

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 734 005**

51 Int. Cl.:

**A01K 67/033** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2014** **E 14198488 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2019** **EP 2982242**

54 Título: **Composición de ácaros, su crianza y métodos para la aplicación de la composición en sistemas de control biológico**

30 Prioridad:

**06.08.2014 EP 14180076**

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

**03.12.2019**

73 Titular/es:

**AGROBIO S.L. (100.0%)  
Ctra. Nacional 340, km 419  
04745 El Viso (La Mojonera) - Almeria, ES**

72 Inventor/es:

**VILA RIFÁ, ENRIQUE y  
GRIFFITHS, DONALD ALISTER**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 734 005 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Composición de ácaros, su crianza y métodos para la aplicación de la composición en sistemas de control biológico.

## 5 Campo de la invención

Esta invención se refiere a una composición de ácaros que comprende una población de cría de una especie de ácaro depredador fitoseido y una población de al menos una especie de presa del orden Astigmata, a saber, *Tyrollichus casei* Ouds.

10

Además, la invención se refiere a un método para criar un ácaro depredador fitoseido.

Otro aspecto adicional de la invención se refiere al uso de la composición de ácaros para controlar una plaga de cultivos.

15

Se sabe que las siguientes composiciones de la técnica anterior mencionan la especie *Tyrollichus casei*, Ouds. 1912: Dos patentes europeas, WO 2006/071107 y WO 2007/075081, lo hacen de manera breve y ambigua. Cada uno de sus folletos A1 contiene párrafos idénticos, como sigue: "La técnica anterior describe la crianza de *Amblyseius cucumeris* y *Amblyseius barkeri* con la ayuda de una especie de ácaros huésped facticios del género *Tyrophagus*, en particular *Tyrophagus putrescentiae*, *Tyrophagus tropicus*, *Tyrophagus casei* (Sampson), C. 1998; Jakobson, RJ, 1995; Bennison, J.A. y R. Jakobson, 1991; Karg et al. 1987; y GB293890)".

20

No existe una distinción dada a qué referencia se refiere a qué especies, *putrescentiae*, o *casei* o ambos.

25

La lectura de las cinco referencias muestra que cuatro de ellas se refieren solo al uso de *T. putrescentiae* en condiciones de campo. La quinta menciona una especie de *Tyrophagus casei*, pero solo en el contexto de ser un posible alimento para los ácaros depredadores oligófagos. La patente británica GB 2393809, solo revela que *A. cucumeris* puede criarse en *T. putrescentiae*.

30

La publicación Castagnoli et al., 2006. [Redia 89, pp.55-58, Exploración del ácaro astigmatídico para la cría en masa de *Neoseiulus californicus* (McGregor) (Acari: Phytoseiidae)], describe estudios relacionados con una única especie de fitoseido, a saber, *N. californicus*, incapaz de ovipositar (puesta de huevos) y, por lo tanto, no se pudo producir una primera generación, cuando se ofreció a *T. casei* como el huésped facticio.

35

Rasmy et al., 1987. [Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz, 60 (5), pp. 92-94, Respuesta reproductiva y desarrollo de tres ácaros del suelo, utilizando el ácaro *Tyrophagus casei* (= *Tyrollichus casei*) como una "dieta" alternativa] involucró un intento de criar tres especies de ácaros, que no son miembros de Phytoseiidae, pero pertenecen a otras familias del orden Mesostigmata. Los ensayos incluyeron pequeñas unidades de crianza mantenidas en una incubadora, con trozos de queso como alimento para *T. casei*. Una de las especies produjo algunos huevos viables, pero las otras dos no se desarrollaron.

40

Rasmy et al, describe adicionalmente en 1987 [Entomophaga, 32 (3), pp.277-280, Una nueva dieta para la reproducción de dos ácaros depredadores, *Amblyseius gossipi* y *Agistemus exertus*, (Acari; Phytoseiidae, Stigmaeidae)] datos experimentales sobre una combinación de ácaros depredadores y ácaros *T. casei* como fuente de alimento. Los sistemas experimentales fueron como en la publicación anterior. Se trataba de dos especies que son anteriores a los ácaros de las plantas, pero no están relacionadas entre sí. La especie *Amblyseius* pertenece a la superfamilia Phytoseioidea, y el *Agistemus* de la superfamilia Raphignathoidea. La especie fitoseida *A. gossipi*, no se desarrolló completamente en *T. casei*. Esta especie solo producía huevos cuando se agregó polen adicional a la dieta. Esto sugiere fuertemente que no hubo depredación o que la presa no era adecuada.

45

Por lo tanto, la técnica anterior no muestra ningún sistema de cría en masa de ninguna especie fitoseida que use *Tyrollichus casei* como el huésped facticio.

50

Los cultivos agrícolas, especialmente los cultivos protegidos, se cultivan intensamente durante una temporada de crecimiento relativamente corta. Las plagas que los invaden casi siempre son el resultado de invasiones externas y, debido a que el cultivo proporciona un suministro de alimentos muy favorable, pueden alcanzar altas densidades muy rápidamente. Por lo tanto, cualquier introducción de un depredador destinado a controlarlos debe ser inundativa. Es decir, un gran número de depredadores debe introducirse en un programa regular de introducciones suficiente para mantener a la población de la plaga por debajo del nivel en el que puede causar pérdidas económicas.

55

Por lo tanto, cualquier cría comercial de un depredador, utilizada de forma inundativa, debe ser capaz de producir un alto número de depredadores a lo largo de la temporada de crecimiento; hoy en día, bajo los regímenes modernos de invernadero, esto significa casi todo el año. Para criar a un depredador se requiere que tenga suficiente presa adecuada para el rápido crecimiento de la población. Preferiblemente, cualquier composición de ácaro que comprenda una especie depredadora y una presa artificial que conduzca a una producción comercial viable.

60

65

Las producciones comerciales más exitosas hasta la fecha son aquellas en las que la presa es una especie que pertenece al orden de los ácaros de los Astigmata. Estos son individuos pequeños, de cuerpo blando, conocidos colectivamente como los ácaros de "alimentos almacenados" o de "productos almacenados", y como tales viven en una amplia gama de productos alimenticios, especialmente aquellos de naturaleza farinácea, y se encuentran comúnmente en tiendas y viviendas domésticas (Hughes, 1976). Utilizando los materiales alimenticios correctos y las condiciones físicas correctas, estos ácaros astigmátidos se crían en interiores en contenedores para proporcionar altas concentraciones de población a un costo razonable. Actualmente, todos los depredadores fitoseidos que se producen comercialmente se crían en una de las pocas especies de astigmátidos.

Un problema a resolver por la presente invención es proporcionar una composición de ácaro que comprende una especie depredadora de fitoseidos como una población de cría y una especie huésped facticia como fuente de alimento, que proporcionará ventajas tales como costos más bajos, tasas de crecimiento más rápidas y otros beneficios. con respecto a las composiciones conocidas de la técnica anterior.

Otros problemas a resolver son encontrar un método viable y confiable para criar comercialmente un ácaro depredador fitoseido y luego usarlo para controlar una plaga de cultivos.

Se ha encontrado una solución a este problema en una composición de ácaros que comprende una población de cría de una especie de ácaro depredador fitoseido y al menos una especie huésped en la que la especie huésped es una especie del género *Tyrollichus*. Tal composición es un aspecto principal de la presente invención.

Un aspecto importante adicional de la invención es un método para criar un ácaro depredador fitoseido de acuerdo con la reivindicación 10.

Otro aspecto adicional de la invención es el uso de la composición de ácaro para controlar una plaga de cultivo de acuerdo con la reivindicación 9.

En una realización ventajosa de la invención, la composición del ácaro comprende: una población de cría de una especie de ácaro fitoseido, junto con la especie de astigmátido *Tyrollichus casei*, Oudemans, 1910. Por lo tanto, en esta realización preferida, la especie hospedadora de Astigmata es *Tyrollichus casei*.

En una realización preferida, la composición de ácaro comprende un portador. En una realización preferida adicional, el portador es un sustrato neutro que soporta a los depredadores en un espacio tridimensional. Preferiblemente, el portador será un sustrato tridimensional.

En una realización aún más preferida, el transportador es un sustrato tridimensional con superficies dispuestas tridimensionalmente de tal manera que estas superficies formen cavidades y protuberancias que permitirán que el depredador y su presa se muevan libremente dentro del sustrato.

*Tyrollichus* es un género monotípico con *casei* como única especie. Tiene una distribución geográfica relativamente amplia pero raramente registrada. No se conoce un hábitat natural definitivo, con solo un registro natural debajo de la corteza de los tocones de algunos árboles caídos en Rusia, (Zachvatkin, 1941). Otros registros son en su mayoría de alimentos almacenados o colecciones de insectos, pero no tiene historial de ser una plaga grave de alimentos, excepto por infestaciones ocasionales en el queso, de ahí el nombre de la especie en latín.

Su conformación de cuerpo es la de un miembro típico del orden Astigmata. Su forma general y formulación cetotáctica (posicionamiento y número de pares de setas) se asemejan a las de una especie de *Tyrophagus*. Debido a esto, algunos de los primeros taxónomos lo situaron en este género. Por ejemplo, Hughes (1961) lo colocó en *Tyrophagus*, pero en su edición de 1976 de "Los ácaros de los alimentos almacenados y las casas", volvió a la decisión de la primera autoridad, a saber, Oudemans, 1924. Aun así, Rasmy (1987) equivocadamente siguió utilizando el nombre "Tyrophagus".

Hay diferencias morfológicas distintas que separan estos dos géneros, pero a pocos aumentos, la similitud es tal que incluso con el uso de un microscopio compuesto pueden ocurrir identificaciones erróneas. En tales casos, típicamente, este taxón se identificará erróneamente como *Tyrophagus putrescentiae*.

La especie *T. casei* es más grande, más robusta y se mueve mucho más lentamente que la mayoría de los miembros astigmátidos, especialmente cuando se compara con *Tyrophagus putrescentiae* o *Carpoglyphus lactis*, que son dos de los huéspedes facticios más comunes utilizados en la cría comercial de depredadores fitoseidos. Se ha demostrado que las especies más grandes y más lentas son más adecuadas como especies huéspedes porque proporcionan más alimento por unidad de presa y son mucho más fáciles de capturar por las especies de ácaros depredadores. Por lo tanto, en una realización preferida de la invención, la especie hospedadora tiene una longitud corporal de 450 - 550  $\mu\text{m}$  (macho) y/o 500 - 700  $\mu\text{m}$  (hembra).

En una realización preferida adicional de la composición de ácaros, la especie de ácaro depredadora se selecciona

del grupo que comprende la familia Phytoseiidae (Acarina), preferiblemente la especie *Amblyseius andersoni*, *Neoseiulus californicus*, *Neoseiulus cucumeris* y *Amblyseius swirskii*, y más preferiblemente *Typhlodromalus montdorensis*. Estas especies han demostrado ser especialmente adecuadas para el cultivo junto con las especies huéspedes descritas anteriormente. Una de las ventajas de al menos algunas de estas especies es que tienen un tiempo de desarrollo relativamente rápido desde el huevo hasta la fase adulta. Además estas especies son especialmente adecuadas para controlar una amplia variedad de plagas de cultivos.

El uso de la composición de ácaro para controlar una plaga de cultivos es un uso preferido de las composiciones de ácaro como se describe en el presente documento.

En una realización preferida adicional de la composición de ácaro, la composición comprende además una fuente de alimento para la especie hospedadora. Tal fuente de alimento solo es ventajosa si la especie hospedadora es una población de cría. Dado que la composición de ácaros también puede comprender una población de cría de una especie de ácaro depredadora fitoseido y al menos una especie huésped muerta, como fuente para las especies huéspedes no es necesaria en todas las realizaciones de la presente invención.

Como se describe con más detalle a continuación, se ha demostrado que al menos para algunas especies huéspedes es adecuada una dieta bastante simple de germen de trigo y/o copos de germen de trigo, que están preferiblemente contenidas en un transportador de salvado esterilizado. Una dieta tan simple tiene muchas ventajas. Primero, la preparación de tales alimentos requiere menos tiempo y los trabajadores no tienen la tarea de producir mezclas complejas de alimentos. De la técnica anterior se conocen mezclas de alimentos que pueden incluir, frutos secos, cáscaras de trigo, harinas, mermeladas, azúcares especiales y otros. Dado que algunos de estos nutrientes son comparativamente costosos, el ahorro de costos es una segunda ventaja de la dieta simple. Por lo tanto, en una realización preferida adicional de la composición de ácaros, la fuente de alimento comprende germen de trigo y/o copos de germen de trigo. En una realización preferida adicional, estos copos de germen de trigo y/o de germen de trigo están en un transportador de salvado esterilizado.

Los procedimientos básicos implicados en la producción comercial de un ácaro depredador fitoseido, utilizando una dieta de ácaros de *Tyrollichus casei* vivos o muertos.

Un aspecto importante de la invención es un método para criar una composición de ácaro que comprende una población de cría de una especie de ácaro depredador fitoseido y al menos una especie huésped en la que la especie de ácaro depredador fitoseido y al menos una especie huésped del género *Tyrollichus* está dispuesta en una unidad de crianza. Los ejemplos y las realizaciones preferidas del método se describen a continuación.

Sin excepción, las producciones comerciales actuales de cualquier especie de fitoseido implican los mismos procedimientos, a saber:

- selección de la dieta de astigmátido y producción a granel de esta dieta
- la selección y crianza de grandes cantidades de ácaro astigmátido, y
- la crianza y producción de grandes cantidades del depredador seleccionado,
- utilizando el ácaro astigmátido seleccionado como presa viva.

La dieta del astigmátido y su producción a granel.

#### 1. Selección.

Dado que se reconoce que el astigmátido huésped *Tyrollichus casei* es un ácaro de "alimento almacenado", la dieta contendrá una mezcla de algunos de los siguientes ingredientes: alimentos farináceos como harina, germen de trigo, salvado, junto con polvo de levadura seco, azúcares y otros ingredientes específicos. Los materiales seleccionados se mezclarán en una máquina mezcladora de alimentos comercial.

#### 2. Equilibrio del contenido de humedad de la mezcla seca.

Se agrega agua a la mezcla en una proporción que hará que su contenido de humedad (CH) se equilibre con la humedad relativa (HR) de las salas de crianza.

#### 3. Entorno físico de las salas de crianza.

Las salas están equipadas con máquinas sofisticadas capaces de mantener una temperatura por encima o por debajo de un °C y de dos a cinco % de HR respecto a las condiciones requeridas. En general, un ambiente físico de 75 a 85% de humedad relativa (HR) y una temperatura entre 21 y 25 °C es más adecuado para el cultivo de la composición de ácaros. En una realización preferida del método para criar una composición de ácaros, la especie del orden Astigmata es *Tyrollichus casei*.

Crianza de especies de astigmátidos - *T. casei*

1. Recipientes individuales de cría y contenidos iniciales

5 Las unidades son de un tamaño para facilitar el manejo, y requerirán una cubierta sellada "transpirable" para permitir un intercambio de oxígeno, preferiblemente una gasa de 45 a 50 micras de malla. Cada uno contendrá una cantidad de la dieta, más un "transportador" o un componente de relleno. Esto generalmente consiste en salvado o vermiculita granulada suficiente para proporcionar suficiente espacio tridimensional para permitir que la población se expanda libremente, y se conoce como sustrato.

10 2. Adición de la población de ácaros.

El sustrato de una unidad madurada se divide para proporcionar una colonia de inicio para una nueva unidad de crianza.

15 El número de ácaros por litro de sustrato se obtiene utilizando un método conocido como "coneo y cuarteo", descrito por Griffiths (1976).

20 Luego se divide en parcelas, dependiendo de cuántas se necesitarán por litro para formar el núcleo de la colonia de inicio. Este número dependerá de la tasa intrínseca de aumento (IRI) de la presa (que es el tiempo que tarda en crecer el huevo a un adulto) y en qué intervalos se requieren las unidades maduras.

3. Crianza de unidades.

25 Se agrega un suministro de alimentos a la colonia de inicio, suficiente para alimentar a la población en desarrollo hasta que la densidad alcance el nivel requerido.

También se agregará vermiculita o salvado húmedecido para proporcionar un espacio en el que la colonia en desarrollo pueda expandirse.

30 Se colocan nuevas unidades en las salas de crianza y se les permite desarrollarse a una alta densidad, que generalmente no lleva el más de aproximadamente diez días.

35 En la madurez, el ciclo comienza de nuevo, proporcionando una colonia de reinicio o un suministro de presas vivas para alimentar a la colonia iniciadora de depredadores.

En una realización preferida adicional del método para criar una composición de ácaros, la especie del orden Tyrollichus está viva.

40 Producción de depredadores utilizando T. casei vivo como presa.

Los pasos en la crianza de los depredadores son los mismos que se definieron anteriormente para la presa, excepto que la presa es ahora el alimento para el depredador.

45 1. Composición de la unidad depredadora madura.

50 La población de depredadores de una unidad madura estará en una densidad alta. Esto se habrá alcanzado mediante la alimentación de la población de presas T. casei, cuyo nivel se ha mantenido en la concentración correcta, a pesar de la alimentación de depredadores, mediante la cría de aquellos T. casei lo suficientemente afortunados como para no haber sido comidos. En este punto, la densidad de la población se determinará como 1000 (K) por litro de sustrato.

2. Producir una unidad de reinicio del depredador o una unidad de ventas

55 De acuerdo con la densidad determinada de la unidad madura, se dividirá en parcelas de sustrato, cada una con suficientes depredadores necesarios para configurar una unidad de reinicio.

El tamaño de esta población inicial se decide de acuerdo con el tamaño estimado que alcanzará en la madurez, teniendo en cuenta el IRI de la especie.

60 3. Resuministro de una unidad de inicio

La población de depredadores inicial se coloca en una unidad de inicio limpia, a la que se agrega un suministro de alimentos para mantener al depredador:

- 65 - un suministro de población de Tyrollichus vivo  
- la parcela de depredadores, tal como se determina en el punto (2) anterior

- gránulos adicionales de vermiculita o salvado.

4. Obtener la proporción correcta de depredador respecto a presa durante el desarrollo hasta la madurez.

5 El objetivo es obtener una relación de inicio inicial para un buen desarrollo de depredadores que se mantendrá estable durante todo el período de producción del depredador.

Esto significa calcular la cantidad de población de *Tyrollichus* que se debe agregar para lograr esta proporción.

10 No se debe permitir que el depredador o la presa mueran de hambre, ni se debe permitir que la presa aumente a una densidad que interfiera con el desarrollo del depredador, especialmente la puesta de huevos. Esta tarea es la más difícil de conseguir de todos los procedimientos.

15 El éxito se basa en gran medida en el conocimiento y la experiencia de una persona experta. La experiencia insuficiente requerirá la introducción de un sistema de monitorización a mitad de programa para determinar si la proporción se ha desviado. Esto se sumará a los costos de producción. No es exagerado decir que puede dictar el éxito o el fracaso de un productor.

20 Producción de depredadores que utilizan *T. casei* descongelado (muerto) como alimento

1. El suministro de ácaros a congelar

25 Estos provienen de exactamente las mismas unidades maduras de alta densidad de ácaros *Tyrollichus* vivos que se usaron para la repoblación de las unidades de inicio del depredador. Una porción de sustrato (que contiene la población de presas vivas) se coloca en bolsas de tamaño adecuado y se coloca en estado de congelación hasta que esté completamente congelada, donde pueden permanecer hasta que se requiera.

2. Reducción automática del material farináceo.

30 En el momento en que la unidad madura de *Tyrollichus* se selecciona para congelar la dieta de levadura farinácea, originalmente presente, se habrá agotado gravemente por la alimentación de alta densidad de la población de *Tyrollichus* durante todo el período de desarrollo.

35 Lo que queda se diluirá aún más mediante la introducción de partículas adicionales de vermiculita inerte, en el momento en que la dieta "muerta" se administra a una unidad depredadora de reinicio. Esta reducción en el material farináceo reduce el riesgo de infección por hongos.

3. Reducción de la HR de la sala de crianza.

40 Los Phytoseiidae, tienen una cutícula quitinizada gruesa, y poseen un sistema de respiración que regula la entrada de aire de la atmósfera, a diferencia de los ácaros astigmátidos que respiran a través de su piel muy delgada y por lo tanto son sensibles a los cambios de humedad. Esto permite que los depredadores vivan en una atmósfera mucho más seca que los Astigmata, ya que debido a que solo pueden intercambiar oxígeno a través de su cutícula (piel), necesitan condiciones de mayor humedad para sobrevivir y desarrollarse.

45 Esto significa que los depredadores pueden criarse en una atmósfera de HR del 75%, preferiblemente nunca más de 80%.

4. Adición de alimentos a la unidad de reinicio.

50 Una cantidad fresca de alimento, en forma de *Tyrollichus casei* muerto, se introduce en una unidad de inicio de depredadores, que por supuesto contendrá un número conocido de depredadores (contados como se describió anteriormente) más sustrato y un suministro de alimentos agotado, Y luego se deja desarrollar hasta la densidad requerida.

55 Empaquetamiento para la venta y entrega al propietario del cultivo.

60 Las unidades maduras, por ejemplo de *Typhlodromalus montderensis*, se enviarán al departamento de embalaje para su procesamiento. La concentración de depredadores por litro de sustrato (vermiculita y/o partículas de salvado) se ajustará según la tasa requerida de introducción en un cultivo particular para una especie de plaga particular. De manera similar, los contenedores en los que se colocan y entregan los depredadores varían según el destino y el uso final.

65 Características físicas y fisiológicas.

Las realizaciones preferidas de la presente invención se describen con más detalle a continuación. Estos son solo

algunos de los posibles ejemplos que están dentro del alcance de la presente invención y no deben interpretarse como limitantes de la presente invención.

5 Con respecto a estos ejemplos, se ha encontrado que esta especie raramente encontrada, *Tyrolichus casei*, proporciona ciertas ventajas que lo convierten en un huésped facticio preferido para el cultivo de depredadores fitoseidos. *Tyrolichus casei* proporciona ciertas ventajas sobre otras especies de huéspedes de uso frecuente, particularmente *Carpoglyphus lactis*, *Thyreophagus entomophagus* y *Tyrophagus putrescentiae*. Estas ventajas se discuten a continuación.

10 Tamaño corporal

El tamaño corporal de la especie *Tyrolichus casei* es mucho más grande que el de las otras tres especies huéspedes utilizadas con frecuencia mencionadas anteriormente, y en comparación con *C. lactis* y *T. putrescentiae* se mueve mucho más despacio, de modo que en un entorno muy abarrotado de un contenedor de cría perturba muy poco el equilibrio del depredador, lo que le permite alimentarse y reproducirse con poco impedimento.

15 Se ha demostrado que los depredadores provistos de *T. casei* como presa se alimentarán fácilmente en todas las etapas previas a la madurez, desde el huevo hasta la 2ª ninfa, así como a los adultos en algunos casos. Por lo tanto, la población de *T. casei* proporciona más nutrientes por unidad de presa en comparación con los otros tres huéspedes de astigmátidos mencionados anteriormente. Las diferencias en el tamaño corporal entre estas especies se comparan en la siguiente tabla que muestra los datos de Hughes (1976):

Tabla 1: tamaño corporal de diferentes especies de ácaros de presa.

Especie	longitud del cuerpo [µm]	
	Macho	Hembra
<i>T. casei</i>	450 - 550	500 - 700
<i>T. entomophagus</i>	300 - 450	450 - 600 (largo, delgado)
<i>C. lactis</i>	380 - 400	380 - 420
<i>T. putrescentiae</i>	280 - 350	320 - 415

25 Presas en equilibrio (proporción depredador/presa)

Como se mencionó anteriormente, la presa en equilibrio (relación depredador/presa) es crucial para la producción de un gran número de depredadores. Durante el ciclo de producción relacionado con la crianza del depredador, se involucran simultáneamente dos tipos muy diferentes de poblaciones. Cada una de estas poblaciones se está desarrollando al mismo tiempo, en el mismo contenedor, y ambas requieren comer para poder hacerlo. Dado que el huésped facticio es el suministro de alimentos para el depredador, es de gran importancia que, a medida que la población de depredadores crece, el número de individuos presa también debe aumentar a una velocidad predeterminada para mantener la proporción deseada de depredador/presa.

35 La introducción de una proporción inicial correctamente definida es crucial porque, si uno comienza en el inicio con una concentración demasiado alta de presas, esto dará finalmente una densidad de cuerpos que ahogará el desarrollo de los depredadores. A la inversa, si la concentración de presa es demasiado baja, hará que se mueran de hambre. Por lo tanto, la proporción de depredador a presa debe mantenerse durante todo el ciclo de producción del depredador, que suele ser de unos siete, a veces, diez días de duración.

40 Lo esencial para lograr este objetivo es la necesidad de configurar la relación inicial correctamente. Dado que las dos tasas de desarrollo serán invariablemente diferentes, el número real de adultos de las dos especies presentes deberá ser contado y los números ajustados de acuerdo con la tasa intrínseca de desarrollo conocida. Evaluar el primero y lograr el segundo es de gran importancia para cada combinación de depredador/presa y, especialmente, para una combinación tan nueva como es el objeto de la presente invención.

45 La configuración de una relación inicial incorrecta puede tener consecuencias graves. Por lo tanto, al inicio, el número de individuos (adultos y ninfas, solamente) debe determinarse para cada población por recuentos repetitivos. Estos se realizan utilizando la técnica de "cono y cuarteo" de Griffiths (1976). La técnica para evaluar las proporciones de depredador a presa requiere habilidad y concentración para llevarla a cabo adecuadamente.

50 El uso de *T. casei* tiene una clara ventaja sobre el uso de otras especies como, por ejemplo, *T. entomophagus*, que es el único huésped facticio favorecido que se utiliza actualmente en las producciones comerciales de *T. montdorensis*, debido al tamaño mucho mayor de *T. casei*, el aumento en el volumen nutritivo por cuerpo significa que se necesitan menos individuos para satisfacer los niveles de alimentación de los depredadores. Esto da como resultado un conteo y estimación más fáciles y rápidos de la proporción inicial correcta, así como una reducción significativa en los materiales.

Las relaciones iniciales que se prefieren para cultivar depredadores fitoseidos se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 2: Proporciones iniciales preferidas para el cultivo de depredadores fitoseidos.

Especies	Proporciones iniciales preferidas
T. casei	1:10 a 1:30 máx
T. entomophagus	1:50 a 1:100 máx

5 De lo anterior se deduce que durante una producción comercial que usa T. casei, se logrará una reducción de volumen de 5 veces cuando se compara con el uso de T. entomophagus. Esto es más beneficioso cuando se maneja y cuenta las poblaciones.

Una dieta sencilla

10 Los ensayos han demostrado una ventaja imprevista adicional de T. casei cuando se usan como presas para los depredadores fitoseidos: T. casei se desarrolla extremadamente bien en una dieta sencilla de copos de germen de trigo contenidas en el transportador de salvado esterilizado. Por lo tanto, en una realización preferida adicional del método para criar una composición de ácaro, la especie del género Tyrolichus se alimenta con germen de trigo y/o copos de germen de trigo. Esta dieta simple tiene la ventaja de que los trabajadores no tienen la tarea de producir mezclas complejas que pueden incluir frutas secas, cáscaras de trigo, harinas, mermeladas, azúcares especiales, etc., que a menudo se usan para proporcionar dietas para huéspedes facticios. (por ejemplo, como se describe en el documento EP 07789077).

20 Esta dieta sencilla elimina los problemas de los bultos pegajosos cuando se deben agregar azúcares al sustrato. Permite que la dieta se prepare rápidamente, incluso por personas no calificadas. Por lo tanto, los ahorros en tiempo y costos son posibles.

25 Además, la posibilidad de usar una dieta simple basada solo en germen de trigo ofrece una solución a algunos problemas para la cría de ácaros depredadores causados por la presencia de diferentes mezclas de alimentos:

- Primero, este alimento puede ser casi totalmente consumido y puede permanecer atractivo para el ácaro presa durante más tiempo. El uso de otras mezclas que contengan levadura y/o azúcar, mermelada de fruta seca, etc., favorece el desarrollo de bacterias y hongos.
- En segundo lugar, se pueden desarrollar poblaciones muy altas de T. casei utilizando cantidades mínimas de solo germen de trigo. Las densidades, en el rango de 40 a 60 millones de individuos por litro, se han alcanzado de manera rutinaria. Esta densidad de población es mucho mayor que la densidad de las poblaciones de T. entomophagus logradas en las producciones de EP 07789077.

35 Estas ventajas, junto con la necesidad de producir cantidades significativamente menores de T. casei para alimentar a los depredadores, dan como resultado un costo de producción considerablemente reducido.

Reducciones en los tiempos de desarrollo del huevo al adulto.

40 Otra ventaja considerable del uso de T. casei como presa es el tiempo de desarrollo acortado de huevo a adulto bajo el régimen de los parámetros físicos mantenidos en las salas de crianza a temperatura/humedad constante, en la dieta sencilla mencionada anteriormente. La siguiente tabla muestra una comparación de los tiempos de desarrollo para hembras de T. casei y T. montdorensis.

Tabla 3: Comparación de los tiempos de desarrollo para hembras de T. casei y T. montdorensis.

Especies	Tiempo desde huevo a huevo
T. casei	7-8 días
T. montdorensis	6-7 días

45 Tales tiempos de desarrollo cortos dan como resultado un ciclo de producción más corto. En experimentos de producción piloto, el tiempo de ciclo se ha reducido a siete días. En una realización preferida, la especie huésped tiene un tiempo de desarrollo de huevo a adulto y de huevo a huevo de 8 días o menos. En comparación con los datos descritos en el documento EP 07789077, donde se considera que el ciclo de producción óptimo para T. entomophagus/A. swirskii se extiende hasta 14 días. Esto proporciona ahorros significativos.

50 Además, los grandes ahorros en tiempo son vitales para la producción de volúmenes de ventas durante los períodos pico de plagas. Incluso en ausencia de un período máximo de plaga, el método de la presente invención permite un tiempo de producción más rápido y, al mismo tiempo, produce un gran número de depredadores fitoseidos.

55 Volúmenes de producción

Otra ventaja gratificante de usar T. casei como presa está relacionada con el tiempo de desarrollo acortado desde el huevo hasta el adulto. Como se muestra en los siguientes ejemplos, también los volúmenes de producción de



depredadores fitoseidos se incrementan significativamente al usar la especie *Tyrolichus casei* como la presa artificial.

Ejemplo 1

Una serie de cultivos que utilizan la combinación preferida de *T. montdorensis* y el huésped facticio *Tyrolichus casei* se configuraron siguiendo el sistema de crianza como se describió anteriormente.

Un ciclo de producción de 7 días proporcionó los siguientes resultados (Tabla 4):

Tabla 4: comparación del desarrollo de la población en diferentes unidades de cría después de un ciclo de producción de 7 días.

Unidad	Población inicial (Nº de adultos y ninfas/litro)	Población final (Nº de adultos y ninfas/litro)	Factor de aumento
1	128.000	435.200	3,40
2	128.000	396.800	3,10
3	128.000	422.400	3,30
4	153.600	384.000	2,50
5	153.600	358.400	2,33
6	153.600	409.600	2,67
7	128.000	435.200	3,40
8	128.000	396.800	3,10
9	128.000	345.600	2,70
10	140.800	409.600	2,91
11	140.800	409.600	2,91
12	140.800	422.400	3,00
13	115.200	396.800	3,44
14	115.200	371.200	3,22
15	115.200	448.000	3,89
16	128.000	422.400	3,30
17	128.000	396.800	3,10
18	128.000	371.200	2,90
19	115.200	448.000	3,89
20	115.200	409.600	3,56
21	115.200	435.200	3,78
Media total	129.829	405.943	3,16

El número medio total de individuos de *T. montdorensis* desarrollados después de 7 días es mucho más alto que las poblaciones de otras especies depredadoras descritas en las publicaciones anteriores.

Por ejemplo, en el documento EP 2 048 941 se logró un número promedio de 93.088 individuos por litro de *Amblyseius swirskii* usando la presa facticia *T. entomophagus*, y el número promedio de la misma especie depredadora fue de 70.625 individuos cuando se usó la presa facticia *C. lactis*.

Ejemplo 2

Se preparó un segundo ensayo piloto de producción para criar en masa a la especie depredadora *T. montdorensis* utilizando la presa facticia *T. casei*, según la metodología descrita en la presente invención, y la presa facticia *C. lactis*. En comparación con los resultados obtenidos utilizando *Carpoglyphus lactis*, los resultados preliminares que utilizan un ciclo de producción de 7 días con *T. casei* como huésped facticio muestran ventajas significativas.

En una realización preferida del método para criar una composición de ácaro, la composición de ácaro se divide cada 6 - 8 días, preferiblemente cada 7 días.

Como ejemplo, las poblaciones de *T. montdorensis* se dividieron cada 7 días en diferentes proporciones de acuerdo con el desarrollo de las poblaciones. Las poblaciones se criaron durante cuatro semanas (1, 2, 3 y 4). Al comienzo del ensayo, varias unidades maduras se mezclaron en un contenedor grande y luego el material se dividió en diferentes unidades iniciadoras, de modo que todas las unidades iniciadoras tenían las mismas densidades iniciales de las especies depredadoras, que eran 448.000 individuos de *T. montdorensis*/litro (antes de dividirse). La mitad de estas unidades se alimentaron con *T. casei* y la otra mitad con *C. lactis*. Las poblaciones que fueron alimentadas con *T. casei* se desarrollaron muy bien y, por lo tanto, se dividieron en tres cada semana.

Se ha encontrado que en una realización preferida del método para criar una composición de ácaros, la composición de ácaros se divide periódicamente por un factor de 2 - 4. En una realización preferida adicional del método para criar una composición de ácaros, la composición del ácaro se divide periódicamente por un factor de 2,5 - 3,5, más

preferiblemente por un factor de aproximadamente 3, incluso más preferiblemente por un factor de 3.

En el ejemplo descrito anteriormente, esto significa que el volumen total del alimento agregado para el ácaro presa, las poblaciones de presa y el sustrato fue el doble del volumen inicial antes de dividirse. Sin embargo, las poblaciones que fueron alimentadas con *C. lactis* solo se dividieron en 3 la primera semana y, debido a que las poblaciones no se desarrollaron adecuadamente, la proporción se redujo a 2,5, 2,5 y a 1 en las siguientes semanas 2, 3 y 4, respectivamente.

Los resultados obtenidos se presentan en las siguientes tablas (Tablas 5a - d):

Tabla 5a: Comparación del desarrollo de la población de *T. montdorensis* cuando se cría junto con la especie huésped *T. casei* o *C. lactis* después de la semana 1.

Semana 1			
Especies de presas	Nº de depredadores (K por litro)		Factor de aumento
	Recuento inicial	en la cosecha	
<i>T. casei</i>	149	435	2,92
<i>C. lactis</i>	149	332	2,23

Tabla 5b: Comparación del desarrollo de la población de *T. montdorensis* cuando se cría junto con la especie huésped *T. casei* o *C. lactis* después de la semana 2.

Semana 2			
Especies de presas	Nº de depredadores (K por litro)		Factor de aumento
	Recuento inicial	en la cosecha	
<i>T. casei</i>	145	474	3,27
<i>C. lactis</i>	133	256	1,92

Tabla 5c: Comparación del desarrollo de la población de *T. montdorensis* cuando se cría junto con la especie huésped *T. casei* o *C. lactis* después de la semana 3.

Semana 3			
Especies de presas	Nº de depredadores (K por litro)		Factor de aumento
	Recuento inicial	en la cosecha	
<i>T. casei</i>	158	489	3,09
<i>C. lactis</i>	102	77	0,75

Tabla 5d: Comparación del desarrollo de la población de *T. montdorensis* cuando se crían juntos con la especie huésped *T. casei* o *C. lactis* después de la semana 4.

Semana 4			
Especies de presas	Nº de depredadores (K por litro)		Factor de aumento
	Recuento inicial	en la cosecha	
<i>T. casei</i>	163	538	3,30
<i>C. lactis</i>	77	51	0,66

### Ejemplo 3

Los datos de los ensayos de producción piloto de acuerdo con la presente invención han demostrado que el uso de *T. casei* como el huésped facticio para criar a *Amblyseius andersoni* también produce un gran aumento en los volúmenes de producción. En comparación con los obtenidos con *Carpoglyphus lactis*, los resultados preliminares con un ciclo de producción de 7 días muestran ventajas significativas.

La metodología descrita en el ejemplo anterior (dos) se siguió utilizando poblaciones de la especie depredadora *Amblyseius andersoni* y las mismas dos especies que las especies de presas facticias, *T. casei* y *C. lactis*. Las poblaciones de este ácaro depredador se criaron durante cuatro semanas consecutivas y se dividieron cada 7 días. Al comienzo del ensayo, varias unidades maduras se mezclaron en un recipiente grande y luego el material se dividió en diferentes unidades de inicio, de modo que todas estas unidades de inicio tenían las mismas densidades iniciales de especies depredadoras, que eran 345.600 individuos de *A. andersoni*/litro (antes de dividirse).

La mitad de estas unidades se alimentaron con *T. casei* y la otra mitad con *C. lactis*. Las poblaciones que fueron alimentadas con *T. casei* se desarrollaron muy bien y se dividieron en un factor de 2,5 cada semana. Sin embargo, las poblaciones que fueron alimentadas con *C. lactis* solo se dividieron en 2,5 la primera semana y, debido a que las poblaciones no se desarrollaron adecuadamente, la proporción se redujo a 1,5, 1,2 y a 1 en las siguientes semanas 2, 3 y 4, respectivamente.

Los resultados obtenidos se presentan en las siguientes tablas (Tablas 6a - d):

Tabla 6a: Comparación del desarrollo de la población de *A. andersoni* cuando se cría junto con la especie huésped *T. casei* o *C. lactis* después de la semana 1.

Semana 1			
Especies de presas	Nº de depredadores (K por litro)		Factor de aumento
	Recuento inicial	en la cosecha	
<i>T. casei</i>	138	331	2,41
<i>C. lactis</i>	138	221	1,60

5 Tabla 6b: Comparación del desarrollo de la población de *A. andersoni* cuando se cría junto con la especie huésped *T. casei* o *C. lactis* después de la semana 2.

Semana 2			
Especies de presas	Nº de depredadores (K por litro)		Factor de aumento
	Recuento inicial	en la cosecha	
<i>T. casei</i>	133	346	2,60
<i>C. lactis</i>	147	206	1,40

Tabla 6c: Comparación del desarrollo de la población de *A. andersoni* cuando se cría junto con la especie huésped *T. casei* o *C. lactis* después de la semana 3.

Semana 3			
Especies de presas	Nº de depredadores (K por litro)		Factor de aumento
	Recuento inicial	en la cosecha	
<i>T. casei</i>	138	359	2,60
<i>C. lactis</i>	172	120	0,70

10 Tabla 6d: Comparación del desarrollo de la población de *A. andersoni* cuando se cría junto con la especie huésped *T. casei* o *C. lactis* después de la semana 4.

Semana 1			
Especies de presas	Nº de depredadores (K por litro)		Factor de aumento
	Recuento inicial	en la cosecha	
<i>T. casei</i>	144	345	2,40
<i>C. lactis</i>	120	64	0,53

Conclusiones

15 Tal como se ha mostrado anteriormente, la selección de la especie rara y rara vez encontrada de *Tyrolichus casei* como un nuevo huésped facticio ha proporcionado una serie de ventajas sorprendentes en comparación con los resultados obtenidos cuando se usan otros astigmátidos facticios. La combinación de todas las ventajas indicadas anteriormente no podría ser anticipada por un experto en la materia.

20 Es obvio que aún se puede mejorar el emparejamiento de un depredador fitoseido con ácaros de presa adecuados.

25 En este sentido, se considera que *T. casei* tiene el potencial, no solo para asociarse con éxito al depredador *T. montdorensis*, sino también a otras especies depredadoras. Los ensayos iniciales han demostrado que esta especie tiene el potencial de proporcionar producciones exitosas de *Amblyseius andersoni*, *A. swirskii*, *Neoseiulus cucumeris* y *N. californicus*.

30 Los ensayos iniciales han demostrado que esta especie también tiene el potencial de proporcionar producciones exitosas de *A. andersoni* y *Neoseiulus cucumeris*.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Una composición de ácaros que comprende una población de cría de una especie de ácaro depredador fitoseido, una especie huésped, en la que la especie huésped es *Tyrolichus casei*, y opcionalmente una fuente de alimento para la especie huésped, caracterizada porque la proporción para cultivar depredadores fitoseidos es 1:10 a 1:30 máximo o la especie huésped está muerta.
- 10 2. Una composición de ácaros de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque la especie de ácaro depredadora se selecciona de la familia Phytoseiidae, preferiblemente *Typhlodromalus montdorensis*.
- 15 3. Una composición de ácaros de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizada porque la especie de ácaro depredadora se selecciona de la familia Phytoseiidae, preferiblemente seleccionada del grupo que comprende la especie *Amblyseius andersoni*, *Amblyseius swirskii*, *Neoseiulus cucumeris* y *Neoseiulus californicus*.
- 20 4. Una composición de ácaros de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la fuente de alimento para la especie huésped comprende germen de trigo y/o copos de germen de trigo.
- 25 5. Una composición de ácaros de acuerdo con la reivindicación 4, caracterizada porque los copos de germen de trigo y/o de germen de trigo están en un transportador de salvado esterilizado.
- 30 6. Una composición de ácaros de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la composición de ácaros está dispuesta en unidades de crianza de tamaño manejable, cada una sellada con una gasa de malla de 45 a 50  $\mu\text{m}$  para permitir un intercambio de oxígeno.
- 35 7. El uso de la composición de ácaros de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores para controlar una plaga de cultivos.
- 40 8. Un método para criar una composición de ácaros que consiste en una población de cría de una especie de ácaro depredadora fitoseida, una especie huésped y, opcionalmente, una fuente de alimento para la especie huésped, caracterizada porque las especies de ácaros depredadores fitoseidos y la especie huésped *Tyrolichus casei* están dispuestas juntas en una unidad de crianza, en donde la proporción para cultivar depredadores fitoseidos es de 1:10 a 1:30 máximo o la especie huésped está muerta.
- 45 9. Un método para criar una composición de ácaro de acuerdo con la reivindicación 8, caracterizado porque la especie *Tyrolichus casei* está viva.
- 50 10. Un método para criar una composición de ácaro de acuerdo con la reivindicación 9, caracterizado porque la especie *Tyrolichus casei* se alimenta con germen de trigo y/o copos de germen de trigo.
- 55 11. Un método para criar una composición de ácaro de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 8 o 9, caracterizado porque la composición de ácaro se divide cada 5 - 15 días.
- 60 12. Un método para criar una composición de ácaro de acuerdo con la reivindicación 11, caracterizado porque la composición del ácaro se divide cada 6 - 8 días.
- 65 13. Un método para criar una composición de ácaros de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12, caracterizado porque la composición de ácaros se divide periódicamente por un factor entre 1 - 5.
14. Un método para criar una composición de ácaros de acuerdo con la reivindicación 13, caracterizada porque la composición de ácaros se divide periódicamente por un factor entre 2 - 4.

15. Un método para criar una composición de ácaros de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 14, caracterizada porque la composición de ácaros se cría en un ambiente físico de 75 a 85% de humedad relativa (HR) y una temperatura entre 21 y 25 °C.