: fluazinam, pirifenox, 3-[5-(4-cloro-fenil)-2,3-dimetil-isoxazolidin-3-il]-piridina, 3-[5-(4-metil-fenil)-2,3-dimetil-isoxazolidin-3-il]-piridina, 2,3,5,6-tetra-cloro-4-metanosulfonil-piridina, 3,4,5-tricloropiridina-2,6-di-carbonitrilo, N-(1-(5-bromo-3-cloro-piridin-2-il)-etil)-2,4-dicloronicotinamida, N-[(5-bromo-3-cloro-piridin-2-il)-metil]-2,4-dicloro-nicotinamida;
  - pirimidinas: bupirimato, ciprodinilo, diflumetorim, fenarimol, ferimzona, mepanipirim, nitrapirin, nuarimol, pirimetanilo;
  - piperazinas: triforina;
  - pirroles: fenpiclonilo, fludioxonilo;
  - morfolinos: aldimorf, dodemorf, dodemorf-acetato, fenpropimorf, tridemorf;
  - piperidinas: fenpropidina;
    - dicarboximidas: fluoroimida, iprodiona, procimidona, vinclozolina;
    - heterociclos no aromáticos de cinco miembros: famoxadona, fenamidona, flutianilo, octilinona, probenazol, éster S-alílico del ácido 5-amino-2-isopropil-3-oxo-4-orto-tolil-2,3-dihidro-pirazol-1-carbotióico;
    - otros: acibenzolar-S-metilo, amisulbrom, anilazina, blasticidina-S, captafol, captan, quinometionat, dazomet, debacarb, diclomezina, difenzoquat, difenzoquat-metilsulfato, fenoxanilo, Folpet, ácido oxolínico, piperalina, proquinazida, piroquilona, quinoxifeno, triazoxida, triciclazol, 2-butoxi-6-yodo-3-

propilcromen-4-ona, 5-cloro-1-(4,6-dimetoxi-pirimidin-2-il)-2-metil-1H-benzoimidazol, 5-cloro-7-(4-metilpiperidin-1-il)-6-(2,4,6-trifluorofenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina y 5-etil-6-octil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina-7-ilamina;

#### E) carbamatos seleccionados del grupo que consiste en

- tio- y ditiocarbamatos: ferbam, mancozeb, maneb, metam, metasulfocarb, metiram, propineb, tiram, zineb, ziram;
- carbamatos: bentiavalicarb, dietofencarb, iprovalicarb, propamocarb, clorhidrato de propamocarb, valifenal y (4-fluorofenil) éster del ácido N-(1-(1-(4-ciano-fenil)-10 etanosulfonil)-but-2-il) carbámico;

#### F) otras sustancias activas seleccionadas del grupo que consiste en

- guanidinas: guanidina, dodina, dodina base libre, guazatina, guazatina-acetato, iminoctadina, iminoctadina-triacetato, iminoctadina-tris(albesilato);
- antibióticos: kasugamicina, clorhidrato de kasugamicina-hidrato, estreptomicina, polioxina, validamicina
   A. estreptomicina:
- derivados de nitrofenilo: binapacrilo, dinobutona, dinocap, nitrtal-isopropilo, tecnazeno,
- compuestos organometálicos: sales de fentina, tales como acetato de fentina, cloruro de fentina o hidróxido de fentina;
- compuestos de heterociclilo que contienen azufre: ditianono, isoprotiolano;
- compuestos organofosforados: edifenfos, fosetilo, fosetilo-aluminio, iprobenfos, ácido fosforoso y sus sales, pirazofos, tolclofosmetilo;
- compuestos organoclorados: clorotalonilo, diclofluanid, diclorofeno, flusulfamida, hexaclorobenceno, pencicuron, pentaclorfenol y sus sales, ftalida, quintozeno, tiofanato-metilo, tolilfluanida, N-(4-cloro-2-nitro-fenil)-N-etil-4-metil-benceno-sulfonamida;
- sustancias activas inorgánicas: caldo de Burdeos, acetato de cobre, hidróxido de cobre, oxicloruro de cobre, sulfato de cobre básico, azufre;
- otros: bifenilo, bronopol, ciflufenamida, cimoxanilo, difenilamina, metrafenona, mildiomicina, oxin-cobre, prohexadiona de calcio, espiroxamina, tolilfluanida, N-(ciclopropilmetoxiimino-(6-difluoro-metoxi-2,3-difluoro-fenil)-metil)-2-fenil acetamida, N'-(4-(4-cloro-3-trifluorometil-fenoxi)-2,5-dimetil-fenoxi)-2,5-dimetil-fenil)-N-etil-N-metil formamidina, N'-(4-(4-fluoro-3-trifluorometil-fenoxi)-2,5-dimetil-fenil)-N-etil-N-metil formamidina, N'-(5-difluorometil-2-metil-5-trifluorometil-4-(3-trimetilsilanil-propoxi)-fenil)-N-etil-N-metil formamidina, metil-(1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-il)-amida del ácido 2-{1-[2-(5-metil-3-trifluorometil-pirazol-1-il)-acetil]-piperidin-4-il}-tiazol-4-carboxílico, metil-(R)-1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-il-amida del ácido 2-{1-[2-(5-metil-3-trifluorometil-pirazol-1-il)-acetil]-piperidin-4-il}-tiazol-4-carboxílico, 6-terc-butil-8-fluoro-2,3-dimetil-quinolin-4-il éster del ácido acético y 6-terc-butil-8-fluoro-2,3-dimetil-quinolin-4-il éster del ácido metoxi-acético; acetato de fentina, cloruro de fentina, hidróxido de fentina;

G) reguladores del crecimiento vegetal (los RCV) seleccionados del grupo que consiste en ácido abscísico, amidoclor, ancimidol, 6-bencilaminopurina, brassinolida, butralina, clormequat (clorhidrato de clormequat), cloruro de colina, ciclanilida, daminozida, dikegulac, dimetipina, 2,6-dimetilpuridina, etefona, flumetralina, flurprimidol, flutiacet, forclorfenurona, ácido giberélico, inabenfida, ácido indol-3-acético, hidrazida maleica, mefluidida, mepiquat (cloruro de mepiquat), ácido naftalenacético, N-6-benciladenina, paclobutrazol, prohexadiona (prohexadiona de calcio), prohidrojasmon, tidiazuron, triapentenol, tributil fosforotritioato, ácido 2,3,5-tri-yodobenzoico, trinexapac-etilo y uniconazol:

- H) herbicidas seleccionados del grupo que consiste en
  - acetamidas: acetoclor, alaclor, butaclor, dimetaclor, dimetenamida, flufenacet, mefenacet, metolaclor, metazaclor, napropamida, naproanilida, petoxamida, pretilaclor, propacloro, tenilclor;
  - derivados de aminoácidos: bilanafos, glufosinato, sulfosato;
  - ariloxifenoxipropionatos: clodinafop, cihalofop-butilo, fenoxaprop, fluazifop, haloxifop, metamifop, propaquizafop, quizalofop, quizalofop-P-tefurilo;
  - Bipiridilos: diquat, paraquat;
  - (tio)carbamatos: asulam, butilato, carbetamida, desmedifam, dimepiperato, eptam (EPTC), esprocarb, molinato, orbencarb, fenmedifam, prosulfocarb, piributicarb, tiobencarb, trialato;
  - ciclohexanodionas: butroxidim, cletodim, cicloxidim, profoxidim, setoxidim, tepraloxidim, tralkoxidim;
  - dinitroanilinas: benfluralina, etalfluralina, orizalina, pendimetalina, prodiamina, trifluralina;
  - difenil éteres: acifluorfeno, aclonifeno, bifenox, diclofop, etoxifeno, fomesafeno, lactofeno, oxifluorfeno;
  - hidroxibenzonitrilos: bomoxinilo, diclobenilo, ioxinilo;
  - imidazolinonas: imazametabenz, imazamox, imazapic, imazapir, imazaquina, imazetapir;
  - ácidos fenoxiacéticos: clomeprop, ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), 2,4-DB, diclorprop, MCPA, MCPA-tioetilo, MCPB, Mecoprop;
  - pirazinas: cloridazona, flufenpir-etilo, flutiacet, norflurazona, piridato;
  - piridinas: aminopiralida, clopiralida, diflufenican, ditiopir, fluridona, fluroxipir, picloram, picolinafeno,

3

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

tiazopir;

- sulfonil ureas: amidosulfurona, azimsulfurona, bensulfurona, clorimuron-etilo, clorsulfurona, cinosulfurona, ciclosulfamurona, etoxisulfurona, flazasulfurona, flucetosulfurona, flupirsulfurona, foramsulfurona, halosulfurona, imazosulfurona, yodosulfurona, mesosulfurona, metsulfurona-metilo, nicosulfurona, oxasulfurona, primisulfurona, prosulfurona, pirazosulfurona, rimsulfurona, sulfometurona, sulfosulfurona, tifensulfurona, triasulfurona, tribenurona, trifloxisulfurona, triflusulfurona, tritosulfurona, 1-((2-cloro-6-propil-imidazo[1,2-b]piridazin-3-il)sulfonil)-3-(4,6-dimetoxi-pirimidin-2-il)urea;
- triazinas: ametrina, atrazina, cianazina, dimetametrina, etiozina, hexazinona, metamitron, metribuzina, prometrina, simazina, terbutilazina, terbutrina, triaziflam;
- ureas: clorotolurona, daimurona, diurona, fluometurona, isoproturona, linurona, metabenztiazurona, tebutiurona;
- otros inhibidores de la acetolactato sintasa: bispiribac de sodio, cloransulam-metilo, diclosulam, florasulam, flucarbazona, flumetsulam, metosulam, orto-sulfamurona, penoxsulam, propoxicarbazona, piribambenz-propilo, piribenzoxim, piriftalida, piriminobac-metilo, pirimisulfan, piritiobac, piroxasulfona, piroxsulam;
- otros: amicarbazona, aminotriazol, anilofos, beflubutamida, benazolina, bencarbazona, benfluresato, benzofenap, bentazona, benzobiciclona, bromacilo, bromobutida, butafenacilo, butamifos, cafenstrol, carfentrazona, cinidon-etlilo, clortal, cinmetilin, clomazona, cumilurona, ciprosulfamida, dicamba, difenzoquat, diflufenzopir, Drechslera monoceras, endotal, etofumesato, etobenzanida, fentrazamida, flumiclorac-pentilo, flumioxazina, flupoxam, flurocloridona, flurtamona, indanofan, isoxabeno, isoxaflutol, lenacilo, propianilo, propizamida, quinclorac, quinmerac, mesotriona, ácido metil arsónico, naptalam, oxadiargilo, oxadiazona, oxaziclomefona, pentoxazona, pinoxadeno, piraclonilo, piraflufen-etilo, pirasulfotol, pirazoxifeno, pirazolinato, quinoclamina, saflufenacilo, sulcotriona, sulfentrazona, terbacilo, tiencarbazona, topramezona, 4-hidroxi-3-[2-(2-metoxi-etoximetil)-6tembotriona, trifluorometil-piridina-3-carbonil]-biciclo[3.2.1] oct-3-en-2-ona, éster etílico del ácido (3-[2-cloro-4-fluoro-5-(3-metil-2,6-dioxo-4-trifluorometil-3,6-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-fenoxi]-piridin-2-iloxi) metílico del ácido 6-amino-5-cloro-2-ciclopropil-pirimidina-4-carboxílico, 6-cloro-3-(2-ciclopropil-6-metilfenoxi)-piridazin-4-ol, ácido 4-amino-3-cloro-6-(4-cloro-fenil)-5-fluoro-piridin-2-carboxílico, éster metílico del ácido 4-amino-3-cloro-6-(4-cloro-2-fluoro-3-metoxi-fenil)-piridin-2-carboxílico y éster metílico del ácido 4-amino-3-cloro-6-(4-cloro-3-dimetilamino-2-fluorofenil)-piridin-2-carboxílico;

## J) insecticidas seleccionados del grupo que consiste en

- organo(tio)fosfatos: acefato, azametifos, azinfos-metilo, clorpirifos, clorpirifos-metilo, clorfenvinfos, diazinona, diclorvos, dicrotofos, dimetoato, disulfotona, etiona, fenitrotiona, fentiona, isoxationa, malationa, metamidofos, metidationa, metil-parationa, mevinfos, monocrotofos, oxidemetona-metilo, paraoxona, parationa, fentoato, fosalona, fosmet, fosfamidona, forato, foxima, pirimifos-metilo, profenofos, protiofos, sulprofos, tetraclorvinfos, terbufos, triazofos, triclorfona;
- carbamatos: alanicarb, aldicarb, bendiocarb, benfuracarb, carbarilo, carbofurano, carbosulfano, fenoxicarb, furatiocarb, metiocarb, metomilo, oxamilo, pirimicarb, propoxur, tiodicarb, triazamato;
- piretroides: aletrina, bifentrina, ciflutrina, cihalotrina, cifenotrina, cipermetrina, alfa-cipermetrina, beta-cipermetrina, zeta-cipermetrina, deltametrina, esfenvalerato, etofenprox, fenpropatrina, fenvalerato, imiprotrina, lambda-cihalotrina, permetrina, praletrina, piretrina I y II, resmetrina, silafluofeno, tau-fluvalinato, teflutrina, tetrametrina, tralometrina, transflutrina, proflutrina, dimeflutrina;
- reguladores del crecimiento de insectos: a) inhibidores de la síntesis de quitina: benzoilureas: clorfluazurona, ciramazina, diflubenzurona, flucicloxurona, flufenoxurona, hexaflumurona, lufenurona, novalurona, teflubenzurona, triflumurona; buprofezina, diofenolano, hexitiazox, etoxazol, clofentazina; b) antagonistas de ecdisona: halofenozida, metoxifenozida, tebufenozida, azadiractina; c) juvenoides: piriproxifeno, metopreno, fenoxicarb; d) inhibidores de la biosíntesis de lípidos: espirodiclofeno, espiromesifeno, espirotetramato;
- compuestos agonistas/antagonistas de receptores nicotínicos: clotianidina, dinotefurano, imidacloprid, tiametoxam, nitenpiram, acetamiprid, tiacloprid, 1-(2-cloro-tiazol-5-ilmetil)-2-nitrimino-3,5-dimetil-[1,3,5]triazinano;
- compuestos antagonistas del GABA: endosulfano etiprol, fipronilo, vaniliprol, pirafluprol, piriprol, amida de ácido 5-amino-1-(2,6-dicloro-4-metil-fenil)-4-sulfinamoil-1H-pirazol-3-carbotioico;
- insecticidas de lactona macrocíclica: abamectina, emamectina, milbemectina, lepimectina, espinosad, espinetoram:
- acaricidas de inhibidores del transporte de electrones mitocondrial (METI, forma siglada de mitochondrial electron transport inhibitor) I: fenazaquina, piridabeno, tebufenpirad, tolfenpirad, flufenerim:
- compuestos de METI II y III: acequinocilo, fluaciprim, hidrametilnona;
- desacopladores: clorfenapir;
- inhibidores de la fosforilación oxidativa: cihexatina, diafentiurona, óxido de fenbutatina, propargito;
- compuestos disruptores del enmohecimiento: criomazina;
- inhibidores de la oxidasa de función mixta: butóxido de piperonilo;

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

- bloqueadores del canal de sodio: indoxacarb, metaflumizona;
- otros: benclotiaz, bifenazato, cartap, flonicamida, piridalilo, pimetrozina, azufre, tiociclam, flubendiamida, clorantraniliprol, ciazipir (HGW86), cienopirafeno, flupirazofos, ciflumetofeno, amidoflumet, imiciafos, bistriflurona, y pirifluquinazona.
- 5 Todas las mezclas arriba indicadas también son una realización de la presente invención.

En una realización, la invención se refiere al uso de la cepa de *Bacillus subtilis* con el N.º de referencia NRRL 8-21661 como componente (I), y opcionalmente, de al menos un compuesto químico como componente (II), seleccionado de los grupos de compuestos activos A) a J), para aumentar el rendimiento de cultivo de plantas agrícolas bajo presión por patógenos no existente, como se caracteriza en las reivindicaciones.

Las siguientes observaciones en cuanto a las realizaciones preferidas del componente (I) así como del componente (II) y las respectivas mezclas y/o composiciones que comprenden el componente (I) así como el componente (II), a su uso preferido y los procedimientos para su uso deben entenderse por sí solos o preferentemente en combinaciones entre sí.

En una realización preferida, la presente invención se refiere a un procedimiento para aumentar el rendimiento de cultivo de plantas agrícolas bajo presión por patógenos no existente como se caracteriza en las reivindicaciones, en el que se tratan las plantas, los propágulos vegetales, las semillas de las plantas y/o el lugar donde las plantas están creciendo o van a crecer con una cantidad eficaz de una composición que comprende

- a) la cepa de Bacillus subtilis con el N.º de referencia NRRL 8-21661 como componente (I), y
- b) un compuesto químico como componente (II), seleccionado de los grupos de compuestos activos A) a J), como se definen arriba,

en una relación ponderal de 100:1 hasta 1:100.

20

25

30

35

40

45

50

En otra realización preferida, la presente invención se refiere a un procedimiento para aumentar el rendimiento de cultivo de plantas agrícolas bajo presión por patógenos no existente como se caracteriza en las reivindicaciones, en el que se tratan las plantas, los propágulos vegetales, las semillas de las plantas y/o el lugar donde las plantas están creciendo o van a crecer con una cantidad eficaz de una composición que comprende

- a) la cepa de Bacillus subtilis con el N.º de referencia NRRL B-21661 como componente (I), y
- b) dos compuestos químicos como componente (II), seleccionados de los grupos de compuestos activos A) a J), como se definen arriba.

En otra realización preferida, la presente invención se refiere a un procedimiento para aumentar el rendimiento de cultivo de plantas agrícolas bajo presión por patógenos no existente como se caracteriza en las reivindicaciones, en el que se tratan las plantas, los propágulos vegetales, las semillas de las plantas y/o el lugar donde las plantas están creciendo o van a crecer con una cantidad eficaz de una composición que comprende

- a) la cepa de Bacillus subtilis con el N.º de referencia NRRL B-21661 componente (I) y
- b) un compuesto químico como componente (II), seleccionado de los grupos de compuestos activos A) a J), como se definen en la reivindicación 1,

que se aplican simultáneamente, es decir, en forma conjunta o separada, o sucesivamente.

El componente (I) comprende no solamente los cultivos aislados, puros de la cepa de *Bacillus subtilis*, sino también sus suspensiones en un cultivo de caldo total. La cepa de *Bacillus subtilis*, su preparación y acción contra hongos nocivos se conocen del documento WO98/50422 y WO00/29426, que en ellos también denominada AQ713 (QST 713). Sin embargo, dicha cepa puede denominarse en la técnica anterior *Bacillus amyloliquefaciens*.

SERENADE® es un agente de control biológico microbiano basado en *Bacillus subtilis* que protege contra patógenos fúngicos y bacterianos de las plantas. La cepa *Bacillus subtilis* QST 713 es una bacteria de origen natural muy extendida que puede usarse para el control de enfermedades de plantas, incluyendo quemazón, roña, moho gris y diferentes tipos de mildiú. Los organismos oficiales de los Estados Unidos y europeos clasifican a *Bacillus subtilis* QST 713 como que no presenta ningún efecto adverso para los seres humanos y el medio ambiente. La bacteria *Bacillus subtilis* es preponderante en suelos y se ha encontrado en una variedad de hábitats en todo el mundo. Es sabido, que la cepa QST 713 de *Bacillus subtilis* tiene efecto antagonista frente a muchos patógenos fúngicos vegetales, como se desvela, por ejemplo, en Roberts y col. (2008; Crop Protection 27:1519-1526), Syvrovy y col. (2009; Disease management tools for organic potato production) y Ngugi y col. (2005; Biological control 33: 32-38).

Este antagonismo puede alcanzarse de varias maneras, incluyendo la competencia por nutrientes, exclusión de sitio, colonización y la unión de la bacteria a los patógenos fúngicos. Además, la cepa de QST 713 de *Bacillus* subtilis podría inducir la resistencia sistémica natural de la planta o la resistencia sistémica adquirida (RSA) contra patógenos bacterianos. QST 713 puede detener la germinación de las esporas de los patógenos vegetales,

interrumpir el crecimiento del tubo germinal e inhibir la unión de los patógenos vegetales a la hoja.

Formulaciones apropiadas de la cepa de Bacillus *subtilis* con el N.º de referencia NRRL B-21661 están disponibles en el mercado bajo los nombres comerciales SERENADE®, SERENADE® MAX y SERENADE® ASO de AgraQuest, Inc., 1540 Drew Avenue, Davis, California 95618, EE.UU.

5 En una realización se usa una formulación disponible en el mercado de la cepa de *Bacillus subtilis* arriba identificada.

Una reducción de pérdidas de rendimiento gracias al control de patógenos fúngicos mediante el componente (I) es bien conocida (véase, por ejemplo, Highland (2002): Proc. Fla. State Hort. Soc. 115, 186-188.

En una presentación en la conferencia de Acorbat en 2008 se presentaron resultados, que mostraron que al aplicar Bacillus subtilis QST713, formulado como el producto SERENADE®, se aplicaba sobre bananos infectados con sigatoka, controlaba la enfermedad en grado comparable al patrón químico (mancozeb) resultando en un aumento de la producción del cacho en un 30 % comparado con las parcelas tratadas con mancozeb (véase Manker y Seiler (2008): "Bacillus subtilis strain QST 713 as an Alternative Protectant Multi-Site Fungicide for Sustainable Control of Black Sigatoka in Banana Production" distribuido el 10 de noviembre de 2008 en la conferencia de Acorbat en Guayaquil, Ecuador).

Sin embargo, el hecho que la aplicación de la cepa de Bacillus *subtilis* con el N.º de referencia NRRL B- aumenta el rendimiento de cultivo de plantas agrícolas aún con presión por patógenos no existe es nuevo y sorprendente porque no se podía contar con que el aumento del rendimiento fuese generalmente por encima del nivel que se puede alcanzar mediante el combate del hongo y/o la bacteria fitopatógena de los que se sabe que reducen el rendimiento de cultivos. Esto vale en particular con respecto a la aplicación de composiciones que comprenden el componente (I) y al menos un componente (II), que han demostrado ser capaces de aumentar de forma sinérgica el rendimiento de cultivos de acuerdo con la invención.

20

25

35

50

55

La expresión "presión por patógenos no existente" se refiere a una situación en la que patógenos están presentes en el área del crecimiento de una planta pero en una cantidad que no es nociva para la planta y que no resulta en una reducción del rendimiento.

En vista de la creciente población humana en el mundo, se vuelve cada vez más importante aumentar la producción mundial de alimentos (rendimiento) y la calidad de alimentos, que está basada en plantas sanas que presentan altos niveles de vigor.

Por consiguiente, la presente invención tenía por objeto proporcionar agentes que aumentan el rendimiento de las plantas en un grado que es más que lo que producirían plantas sanas bajo una presión por patógeno esencialmente no existente, mientras que el término patógeno significa, principalmente, patógenos fúngicos y, opcionalmente, patógenos bacterianos que causan daños en las plantas, preferentemente, tanto patógenos fúngicos como bacterianos.

Los inventores han descubierto que este objeto se alcanza aplicando el componente (I) y, opcionalmente, al menos un componente (II), como se define al comienzo. En una realización preferida de la invención, se aplican el componente (I) y al menos un componente (II), como se define al comienzo. Por la aplicación simultánea, es decir, conjunta o separada, del componente (I) y al menos un componente (II), el vigor y/o el rendimiento de las plantas agrícolas puede aumentar de forma superaditiva, lo que significa sinérgica.

El concepto de usar pesticidas biológicos, tales como el producto SERENADE® en combinación con productos químicos es nuevo y tiene una serie de beneficios. Uno de los más importantes es el hecho que los pesticidas biológicos, tales como SERENADE® no dejan ningún residuo químico en los cultivos, lo que significa, que pueden ser usados hasta el día de la cosecha. Los cultivos se suelen dejar peligrosamente sin protección en los días que llevan hasta la cosecha, ya que los pesticidas convencionales no se pueden aplicar durante este tiempo. Por consiguiente, en una realización preferida del procedimiento de acuerdo con la invención se aplican al menos un componente (II) seleccionado de los grupos de compuestos activos (A) a (J) antes del intervalo de precosecha, mientras que el compuesto (I) se aplica durante el intervalo de precosecha.

La expresión "intervalo de precosecha" debe entenderse como el tiempo que transcurre entre la última aplicación del pesticida (componente II) y la cosecha de los cultivos tratados.

La expresión "estadio principal de crecimiento" se refiere a la escala extendida de BBCH, que es un sistema de codificación uniforme de estadios de crecimiento fenológicamente similares de todas las especies de plantas mono-y dicotiledóneas, en las que se subdivide todo el ciclo de desarrollo de las plantas en estadios de desarrollo de larga duración, claramente reconocibles y distinguibles. La escala de BBCH usa un sistema decimal de códigos, que está dividido en estadios de crecimiento principales y secundarios. La abreviatura BBCH procede del Centro Federal de Investigación Biológica para la Agricultura y Silvicultura (Alemania), el Bundessortenamt (Alemania) y la industria química. Un valor BBCH de 23/29 indica que las plantas medidas había alcanzado un estadio de crecimiento de entre 23 y 29.

NRRL es la abreviatura de *Agricultural Research Service Culture Collection* (Colección de cultivos del servicio de investigación agrícola), una autoridad depositaria internacional para el depósito de cepas de microorganismos bajo el TRATADO DE BUDAPEST SOBRE EL RECONOCIMIENTO INTERNACIONAL DEL DEPÓSITO DE MICROORGANISMOS A LOS FINES DEL PROCEDIMIENTO EN MATERIA DE PATENTES, que tiene la dirección del Centro Nacional para la Investigación de Utilización Agrícola, Servicio de Investigación Agrícola (*National Center for Agricultural Utilization Research, Agricultural Research Service*), Ministerio de Agricultura de los EE.UU., 1815 North University Street, Peoria, Illinois 61604, EE.UU.

El componente (I) abarca no solamente los cultivos aislados, puros de la cepa de *Bacillus subtilis*, sino también sus suspensiones en un cultivo de caldo total.

10 "Cultivo de caldo de total" es un cultivo líquido que contiene tanto células como medios.

5

15

20

35

40

50

55

Los compuestos químicos arriba mencionados como componente (II) son generalmente conocidos (véase, por ejemplo, http://www.hclrss.demon.co.uk/index.html); la mayoría de ellos están disponibles en el mercado. Su acción pesticida y los procedimientos para producirlos también son conocidos. Por ejemplo, los compuestos disponibles en el mercado pueden encontrarse de The Pesticide Manual, 14ª Edición, British Crop Protection Council (2006), entre otras publicaciones.

Bixafeno se conoce de la publicación WO03/070705; penflufeno se conoce de la publicación WO03/010149; Sedaxano se conoce de la publicación WO03/074491; pueden prepararse en la forma allí descrita. Isopirazam se conoce de la publicación WO04/035589 y puede prepararse en la forma allí descrita o como se describe en la publicación WO 2007/068417. N-(3',4',5'-trifluorobifenil-2-il)-3-difluorometil-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida se conoce de la publicación WO 06/087343 y puede prepararse en la forma allí descrita. Metrafenona, 3'-bromo-2,3,4,6'-tetrametoxi-2',6-dimetilbenzofenona, se conoce de la publicación US 5.945.567.

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden estar presentes en diferentes modificaciones cristalinas, que pueden diferir en su actividad biológica. Estas también son objeto de la presente invención.

Se da preferencia a la aplicación del componente (I) en combinación con al menos un componente (II).

Por consiguiente, en una realización preferida del procedimiento de acuerdo con la invención, se aplica el componente (I) conjuntamente con un componente (II) seleccionado de los grupos A), B), C), D), E), F) y G). En una realización más preferida del procedimiento de acuerdo con la invención, se aplica el componente (I) conjuntamente con un componente (II) seleccionado de los grupos A), B), C), E) y G). En una realización aún más preferida del procedimiento de acuerdo con la invención, se aplica el componente (I) conjuntamente con un componente (II) seleccionado de los grupos A) y B). En la realización muy preferida del procedimiento de acuerdo con la invención, se aplica el componente (I) conjuntamente con un componente (II) seleccionado del grupo A).

En una realización del procedimiento de acuerdo con la invención, se aplica el componente (I) conjuntamente con un componente (II) seleccionado del grupo A) (estrobilurinas) formado por: azoxistrobina, dimoxistrobina, enestroburina, fluoxastrobina, kresoxim-metilo, metominostrobina, orisastrobina, picoxistrobina, piraclostrobina, piribencarb, trifloxistrobina, 2-(2-(6-(3-cloro-2-metil-fenoxi)-5-fluoro-pirimidin-4-iloxi)-fenil)-2-metoxiimino-N-metil-acetamida, éster metílico del ácido 3-metoxi-2-(2-(N-(4-metoxi-fenil)-ciclopropano-carboximidoil-sulfanilmetil)-fenil)-acrílico, metil (2-cloro-5[1-(3-metilbenciloxiimino)etil]bencil)carbamato y 2 (2-(3-(2,6-diclorofenil)-1-metil-alilidenaminooximetil)-fenil)-2-metoxiimino-N metil-acetamida. Del grupo A) que comprenden estrobilurinas como componente (II), se prefieren azoxistrobina, dimoxistrobina, enestroburina, fluoxastrobina, kresoxim-metilo, orisastrobina, picoxistrobina, piraclostrobina. La estrobilurina más preferida es piraclostrobina.

En una realización en particular preferida de la invención se aplica el componente (I) con piraclostrobina como componente (II).

En otra realización en particular preferida de la invención se aplica el componente (I) con epoxiconazol y piraclostrobina como componente (II).

En otra realización del procedimiento de acuerdo con la invención, se aplica el componente (I) conjuntamente con un componente (II) seleccionado del grupo B) (carboxamidas) formado por:

- carboxanilidas seleccionadas de benalaxilo, benalaxilo-M, benodanilo, bixafeno, boscalida, carboxina, fenfuram, fenhexamida, flutolanilo, furametpir, isopirazam, isotianilo, kiralaxilo, mepronilo, metalaxilo, metalaxilo, mefenoxam), ofurace, oxadixilo, oxicarboxina, pentiopirad, sedaxano, tecloftalam, tifluzamida, tiadinilo, 2-amino-4-metil-tiazol-5-carboxanilida, 2 cloro-N (1,1,3-trimetil-indan-4-il)-nicotinamida, N-(3',4',5' trifluorobifenil-2 il)-3-difluorometil-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-(4'-trifluorometiltiobifenil-2-il)-3 difluorometil-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N (2-(1,3 dimetil-butil)-fenil)-1,3-dimetil-5-fluoro-1H-pirazol-4-carboxamida y N-(2-(1,3,3-10-trimetil-butil)-fenil)-1,3-dimetil-5-fluoro-1H-pirazol-4 carboxamida;
- morfolidas carboxílicas seleccionadas de dimetomorf, flumorf y pirimorf;
- amidas de ácido benzoico seleccionadas de flumetover, fluopicolida, fluopiram, zoxamida y N-(3-etil-3,5,5-trimetil-

ciclohexil)-3-formilamino-2-hidroxi-benzamida;

5

10

15

20

35

40

50

55

otras carboxamidas seleccionadas de carpropamida, diciclomet, mandiproamida, oxitetraciclina, siltiofarm y N-(6-metoxi-piridin-3-il) ciclopro-pancarboxamida.

Del grupo B) que comprende carboxamidas como componente (II), se prefieren las carboxanilidas, morfolidas carboxílicas y amidas de ácido benzoico. Del grupo de las carboxanilidas se prefieren, en particular, bixafeno, boscalida y N-(3',4',5'-trifluorobifenil-2-il)-3-difluorometil-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida. Del grupo de las morfolidas carboxílicas se prefieren, en particular, dimetomorf y flumorf. Del grupo de las amidas de ácido benzoico se prefiere, en particular, zoxamida. Bixafeno, boscalida y N-(3',4',5'-trifluorobifenil-2-il)-3-difluorometil-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida son aún más preferidos. N-(3',4',5'-trifluorobifenil-2-il)-3-difluorometil-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida es la más preferida.

En una realización en particular preferida de la invención, se aplica el componente (I) con boscalid como componente (II). En otra realización en particular preferida de la invención, se aplica el componente (I) con N-(3',4',5'-trifluorobifenil-2-iI)-3-difluorometil-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida como componente (II).

En otra realización del procedimiento de acuerdo con la invención, se aplica el componente (I) conjuntamente con un componente (II) seleccionado del grupo C) (azoles) que consiste en:

- triazoles seleccionados de azaconazol, bitertanol, bromuconazol, ciproconazol, difenoconazol, diniconazol, diniconazol, metconazol, fen-buconazol, fluquinconazol, flusilazol, flutriafol, hexaconazol, imibenconazol, ipconazol, metconazol, miclobutanilo, oxpoconazol, paclobutrazol, penconazol, propiconazol, proticconazol, simeconazol, tebuconazol, tetraconazol, triadimefona, triadimenol, triticonazol, uniconazol y 1-(4-cloro-fenil)-2-([1,2,4]triazol-1-il)-cicloheptanol:
- imidazoles seleccionados de ciazofamida, imazalilo, pefurazoato, procloraz y triflumizol;
- benzimidazoles seleccionados de benomilo, carbendazim, fuberidazol y tiabendazol;
- otros seleccionados de etaboxam, etridiazol, himexazol y 2-(4-cloro-fenil)-N-[4-(3,4-dimetoxi-fenil)-isoxazol-5-il]-2-prop-2-iniloxi-acetamida.
- Del grupo C) que comprende azoles como componente (II), se prefieren los triazoles, imidazoles, benzimidazoles y etaboxam. Dentro del grupo de los triazoles se prefieren, en particular, bitertanol, ciproconazol, difenoconazol, epoxiconazol, fenbuconazol, fluquinconazol, flusilazol, flutriafol, hexaconazol, metconazol, miclobutanilo, propiconazol, tebuconazol y triticonazol. Dentro del grupo de los imidazoles se prefieren, en particular, ciazofamida y procloraz. Dentro del grupo de los benzimidazoles se prefieren, en particular, benomilo, carbendazim y tiabendazol.

  Del grupo C) se prefieren, en particular, ciproconazol, difenoconazol, epoxiconazol y tebuconazol. Epoxiconazol es el compuesto más preferido.

En una realización en particular preferida de la invención se aplica el componente (I) con epoxiconazol como componente (II).

En otra realización en particular preferida de la invención se aplica el componente (I) con difenoconazol y mefenoxam como componente (II).

En otra realización del procedimiento de acuerdo con la invención, se aplica el componente (I) conjuntamente con un componente (II) seleccionado del grupo D) (compuestos heterocíclicos) que consiste en:

- piridinas seleccionadas de fluazinam, pirifenox, 3-[5-(4-cloro-fenil)-2,3-dimetil-isoxazolidin-3 il]-piridina, 3-[5-(4-metil-fenil)-2,3-dimetil-isoxazolidin-3-il]-piridina, 2,3,5,6-tetra-cloro-4-metanosulfonil-piridina, 3,4,5-tricloropiridina-2,6-di-carbonitrilo, N-(1-(5-bromo-3-cloro-piridin-2-il)-etil)-2,4-dicloronicotinamida y N [(5 bromo-3-cloro-piridin-2-il)-metil]-2,4-dicloro-nicotinamida;
- pirimidinas seleccionadas de bupirimato, ciprodinilo, diflumetorim, fenarimol, ferimzona, mepanipirim, nitrapirin, nuarimol, pirimetanilo;
- piperazinas: triforina;
- pirroles seleccionadas de fenpicionilo y fludioxonilo;
  - morfolinos seleccionados de aldimorf, dodemorf, dodemorf-acetato, fenpropimorf y tridemorf;
  - piperidinas: fenpropidina;
  - dicarboximidas seleccionadas de fluoroimida, iprodiona, procimidona y vinclozolina;
  - heterociclos no aromáticos de cinco miembros seleccionados de famoxadona, fenamidona, flutianilo, octilinona, probenazol y éster S-alílico del ácido 5-amino-2-isopropil-3-oxo-4-orto-tolil-2,3-dihidro-pirazol-1 carboxílico;
  - otros seleccionados de acibenzolar-S-metilo, amisulbrom, anilazina, blasticidina-S, captafol, captan, quinometionat, dazomet, debacarb, diclomezina, difenzoquat, difenzoquat-metilsulfato, fenoxanilo, Folpet, ácido oxolínico, piperalina, proquinazida, piroquilona, quinoxifeno, triazoxida, trici-clazol, 2-butoxi-6-yodo-3-propilcromen-4-ona, 5-cloro-1(4,6-dimetoxi-pirimidin-2-il)-2-metil-1H-benzoimidazol, 5 cloro-7(4-metilpiperidin-1-il)-6-(2,4,6-trifluorofenil)-[1,2,4]triazolo[1,5a]pirimidina y 5-etil-6 octil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina-7 ilamina.

Del grupo D) que comprende compuestos heterocíclicos como componente (II), se prefieren las piridinas, pirimidinas, morfolinos, piperidinas, dicarboximidas y heterociclos no aromáticos de cinco miembros. Dentro del

grupo de las piridinas, se prefiere, en particular, fluazinam. Dentro del grupo de los pirimidinas se prefieren, en particular, ciprodinilo, fenarimol y pirimetanilo. Dentro del grupo de los morfolinos se prefieren, en particular, dodemorf-acetato, fenpropimorf y tridemorf. Dentro del grupo de las piperidinas se prefiere, en particular, fenpropidina. Dentro del grupo de los dicarboximidas se prefiere, en particular, iprodiona. Dentro del grupo de los heterociclos no aromáticos de cinco miembros se prefieren, en particular, famoxadona y fenamidona. Además, se prefieren, en particular samisulbrom, Folpet, proquinazida y quinoxifeno. Se prefieren aún más ciprodinilo, fenpropidina, iprodiona, famoxadona, fenamidona, amisulbrom, proquinazida, quinoxifeno y Folpet. Fenpropimorf, tridemorf y fenpropidina son los compuestos más preferidos.

En otra realización del procedimiento de acuerdo con la invención, se aplica el componente (I) conjuntamente con un componente (II) seleccionado del grupo E) (carbamatos) que consiste en:

- tio- y ditiocarbamatos seleccionados de ferbam, mancozeb, maneb, metam, metasulfocarb, metiram, propineb, tiram, zineb y ziram;
- carbamatos seleccionados de bentiavalicarb, dietofencarb, iprovalicarb, propamocarb, clorhidrato de propamocarb, valifenal y (4-fluorofenil) éster del ácido N-(1-(1-(4-ciano-fenil)etanosulfonil)-but-2-il)carbámico.
- Del grupo E) que comprende carbamatos como componente (II) se prefieren los tio- y ditiocarbamatos y carbamatos. Dentro del grupo de los tio- y ditiocarbamatos se prefieren, en particular, mancozeb, maneb, metiram, propineb, tiram, zineb y ziram son más preferidos. Dentro del grupo de los carbamatos se prefieren, en particular, bentiavalicarb, iprovalicarb, valifenal y propamocarb y valifenal. Mancozeb, metiram y propineb son aún más preferidos.
- En otra realización del procedimiento de acuerdo con la invención, se aplica el componente (I) conjuntamente con un componente (II) seleccionado del grupo F). Del grupo F) que comprende otras sustancias activas como componente (II), se prefieren los antibióticos, compuestos de heterociclilo que contienen azufre, sustancias activa inorgánicas, cimoxanilo, metrafenona, espiroxamina, acetato de fentina, cloruro de fentina e hidróxido de fentina. Dentro del grupo de los antibióticos se prefieren, en particular, kasugamicina, clorhidrato de kasugamicina-hidrato y estreptomicina. Dentro del grupo de los compuestos de heterociclilo que contienen azufre se prefiere, en particular, ditianona. Además, se prefieren cimoxanilo, metrafenona, espiroxamina, acetato de fentina, cloruro de fentina, hidróxido de fentina. Son en particular preferidas las sustancias activas inorgánicas seleccionadas de caldo de Burdeos, acetato de cobre, hidróxido de cobre, oxicloruro de cobre, sulfato de cobre básico y azufre.
- En una realización en particular preferida de la invención, se aplica el componente (I) conjuntamente con el componente (II) seleccionado de caldo de Burdeos, acetato de cobre, hidróxido de cobre, oxicloruro de cobre, sulfato de cobre básico y azufre.
  - En otra realización del procedimiento de acuerdo con la invención, se aplica el componente (I) conjuntamente con un componente (II) seleccionado del grupo G) (reguladores del crecimiento vegetal; los RCV) que consiste en ácido abscísico, amidoclor, ancimidol, 6-bencilaminopurina, brassinolida, butralina, clormequat (cloruro de clormequat), cloruro de colina, ciclanilida, daminozida, dikegulac, dimetipina, 2,6-dimetilpuridina, etefona, flumetralina, flurprimidol, flutiacet, forclorfenurona, ácido giberélico, inabenfida, ácido indol-3-acético, hidrazida maleica, mefluidida, mepiquat (cloruro de mepiquat), ácido naftalenacético, N 6 benciladenina, paclobutrazol, prohexadiona (prohexadiona de calcio), prohidrojasmon, tidiazuron, triapentenol, tributil fosforotritioato, ácido 2,3,5 triyodobenzoico, trinexapacetilo y uniconazol. Del grupo G) que comprende reguladores del crecimiento vegetal (los RCV) como componente (II), se prefieren clormequat (cloruro de clormequat), mepiquat (cloruro de mepiquat) y prohexadiona (prohexadiona de calcio).

Un indicador del estado de la planta es el rendimiento. "Rendimiento" se entiende como cualquier producto vegetal de valor económico producido por la planta, tal como por ejemplo granos, frutos en el sentido propio, legumbres, nueces, granos, semillas, madera (por ejemplo en el caso de plantas silvícolas) o incluso flores (por ejemplo en el caso de plantas de jardín, ornamentales). Además, los productos vegetales pueden usarse ulteriormente y/o procesarse después de la cosecha.

De acuerdo con la presente invención, "rendimiento aumentado" de una planta, en particular, una planta agrícola, silvícola y/u ornamental significa que el rendimiento de un producto de la respectiva planta se ha aumentado en una cantidad mensurable, comparado con el rendimiento del mismo producto de la planta producido bajo las mismas condiciones, pero sin la aplicación de la composición de la invención. El rendimiento aumentado se puede caracterizar, entre otros, por las siguientes propiedades mejoradas de la planta:

- peso de la planta aumentada,
- altura de la planta aumentado,
- biomasa aumentada, tal como, por ejemplo, peso fresco y/o seco más alto
- rendimiento de grano aumentado
- más hijuelos

35

40

45

50

- hojas más grandes
- crecimiento de brotes aumentado

- contenido proteico aumentado
- contenido de aceite aumentado
- contenido de almidón aumentado
- contenido de pigmento aumentado
- 5 De acuerdo con una realización de la presente invención, se aumenta el rendimiento en al menos un 5 %.
  - De acuerdo con otra realización de la presente invención, se aumenta el rendimiento en al menos un 10%.
  - De acuerdo con otra realización de la presente invención, se aumenta el rendimiento en al menos un 15%.
  - De acuerdo con otra realización de la presente invención, se aumenta el rendimiento en al menos un 30%.
  - De acuerdo con otra realización de la presente invención, se aumenta el rendimiento en al menos un 40%.
- Otro indicador del estado de la planta es el "vigor de la planta". El vigor de la planta se manifiesta en varios aspectos, tales como el aspecto general. Un vigor aumentado de la planta se caracteriza, entre otros, por medio de las siguientes propiedades de la planta:
  - · vitalidad mejorada de la planta,
  - · crecimiento mejorado de la planta,
- desarrollo mejorado de la planta,
  - aspecto visual meiorado,
  - parada de la planta mejorada (menor encamado/menor tumbado),
  - · emergencia mejorada,
  - crecimiento mejorado de las raíces y/o sistema de raíces más desarrollado,
- nodulación potenciada, sobre todo, la nodulación rizobial,
  - limbo de hoja más grande,
  - tamaño aumentado de la planta,
  - peso aumentado de la planta,
  - altura aumentada de la planta,
  - número de hijuelos aumentado,

25

- crecimiento de brotes aumentado.
- crecimiento de las raíces aumentado (sistema radicular extenso),
- rendimiento aumentado cuando crece en suelos pobres o en clima desfavorable,
- actividad fotosintética aumentada
- cambio de color (por ejemplo, contenido de pigmentos potenciado (por ejemplo, contenido de clorofila)
  - floración más temprana,
  - fructificación más temprana,
  - germinación más temprana y mejorada,
  - madurez del grano más temprana (avanzada),
- mecanismos de autodefensa mejorados
  - menos hijuelos no productivos,
  - menos hojas basales muertas,
  - menos aporte necesario (tal como, por ejemplo, fertilizantes o agua)
  - hojas más verdes y área verde de la hoja aumentada
- completa maduración bajo períodos vegetativos más cortos
  - menos fertilizantes necesarios,
  - menos semillas necesarias,
  - cosecha más fácil
  - maduración más rápida y más uniforme
- más larga estabilidad al almacenamiento
  - · panículas más largas,
  - retraso de la senescencia,
  - hijuelos más fuertes y/o más productivos,
  - capacidad de extracción de ingredientes más fácil
- calidad de las semillas mejorada (para sembrarlas en las próximas temporadas para la producción de semillas)
  - producción reducida de etileno y/o de la inhibición de su recepción por la planta
  - · estrechez de las hojas
  - número aumentado de espigas/m²

La mejora del vigor de la planta significa, en particular, que se alcanza mejorar una cualquiera o varias, o todas las características de las plantas arriba mencionadas, independientemente de la acción pesticida de la composición o los principios activos. Un vigor aumentado puede, por ejemplo, dar como resultado un porcentaje más alto de plantas que pueden trasplantarse al campo o un número más alto de plantas que se pueden comercializar (tales como tomates).

El término "plantas" se entiende como las plantas de importancia económica y/o cultivadas por el hombre.

Preferentemente, se seleccionan de plantas agrícolas, silvícolas y hortícolas (incluyendo las ornamentales). El término "planta" usado en el presente documento incluye todas las partes de una planta, tales como semillas germinantes, plántulas emergentes, vegetación herbácea, así como plantas leñosas establecidas, incluyendo todas las partes debajo del suelo (tales como las raíces) y las partes aéreas.

- Generalmente, el término "plantas" incluye también plantas que han sido modificadas mediante mejora genética, mutagénesis o ingeniería genética. Plantas genéticamente modificadas son plantas cuyo material genético ha sido modificado mediante el uso de técnicas de ADN recombinante. El uso de técnicas de ADN recombinantes permite alcanzar modificaciones que no se pueden obtener fácilmente bajo circunstancias naturales mediante entrecruzamiento, mutaciones o recombinación natural.
- 10 Las plantas agrícolas que pueden presentar un aumento en el vigor y/o rendimiento de cultivo son por ejemplo, los cereales, por ejemplo, trigo, cebada, centeno, triticale, avenas o arroz; remolachas, por ejemplo, remolacha azucarera o remolacha forrajera; frutas, tales como frutas de pipas, frutas con hueso o frutos rojos, por ejemplo, manzanas, peras, ciruelas, duraznos, almendras, cerezas, fresas, frambuesas, moras o grosellas espinosas; plantas leguminosas, tales como lentejas, guisantes, alfalfa o soja; plantas oleaginosas, tales como colza, mostaza, olivas, girasoles, coco, grano de cacao, plantas de aceite de ricino, palmas oleaginosas, maní o soja; cucurbitáceas, tales 15 como calabaza, pepinos o melones; plantas fibrosas, tales como algodón, lino, cáñamo o yute; frutas cítricas, tales como naranjas, limones, pomelos o mandarinas; hortalizas, tales como brócoli, espinaca, lechuga, espárragos, repollo, zanahorias, cebollas, tomates, patatas, cucurbitáceas o pimientos; plantas lauraceosas, tales como aguacates, canela o alcanfor; plantas energéticas y de materias primas, tales como maíz, soja, colza, caña de azúcar o palma de aceite; maíz; tabaco; nueces; café; té; plátanos; vid (uvas de mesa y vid para uvas de zumo); 20 lúpulo; césped; plantas de caucho natural o plantas ornamentales y forestales, tales como flores, arbustos, árboles de hojas anchas o perennes, por ejemplo coníferas; y en material de propagación vegetal, tales como semillas y el material de cultivo de estas plantas.

Las plantas agrícolas que presentan un aumento del vigor y/o rendimiento de cultivo son, en particular, plátanos, brócoli, tomates, pimientos y trigo.

25

30

35

40

45

50

55

En una realización preferida de la invención, se aumenta el rendimiento y/o vigor en una planta agrícola seleccionada de soja, maíz, trigo, triticale, cebada, avena, centeno, colza, mijo, arroz, girasol, algodón, remolacha de azúcar, frutas de pepitas, frutos con hueso, frutas cítricas, plátanos, fresas, arándano azul, almendras, uvas, mango, papaya, maní, patata, tomate, pimiento, cucurbitáceas, pepino, melón, sandía, ajo, cebolla, brócoli, zanahoria, repollo, frijoles secos, colza, guisantes, lentejas, alfalfa, planta trifoliada, trébol, lino, hierba de elefante, pasto, lechuga, caña de azúcar, té, tabaco y café; cada una en su forma natural o genéticamente modificada.

En una realización preferida de la invención, se aumenta el rendimiento y/o vigor en uvas, frutas, tales como frutas de pepitas, frutas de hueso o frutos rojos, por ejemplo, manzanas, peras, ciruelas, duraznos, almendras, cerezas, fresas, frambuesas, moras o grosellas espinosas y/o hortalizas tales como brócoli, espinaca, lechuga, espárragos, repollos, zanahorias, cebollas, tomates, patatas, cucurbitáceas o pimientos.

En una realización especialmente preferida de la invención se aumenta el rendimiento y/o vigor en plátanos y/o uvas.

La expresión "material de propagación vegetal" se refiere a todas las partes de reproducción de la planta, tales como semillas y material vegetativo de la planta, tales como esquejes y tubérculos (por ejemplo, patatas), que pueden usarse para la multiplicación de la planta. También se pueden mencionar las plántulas y las plantas jóvenes, que se trasplantan después de la germinación o después de la emergencia del suelo. Estas plantas jóvenes también pueden tratarse total o parcialmente por inmersión o vertido antes del trasplante.

La expresión "plantas cultivadas", debe entenderse que incluye plantas que se han modificado mediante mejora genética, mutagénesis o ingeniería genética. Las plantas genéticamente modificadas son plantas, cuyo material genético ha sido así modificado mediante el uso de técnicas de ADN recombinante y que bajo circunstancias naturales no se pueden obtener sencillamente mediante mejora genética, mutaciones o recombinación natural. Típicamente, se han integrado uno o más genes en el material genético de una planta genéticamente modificada para mejorar ciertas propiedades de la planta.

La expresión "plantas cultivadas" se entiende que incluye también las plantas que se han hecho tolerantes a aplicaciones de clases específicas de herbicidas, tales como inhibidores de hidroxifenilpiruvato dioxigenasa (HPPD); inhibidores de acetolactato sintasa (ALS), tales como as sulfonil ureas (véanse, por ejemplo, los documentos US 6.222.100, WO 01/82685, WO 00/26390, WO 97/41218, WO 98/02526, WO 98/02527, WO 04/106529, WO 05/20673, WO 03/14357, WO 03/14356, WO 04/16073) o imidazolinonas (véanse, por ejemplo, los documentos US 6.222.100, WO 01/82685, WO 00/26390, WO 97/41218, WO 98/02526, WO 98/02527, WO 04/106529, WO 05/20673, WO 03/14357, WO 03/13225, WO 03/14356, WO 04/16073); inhibidores de enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS), tal como glifosato (véase, por ejemplo, el documento WO 92/00377); inhibidores de glutamina sintasa (GS), tal como glufosinato (véanse, por ejemplo, los documentos EP-A-0242236, EP-A-242246) o herbicidas de oxinilo (véase, por ejemplo, el documento US 5.559.024), como resultado de

procedimientos de mejora genética convencionales o de ingeniería genética. Varias plantas de cultivo se han hecho tolerantes a herbicidas mediante procedimientos de mejora genética convencionales (mutagénesis), por ejemplo, colza de verano Clearfield® (Canola) que es tolerante a imidazolinonas, por ejemplo imazamox. Se han usado procedimientos de ingeniería genética para hacer plantas de cultivo, tales como soja, algodón, maíz, remolacha y colza tolerantes a herbicidas, tales como glifosato y glufosinato, algunos de los cuales están disponibles en el mercado bajo los nombres comerciales RoundupReady® (glifosato) y Libertilink® (glufosinato).

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

La expresión "plantas cultivadas" también se entiende que incluye plantas que mediante el uso de técnicas de ADN recombinante son capaces de sintetizar una o más proteínas insecticidas, especialmente, las conocidas del género bacteriano *Bacillus*, en particular, de *Bacillus thuringiensis*, tales como o-endotoxinas, por ejemplo CrylA(b), CrylA(c), CrylF, CrylF(a2), Cry-IIA(b), CrylIIB(b1) o Cry9c; proteínas insecticidas vegetativas (VIP, forma siglada de vegetative insecticidal proteins), por ejemplo VIP1, VIP2, VIP3 o VIP3A; proteínas insecticidas de bacterias colonizadores de nematodos, tales como Photorhabdus spp. o Xenorhabdus spp.; toxinas producidas por animales, tales como toxinas de escorpiones, toxinas de arácnidos, toxinas de avispas u otras neurotoxinas específicas de insectos; toxinas producidas por hongos, tales como toxinas de estreptomicetos, lecitinas vegetales, tales como lecitinas 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 ribosoma (RIP, forma siglada de ribosome-inactivating proteins), tales como ricina, RIP de maíz, abrina, lufina, saporina o briodina; enzimas del metabolismo de los esteroides, tales como 3-hidroxiesteroide oxidasa, ecdiesteroide-1DP-glucosil-transferasa, colesterol oxidasas, inhibidores de ecdisona o HMG-CoA-reductasa; bloqueadores de canales de iones, tales como inhibidores del canal de sodio o del canal de calcio; esterasa de hormonas juveniles; receptores de hormonas diuréticas (receptores de helicoquinina); estilbeno sintasa, bibencilo sintasa, quitinasas o glucanasas. En el contexto de la presente invención, estas proteínas insecticidas o toxinas deben entenderse expresamente también como pretoxinas, proteínas híbridas, proteínas truncadas o modificadas de otra manera. Las proteínas híbridas están caracterizadas por una nueva combinación de dominios proteicos (véase, por ejemplo, el documento WO 02/015701). Otros ejemplos de tales toxinas o plantas genéticamente modificadas capaces de sintetizar tales toxinas se desvelan, por ejemplo, en los documentos EP-A374753, WO 93/007278, WO 95/34656, EP-A 427529, EP-A451878, WO 03/018810 y WO 03/052073. Los procedimientos para producir tales plantas genéticamente modificadas son conocidos por experto en la materia y se describen, por ejemplo, en las publicaciones arriba mencionadas. Estas proteínas insecticidas contenidas en las plantas genéticamente modificadas imparten a las plantas que producen estas proteínas una tolerancia frente a plagas nocivas de todos grupos taxonómicos de artrópodos, especialmente, a escarabajos (Coleoptera), insectos con dos alas (Diptera) y polillas (Lepidoptera), y a nematodos (Nematoda).

Plantas genéticamente modificadas capaces de sintetizar uno o más proteínas insecticidas se describen, por ejemplo, en las publicaciones arriba mencionadas, y algunas están disponibles en el mercado, tales como YieldGard<sup>®</sup> (cultivares de maíz que producen toxinas de CrylAb), YieldGard<sup>®</sup> Plus (cultivares de maíz que producen toxinas CrylAb y Cry3Bb1), Starlink<sup>®</sup> (cultivares de maíz que producen la toxina Cry9c), Herculex<sup>®</sup> RW (cultivares de maíz que producen Cry34Ab1, Cry35Ab1 y la enzima fosfinotricina-N-acetiltransferasa [PAT]); NuCOTN<sup>®</sup>33B (cultivares de algodón que producen la toxina CrylAc), Bollgard<sup>®</sup> I (cultivares de algodón que producen la toxina CrylAc), Bollgard<sup>®</sup> II (cultivares de algodón que producen una toxina VIP); NewLeaf<sup>®</sup> (cultivares de patata que producen la toxina Cry3A); Bt-Xtra<sup>®</sup>, NatureGard<sup>®</sup>, KnockOut<sup>®</sup>, BiteGard<sup>®</sup>, Protecta<sup>®</sup>, Bt11 (por ejemplo, Agrisure<sup>®</sup> 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, véase el documento WO 03/018810), MON 863 de Monsanto Europe S.A., Bélgica (cultivares de maíz que producen la toxina Cry3Bb1), IPC531 de Monsanto Europe S.A., Bélgica (cultivares de maíz que producen la toxina Cry1F y la enzima PAT).

La expresión "plantas cultivadas" también debe entenderse que incluye plantas, que mediante el uso de técnicas de ADN recombinante producen una o más proteínas, que aumentan la resistencia o tolerancia de las plantas contra patógenos bacterianos, víricos o fúngicos. Los ejemplos de tales proteínas son las llamadas "proteínas relacionadas con la patogénesis" (proteínas PR, véase por ejemplo, el documento EP-A 0392225), genes de resistencia a enfermedades vegetales (por ejemplo cultivares de patata, que expresan genes de resistencia que actúan contra *Phytophthora infestans* de la patata salvaje mejicana *Solanum bulbocastanum*) o lisozima T4 (por ejemplo, cultivares de patatas capaces de sintetizar estas proteínas con resistencia aumentada frente a bacterias, tales como *Erwinia amilvora*). Estos procedimientos para producir tales plantas genéticamente modificadas son generalmente conocidos por experto en la materia y se describen, por ejemplo, en las publicaciones arriba mencionadas.

La expresión "plantas cultivadas" también debe entenderse que incluye plantas, que mediante el uso de técnicas de ADN recombinante son 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 contenido de proteína), la tolerancia a la sequía, salinidad u otros factores medioambientales que limitan el crecimiento o la tolerancia frente a plagas y patógenos fúngicos, bacterianos o víricos de esas plantas.

La expresión "plantas cultivadas" también debe entenderse que incluye plantas, que debido al uso de técnicas de

ADN recombinante contienen una cantidad modificada de contenido de sustancias, o de contenido de nuevas sustancias, específicamente para mejorar la nutrición humana o animal, por ejemplo, cultivos oleaginosos que producen ácidos grasos omega-3 de larga cadena o ácidos grasos omega-9 no saturados que mejoran la salud (por ejemplo, colza Nexera®).

La expresión "plantas cultivadas" también debe entenderse que incluye plantas, que debido al uso de técnicas de ADN recombinante contienen una cantidad modificada de contenido de sustancias o de contenido de nuevas sustancias, específicamente para mejorar la producción de materias primas, por ejemplo, patatas que producen mayores cantidades de amilopectina (por ejemplo, patata Amflora<sup>®</sup>).

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

El término "proteína" como se usa en el presente documento debe entenderse como un oligopéptido o polipéptido o una molécula compuesta de polipéptidos, incluyendo expresamente también las pre-proteínas, proteínas híbridas, péptidos, proteínas truncadas o modificadas de otra forma, incluyendo aquellas procedentes de modificaciones postranscripcionales, tales como acilación (por ejemplo, la adición de un grupo acetilo, generalmente, en el extremo N de la proteína), alquilación, la adición de un grupo alquilo (por ejemplo, la adición de etilo o metilo, generalmente, en restos lisina o arginina) o desmetilación, amidación en el extremo C, biotinilación (acilación de restos lisina conservados con un añadido de biotina), formilación, y-carboxilación dependiente de vitamina K, glutamilación (enlace covalente de restos de ácido glutámico), glucosilación (adición de un grupo glucosilo a asparagina, hidroxilisina, serina o treonina, dando como resultado una glucoproteína), glucación (enlace no enzimático de azúcares), glucilación (enlace covalente de uno o más restos glicina), enlace covalente de una fracción hemo, hidroxilación, yodinación, isoprenilación (adición de un grupo isoprenoide, tal como farnesol y geranilgeraniol), lipoilación (enlace de una funcionalidad de lipoato) incluyendo prenilación, formación de un anclaje de GPI (por ejemplo miristoilación, farnesilación y geranilgeranilación), enlace covalente de nucleótidos o derivados de los mismos incluyendo ribosilación de ADP y enlace de flavina, oxidación, pegilación, enlace covalente de fosfatidilinositol, fosfopanteteinilación (adición de una fracción de 4'-fosfopanteteinilo de la coenzima A), fosforilación (adición de un grupo fosfato, generalmente, a serina, tirosina, treonina o histidina), formación de piroglutamato, racemización de prolina, adición de aminoácidos mediada por ARNt, tal como arginilación, sulfatación (adición de un grupo sulfato a una tirosina), selenoilación (incorporación cotraduccional de selenio en selenoproteínas), ISGilación (enlace covalente a la proteína ISG15 [Interferon-stimulated Gene 15, gene 15 estimulado por interferón]), SUMOilación (enlace covalente a la proteína SUMO [Small Ubiquitin-related MOdifier, proteína pequeña similar a ubiquitina)), ubiquitinación (enlace covalente a la proteína ubiquitina o poliubiquitina), citrulinación o desiminación (conversión de arginina en citrulina), desamidación (conversión de una glutamina a ácido glutámico o de aspargina a ácido aspártico), formación de puentes de disulfuro (enlace covalente de dos aminoácidos cisteína) o escisión proteolítica (escisión de una proteína en un enlace peptídico).

Bajo el término "lugar" se entiende cualquier tipo de entorno, suelo, área o material donde la plata está creciendo o va a crecer, así como las condiciones ambientales (tales como temperatura, disponibilidad de agua, radiación) que influye en el crecimiento y desarrollo de la planta y/o sus propágulos. Además, se entiende bajo el término "lugar" una planta, semilla, suelo, área, material o entorno en que una plaga está creciendo o puede crecer.

El "rendimiento de cultivo" es un indicador del estado de la planta, mientras que "cultivo" se refiere a cualquier panta o producto de plantas que se utiliza adicionalmente después de la cosecha, por ejemplo frutos en el sentido propio, legumbres, nueces, granos, semillas, madera (por ejemplo, en el caso de plantas de silvicultura), flores (por ejemplo, en el caso de plantas de jardín, ornamentales) etc.; es decir, cualquier producto de valor económico producido por la planta

De acuerdo con la presente invención, "rendimiento incrementado" de una planta, en particular, una planta agrícola, silvícola y/u ornamental significa que el rendimiento de un producto de la respectiva planta se ha aumentado en una cantidad mensurable, con respecto al rendimiento del mismo producto de la planta producida en las mismas condiciones, pero sin la aplicación de la composición de la invención.

El término "semilla" abarca semillas y propágulos vegetales de cualquier tipo, incluyendo, pero sin limitación, semillas verdaderas, partes de semillas, retoños, cormos, bulbos, frutos, tubérculos, esquejes, vástagos cortados y similares, y en una realización preferida significa semillas verdaderas.

La expresión "tratamiento de semillas" comprende todas las técnicas de tratamiento apropiadas conocidas en la técnica, tales como abonos para semillas, recubrimiento de semillas, empolvado de semillas, inmersión de semillas, impregnación de semillas y granulado de semillas.

Bajo la expresión "material de propagación vegetal" o "producto de propagación vegetal" se entienden todas las partes generativas de la planta, tales como semillas y material vegetativo de la planta, tal como esquejes y tubérculos (por ejemplo patatas), que pueden usarse para la multiplicación de la planta. Esto incluye semillas, granos, raíces, frutos, tubérculos, bulbos, rizomas, esquejes, esporas, chupones, vástagos, brotes y otras partes de las plantas, incluyendo semillas y plantas jóvenes, que se trasplantan después de la germinación o después de la emergencia del suelo, tejido meristemático, células vegetales individuales y múltiples, y cualquier otro tejido vegetal a partir del cual se puede obtener una planta completa.

La expresión "recubierto con" y/o "que contiene" generalmente significa, que el principio activo se encuentra en su mayor parte en la superficie del producto de propagación en el momento de la aplicación, aunque una mayor o menor parte del principio puede penetrar en el producto de propagación, dependiendo del procedimiento de aplicación. Cuando dicho producto de propagación está (re)plantado, entonces puede absorber el principio activo.

5 Bajo aplicación "simultánea" se entiende la aplicación conjunta o separada de los componentes (I) y (II).

20

35

40

45

El componente (I) puede estar formulado con una sustancia transportadora particulada. Dicho transportador puede estar compuesto substancialmente de material soluble en agua o material no soluble en agua o mezclas de los mismos. Las células de *Bacillus subtilis* pueden estar integradas en el material transportador y/o pueden estar adsorbidas en la superficie del material transportador.

La sustancia transportadora, que puede agregarse como coformulador antes del secado a una suspensión de células de *Bacillus subtilis* generalmente recién cultivadas, puede seleccionarse de mono-, oligo- y polisacáridos, polioles, poliéteres, polímeros, tales como CMC o PVP, oligo- y polipéptidos de fuentes naturales, tales como leche, carne o cereales, sustancias derivadas o sustancias mezcladas, tales como suero lácteo deshidratado, salvado de sémola de trigo, peptona, alginatos, compuestos minerales o mezclas de tales materiales. Dicho material puede estar disuelto en dicha suspensión de células de *Bacillus subtilis*, cuya mezcla puede secarse posteriormente con el fin de obtener un material particulado.

En otra realización, dicho transportador puede comprender una sustancia transportadora no soluble en agua, absorbente de agua, que puede seleccionarse de cualquier material orgánico o inorgánico capaz de eliminar suavemente humedad de la suspensión de *Bacillus subtilis* viable, y, en particular, del grupo que consiste en zeolita, perlas porosas o polvos, sílice, productos agrícolas molidos (como por ejemplo, mazorcas de maíz), productos de madera porosos, celulosa, ciclodextrinas y combinaciones de los mismos. El transportador puede mezclarse con una suspensión de células de *Bacillus subtilis* generalmente recién cultivadas para formar un material particulado, que, opcionalmente, puede someterse adicionalmente a secado.

Además, se pueden agregar a la mezcla aditivos, que tienen un efecto estabilizante sobre *Bacillus subtilis*, preferentemente, antes de la preparación de la formulación particulada, tales como antioxidantes, tal como alfatocoferol o ácido ascórbico o mezclas de los mismos. Además, también hay otras sustancias que pueden ejercer un efecto estabilizante que se seleccionan de las sales inorgánicas, tales como cloruros de metal alcalino o de metal alcalinotérreo, sustancias tapón inorgánicas u orgánicas, tales como tampón de fosfato de metal alcalino, aminoácidos, tales como ácido aspártico o ácido glutámico y sales de los mismos, ácidos carboxílicos orgánicos, tales como ácido cítrico, disolventes orgánicos no volátiles, tales como dimetilsulfóxido y otros compuestos, tales como β-caroteno y mezclas de los mismos.

En una realización específica, la formulación particulada comprende dicha sustancia transportadora, como por ejemplo, dicha sustancia transportadora no soluble en agua, absorbente de agua, en la que dicha sustancia transportadora presente en una cantidad de al menos aproximadamente el 40 %, como por ejemplo de al menos el 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95, 96, 97, 98 o 99 % en peso total de la formulación y el *Bacillus subtilis* mezclado con dicho transportador.

De acuerdo con una realización adicional, dicha formulación particulada está recubierta de una manera conocida de por sí con un material de recubrimiento o encapsulación adecuado, compatible.

Los materiales de encapsulación adecuados incluyen, pero sin limitación: quitosanos naturales o modificados, almidones naturales o modificadas, glucanos o dextrinas, celulosas modificadas de manera que sean solubles, y cualquiera de una serie de gomas vegetales o microbianas naturales o modificadas, incluyendo ágares, guar, de algarrobilla, carragenano, xantanos, pectinas, y similares, y combinaciones de los mismos.

Son materiales adicionales de recubrimiento adecuados los polímeros tales como, PVP, sobre todo, un producto de PVP, disponibles en el mercado bajo el nombre comercial Kollidon VA64. Otro sistema de recubrimiento adecuado comprende una mezcla de goma-laca y Kollidon 25 o 30, que puede estar complementado con dióxido de titanio y sebo

De acuerdo con la invención, los componentes (I) y (II) generalmente se emplean en una relación ponderal de 1000:1 a 1:1000, como por ejemplo, 200:1 a 1:200, 100:1 a 1:100, como por ejemplo, 90:1 a 1:90, 80:1 a 1:80, 75:1 a 1:75, 50:1 a 1:50, 25:1 a 1:25 o 10:1 a 1:10.

Es preferido usar las formulaciones disponibles en el mercado de los componentes (I) y (II), a los que se pueden agregar compuestos adicionales activos contra hongos nocivos u otras plagas, tales como insectos, arácnidos o nematodos, o compuestos activos herbicidas o reguladores del crecimiento (por ejemplo los RCV), fertilizantes o protectores frente al sol, como óxido de hierro. En una realización preferida, la composición comprende el componente (I), al menos un componente (II) y óxido de hierro.

Los componentes activos (II) adicionales se agregan, en caso de desearlo, en una relación de 20:1 hasta 1:20 al componente (I).

Generalmente, se emplean composiciones que comprenden los componentes (I) y (II), en las que el componente (II) consiste de un solo compuesto químico. Sin embargo, en determinados casos puede ser igualmente ventajoso usar composiciones en las que el componente (II) consiste en dos, o, de ser apropiado, más compuestos químicos.

De acuerdo con los términos de la presente invención, "cantidad eficaz" debe entenderse que denota todas las cantidades de aplicación para el componente (I) y opcionalmente, el componente (II), así como las cantidades de aplicación de cualquier tipo de mezcla o composición que comprende el componente (I) y al menos un componente (II), y que da como resultado un vigor y/o rendimiento de cultivo aumentados de plantas agrícolas bajo presión por patógeno esencialmente no existente.

5

15

20

25

40

45

50

La "cantidad eficaz" óptima depende de diversos parámetros, tales como el tiempo de aplicación, el estadio de crecimiento, área de aplicación, la forma de aplicación, la planta tratada, el suelo, las condiciones climatológicas, etc. y debe determinarla el experto en la materia dentro de los intervalos indicados.

En una realización del procedimiento de acuerdo con la invención, se aplican las mezclas que comprenden el componente (I) y al menos un componente (II) en una cantidad eficaz, significando "cantidad eficaz" la cantidad adecuada para aumentar el vigor y/o rendimiento de cultivo de plantas agrícolas de forma sinérgica bajo presión por patógenos esencialmente no existente.

Dependiendo de los componentes particulares y las plantas a tratar, las cantidades aplicadas del componente (I) en formulaciones líquidas son generalmente de 0,01 l a 100 l de una composición que contiene la cepa de *Bacillus subtilis* o un mutante que tiene todas las características identificativas de tal cepa, un extracto exento de células de la cepa o sus mutantes, o metabolito(s) aislado(s) de la cepa o sus mutantes por hectárea, preferentemente, de 0,02 l a 50 l/ha, en particular, de 0,05 a 18 l/ha. Las cantidades de aplicación para el componente (I) en formulaciones secas son generalmente de 0,01121 g/ha a 112,1 g/ha, preferentemente, de 0,02242 g a 56,05 g por hectárea y en particular, de 0,05605 g a 5,605 g/ha. En los casos en los que el componente (I) se obtiene de un caldo total de la cepa de *Bacillus subtilis* o sus mutantes, es importante el número de unidades formadoras de colonias (UFC) aplicadas y es, generalmente, de 1x10<sup>10</sup> hasta 1x 10<sup>15</sup> por 0,405 hectáreas, preferentemente, de 1x10<sup>11</sup> hasta 1x10<sup>14</sup> 0,405 hectáreas o, en particular, de 1x10<sup>12</sup> hasta 1X10<sup>13</sup> 0,405 hectáreas.

De forma correspondiente, las cantidades de aplicación para el componente (II) son generalmente de 1 a 2000 g/ha, 5 a 100 g/ha, preferentemente, de 10 a 500 g/ha, en particular, de 40 a 250 g/ha de principio activo cada vez.

De forma correspondiente, las cantidades de aplicación para el componente (II) son generalmente de 1 a 2000 g/ha, preferentemente, de 10 a 1500 g/ha, en particular, de 40 a 1000 g/ha cada vez.

30 En una realización preferida del procedimiento de acuerdo con la invención, se tratan semillas.

El procedimiento de acuerdo con la presente invención se lleva a cabo mediante la aplicación de un componente (I) y, opcionalmente un componente (II), o una composición que comprende el componente (I) y opcionalmente, el componente (II), por pulverización o empolvado de las semillas, las plantas o los suelos antes o después de la siembra de las plantas o antes o después de la emergencia de las plantas.

En un procedimiento preferido de acuerdo con la presente invención la aplicación se lleva a cabo como tratamiento en surcos y/o foliar. Muy particularmente, la aplicación se lleva a cabo como tratamiento foliar.

Si en este procedimiento inventivo se usa una mezcla agrícola de acuerdo con la presente invención, se tratan las plantas, los propágulos vegetales, las semillas de las plantas y/o el lugar donde las plantas están creciendo o van a crecer, preferentemente, simultáneamente (en forma conjunta o separada) o sucesivamente con un componente (I) y al menos un componente (II) seleccionado de los grupos de compuestos activos (A) a (J).

La aplicación posterior se lleva a cabo en un intervalo de tiempo que permita una acción combinada de los compuestos aplicados. Preferentemente, el intervalo de tiempo para una aplicación posterior del componente (I) y al menos un componente (II), varía de unos pocos segundos a hasta tres meses, preferentemente, de unos pocos segundos a hasta 1 mes, más preferentemente, de unos pocos segundos a hasta 2 semanas, aún más preferentemente, de unos pocos segundos a hasta 3 días y, en particular, de un segundo a 24 horas.

En una realización preferida se aplica el componente (II) antes del intervalo precosecha mientras que se aplica el componente (I) durante el intervalo de precosecha.

En el presente documento, los inventores han descubierto que la aplicación simultánea, es decir, conjunta o separada, del componente (I), o mezclas que comprenden el componente (I) y al menos un compuesto seleccionado de los grupos de compuestos activos (A) a (J), o la aplicación sucesiva de las mezclas que comprenden el componente (I) y al menos un compuesto seleccionado de los grupos de compuestos activos (A) a (J), permite aumentar el vigor y/o rendimiento de cultivo de plantas agrícolas bajo presión por patógenos esencialmente no existente, comparado con las tasas de control que son posibles con los compuestos individuales (mezclas sinérgicas).

En otra realización preferida de la invención, se aplican el componente (I) o una mezcla agroquímica que comprende el componente (I) y al menos un compuesto seleccionado de los grupos de compuestos activos (A) a (J), de forma repetida. En una realización se repite la aplicación de dos a diez veces, preferentemente, de dos a cinco veces; muy preferentemente, tres veces.

Las composiciones de acuerdo con la invención, o los componentes individuales separadamente, pueden transformarse en las formulaciones usuales, por ejemplo, soluciones, emulsiones, suspensiones, polvos, pastas y granulados. La forma de uso depende del fin pretendido particular; en cualquier caso debe garantizarse una distribución fina y uniforme de la mezcla de acuerdo con la invención.

Las formulaciones se preparan de manera conocida, por ejemplo diluyendo los principios activos con disolventes y/o transportadores, en caso de desearlo, usando emulsionantes y dispersantes. Esencialmente, son disolventes/auxiliares adecuados para este fin:

- agua, disolventes aromáticos (por ejemplo productos Solvesso<sup>®</sup>, xileno), parafinas (por ejemplo fracciones de aceite mineral), alcoholes (por ejemplo metanol, butanol, pentanol, alcohol bencílico), cetonas (por ejemplo ciclohexanona, gama-butirolactona), pirrolidonas (N-metilpirrolidona, N-octilpirrolidona), acetatos (diacetato de glicol), glicoles, dimetilamidas de ácido graso, ácidos grados y ésteres de ácidos grasos. Básicamente, se pueden usar también mezclas de disolventes.
- transportadores, tales como minerales naturales molidos (por ejemplo caolines, arcillas, talco, tiza) y minerales sintéticos molidos (por ejemplo, sílice altamente disperso, silicatos); emulsionantes, tales como emulsionantes no ionógenos y aniónicos (por ejemplo de éteres de alcohol graso de polioxietileno, alquil sulfonatos y aril sulfonatos) y dispersantes, tales como lejías ligninosulfíticas residuales y metilcelulosa.

Son tensioactivos adecuados las sales de metal alcalino, alcalinotérreo y de amonio del ácido ligninosulfónico, ácido naftalensulfónico, ácido fenolsulfónico, ácido dibutilnaftalensulfónico, alquilaril sulfonatos, alquil sulfatos, alquil sulfonatos, alquil sulfonatos, alquil sulfatos de alcohol graso, ácidos grasos y glicoléteres de alcohol graso sulfatados, además, condensados de naftaleno sulfonado y derivados de naftaleno con formaldehído, condensados de naftaleno o de ácido naftalensulfónico con fenol y formaldehído, polioxietilen octilfenil éter, isooctilfenol etoxilado, octilfenol, nonilfenol, alquilfenil poliglicol éteres, tributilfenil poliglicol éter, tristearilfenil poliglicoléter, alcoholes alquilaril poliéter, condensados de óxido de etileno de alcohol y alcohol graso, aceite de ricino etoxilado, polioxietilen alquil éteres, polioxipropileno etoxilado, poliglicol éter acetal de alcohol laurílico, ésteres de sorbitol, lejías ligninosulfíticas residuales y metilcelulosa.

30 Sustancias que son adecuadas para la preparación de soluciones directamente pulverizables, emulsiones, pastas, dispersiones de aceite son las fracciones de aceite mineral de punto de ebullición medio a elevado, tales como queroseno o aceite de gasóleo, adicionalmente, aceites de alquitrán de carbón y aceites de origen vegetal o animal, hidrocarburos alifáticos, cíclicos y aromáticos, por ejemplo, tolueno, xileno, parafina, tetrahidronaftaleno, naftalenos alquilados o sus derivados, metanol, etanol, propanol, butanol, ciclohexanol, ciclohexanona, isoforona, disolventes fuertemente polares, por ejemplo, dimetilsulfóxido, N-metilpirrolidona y agua.

Los polvos, materiales para esparcir y productos empolvables pueden prepararse mezclando o moliendo conjuntamente las sustancias activas con un transportador sólido.

Los granulados, por ejemplo granulados recubiertos, granulados impregnados u granulados homogéneos, se pueden preparar uniendo los compuestos activos con transportadores sólidos. Ejemplos de transportadores sólidos son tierras minerales, tales como geles de sílice, silicatos, talco, caolín, attaclay, caliza, cal, creta, loess, arcilla, dolomita, tierra de diatomeas, sulfato de calcio y sulfato de magnesio, óxido de magnesio, materiales sintéticos molidos, fertilizantes, tales como sulfato de amonio, fosfato de amonio, nitrato de amonio, ureas y productos de origen vegetal, tales como harina de cereales, polvo de corteza de árbol, serrín y polvo de cáscaras de nueces, polvos de celulosa y otros transportadores sólidos.

Para lograr una buena dispersión y adhesión de las composiciones dentro de la presente invención puede ser ventajoso formular el caldo de cultivo completo, sobrenadante y/o metabolito, con componentes que facilitan la dispersión y adhesión.

En general, las formulaciones comprenden del 0,01 al 95 % en peso, preferentemente, del 0,1 al 90 % en peso de los componentes.

50 El componente químico (II) se emplea en una pureza del 90 % al 100 %, preferentemente, del 95 % al 100 % (de acuerdo con el espectro de RNM).

Los siguientes son ejemplos de formulaciones:

15

20

25

- 1. Productos para la dilución con agua
- A) Concentrados solubles en agua (SL)

10 partes en peso de una composición de acuerdo con la invención se disuelven en 90 partes en peso de agua o un disolvente soluble en agua. Alternativamente, se agregan agentes humectantes u otros auxiliares. La dilución con agua da como resultado que se obtenga una formulación que contiene 10 % en peso de los componentes (I) y (II).

- B) Concentrados dispersables (DC)
- 20 partes en peso de una composición de acuerdo con la invención se disuelven en 70 partes en peso de ciclohexanona con adición de 10 partes en peso de un dispersante, por ejemplo polivinilpirrolidona. La dilución con agua proporciona una dispersión que tiene un contenido del 0 % en peso de los componentes (I) y (II).
- 10 C) Concentrados emulsionables (EC)

15 partes en peso de una composición de acuerdo con la invención se disuelven en 75 partes en peso de xileno con adición de dodecilbencenosulfonato de calcio y aceite de ricino etoxilado (en cada caso 5 partes en peso). La dilución con agua proporciona una emulsión. La formulación tiene un contenido del 15 % en peso de los componentes (I) y (II).

15 D) Emulsiones (EW, EO)

20

25

30

35

40

45

25 partes en peso de una composición de acuerdo con la invención se disuelven en 35 partes en peso de xileno con adición de dodecilbencenosulfonato de calcio y aceite de ricino etoxilado (en cada caso 5 partes en peso). Esta composición se introduce en 30 partes en peso de agua mediante una máquina emulsionante (Ultraturrax) y se transforma en una emulsión homogénea. La dilución con agua proporciona una emulsión. La formulación tiene un contenido del 25 % en peso de los componentes (I) y (II).

E) Suspensiones (SC, OD)

En un molino de agitación de bolas se trituran 20 partes en peso de una composición de acuerdo con la invención con adición de 10 partes en peso de agentes de dispersión y humectantes y 70 partes en peso de agua o un solvente orgánico para proporcionar una suspensión fina. La dilución con agua proporciona una suspensión estable que tiene un contenido del 20 % en peso de los componentes (I) y (II).

- F) Granulados dispersables en agua y granulados solubles en agua (WG, SG)
- 50 partes en peso de una composición de acuerdo con la invención se muelen finamente con adición de 50 partes en peso de agentes de dispersión y humectantes y se preparan, mediante aparatos técnicos (por ejemplo, extrusora, torre de pulverización, lecho fluidizado), en granulados dispersables en agua o granulados solubles en agua. La dilución con agua proporciona una suspensión o solución estable que tiene un contenido del 50 % en peso de los componentes (I) y (II).
- G) Polvos dispersables en agua y polvos solubles en agua (WP, SP)

75 partes en peso de una composición de acuerdo con la invención se muelen en un molino de rotor-estátor con la adición de 25 partes en peso de agentes de dispersión, humectantes y gel de sílice. La dilución con agua proporciona una suspensión o solución estable que contiene el 75 % en peso de los componentes (I) y (II).

- 2. Productos a aplicar no diluidos
- H) Polvos empolvables (DP)

5 partes en peso de una composición de acuerdo con la invención se muelen finamente y se mezclan íntimamente con 95 partes en peso de caolín finamente dividido. Esto proporciona un producto empolvable que tiene un contenido del 5 % en peso de los componentes (I) y (II).

- J) Granulados (GR, FG, GG, MG)
- 0,5 partes en peso de una composición de acuerdo con la invención se muelen finamente y se asocia con 99,5 partes en peso de transportadores. Los procedimientos corrientes son la extrusión, secado por pulverización y lecho fluidizado. Esto proporciona un granulado a aplicar en forma no diluida que tiene un contenido del 0,5 % en peso de los componentes (I) y (II).
- K) Soluciones de VUB (UL)
- 10 partes en peso de una composición de acuerdo con la invención se disuelven en 90 partes en peso de un disolvente orgánico, por ejemplo, xileno. Esto proporciona un producto a aplicar en forma no diluida que tiene un contenido del 10 % en peso de los componentes (I) y (II).

Los componentes (I) y (II) se pueden usar como tales, en forma de sus formulaciones o las formas de uso preparadas a partir de los mismos, por ejemplo, como soluciones, polvos, suspensiones o dispersiones, emulsiones, dispersiones de aceite, pastas, productos empolvables, materiales para esparcir o gránulos por pulverización, atomización, empolvado, esparcido o vertido. Las formas de uso dependen totalmente de los fines previstos; se pretende que garanticen en cada caso la distribución más fina posible de los componentes (I) y (II) de acuerdo con la invención.

Las formas de aplicación acuosas pueden prepararse a partir de concentrados de emulsión, pastas o polvos humectables (polvos pulverizables, dispersiones de aceite) añadiendo agua. Para preparar emulsiones, pastas o dispersiones de aceite, se pueden homogeneizar en agua las sustancias como tales o disueltas en un aceite o disolvente, con la ayuda de un agente humectante, agente adherente, dispersante o emulsionante. Sin embargo, también es posible preparar concentrados compuestos de la sustancia activa, el agente humectante, adherente, dispersante o emulsionante y, en caso dado, disolvente o aceite, y tales concentrados son adecuados para la dilución con agua.

Las concentraciones de los componentes en las preparaciones listas para el uso pueden variar dentro de intervalos relativamente amplios. En general, son del 0,0001 al 100 %, preferentemente, del 0,01 a 100 %.

Los componentes (I) y (II) también pueden usarse satisfactoriamente en el procedimiento de volumen ultrabajo (VUB), pudiéndose aplicar formulaciones con más del 95 % en peso de compuesto activo, o incluso aplicar los componentes (I) y (II) sin aditivos.

A los componentes (I) o (II) se les puede añadir diversos tipos de aceites, protectores frente al sol, agentes humectantes o adyuvantes, en caso dado, no hasta inmediatamente antes del uso (mezcla de tanque). Normalmente, estos agentes se combinan con el componente a) o b) de acuerdo con la invención en una relación ponderal de 1:100 a 100:1, preferentemente, de 1:10 a 10:1

En una realización, se aplica el componente (I) conjuntamente con un protector para el sol. Protectores para el sol adecuados son, por ejemplo, el óxido de hierro o filtros orgánicos fotoprotectores contra rayos UV.

Filtros orgánicos fotoprotectores contra rayos UV se entiende que significa sustancias orgánicas que son capaces de absorber rayos ultravioletas y de liberar nuevamente la energía absorbida en forma de radiación de onda larga, por ejemplo calor. La expresión "filtro orgánico fotoprotector contra rayos UV" "se refiere a un tipo o una mezcla de diferentes tipos de dichos compuestos. Las sustancias orgánicas pueden ser solubles en aceite o solubles en agua y pueden estar unidas a un polímero. Los filtros fotoprotectores pueden ser filtros de UV-A y/o filtros de UV-B, preferentemente, filtros de UV-B.

Los filtros de UV-B que usarse son, por ejemplo, las siguientes sustancias:

- 3-bencilidanealcanfor y derivados del mismo, por ejemplo 3-(4-metilbenciliden)alcanfor;
- derivados de ácido 4-aminobenzoico, preferentemente, 2-etilhexil 4-(dimetilamino)benzoato, 2-octil 4-(dimetilamino)benzoato y amil 4-(dimetilamino)benzoato;
- ésteres de ácido cinámico, preferentemente, 2-etilhexil 4-metoxicinamato, propil 4-metoxicinamato, isoamil 4-metoxicinamato, isopentil 4-metoxicinamato, 2-etilhexil 2-ciano-3-fenilcinamato (otocrileno),
  - ésteres de ácido salicílico, preferentemente, 2-etilhexil salicilato, 4-isopropilbencil salicilato, homomentil salicilato;
  - derivados de benzofenona, preferentemente, 2-hidroxi-4-metoxibenzofenona, 2-hidroxi-4-metoxi-4'-metilbenzofenona, 2.2'-dihidroxi-4-metoxibenzofenona,
- ésteres de ácido benzalmalónico, preferentemente, 2-etilhexil 4-metoxibenzmalonato,
  - derivados de triazina, tales como 2,4,6-trianilino(p-carbo-2'-etil-1'-hexiloxi)-1,3,5-triazina (octiltriazona) y
    dioctilbutamidotriazona (Uvasorb® HEB).
  - Propano-1,3-dionas, tales como, por ejemplo, 1-(4-terc-butilfenil)-3-(4'-metoxifenil)propano-1,3-diona
  - Ácido 2-fenilbenzimidazol-5-sulfónico y las sales de metal alcalino, metal alcalinotérreo, de amonio, de alguilamonio, alcanolamonio y de glucamonio del mismo;
  - derivados de ácido sulfónico de benzofenonas, preferentemente, ácido 2-hidroxi-4-metoxibenzofenon-5-sulfónico y sus sales;
  - derivados de ácido sulfónico de 3-bencilidenalcanfor, tales como, por ejemplo, ácido 4-(2-oxo-3-bornilidenmetil)bencensulfónico y ácido 2-metil-5-(2-oxo-3-borniliden)sulfónico y sales de los mismos.
- 50 Los filtros de UV-B preferidos son los derivados de benzofenona.

Los filtros de UV-A adecuados son:

5

10

45

- derivados de benzoilmetano, por ejemplo, 1-(4'-terc-butilfenil)-3-(4'-metoxifenil)propano-1,3-diona, 4-terc-butil-4'-metoxidibenzoilmetano o 1-fenil-3-(4'-isopropilfenil)propano-1,3-diona;
- Derivados de benzofenonas sustituidas con aminohidroxi, por ejemplo, N,N-dietilaminohidroxibenzoil-n-hexilbenzoato

Como adyuvantes en este sentido son adecuados, en particular: polisiloxanos orgánicamente modificados, por ejemplo, Break Thru S 240®; alcoxilatos de alcohol, por ejemplo Atplus 245@, Atplus MBA 1303@, Plurafac LF 300@ y Lutensol ON 30@; polímeros de bloques EO/PO, por ejemplo Pluronic RPE 2035@ y Gena pol B@; etoxilatos de alcohol, por ejemplo Lutensol XP 80@; y dioctilsulfosuccinato de sodio, por ejemplo, Leophen RA@.

Para el tratamiento de semillas se pueden diluir las respectivas formulaciones en ciertos casos 2-10 veces, conduciendo a concentraciones en las preparaciones listas para el uso de 0,01 al 60 % en peso de compuesto activo en peso, preferentemente, del 0,1 al 40 % en peso.

Los formulaciones convencionales para el tratamiento de semillas incluyen, por ejemplo, concentrados fluidos FS, soluciones LS, polvos para el tratamiento en seco DS, polvos dispersables en agua para el tratamiento en forma de suspensión WS, polvos solubles en agua SS y emulsiones ES y EC, y formulaciones de gel GF. Estas formulaciones pueden aplicarse a las semillas en forma diluida o no diluida. La aplicación a las semillas se lleva a cabo antes de la siembra o directamente sobre las semillas.

En una realización preferida se usa una formulación FS para el tratamiento de semillas. Típicamente, una formulación FS puede comprender 1-800 g/l del principio activo, 1-200 g/l de tensioactivo, 0 a 200 g/l de agente anticongelante, 0 a 400 g/l de aglutinante, 0 a 200 g/l de un pigmento y hasta un litro de un disolvente, preferentemente agua.

En conformidad con una variante de la presente invención, un objeto adicional de la invención es un procedimiento para tratar el suelo mediante la aplicación, en particular, con la sembradora en línea: o bien una formulación granular que contiene la composición fitosanitaria de la invención – en combinación o como una composición/formulación, o de una mezcla de dos formulaciones granulares, cada una de las cuales contiene los dos principios activos, con, opcionalmente uno o más transportadores sólidos o líquidos aceptables desde el punto de vista agrícola y/o opcionalmente con uno o más tensioactivos aceptables desde el punto de vista agrícola. Este procedimiento se aplica, ventajosamente, en camas de siembra de cereales, maíz, algodón y girasoles. La cantidad de cada principio activo puede estar en el intervalo de 10 a 1000 g/ha, como por ejemplo, de 50 a 500 g/ha o de 50 a 200 g/ha.

La aplicación para el tratamiento de las semillas se realiza pulverizando o empolvando las semillas antes de la siembra de las plantas y antes de la emergencia de las plantas.

En el tratamiento de las semillas se aplican las correspondientes formulaciones, tratando las semillas con una cantidad eficaz del componente (I) y, opcionalmente al menos un componente (II). En el presente documento, las cantidades de aplicación de la composición de la invención varían, generalmente, de 0,1 g a 10 kg por 100 kg de semillas, preferentemente, de 1 g a 5 kg por 100 kg de semillas, en particular, de 1 g a 2,5 kg por 100 kg de semillas. Para cultivos específicos, tales como lechuga, las cantidades pueden ser más altas. En las aplicaciones para el tratamiento de semillas en que el componente (I) se obtiene de un caldo total de la cepa de *Bacillus subtilis* o sus mutantes, el número de unidades formadores de colonia (UFC) aplicado es importante y es generalmente de 1x10<sup>8</sup> a 1x10<sup>12</sup> por 0,405 hectáreas, preferentemente, de 1x10<sup>9</sup> a 1x10<sup>13</sup> por 0,405 hectáreas o, en particular, de 1x10<sup>10</sup> a 1x10<sup>12</sup> por 0,405 hectáreas.

Los siguientes ejemplos ilustrarán la invención sin limitarla. Todas las plantas en los experimentos enumerados a continuación podrían crecer bajo presión por patógenos esencialmente no existente.

## Ejemplo 1: Tomate

10

15

20

30

35

40

45

50

Bacillus subtilis QST 713 se usó para tratar semillas de tomate a través de un sistema de remojado casi en el suelo en el invernadero. Se plantaron específicamente semillas de tomate en bandejas esterilizadas con vapor, que contenían medio estéril, y se dejaron crecer en el invernadero usando técnicas habituales. Serenade® ASO, que es una formulación líquida de Bacillus subtilis QST 713 que contiene 1 x 109 UFC (unidades formadoras de colonias)/g, se aplicó al medio en cantidades de 280,21 g, 560,43 g y 1120,85 g por hectárea una vez, en el momento de la plantación. El producto Serenade® ASO se aplicó mediante pulverización y no como un remojado verdadero, ya que la aplicación por pulverización no proporcionaba suficiente agua para provocar la germinación. Otras semillas no tratadas con el producto Serenade® ASO se usaron como controles negativos.

En el momento del trasplante al campo, las plantas crecidas en el medio tratado con Serenade<sup>®</sup> ASO presentaban un vigor más alto que las plantas no tratadas del grupo de control, basado en las observaciones del agricultor respecto a la altura de la planta, el tamaño de la masa de raíz, así como el color y la delgadez de las hojas. Además, se pudo usar en el campo un porcentaje más alto de las plantas tratadas con el producto Serenade<sup>®</sup> ASO, que de las no tratadas del grupo de control (tabla 1a).

Tabla 1a

Tratamiento	Plantas que se pudieron usar en el campo (%)
Control	80,3
Serenade® ASO 280,21 g	83,0
Serenade® ASO 560,43 g	88,3
Serenade® ASO 1120,85 g	87,7

Como puede verse en la tabla 1, Serenade ASO tiene un efecto positivo sobre la salud de la planta aumentando su vigor, dando como resultado un número aumentado de plantas que podían usarse para plantar en el campo. 1oz = 28,349 g

Los trasplantes utilizables tratados con Serenade ASO y los controles se plantaron posteriormente en el campo y se dejaron crecer bajo las mismas condiciones habituales (todos recibieron el mismo riego, las mismas aplicaciones con pesticida, y similar) hasta la cosecha. Gracias a la aplicación del pesticida, las plantas podían crecer bajo presión por patógenos esencialmente no existente. En la cosecha, las plantas que se habían tratado con Serenade ASO en el momento de la plantación en el invernadero, produjeron más peso total de tomates y tomates más aptos para comercializar que los controles no tratados (tabla 1b).

Tabla 1b

Tratamiento	Rendimiento (Peso total de tomates en 12 parcelas, cada una conteniendo 2 plantas)	Tomates aptos para comercializar (%)
Control	359	46
Serenade® ASO 280,21 g/ha	366	78
Serenade® ASO 560,43 g/ha	397	71
Serenade® ASO 1120,85 g/ha	368	77

Como puede verse en la tabla 1b, Serenade<sup>®</sup> ASO también tiene un efecto positivo sobre la salud de las plantas aumentando su rendimiento (peso total de tomates). Además, el tratamiento con Serenade<sup>®</sup> ASO da como resultado tomates más aptos para comercializar, comparado con las plantas de control no tratadas. 1 oz/ac = 70,05 g/ha.

### Ejemplo 2: Pimientos

5

10

20

25

30

Bacillus subtilis QST 713 se usó para tratar semillas de pimientos a través de un sistema de remojado casi en el suelo en el invernadero. Se plantaron específicamente semillas de pimiento en bandejas esterilizadas con vapor, que contenían medio estéril, y se dejaron crecer en el invernadero usando técnicas habituales. Serenade® ASO, que es una formulación líquida de Bacillus subtilis QST 713 que contiene 1 x 109 UFC/g, se aplicó al medio en cantidades de 280,21 g, 560,43 g y 1120,85 g por hectárea una vez, en el momento de la plantación. El producto Serenade® ASO se aplicó mediante pulverización y no como un remojado verdadero, ya que la aplicación por pulverización no proporcionaba suficiente agua para provocar la germinación. Otras semillas no tratadas con el producto Serenade® ASO se usaron como controles negativos.

En el momento del trasplante al campo, las plantas crecidas en el medio tratado con Serenade<sup>®</sup> ASO presentaban un vigor más alto que las plantas no tratadas del grupo de control, basado en las observaciones del agricultor respecto a la altura de la planta, el tamaño de la masa de raíz, así como el color y la delgadez de las hojas. Además, se pudo usar en el campo un porcentaje más alto de las plantas tratadas con el producto Serenade<sup>®</sup> ASO, en comparación con las no tratadas del grupo de control (tabla 2).

Tabla 2

Tratamiento	Vigor (0 = ningún vigor; 10 = vigor óptimo)	Plantas que podían usarse en el campo (%)
Control	3,7	95,3
Serenade® ASO 280,21 g/ha	4,0	96,0
Serenade® ASO 560,43 g/ha	5,3	97,0
Serenade® ASO 1120,85 g/ha	6,7	97,0

Como puede verse en la tabla 2, Serenade® ASO tiene un efecto positivo sobre la salud de la planta aumentando su vigor. Además, el tratamiento con Serenade® ASO da como resultado más plantas que pudieron usarse en el campo, en comparación con las plantas de control no tratadas, lo que a su vez da como resultado un mayor rendimiento general. 1 oz/ac = 70,05 g/ha.

#### Ejemplo 3: Brócoli

5

10

15

20

30

Bacillus subtilis QST 713 se usó para tratar semillas de brócoli a través de un sistema de remojado casi en el suelo en el invernadero. Se plantaron específicamente semillas de brócoli en bandejas esterilizadas con vapor, que contenían vermiculita estéril, y se dejaron crecer en el invernadero usando técnicas habituales. Serenade® ASO, que es una formulación líquida de Bacillus subtilis QST 713 que contiene 1 x 109 UFC/g, se aplicó al medio en cantidades de 280,21 g, 560,43 g y 1120,85 g por hectárea una vez, en el momento de la plantación. El producto Serenade® ASO se aplicó mediante pulverización y no como un remojado verdadero, ya que la aplicación por pulverización no proporcionaba suficiente agua para provocar la germinación. Otras semillas no tratadas con el producto Serenade® ASO se usaron como controles negativos.

En el momento del trasplante al campo, las plantas crecidas en el medio tratado con Serenade® ASO presentaban un vigor más alto que las plantas no tratadas del grupo de control, basado en las observaciones de agricultor respecto a la altura de la planta, el tamaño de la masa de raíz, así como el color y la delgadez de las hojas. Además, se pudo usar en el campo un porcentaje más alto de las plantas tratadas con el producto Serenade® ASO, en comparación con las no tratadas del grupo de control (tabla 3).

Como puede verse en la tabla 3, Serenade® ASO tiene un efecto positivo sobre la salud de la planta aumentando su vigor. Además, el tratamiento con Serenade® ASO da como resultado más plantas que pudieron usarse en el campo, en comparación con las plantas de control no tratadas, lo que a su vez da como resultado un mayor rendimiento general. 1 oz/ac = 70,05 g/ha.

25 Tabla 3

Tratamiento	Vigor (0 = ningún vigor;	Plantas que podían usarse en el campo (%)
	10 = vigor óptimo)	
Control	4,7	91,7
Serenade® ASO 280,21 g/ha	6,0	92,0
Serenade® ASO 560,43 g/ha	7,3	93,0
Serenade® ASO 1120,85 g/ha	5,3	93,0

## Ejemplo 4: Trigo

Se trataron semillas de trigo con *Bacillus subtilis* QST 713, aplicando a las semillas una suspensión del producto Serenade® ASO en cantidades de 280,21 g, 560,43 g y 1120,85 g por 45,36 kg de semillas. La suspensión se preparó mezclando Serenade® ASO con agua. Las semillas permanecieron en la suspensión durante varios períodos, variando de durante la noche hasta dos semanas. Las semillas se sembraron en el campo en cantidades de 89,67-112,09 kg por hectárea. Las semillas se sembraron en campos en que esencialmente no existía presión por enfermedades. Por consiguiente, los agricultores normalmente no se dedican al tratamiento de semillas para el

control de enfermedades. oz = 28,349 g; 1 oz/100 lb = 28,349 g/45,36 kg; 1 acre= $4046,86 \text{ m}^2$ 

Tabla 4

Tratamiento	Rendimiento (fanegas/0,405 ha)
Control	49,9
Difenoconazol + mefenoxam	65,7
Serenade® ASO 280,21 g/ha + difenoconazol + mefenoxam	79,5
Serenade® ASO 280,21 g/45,36 kg de semillas	100,4
Serenade® ASO 560,43 g /45,36 kg de semillas	90,8
Serenade® ASO 340,2 g/45,36 kg de semillas	49,3
Serenade® ASO 1120,85 /45,36 kg de semillas	34,6

Como puede verse en la tabla 4, Serenade® ASO tiene un efecto positivo sobre la salud de las plantas aumentando su rendimiento cuando se aplica en una cantidad de por debajo de 283,495 g/45,36 kg de semillas. Cuando se aplica en cantidades más altas con esta formulación particular, el rendimiento puede no verse afectado o incluso disminuir. Sin embargo, no se sabe si esta disminución se debe a una formulación inerte en esta formulación específica o si se debe a la cantidad de principio activo. Un experto en la materia podría determinar la cantidad óptima para la aplicación del componente (I) con experimentación de rutina.

## 10 Ejemplo 5: Trigo

15

El producto Serenade® ASO, que contenía 1x10º UFC/g de *Bacillus subtilis* QST 713 se aplicó en el surco en el momento de la siembra del trigo conjuntamente con el siguiente fertilizante iniciador: 10-34-0 (10 % de nitrógeno, 34 % de fosfato y 0 % de potasio) y/o Power Up (6 % de nitrógeno, 18 % de fosfato y 6 % potasio) en las cantidades por hectárea abajo indicadas. La presión por enfermedades era esencialmente no existente, de manera que para este ensayo no se informaron tasas de enfermedad. Esta era una situación en que el agricultor típicamente no aplicaría el producto Serenade® ASO, ya que los costos no se justificarían desde el punto de vista del control de enfermedades.

Tabla 5

Tratamiento	Rendimiento (fanegas/0,405 ha)
Control	21,7
28,06 l/ha de 10-34-0	25,9
18,71 l/ha de 10-34-0 + 9,35 l/ha de Power up	28,3
18,71 l/ha de 10-34-0 + 9,35 l/ha de Power up + Serenade® ASO 560,43 g/ha	31,0
18,71 l/ha 10-34-0 + 9,35 l/ha de Power up + Serenade® ASO 1120,85 g/ha	30,1

Como puede verse en la tabla 5, la aplicación de Serenade® ASO con los fertilizantes dio como resultado un aumento del rendimiento. Además, en el caso de una aplicación de Serenade® ASO en el surco, las espigas del trigo presentaban una madurez avanzada, comparado con las plantas de control no tratadas en que solamente se había formado un 75 % de las espigas del trigo en el mismo punto de tiempo. 1 galón = 3,785 l; 1 acre = 4046,86 m²

## Ejemplo 6: Lechuga

Los compuestos activos se aplicaron como formulaciones disponibles en el mercado y se diluyeron de acuerdo con las cantidades de concentraciones/dosis indicadas en la tabla 6.

Para el ensayo en el invernadero descrito se usaron plántulas de lechuga ("Eichblatt") disponibles en el mercado. Se usaron 4 réplicas (macetas con 1 planta cada vez) por tratamiento.

Las plantas se dejaron crecer en sustrato comercial (Floradur A) a aprox. 20 °C en el invernadero. Se realizaron aplicaciones de remojado usando un volumen de 25 ml de solución de producto o agua (control) en 16 días consecutivos. El último día se determinó el peso fresco usando todas las partes aéreas de la planta.

Tabla 6

Tratamiento	Rendimiento Peso fresco (g)
Control	51,7
Serenade® MAX 312 ppm	59,5
Serenade® MAX 625 ppm	62,4
Serenade® MAX 1250 ppm	74,1
Serenade® MAX 2500 ppm	68,9

Como puede verse en la tabla 6, Serenade® MAX aumenta fuertemente el peso fresco de plantas de lechuga, lo que es un parámetro esencial para las hortalizas.

## 10 Ejemplo 7: Soja

5

Se plantó Soja en diciembre de 2008 en la estación experimental de BASF en Campinas, San Antonio de Posse, San Pablo, Brasil. Se plantó la variedad Emprapa 48 a una cantidad de 300.000 plantas por ha. La distancia entre las filas era de 45 cm. Se organizaron dos ensayos como diseño de bloque aleatorizado con 6 réplicas. El tamaño de la parcela era de 20 m².

- Bacillus subtilis QST 713 se aplicó como tratamiento foliar a las partes vegetativas de las plantas de soja en el estadio de desarrollo 23/29 (BBCH) seguido de una aplicación foliar de o bien Bacillus subtilis QST 713 por si sola o en una mezcla de tanque con piraclostrobina (aplicada como COMET® al comienzo de la floración en los estadios de desarrollo 60/63 (BBCH). Los principios activos se aplicaron usando las formulaciones comerciales Serenade® (10 %, WP con 5 x 109 ufc/g) y Comet® (250 g/l, EC). Las formulaciones se usaron en las cantidades de dosis indicadas en la tabla 7. El volumen total de pulverización para las aplicaciones foliares fue de 150 l/ha. Serenade® se aplicó en una dosis de 3 kg de producto por ha y Comet® se aplicó en una cantidad de dosis de producto de 0,4 l/ha. En el momento de madurez del cultivo, éste se cosechó y se midió el rendimiento en grano en t/ha. El área de hoja verde se evaluó 31 días después del último tratamiento (tabla 7), estimando el área de hoja verde en 10 plantas por parcela escogidas al azar.
- 25 Se calculó la eficacia (E) como % de aumento del área de hoja verde en los tratamientos, en comparación con el control no tratado, de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$E = a/b-1 \cdot 100$$

- E eficacia
- a corresponde al área de hoja verde (%) de las plantas tratadas y
- 30 b corresponde al área de hoja verde (%) de las plantas no tratadas (control)

Una eficacia (E) igual a 0 significa que el área de hoja verde de las plantas tratadas corresponde a la de las plantas de control no tratadas; una eficacia igual a 100 significa, que las plantas tratadas presentaban un aumento del área de hoja verde del 100 %.

Tabla 7

Tratamiento	PR	FC	FT	AT	GLA (%)	GLAE (%)	Rendimiento en grano (t/ha)
Sin tratamiento					7,5		1,97
Serenade®	3,0 kg/ha	10 %	WP	23/29	12,5	66,6	2,30
Selellade	3,0 kg/ha	10 %	WP	60/63			
Serenade®	3,0 kg/ha	10 %	WP	23/29	20,0	166,6	3,08
Piraclostrobina	3,0 kg/ha	10 %	WP	60/63			
	0,3 l/ha	250 g/l	EC	60/63			

PR = Cantidad de producto; FC = Concentración de la formulación; FT = Tipo de formulación; AT = Momento de aplicación (BBCH); GLA = Área de hoja verde; Área de hoja verde (Eficacia)

Como puede verse en la tabla 7, Serenade® claramente aumenta la duración del área de hoja verde (mantenimiento de hojas verdes) y el rendimiento en grano de soja comparado con el control no tratado. Además, los resultados mostrados en la tabla 7 demuestran que la eficacia de la combinación de Serenade® y piraclostrobina es aún más alta que para Serenade solo. Un aumento del área de hoja verde es un signo visible de un vigor de planta potenciado. Basado en un prolongado mantenimiento de hojas verdes que a su vez da como resultado una prolongada actividad fotosintética de las hojas, así como un refuerzo general de la planta, la planta es capaz de producir un rendimiento más alto.

#### 10 Ejemplo 8: Soja

5

15

30

Se plantó soja en 2009 en 9 emplazamientos en el área de cultivo de soja en la región central de los EE.UU. (IN, IL, IA, MO, NE y SD). Las fechas de plantación fueron del 7 de mayo en York, NE, hasta el 22 de junio en Clarence, MO. *Bacillus subtilis* QST 713 se aplicó a las partes vegetativas de las plantas de soja en los estadios de desarrollo 23/29 (BBCH). *B. subtilis* QST 713 se aplicó usando la formulación comercial Serenade Max® (14,3 %, WP con 7,3 x 109 ufc/g). Serenade Max® se usó en las cantidades de dosis indicadas en la Tabla 8. El volumen total del pulverización para la aplicación foliar fue de 140 a 200 l/ha. Serenade Max® se aplicó a 3 kg de producto por ha. En la madurez se cosechó el cultivo y se midió el rendimiento en grano como t/ha (tabla 8). Se evaluó el área de hoja verde a los 36 a 66 días después del último tratamiento en siete emplazamientos del ensayo (tabla 8) estimando el área de hoja verde en 10 plantas escogidas al azar por parcela. La eficacia se calculó en la forma arriba indicada.

20 Tabla 8

Tratamiento	PR	FC	FT	AT	GLA	GLAE	Rendimiento en grano (t/ha)
					(%)	(%)	grano (ma)
Sin tratamiento					64,36		34,87
Serenade® MAX	3,0 kg/ha	14,3 %	WP	23/29	67,04	4,2	36,42

PR = Cantidad de producto; FC = Concentración de la formulación; FT = Tipo de formulación; AT = Momento de aplicación (BBCH); GLA = Área de hoja verde; Área de hoja verde (Eficacia)

Como puede verse en la tabla 8, Serenade Max® aumenta la duración del área de hoja verde y por lo tanto mejora la actividad fotosintética de la soja. Además, Serenade Max® aumenta fuertemente el rendimiento en grano; en este caso en 1,55 t/ha en la soja, comparado con el control no tratado, aumentando el vigor de las plantas de soja.

## 25 Ejemplo 9: Trigo de invierno

Se cultivó trigo de invierno en la temporada de cultivo de 2008/2009 en cuatro emplazamientos diferentes en Alemania (Turingia, Baden-Wuerttemberg y Renania-Palatinado). La siembra del cultivo se realizó desde 21 de septiembre hasta 26 de octubre. Los ensayos se organizaron en un diseño de bloques aleatorizados con 6 réplicas. Bacillus subtilis QST 713 se aplicó a las plantas de trigo de invierno al comienzo del encañado (estadio de crecimiento 31/32, BBCH). La secuencia de pulverización del fungicida consistió en una aplicación de epoxiconazol al comienzo del encañado seguida de una aplicación de epoxiconazol en combinación con piraclostrobina en el estadio de hoja bandera (estadio de crecimiento 37/39). La B. subtilis QST 713 se aplicó usando la formulación comercial Serenade Max® (14,3 %, WP con 7,3 x 109 ufc/g). El epoxiconazol se aplicó solo al comienzo del

encañado como la formulación disponible en el mercado Opus® (125 g/l, SC). La combinación de epoxiconazol y piraclostrobina se aplicó como formulación de desarrollo Opera® lista para el uso (SE), que contenía epoxiconazol 62,5 g/l y piraclostrobina 85 g/l. Las cantidades de los productos se indican en la tabla 9. El volumen total de pulverización para la aplicaciones foliares fue de 300 l/ha. En la madurez, el cultivo se cosechó y se midió el rendimiento en grano como t/ha (tabla 9).

Tabla 9

Tratamiento	PR	FC	FT	AT	Rendimiento en grano (t/ha)	Aumento observado del rendimiento (t/ha)
Sin tratamiento					6,73	
Epoxiconazol Epoxiconazol + Piraclostrobi na	0,8 l/ha 2,0 l/ha	125 g/l 147,5	SC SE	31/32 37/39	7,78	1,05
Serenade Max®	3,0 kg/ha	14,3 %	WP	31/32	6,87	0,14
Serenade Max® Epoxiconazol Epoxiconazol + Piraclostrobi na	3,0 kg/ha 0,8 l/ha 2,0 l/ha	14,3 % 125 g/l 147,5	WP SC SE	31/32 31/32 37/39	7,93	1,20

PR = Cantidad de producto; FC = Concentración de la formulación; FT = Tipo de formulación; AT = Momento de aplicación (BBCH);

Como puede verse en la tabla 9, el tratamiento con Serenade Max® aumentó el rendimiento del cultivo de trigo en 140 kg/ha. La aplicación conjunta con una secuencia de aplicación de Serenade Max® conjuntamente con la pulverización de fungicidas epoxiconazol y epoxiconazol más piraclostrobina era aún superior comparado con la aplicación de los fungicidas (epoxiconazol más piraclostrobina) solos (1,2 frente a 1,05 t/ha). Estos datos hallados demuestran la mejora del vigor de las plantas de trigo por Bacillus subtilis QST 713 y el efecto superior de la combinación de Bacillus subtilis QST 713 con fungicidas, comparado con el efecto de la aplicación de únicamente Bacillus subtilis QST 713 o una aplicación de una composición que comprende como principios activos únicamente fungicidas.

### Ejemplo 10: Maíz

10

15

20

25

30

5

Se plantó maíz en 2009 en Carlile, IL, EE.UU. Se plantó la variedad Burrus 616XLR en una cantidad de siembra convencional y un espaciado entre las filas de 76 cm. Los ensayos se organizaron en un diseño de bloques aleatorizados con 6 réplicas. El tamaño de las parcelas era de 18 m². Se aplicó Piraclostrobina en el estadio de desarrollo 34/37 (BBCH). *Bacillus subtilis* QST 713 (Serenade Max®) se aplicó a las plantas de maíz en el estadio de desarrollo 34/37 (BBCH) seguido de una segunda aplicación en el estadio de desarrollo 55/57 (BBCH). *Bacillus subtilis* QST 713 (Serenade Max®) en combinación con piraclostrobina se aplicaron como mezcla de tanque en el estadio de desarrollo 34/37 (BBCH). Los principios activos se aplicaron usando las formulaciones comerciales Serenade Max® (14,3 %, WP con 7,3 x 109 ufc/g) y Headline® (250 g/l, EC). Las formulaciones se usaron en las cantidades de dosis indicadas en la tabla 10. El volumen total de la pulverización foliar fue de 200 l/ha. Serenade Max® se aplicó con 2,1 kg de producto por ha y Headline® en una cantidad de producto de 0,44 l/ha. En la madurez, el cultivo se cosechó y se midió el rendimiento en grano como t/ha (tabla 10).

El aumento del rendimiento esperado de la combinación de los compuestos activos se estimó usando la fórmula de Colby (Colby, S.R., Calculating synergistic y antagonistic responses of herbicide combinations, Weeds, 15, pág. 20-22, 1967) y se comparó con los aumentos de rendimiento observados.

Fórmula de Colby:

$$E = x + y - x \cdot y/100$$

- E eficacia esperada, expresada como la diferencia numérica del rendimiento en t/ha, comparado con el control no tratado, cuando se usa la mezcla de los compuestos activos A y B a las concentraciones a y b
- x eficacia, expresada como la diferencia numérica del rendimiento en t/ha, comparado con el control no tratado, cuando se usa el principio activo A en la concentración a
- y eficacia, expresada la como diferencia numérica del rendimiento en t/ha, comparado con el control no tratado, cuando se usa el principio activo B en la concentración b

Т	'n	h	la	1	r
	а	v	ıa	- 1	u

Tratamiento	PR	FC	FT	AT	Rendimiento en grano (t/ha)	Aumento de rendimiento observado (t/ha)	Aumento de rendimiento esperado (t/ha)
Sin tratamiento					8,27		
Piraclostrobina	0,44 l/ha	250 g/l	EC	34/37	8,32	0,05	
Serenade Max®	3,0 kg/ha 3,0 kg/ha	14,3 %	WP	34/37 55/57	8,42	0,15	
Serenade Max® Piraclostrobina	3,0 kg/ha 0,3 l/ha	14,3 % 250 g/l	WP EC	34/37	8,66	0,39	0,19

PR = Cantidad de producto; FC = Concentración de la formulación; FT = Tipo de formulación; AT = Momento de aplicación (BBCH);

La aplicación de Serenade Max® solo y la combinación de Serenade Max® y piraclostrobina dieron como resultado un claro aumento del rendimiento. Comparado con el aumento del rendimiento de la aplicación de únicamente Serenade Max® o de únicamente piraclostrobina, el aumento del rendimiento cuando se aplicaron juntas la combinación de Serenade Max® y piraclostrobina es aún más alto, que como se podía esperar de acuerdo con la fórmula de Colby. Este aumento del rendimiento, que es aproximadamente dos veces más alto que el esperado, demuestra claramente el efecto sinérgico de las composiciones de acuerdo con la invención sobre el vigor de la planta y el rendimiento de la planta.

#### Ejemplo 11: Trigo de invierno

5

20

25

30

Se cultivó trigo de invierno en la temporada de cultivo 2008/2009 en Cagnicourt, Francia. Se sembró la variedad Premio el 1º de noviembre en una cantidad de siembra de 125 kg/ha. El ensayo se organizó en un diseño de bloques aleatorizados con 6 réplicas y parcelas de un tamaño de 22,5 m². Se aplicó Bacillus subtilis QST 713 a las plantas de trigo de invierno al comienzo del encañado (estadio de crecimiento 31/32, BBCH). La secuencia de pulverización del fungicida consistió en una aplicación de epoxiconazol al comienzo del encañado seguida de una aplicación de epoxiconazol en combinación con piraclostrobina en el estadio de hoja bandera (estadio de crecimiento 37/39). La B. subtilis QST 713 se aplicó usando la formulación comercial Serenade Max® (14,3 %, WP con 7.3 x 109 ufc/a). El epoxiconazol se aplicó solo al comienzo del encañado como la formulación disponible en el mercado Opus® (125 g/l, SC). La combinación de epoxiconazol y piraclostrobina se aplicó una como formulación de desarrollo de Opera® lista para el uso (SE), que contenía epoxiconazol 62,5 g/l y piraclostrobina 85 g/l. Las cantidades de los productos se indican en la tabla 11. El volumen total de pulverización para la aplicaciones foliares fue de 300 l/ha. Al final del espigado y el comienzo de la floración, respectivamente, se contó el número de espigas por m² (tabla 11). Se estimó el aumento esperado del número de espigas por m² alcanzado por la combinación de los compuestos activos usando la fórmula de Colby (Colby, S.R., Calculating synergistic y antagonistic responses of herbicide combinations. Weeds, 15. pág. 20-22, 1967) y se comparó con el aumento observado como se describe más arriba.

Tabla 11

Tratamiento	PR	FC	FT	AT	Nº. de espigas/m²	Aumento observado	Aumento esperado
Sin tratamiento					375		
Epoxiconazol Epoxiconazol +	0,8 l/ha	125 g/l	SC	31/32	394	19	
Piraclostrobina	2,0 l/ha	147,5	SE	37/39			
Serenade Max®	3,0 kg/ha	14,3 %	WP	31/32	385	10	
Serenade Max® Epoxiconazol Epoxiconazol + Piraclostrobina	3,0 kg/ha 0,8 l/ha 2,0 l/ha	14,3 % 125 g/l 147,5	WP SC SE	31/32 31/32 37/39	406	31	27

PR = Cantidad de producto; FC = Concentración de la formulación; FT = Tipo de formulación; AT = Momento de aplicación (BBCH);

En este ejemplo, Serenade Max® mejoró otra vez la salud de las plantas, conduciendo a un número más alto de espigas por m². También se observó un aumento del número de espigas por m² después de la secuencia de pulverización del fungicida. El aumento observado a partir de la aplicación combinada de Serenade Max® y los fungicidas era más alto que el esperado de acuerdo con la fórmula de Colby, como se muestra en la tabla 11. Este resultado ilustra claramente el efecto sinérgico de la combinación de *Bacillus subtilis* QST 713 con azoles y estrobilurinas sobre el vigor y el rendimiento de plantas de trigo, cuando se aplican conjuntamente en una mezcla de tanque o una secuencia de pulverización.

#### 10 Ejemplo 12: Guisantes

Los compuestos activos se utilizaron aplicando formulaciones disponibles en el mercado y se diluyeron de acuerdo con las concentraciones/cantidades de dosis indicadas en las respectivas tablas de datos.

El tratamiento de semillas se realizó para semillas de guisantes utilizando el equipo de tratamiento de semillas de Hege en un enfoque secuencial. La piraclostrobina se aplicó en un volumen de suspensión de 850 ml por 100 kg de semillas. Luego se disolvió la cantidad indicada de Serenade® MAX en un volumen toral de 8,3 l de agua (cantidad para 100 kg de semillas) y se aplicó secuencialmente en diez etapas secando las semillas entre las etapas. Los compuestos se usaron como formulaciones comerciales listas y se diluyeron con agua a la concentración del compuesto activo indicada.

Se sembraron semillas de guisantes en suelo (10 semillas/maceta, 10 réplicas/tratamiento) y se incubaron en el invernadero a 20 °C durante 12 días. Las plantas se cosecharon y se reunieron por según el tratamiento, y se determinó el peso fresco de las plantas.

Los pesos frescos esperados de las plantas con las mezclas de los compuestos activos se determinó usando la fórmula de Colby, como se define arriba [R.S. Colby, "Calculating synergistic y antagonistic responses of herbicide combinations", Weeds 15, 20-22 (1967)] y se compararon con los pesos frescos observados de las plantas.

Como puede verse en la tabla 12, el peso fresco medido cuando se aplica Serenade Max® aumenta fuertemente, comparado con el de las plantas de control no tratadas. En el caso en el que se aplica una mezcla de acuerdo con la presente invención, tal como la combinación de Serenade Max® y piraclostrobina, aumenta el peso fresco como un indicador del vigor y el rendimiento de la planta incluso sinérgicamente.

Tabla 12

Tratamiento	Cantidad de dosis (g/100 kg de semilla)	Peso fresco (g)	Eficacia calculada de acuerdo con Colby (%)
Sin tratamiento		55	
Piraclostrobina (200 g/l, FS)	5	47	

# ES 2 719 721 T3

## (continuación)

Tratamiento	Cantidad de dosis (g/100 kg de semilla)	Peso fresco (g)	Eficacia calculada de acuerdo con Colby (%)
Serenade Max® (B. subtilis 14,3 %, WP)	173	64	
Piraclostrobina + Serenade Max®	5 173	92	81

#### **REIVINDICACIONES**

- 1. Un procedimiento para aumentar el rendimiento de cultivo de plantas agrícolas bajo presión por patógenos no existente, en el que presión por patógenos no existente se refiere a una situación en que los patógenos están presentes dentro del área de cultivo de una planta pero en una cantidad que no es nociva para la planta y que no da como resultado una disminución del rendimiento, en el que se tratan las plantas, los propágulos de las plantas, las semillas de las plantas y/o el lugar donde las plantas están creciendo o van a crecer con una cantidad eficaz de una composición que comprende
  - a) la cepa de Bacillus subtilis con el N.º de referencia NRRL B-21661 como componente (I), y
  - b) opcionalmente, al menos un compuesto como componente (II), seleccionado de los grupos de compuestos activos A) a J):
    - A) estrobilurinas seleccionadas del grupo que consiste en azoxistrobina, dimoxistrobina, enestroburina, fluoxastrobina, kresoxim-metilo, metomi-nostrobina, orisastrobina, picoxistrobina, piraclostrobina, piribencarb, trifloxistrobina, 2-(2-(6-(3-cloro-2-metil-fenoxi)-5-fluoro-pirimidin-4-iloxi)-fenil)-2-metoxiimino-N-metil-acetamida, éster metílico del ácido 3-metoxi-2-(2-(N-(4-metoxi-fenil)-ciclopropano-carboximidoil-sulfanilmetil)-fenil)-acrílico, metil (2-cloro-5-[1-(3-metilbenciloxiimino)etil]bencil)carbamato y 2-(2-(3-(2,6-diclorofenil)-1-metil-alilidenaminooximetil)-fenil)-2-metoxiimino-N-metil-acetamida;
    - B) carboxamidas seleccionadas del grupo que consiste en:
      - carboxanilidas: benalaxilo, benalaxilo-M, benodanilo, bixafeno, boscalida, carboxina, fenfuram, fenhexamida, flutolanilo, furametpir, isopirazam, isotianilo, kiralaxilo, mepronilo, metalaxilo, metalaxilo-M (mefenoxam), ofurace, oxadixilo, oxicarboxina, pentiopirad, sedaxano, tecloftalam, tifluzamida, tiadinilo, 2-amino-4-metil-tiazol-5-carboxanilida, 2-cloro-N-(1,1,3-trimetil-indan-4-il)-nicotinamida, N- (3',4',5'-trifluorobifenil-2-il)-3-difluorometil-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, N-(4'-trifluorometiltiobifenil-2-il)-3-difluorometil-1-metil-1 H-pirazol-4-carboxamida, N-(2-(1,3-dimetil-butil)-fenil)-1,3-dimetil-5-fluoro-1H-pirazol-4-carboxamida;
      - morfolidas carboxílicas: dimetomorf, flumorf, pirimorf;
      - amidas de ácido benzoico: flumetover, fluopicolida, fluopiram, zoxamida, N-(3-Etil-3,5,5-trimetil-ciclohexil)-3-formilamino-2-hidroxi-benzamida;
      - otras carboxamidas: carpropamida, diciclomet, mandiproamida, oxitetraciclina, siltiofarm y amida del ácido N-(6-metoxi-piridin-3-il) ciclopropanocarboxílico;
- 30 C) azoles seleccionados del grupo que consiste en

5

10

15

20

25

35

45

50

- triazoles: azaconazol, bitertanol, bromuconazol, ciproconazol, difenoconazol, diniconazol, diniconazol-M, epoxiconazol, fenbuconazol, fluquinconazol, flusilazol, flutriafol, hexaconazol, imibenconazol, ipconazol, metconazol, miclobutanilo, oxpoconazol, paclobutrazol, penconazol, propiconazol, protioconazol, simeconazol, tebuconazol, tetraconazol, triadimefona, triadimenol, triticonazol, uniconazol, 1-(4-clorofenil)-2-([1,2,4]triazol-1-il)-cicloheptanol;
- imidazoles: ciazofamida, imazalilo, pefurazoato, procloraz, triflumizol;
- benzimidazoles: benomilo, carbendazim, fuberidazol, tiabendazol; y
- otros: etaboxam, etridiazol, himexazol y 2-(4-cloro-fenil)- N-[4-(3,4-dimetoxi-fenil)-isoxazol-5-il]-2-prop-2-iniloxi-acetamida:
- 40 D) compuestos heterocíclicos seleccionados del grupo que consiste en
  - piridinas: fluazinam, pirifenox, 3-[5-(4-cloro-fenil)-2,3-dimetil-isoxazolidin-3-il]-piridina, 3-[5-(4-metil-fenil)-2,3-dimetil- isoxazolidin-3-il]-piridina, 2,3,5,6-tetra-cloro-4-metanosulfonil-piridina, 3,4,5-tricloropiridina-2,6-di-carbonitrilo, N-(1-(5-bromo-3-cloro-piridin-2-il)-etil)-2,4-dicloronicotinamida, N-[(5-bromo-3-cloro-piridin-2-il)-metil]-2,4-dicloro-nicotinamida;
  - pirimidinas: bupirimato, ciprodinilo, diflumetorim, fenarimol, ferimzona, mepanipirim, nitrapirin, nuarimol y pirimetanilo;
  - piperazinas: triforina;
  - pirroles: fenpiclonilo y fludioxonilo;
  - morfolinos: aldimorf, dodemorf, dodemorf-acetato, fenpropi-morf y tridemorf;
  - piperidinas: fenpropidina;
    - dicarboximidas: fluoroimida, iprodiona, procimidona y vinclozolina;
    - heterociclos no aromáticos de cinco miembros: famoxadona, fenamidona, flutianilo, octilinona, probenazol y éster S-alílico del ácido 5-amino-2-isopropil-3-oxo-4- orto-tolil-2,3-dihidro-pirazol-1-carbotióico;
    - otros: acibenzolar-S-metilo, amisulbrom, anilazina, blasticidina-S, captafol, captan, quinometionat, dazomet, debacarb, diclomezina, difenzoquat, difenzoquat-metilsulfato, fenoxanilo, Folpet, ácido oxolínico, piperalina, proquinazida, piroquilona, quinoxifeno, triazoxida, triciclazol, 2-butoxi-6-yodo-3-propilcromen-4-ona, 5-cloro-1-(4,6-dimetoxi-pirimidin-2-il)-2-metil-1H-benzoimidazol, 5-cloro-7-(4-metilpiperidin-1-il)-6-(2,4,6-trifluorofenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina y 5-etil-6-octil-[1,2,4]triazolo-[1,5-a]pirimidina-7-ilamina;

- E) carbamatos seleccionados del grupo que consiste en
  - tio- o ditiocarbamatos: ferbam, mancozeb, maneb, metam, metasulfocarb, metiram, propineb, tiram, zineb. ziram;
  - carbamatos: bentiavalicarb, dietofencarb, iprovalicarb, valifenal y (4-fluorofenil) éster del ácido N-(1-(4-ciano-fenil)-10 etanosulfonil)-but-2-il) carbámico;
- F) otra sustancia activa seleccionada del grupo que consiste en
  - guanidinas: guanidina, dodina, dodina base libre, guazatina, guazatina-acetato, iminoctadina, iminoctadina-triacetato, iminoctadina-tris(albesilato);
  - antibióticos: kasugamicina, clorhidrato de kasugamicina-hidrato, estreptomicina, polioxina, validamicina A, estreptomicina;
  - derivados de nitrofenilo: binapacrilo, dinobutona, dinocap, nitrtal-isopropilo, tecnazeno,
  - compuestos organometálicos: sales de fentina, tales como acetato de fentina, cloruro de fentina o hidróxido de fentina;
  - compuestos de heterociclilo que contienen azufre: ditianono, isoprotiolano;
  - compuestos organofosforados: edifenfos, iprobenfos, ácido fosforoso y sus sales, pirazofos, tolclofosmetilo;
  - compuestos organoclorados: clorotalonilo, diclofluanid, diclorofeno, flusulfamida, hexaclorobenceno, pencicuron, pentaclor-fenol y sus sales, ftalida, quintozeno, tiofanato-metilo, tolilfluanida, N-(4-cloro-2-nitro-fenil)-N-etil-4-metil-benceno-sulfonamida;
  - sustancias activas inorgánicas: caldo de Burdeos, acetato de cobre, hidróxido de cobre, oxicloruro de cobre, sulfato de cobre básico, azufre;
  - otros: bifenilo, bronopol, ciflufenamida, cimoxanilo, difenilamina, metrafenona, mildiomicina, oxin-cobre, prohexadiona de calcio, espiroxamina, tolilfluanida, N-(ciclopropilmetoxiimino-(6-difluoro-metoxi-2,3-difluoro-fenil)-metil)-2-fenil acetamida, N'-(4-(4- cloro-3-trifluorometil-fenoxi)-2,5-dimetil-fenoxi)-2,5-dimetil-fenil)-N-etil-N-metil formamidina, N'-(4-(4-fluoro-3-trifluorometil-fenoxi)-2,5-dimetil-fenil)-N-etil-N-metil formamidina, N'-(5-difluorometil-2-metil-5-trifluorometil-4-(3-trimetilsilanil-propoxi)-fenil)-N-etil-N-metil formamidina, N'-(5-difluorometil-2-metil-4-(3-trimetilsilanil-propoxi)-fenil)-N-etil-N-metil formamidina, metil-(1,2,3,4-tetrahidro-naftalen-1-il)-amida del ácido 2-{1-[2-(5-metil-3-trifluorometil-pirazol-1-il)-acetil]-piperidin-4-il}-tiazol-4-carboxílico, 6-terc-butil-8-fluoro-2,3-dimetil-quinolin-4-il éster del ácido acético, 6-terc-butil-8-fluoro-2,3-dimetil-quinolin-4-il éster del ácido metoxi-acético;
- G) reguladores del crecimiento vegetal (los RCV) seleccionados del grupo que consiste en ácido abscísico, amidoclor, ancimidol, 6-bencilaminopurina, brassinolida, butralina, clormequat (clorhidrato de clormequat), cloruro de colina, ciclanilida, daminozida, dikegulac, dimetipina, 2,6- dimetilpuridina, etefona, flumetralina, flurprimidol, flutiacet, forclorfenurona, ácido giberélico, inabenfida, ácido indol-3-acético, hidrazida maleica, mefluidida, mepiquat (cloruro de mepiquat), ácido naftalenacético, N-6-benciladenina, paclobutrazol, prohexadiona (prohexadiona de calcio), prohidrojasmon, tidiazuron, triapentenol, tributil fosforotritioato, ácido 2,3,5-tri-yodobenzoico, trinexapac-etilo y uniconazol;
- H) herbicidas seleccionados del grupo que consiste en
  - acetamidas: acetoclor, alaclor, butaclor, dimetaclor, dimetenamida, flufenacet, mefenacet, metolaclor, metazaclor, napropamida, naproanilida, petoxamida, pretilaclor, propacloro, tenilclor;
  - derivados de aminoácidos: bilanafos, glufosinato, sulfosato;
  - ariloxifenoxipropionatos: clodinafop, cihalofop-butilo, fenoxaprop, fluazifop, haloxifop, metamifop, propaquizafop, quizalofop, quizalo-fop-P-tefurilo;
  - Bipiridilos: diquat y paraquat;
  - (tio)carbamatos: asulam, butilato, carbetamida, desmedifam, dimepiperato, eptam (EPTC), esprocarb, molinato, orbencarb, fenmedifam, prosulfocarb, piributicarb, tiobencarb, trialato;
  - ciclohexanodionas: butroxidim, cletodim, cicloxidim, profoxidim, setoxidim, tepraloxidim, tralkoxidim;
  - dinitroanilinas: benfluralina, etalfluralina, orizalina, pendimetalina, prodiamina, trifluralina;
  - difenil éteres: acifluorfeno, aclonifeno, bifenox, diclofop, etoxifeno, fomesafeno, lactofeno, oxifluorfeno;
  - hidroxibenzonitrilos: bomoxinilo, diclobenilo, ioxinilo;
  - imidazolinonas: imazametabenz, imazamox, imazapic, imazapir, imazaquina, imazetapir;
  - ácidos fenoxiacéticos: clomeprop, ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), 2,4-DB, diclorprop, MCPA, MCPA-tioetilo, MCPB, Mecoprop;
  - pirazinas: cloridazona, flufenpir-etilo, flutiacet, norflurazona, piridato;
  - piridinas: aminopiralida, clopiralida, diflufenican, ditiopir, fluridona, fluroxipir, picloram, picolinafeno, tiazopir;
  - sulfonil ureas: amidosulfurona, azimsulfurona, bensulfurona, clorimuron-etilo, clorsulfurona, cinosulfurona, ciclosulfamurona, etoxisulfurona, flazasulfurona, flucetosulfurona, flupirsulfurona, foramsulfurona, halosulfurona, imazosulfurona, yodosulfurona, mesosulfurona, metsulfurona-metilo, nicosulfurona, oxasulfurona, primisulfurona, prosulfurona, pirazosulfurona, rimsulfurona, sulfometurona, sulfosulfurona, trifloxisulfurona, trifloxisulfurona, trifloxisulfurona, tritosulfurona, 1-

5

15

20

25

30

35

40

45

50

55

((2-cloro-6-propil-imidazo[1,2-b]piridazin-3-il)sulfonil)-3-(4,6-dimetoxi-pirimidin-2-il)urea;

- triazinas: ametrina, atrazina, cianazina, una dimetametrina, etiozina, hexazinona, metamitron, metribuzina, prometrina, simazina, terbutilazina, terbutrina, triaziflam;
- ureas: clorotolurona, daimurona, diurona, fluometurona, isoproturona, linurona, metabenztiazurona, tebutiurona:
- otros inhibidores de la acetolactato sintasa: bispiribac de sodio, cloransulam-metilo, diclosulam, florasulam, flucarbazona, flumetsulam, metosulam, orto-sulfamurona, penoxsulam, propoxicarbazona, piribambenz-propilo, piribenzoxim, piriftalida, piriminobac-metilo, pirimisulfan, piritiobac, piroxasulfona, piroxsulam;
- otros: amicarbazona, aminotriazol, anilofos, beflubutamida, benazolina, bencarbazona, benfluresato, benzofenap, bentazona, benzobiciclona, bromacilo, bromobutida, butafenacilo, butamifos, cafenstrol, carfentrazona, cinidon-etlilo, clortal, cinmetilin, clomazona, cumilurona, ciprosulfamida, dicamba, difenzoquat, diflufenzopir, *Drechslera monoceras*, endotal, etofumesato, etobenzanida, fentrazamida, flumiclorac-pentilo, flumioxazina, flupoxam, flurocloridona, flurtamona, indanofan, isoxabeno, isoxaflutol, lenacilo, propanilo, propizamida, quinclorac, quinmerac, mesotriona, ácido metil arsónico, naptalam, oxadiargilo, oxadiazona, oxaziclomefona, pentoxazona, pinoxadeno, piraclonilo, piraflufen-etilo, pirasulfotol, pirazoxifeno, pirazolinato, quinoclamina, saflufenacilo, sulcotriona, sulfentrazona, terbacilo, tefuryltriona, tembotriona, tiencarbazona, topramezona, 4-hidroxi-3-[2-(2-metoxi-etoximetil)-6-trifluorometil-piridina-3-carbonil]-biciclo[3.2.1] oct-3-en-2-ona, éster etílico del ácido (3-[2-cloro-4-fluoro-5-(3-metil-2,6-dioxo-4-trifluorometil-3,6-dihidro-2H-pirimidin-1-il)-fenoxi]-piridin-2-iloxi) acético, éster metílico del ácido 6-amino-5-cloro-2-ciclopropil-pirimidina-4-carboxílico, 6-cloro-3-(2-ciclopropil-6-metil-fenoxi)-piridazin-4-ol, ácido 4-amino-3-cloro-6-(4-cloro-fenil)-5-fluoro-piridin-2-carboxílico, éster metílico del ácido 4-amino-3-cloro-6-(4-cloro-2-fluoro-3-metoxi-fenil)-piridin-2-carboxílico, y éster metílico del ácido 4-amino-3-cloro-6-(4-cloro-2-fluoro-fenil)-piridin-2-carboxílico; y
- J) insecticidas seleccionados del grupo que consiste en
  - organo(tio)fosfatos: acefato, azametifos, azinfos-metilo, clorpirifos, clorpirifos-metilo, clorfenvinfos, diazinona, diclorvos, dicrotofos, dimetoato, disulfotona, etiona, fenitrotiona, fentiona, isoxationa, malationa, metamidofos, metidationa, metil-parationa, mevinfos, monocrotofos, oxidemetona-metilo, paraoxona, parationa, fentoato, fosalona, fosmet, fosfamidona, forato, foxima, pirimifos-metilo, profenofos, protiofos, sulprofos, tetraclorvinfos, terbufos, triazofos, triclorfona;
  - carbamatos: alanicarb, aldicarb, bendiocarb, benfuracarb, carbarilo, carbofurano, carbosulfano, fenoxicarb, furatiocarb, metiocarb, metomilo, oxamilo, pirimicarb, propoxur, tiodicarb, triazamato;
  - piretroides: aletrina, bifentrina, ciflutrina, cihalotrina, cifenotrina, cipermetrina, alfa-cipermetrina, beta-cipermetrina, zeta-cipermetrina, deltametrina, esfenvalerato, etofenprox, fenpropatrina, fenvalerato, imiprotrina, lambda-cihalotrina, permetrina, praletrina, piretrina I y II, resmetrina, silafluofeno, taufluvalinato, teflutrina, tetrametrina, tralometrina, transflutrina, proflutrina, dimeflutrina;
  - regulador del crecimiento de insectos: a) inhibidores de la síntesis de quitina: benzoilureas: clorfluazurona, ciramazina, diflubenzurona, flucicloxurona, flufenoxurona, hexaflumurona, lufenurona, novalurona, teflubenzurona, triflumurona; buprofezina, diofenolano, hexitiazox, etoxazol, clofentazina; b) antagonistas de ecdisona: halofenozida, metoxifenozida, tebufenozida, azadiractina; c) juvenoides: piriproxifeno, metopreno, fenoxicarb; d) inhibidores de la biosíntesis de lípidos: espirodiclofeno, espiromesifeno, espirotetramato:
  - compuestos agonistas/antagonistas de receptores nicotínicos: clotianidina, dinotefurano, imidacloprid, tiametoxam, nitenpiram, acetamiprid, tiacloprid, 1-(2-cloro-tiazol-5-ilmetil)-2-nitrimino-3,5-dimetil-[1,3,5]triazinano;
  - compuestos antagonistas del GABA: endosulfano etiprol, fipronilo, vaniliprol, pirafluprol, piriprol, amida de ácido 5-amino-1-(2,6-dicloro-4-metil-fenil)-4-sulfinamoil-1H-pirazol-3-carbotioico;
  - insecticidas de lactona macrocíclica: abamectina, emamectina, milbemectina, lepimectina, espinosad, espinetoram:
  - acaricidas de inhibidores del transporte de electrones mitocondrial (METI) I: fenazaquina, piridabeno, tebufenpirad, tolfenpirad, flufenerim;
  - compuestos de METI II y III: acequinocilo, fluaciprim, hidrametilnona;
  - desacopladores: clorfenapir;
  - inhibidores de la fosforilación oxidativa: cihexatina, diafentiurona, óxido de fenbutatina, propargito;
  - compuestos disruptores del enmohecimiento: criomazina;
  - inhibidores de la oxidasa de función mixta: butóxido de piperonilo;
  - bloqueadores del canal de sodio: indoxacarb metaflumizona;
  - otros: benclotiaz, bifenazato, cartap, flonicamida, piridalilo, pimetrozina, azufre, tiociclam, flubendiamida, clorantraniliprol, ciazipir (HGW86), cienopirafeno, flupirazofos, ciflumetofeno, amidoflumet, imiciafos, bistriflurona y pirifluquinazona.
  - 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se usa una formulación disponible en el mercado de la cepa de *Bacillus subtilis*.
  - 3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el componente (II) se selecciona del grupo que

31

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

consiste en los grupos de compuestos activos A) a G).

- 4. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el componente (II) se selecciona del grupo que consiste en los grupos de compuestos activos A), B), C), E) y G).
- 5. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el componente (II) se selecciona del grupo de compuestos activos A).
  - 6. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el componente (II) es piraclostrobina.
  - 7. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el componente (II) se selecciona del grupo que consiste en caldo de Burdeos, acetato de cobre, hidróxido de cobre, oxicloruro de cobre, sulfato de cobre básico y azufre.
- 10 8. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que
  - a) la cepa de Bacillus subtilis con el N.º de referencia NRRL B-21661 como componente (I) y
  - b) un compuesto químico como componente (II), seleccionado de los grupos de compuestos activos A) a J), como se define en la reivindicación 1

se aplican en una relación ponderal de 100:1 a aproximadamente 1:100.

15 9. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que

30

- a) la cepa de Bacillus subtilis con el N.º de referencia NRRL B-21661 como componente (I) y
- b) un compuesto químico como componente (II), seleccionado de los grupos de compuestos activos A) a J), como se define en la reivindicación 1

se aplican simultáneamente, es decir en forma conjunta o separada, o sucesivamente.

- 20 10. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que se tratan las semillas.
  - 11. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el tratamiento se lleva a cabo como un tratamiento en los surcos y/o foliar.
  - 12. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el gue se lleva a cabo un tratamiento repetido.
- 13. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el componente (II) seleccionado de los grupos de compuestos activos (A) a (J) se aplica antes del intervalo de precosecha mientras que el componente (I) se aplica durante el intervalo de precosecha.
  - 14. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la planta agrícola se selecciona de soja, maíz, trigo, triticale, cebada, avena, centeno, colza, mijo, arroz, girasol, algodón, remolacha azucarera, frutas de pepita, frutas de hueso, cítricos, banana, fresa, arándano azul, almendra, uva, mango, papaya, maní, patata, tomate, pimiento, cucurbitácea, pepino, melón, sandía, ajo, cebolla, brócoli, zanahoria, repollo, frijol, frijol seco, canola, guisante, lenteja, alfalfa, planta trifoliada, trébol, lino, hierba de elefante, pasto, lechuga, caña de azúcar, té, tabaco y café; cada uno en su forma natural o genéticamente modificada.
- 15. El uso de la cepa de *Bacillus subtilis* con el N.º de referencia NRRL B-21661 como componente (I) y, opcionalmente, al menos un compuesto como componente (II), seleccionado de los grupos de compuestos activos A) a J), como se define en la reivindicación 1, para aumentar el rendimiento de cultivo de plantas agrícolas bajo presión por patógenos no existente, en la que presión por patógenos no existente se refiere a una situación en que los patógenos están presentes dentro del área de cultivo de una planta pero en una cantidad que no es nociva para la planta y que no da como resultado una disminución del rendimiento.