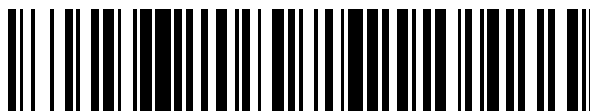


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 547 056**

51 Int. Cl.:

<b>A01N 51/00</b>	(2006.01)	<b>A01N 43/12</b>	(2006.01)
<b>A01N 53/00</b>	(2006.01)	<b>A01N 47/06</b>	(2006.01)
<b>A01N 63/00</b>	(2006.01)	<b>A01N 41/10</b>	(2006.01)
<b>A01P 3/00</b>	(2006.01)	<b>A01N 43/56</b>	(2006.01)
<b>A01P 5/00</b>	(2006.01)		
<b>A01P 7/04</b>	(2006.01)		
<b>A01N 47/40</b>	(2006.01)		
<b>A01N 47/22</b>	(2006.01)		
<b>A01N 47/24</b>	(2006.01)		
<b>A01N 43/90</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.04.2009 E 09731310 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.07.2015 EP 2259685**

54 Título: **Combinaciones de un agente de control biológico e insecticidas**

30 Prioridad:

**07.04.2008 US 123254 P**  
**18.08.2008 EP 08162554**

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

**01.10.2015**

73 Titular/es:

**BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH**  
**(100.0%)**  
**Alfred-Nobel-Strasse 10**  
**40789 Monheim am Rhein, DE**

72 Inventor/es:

**ANDERSCH, WOLFRAM;**  
**EVANS, PAUL HAWEN;**  
**SPRINGER, BERND;**  
**BUGG, KEVIN;**  
**RIGGS, JENNIFER y**  
**CHEN, CHI-YU ROY**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**Observaciones :**

**Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 547 056 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

Combinaciones de un agente de control biológico e insecticidas

La presente invención se refiere generalmente a composiciones y procedimientos para reducir el daño total y la pérdida de la salud, el vigor de la planta y el rendimiento causado por los nematodos y hongos parásitos de plantas. Más específicamente, la presente invención se refiere a composiciones que comprenden al menos un agente de control biológico beneficioso para la agricultura y al menos un agente de control de insectos así como a procedimientos para utilizar estas composiciones para el tratamiento de plantas y materia vegetal.

Los nematodos son gusanos microscópicos no segmentados conocidos por residir prácticamente en todo tipo de entornos (terrestres, de agua dulce, marinos). De las más de 80.000 especies, muchas son significativas para la agricultura, particularmente las que se clasifican como plagas. Una de dichas especies es el nematodo del nudo radicular que ataca a una amplia gama de plantas, arbustos y cultivos. Los nematodos nacidos en la tierra atacan a las raíces de nueva formación causando un retraso en el crecimiento, la tumefacción o la formación de agallas. Entonces pueden abrirse grietas en las raíces exponiendo a las raíces a otros microorganismos tales como las bacterias o los hongos. Con las prácticas ecológicas tales como la agricultura de labranza reducida o sin ella, y las diversas especies de nematodos que han adquirido resistencia a las semillas transgénicas, aparecen en el horizonte las pérdidas de cultivos relacionadas con los nematodos.

Los nematicidas químicos tales como los fumigantes del suelo o los no fumigantes se han usado durante muchos años para combatir las infestaciones de nematodos. Dichos nematicidas pueden requerir aplicaciones repetidas de agentes químicos sintéticos al terreno antes de la siembra. Debido a su toxicidad, los nematicidas químicos se han sometido al escrutinio de la Environmental Protection Agency (EPA) y en algunos casos su uso se ha limitado o restringido por la EPA. Como continúa la eliminación del uso de nematicidas químicos tradicionales tales como el bromuro de metilo y los organofosfatos, surge una necesidad de desarrollar opciones de tratamiento alternativas.

Un intento de abordar la necesidad es el uso de agentes de control biológico tales como bacterias, hongos, nematodos beneficiosos y virus. Hasta la fecha, sin embargo, se ha probado la ineficacia de dichos esfuerzos en gran medida desde un punto de vista comercial. Por lo tanto, existe la especulación en cuanto a una eficacia total de los tratamientos puramente biológicos en términos de mejorar el vigor de la planta y el rendimiento en regiones agrícolas que son favorables a la infestación por nematodos.

Se desvela un intento de mejorar la eficacia de los agentes de control biológico en el documento WO 2007/149817. Las composiciones y procedimientos desvelados en el documento WO 2007/149817, sin embargo, confían en combinaciones de al menos un agente de control biológico y al menos un nematicida, tal como la avermectina, en un intento de potenciar la protección de las plantas contra las plagas y los patógenos. Debido a que el modo de acción de un nematicida biológico puede ser distinto al de un nematicida químico, una combinación tal como esta puede mejorar la eficacia total del tratamiento, pero aún falla al abordar la toxicidad algo mayor del componente nematicida químico. Por lo tanto, sigue existiendo una necesidad de composiciones y procedimientos eficaces que no solamente utilicen componentes ecológicos, sino que los utilicen de tal modo que estos puedan proporcionar un vigor y un rendimiento vegetal aumentado sin el uso de un nematicida tradicional algo más tóxico tal como la avermectina.

Junto con las pérdidas de cultivos cada vez más frecuentes ocasionadas por nematodos parasitarios, también hay muchas pérdidas que pueden atribuirse como alternativa a enfermedades por hongos patógenos. Además de las modificaciones de los agentes químicos existentes y el desarrollo de nuevos compuestos eficaces o una combinación de agentes químicos, se están investigando el desarrollo y uso de fungicidas biológicos.

Como las bacterias nematicidas no siempre son completamente eficaces como productos independientes, las bacterias fungicidas tienden a funcionar mejor como un complemento en lugar de como un reemplazo de los agentes químicos tradicionales. La patente de EE.UU. 5.215.747 describe composiciones compuestas de *Bacillus subtilis* (un fungicida biológico) y fungicidas químicos para aumentar la protección total de las especies de hongos patógenos.

Se proporcionan composiciones que, en presencia de nematodos parasitarios de plantas y/o en condiciones de presión por enfermedad facilitada por especies de hongos patógenos, mejoran el vigor de la planta y el rendimiento combinando cantidades eficaces para la agricultura de al menos un agente de control biológico y al menos un agente de control de insectos. El agente de control biológico puede ser al menos una bacteria formadora de esporas con un beneficio agrícola probado e, idealmente, la capacidad de colonizar un sistema radicular de una planta. El agente de control de insectos puede ser al menos un insecticida químico que, teniendo o no una actividad nematicida o fungicida directa probada, posee la capacidad probada de aumentar la masa del sistema radicular de la planta a la que se aplica. Las composiciones de la presente invención tienen la ventaja de formularse bien en una composición sencilla estable con una vida útil aceptable para la agricultura o combinarse en el momento del uso (por ejemplo, mezcla en tanque).

Las composiciones de acuerdo con la invención están compuestas por el agente de control biológico, una espora de *Bacillus firmus* CNCM 1-1582 y al menos un agente de control de insectos seleccionado de clotianidina, imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, acetamiprid, metiocarb, tiodicarb, beta-ciflutrina, ciflutrina, deltametrina, teflutrina, emamectina-benzoato, avermectina, spiroadiclofen, spiromesifen, spirotetramat, flubendiamida, clorantraniliprol

(Rynaxypyr), Ciantraniliprol (Cyazapyr), y 4-[[[(6-cloropirid-3-il)metil](2,2-difluoretilamino)furano-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO2007/115644).

Además, las composiciones de acuerdo con la presente invención muestran grados sorprendentemente altos de actividad insecticida, nematocida, acaricida o fungicida en el tratamiento de plantas, partes de plantas o material de propagación de plantas, debido a un efecto sinérgico entre el agente de control biológico y los agentes de control de insectos o fungicidas, isoflavonas o inoculantes de la tierra descritos en la presente invención.

También se proporcionan procedimientos para tratar una semilla y/o una planta. El procedimiento comprende las etapas de (a) proporcionar una composición que comprende una cantidad eficaz del agente de control biológico, espora de *Bacillus firmus* CNCM 1-1582 y al menos un agente de control de insectos seleccionado de clotianidina, imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, acetamiprid, metiocarb, tiodicarb, beta-ciflutrina, ciflutrina, deltametrina, teflutrina, emamectina-benzoato, avermectina, spiroticlofen, spiromesifen, spirotetramat, flubendiamida, clorantraniliprol (Rynaxypyr), Ciantraniliprol (Cyazapyr), y 4-[[[(6-cloropirid-3-il)metil](2,2-difluoretilamino)furano-2(5H)-ona y (b) aplicar la composición a la planta. Las presentes composiciones pueden aplicarse de cualquier modo deseado, tal como en la forma de un recubrimiento de semillas, empapamiento de la tierra, y/o directamente en surcos y/o como un rociador foliar y aplicarse bien antes de la emergencia, después de la emergencia o de ambas formas. En otras palabras, la composición puede aplicarse a la semilla, la planta o el fruto de la planta o al suelo en el que crece la planta o en el que se desea que esta crezca.

El anterior y otros aspectos de la presente invención se explican con detalle en la descripción detallada y los ejemplos expuestos más adelante.

Se ha descubierto que las composiciones de la presente invención proporcionan un mayor grado de vigor de la planta y rendimiento en entornos infestados con nematodos y hongos de los que podrían esperarse de la aplicación bien del agente de control biológico o del agente de control de insectos solamente. Se ha mostrado que al menos parte de los agentes de control de insectos dentro del ámbito de la presente invención proporcionan una masa radicular aumentada incluso en ausencia de la presión de insectos, conduciendo dicha masa radicular aumentada a un establecimiento mejorado de las bacterias beneficiosas dentro de la rizosfera que, a su vez, reduce las pérdidas totales en el vigor y los rendimientos del cultivo ocasionadas bien por nematodos o por hongos parásitos. Junto con la combinación física de estos componentes mientras que se tratan las plantas y la materia vegetal, en una realización preferente de la invención, las composiciones de la presente invención se han formulado para proporcionar un entorno estable para los agentes de control biológico vivos tales como las bacterias formadoras de esporas colonizadoras de raíces. Pueden añadirse diversos aditivos a cada composición de la invención dependiendo de las propiedades deseadas para conseguir una formulación final que tenga la estabilidad física y química necesaria para producir un producto comercialmente viable. El agente de control biológico nematocida es al menos una espora de *B. firmus* CNCM I-1582 tal como se desvela en la patente de EE.UU. N° 6.406.690.

Las realizaciones particularmente preferentes de acuerdo con invención también son aquellas composiciones que comprenden mutantes de la espora de *B. firmus* CNCM 1-1582. Muy particularmente los mutantes que tienen actividad nematocida, insecticida o promotora del crecimiento vegetal. Más particularmente se prefieren los mutantes que tienen una actividad nematocida.

La cantidad de el al menos un agente de control biológico empleado en las composiciones puede variar dependiendo de la formulación final así como del tamaño o tipo de la planta o semilla utilizada. Preferentemente, el al menos un agente de control biológico en las composiciones está presente en una proporción del 1 % al 80 % en p/p de la formulación completa. Más preferentemente, el al menos un agente de control biológico empleado en la composición es del 5 % en p/p al 65 % en p/p y, más preferentemente, del 10 % en p/p al 60 % en p/p de la formulación completa.

Las composiciones de acuerdo con la presente invención además comprenden al menos un agente de control de insectos. En una realización preferente, el agente de control de insectos no tiene actividad nematocida o fungicida directa y no tiene actividad perjudicial contra el agente de control biológico utilizado, y preferentemente también tiene la capacidad añadida de aumentar la masa radicular tras la aplicación. En una realización alternativa, las composiciones pueden comprender al menos un compuesto químico adicional que muestre propiedades nematocidas o fungicidas. Dichas composiciones pueden ser útiles en las áreas geográficas que tienen poblaciones extremadamente altas de infestaciones de nematodos o para proporcionar actividad fungicida adicional contra la fuerte presión de la enfermedad por hongos. La planta o materia vegetal puede tratarse por separado o simultáneamente con el agente de control nematocida o fungicida adicional.

Los agentes de control de insectos adecuados de acuerdo con la invención son compuestos de los siguientes grupos (I1) a (I22):

Los principios activos especificados en esta descripción por su "nombre común" son conocidos, por ejemplo, a partir de "The Pesticide Manual", 13ª Ed., British Crop Protection Council 2003, y de la página Web <http://www.alanwood.net/pes-ticides>.

(I1) Inhibidores de Acetilcolinesterasa (IAC), seleccionados de los carbamatos: metiocarb y tiodicarb.

(13) Moduladores de canales de sodio/bloqueantes de canales de sodio dependientes de voltaje, seleccionados de los piretroides; beta-ciflutrina, ciflutrina y teflutrina.

(14) Agonistas/antagonistas del receptor nicotínico de acetilcolina, seleccionados de los cloronicotinilos; acetamiprid, clotianidina, imidacloprid, tiacloprid y tiametoxam.

5 (16) Activadores de canales de cloro, seleccionados de las mectinas/macrólidos; emamectina-benzoato y avermectina; bloqueantes de canales de sodio dependientes de voltaje, por ejemplo indoxacarb.

(119) Inhibidores de la biosíntesis de ácidos grasos, seleccionados de los derivados del ácido tetrónico, spirodiclofen y spiromesifen; o el derivado de ácido tetrámico, spirotetramat.

10 (121) Efectores del receptor de rianodina, seleccionados de las diamidas; flubendiamida, clorantraniliprol (Rynaxypyr), o Ciantraniliprol (Cyazypyr).

(122) Agente de control de insectos de mecanismo desconocido: 4-[[[(6-cloropirid-3-il)metil](2,2-difluoretil)amino]furan-2(5H)-ona conocido a partir del documento WO 2007/115644),

En una realización preferente, el agente de control de insectos se selecciona del grupo:

15 Clotianidina, imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, acetamiprid, metiocarb, tiodicarb, beta-ciflutrina, ciflutrina, deltametrina, teflutrina, emamectina-benzoato, avermectina, spirodiclofen, spiromesifen, spirotetramat, flubendiamida, clorantraniliprol (Rynaxypyr) o Ciantraniliprol (Cyazypyr).

En otra realización preferente, la 4-[[[(6-cloropirid-3-il)metil](2,2-difluoretil)amino]furan-2(5H)-ona se conoce a partir del documento WO 2007/115644),

20 Agentes de control de insectos particularmente preferentes son clotianidina, imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam y acetamiprid.

Un agente de control de insectos particularmente preferente es imidacloprid.

Otro agente de control de insectos particularmente muy preferente es tiacloprid.

Otro agente de control de insectos particularmente muy preferente es tiametoxam.

Otro agente de control de insectos particularmente muy preferente es acetamiprid.

25 El agente control de insectos más particularmente preferente es clotianidina.

La capacidad de los compuestos neonicotinoides para aumentar el crecimiento vegetal, incluyendo el desarrollo del sistema radicular, independientemente de su actividad pesticida se describe además en la Patente de EE.UU. 6.753.296.

30 En una realización alternativa, las composiciones de la invención opcionalmente incluyen un compuesto químico adicional con actividad nematocida directa para utilizarlo en combinación con el agente de control biológico y al menos uno de los agentes de control de insectos no nematocidas anteriormente enumerados. Los agentes de control de insectos nematocidas adecuados incluyen nematocidas antibióticos tales como abamectina; nematocidas de carbamato tales como benomilo, carbofurano, carbosulfano, y cloetocarb; carbamatos de oximas nematocidas tales como alanicarb, aldicarb, aldoxicarb, oxamilo, nematocidas organofosforados tales como diamidafós, fenamifós, fóstietano, fosfamidón, cadusafós, clorpirifós, diclofention, dimetoato, etoprofós, fensulfotion, fostiazato, heterofós, isamidofós, isazofós, metomilo, forato, fosfocarb, terbufós, tiodicarb, tionazina, triazofós, imiciafós y mecarfon. Otros agentes de control de insectos nematocidas incluyen acetoprol, benclotiaz, cloropicrina, dazomet, DBCP, DCIP, 1,2-dicloropropano, 1,3-dicloropropeno, furfural, yodometano, metam, bromuro de metilo, isotiocianato de metilo y xilenoles.

40 La cantidad del al menos un agente de control de insectos empleado en las composiciones puede variar dependiendo de la formulación final así como del tamaño de la planta o semilla a tratar. Preferentemente, el al menos un agente de control de insectos o fungicida está presente del 1 % en p/p al 80 % en p/p en basándose en la formulación completa. Más preferentemente, el agente de control de insectos o el fungicida está presente en una cantidad del 5 % en p/p al 60 % en p/p y más preferentemente del 10 % en p/p al 50 % en p/p.

45 Típicamente, la relación del agente de control biológico con respecto a un agente de control de insectos o un fungicida está en el intervalo de 100:1 y 1:100. Preferentemente, la relación está en el intervalo de 50:1 y 1:50. Estos intervalos de relaciones se basan en la asunción de que la preparación de esporas del agente de control biológico contiene 10<sup>11</sup>/g. Si las preparaciones de esporas varían en densidad, las relaciones tienen que adaptarse de acuerdo con esto para que coincidan con los intervalos de relaciones anteriormente enumerados. Una relación de  
50 100:1 significa 100 partes en peso de las preparaciones de esporas del agente de control biológico con respecto a 1 parte en peso del agente de control de insectos o fungicida.

Además, las composiciones de acuerdo con la presente invención contienen uno o más fungicidas. Estos fungicidas pueden seleccionarse de las listas (F1) a (F14):

- (F1) Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos, por ejemplo benalaxilo, benalaxilo-M, bupirimato, clozilacon, dimetirimol, etirimol, furalaxilo, himexazol, metalaxilo, metalaxilo-M, ofurace, oxadixilo y ácido oxolínico.
- 5 (F2) Inhibidores de la mitosis y la división celular, por ejemplo benomilo, carbendazim, clorfenazol, dietofencarb, etaboxam, fuberidazol, pencicuron, tiabendazol, tiofanato, tiofanatemetilo y zoxamida.
- (F3) Inhibidores de la respiración, por ejemplo diflumetorim como inhibidor de la respiración CI; bixafeno, boscalid, carboxina, fenfuram, flutolanilo, fluopiram, furametpir, furmeciclox, isopirazam (componente 9R), isopirazam (componente 9S), mepronilo, oxicarboxina, pentiopirad, tifulzamida como inhibidor de la respiración CII; amisulbrom, azoxistrobina, ciazofamida, dimoxistrobina, enestroburina, famoxadona, fenamidona, fluoxastrobina, Kresoxim-metilo, metominostrobin, orisastrobina, picoxistrobina, piraclostrobina, piribencarb, trifloxistrobina como inhibidor de la respiración CIII.
- 10 (F4) Compuestos capaces de actuar como un desacoplante, como por ejemplo binapacril, dinocap, fluazinam y meptildinocap.
- (F5) Inhibidores de la producción de ATP, por ejemplo acetato de fentina, cloruro de fentina, hidróxido de fentina y siltiofam.
- 15 (F6) Inhibidores de la síntesis de aminoácidos y/o proteínas, por ejemplo andoprim, blastidina-S, ciprodinilo, kasugamicina, clorhidrato de kasugamicina hidrato, mepanipirim y pirimetanilo.
- (F7) Inhibidores de la transducción de la señal, por ejemplo fenpiclonilo, fludioxonil y quinoxifeno.
- 20 (F8) Inhibidores de la síntesis de lípidos y membrana, por ejemplo bifenilo, clozolinato, edifenfós, etridiazol, yodocarb, iprobenfós, iprodiona, isoprotiolano, procimidona, propamocarb, clorhidrato de propamocarb, pirazoldos, tolclofosmetilo y vinclozolina.
- (F9) Inhibidores de la síntesis de ergosterol, por ejemplo aldimorph, azaconazol, bitertanol, bromuconazol, ciproconazol, diclobutrazol, difenoconazol, diniconazol, diniconazol-M, dodemorph, acetato de dodemorph, epoxiconazol, etaconazol, fenarimol, fenbuconazol, fenhexamida, fenpropidin, fenpropimorph, fluquinconazol, flurprimidol, flusilazol, flutriafol, furconazol, furconazol-cis, hexaconazol, imazalilo, sulfato de imazalilo, imibenconazol, ipconazol, metconazol, miclobutanilo, naftifina, nuarimol, oxpoconazol, paclobutrazol, pefurazoato, penconazol, piperalin, procloraz, propiconazol, protioconazol, piributicarb, pirifenox, quinconazol, simeconazol, espiroxamina, tebuconazol, terbinafina, tetraconazol, triadimefon, triadimenol, tridemorph, triflumizol, triforina, triticonazol, uniconazol, viniconazol y voriconazol.
- 25 (F10) Inhibidores de la síntesis de la pared celular, por ejemplo bentiavalicarb, dimethomorph, flumorph, improvalicarb, mandipropamid, polioxinas, polioxorim, protiocarb, validamicina A, y valifenal.
- (F11) Inhibidores de la biosíntesis de melanina, por ejemplo carpropatinid, diclocimet, fenoxanilo, ftalida, piroquilon y triciclazol.
- 30 (F12) Compuestos capaces de inducir una defensa del hospedador, como por ejemplo acibenzolar-S-metilo, probenazol y tiadinilo.
- (F13) Compuestos capaces de tener una acción de sitio múltiple, como por ejemplo mezcla de bordeaux, captafol, captan, clorotalonil, naftenato de cobre, óxido de cobre, oxiclورو de cobre, preparaciones de cobre tales como hidróxido de cobre, sulfato de cobre, diclofluanida, ditanon, dodina, base libre de dodina, ferbam, fluorofolpet, folpet, guazatina, acetato de guazatina, iminocadina, albesilato de iminocadina, triacetato de iminocadina, mancozeb, mancozeb, maneb, metiram, metiram-cinc, oxina-cobre, propamidina, propineb, azufre y preparaciones de azufre incluyendo polisulfuro de calcio, tiram, toliifluanida, zineb y ziram.
- 40 (F14) Compuestos adicionales como por ejemplo 2,3-dibutil-6-clorotieno[2,3-d]pirimidin-4(3H)-ona, (2Z)-3-amino-2-ciano-3-fenilprop-2-enoato de etilo, BYF 14182: (N-[2-(1,3-dimetilbutil)fenil]-5-fluoro-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida), N-[2-[1,1'-bi(ciclopropil)-2-il]fenil]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-1-metil-N-(3',4',5-trifluorobifenil-2-il)-1H-pirazol-4-carboxamida, 3-(difluorometil)-N-[4-fluoro-2-(1,1,2,3,3,3-hexafluoropropoxi)fenil]-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2E)-2-(2-[[6-(3-cloro-2-metilfenoxi)-5-fluoropirimidin-4-il]oxi]fenil)-2-(metoxiimino)-N-metiletanamida, (2E)-2-{2-[[{(2E,3E)-4-(2,6-diclorofenil)but-3-en-2-iliden]amino}oxi]metil}fenil)-2-(metoxiimino)-N-metiletanamida, 2-cloro-N-(1,1,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-inden-4-il)piridin-3-carboxamida, N-(3-etil-3,5,5-trimetilciclohexil)-3-(formilamino)-2-hidroxibenzamida, 5-metoxi-2-metil-4-(2-[[{(1E)-1-[3-(trifluorometil)fenil]etiliden]amino}oxi]metil}fenil)-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-ona, (2E)-2-(metoxiimino)-N-metil-2-(2-[[{(1E)-1-[3-(trifluorometil)fenil]etiliden]amino}oxi]metil}fenil)etanamida, (2E)-2-(metoxiimino)-N-metil-2-{2-[[{(E)-1-[3-(trifluorometil)fenil]etoxi]imino}metil]fenil}etanamida, (2E)-2-{2-[[{(1E)-1-(3-[[{(E)-1-fluoro-2-feniletetil]oxi]fenil]etiliden]amino}oxi]metil]fenil)-2-(metoxiimino)-N-metil-etanamida, 1-(4-
- 45
- 50

5 clorofenil)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-il)cicloheptanol, metil 1-(2,2-dimetil-2,3-dihidro-1H-in-den-1-il)-1H-imidazol-5-carboxilato, N-etil-N-metil-N'-(2-metil-5-(trifluorometil)4-[3-(trimetilsilil)propoxi]fenil)imidofornamida, N'-(5-(difluorometil)-2-metil-4-[3-(trimetilsilil)propoxi]fenil)-N-etil-N-metilimido-formamida, O-{1-[(4-metoxifenoxi)metil]-2,2-dimetilpropil} 1H-imidazol-1-carbotioato, N-[2-(4-{[3-(4-clorofenil)prop-2-in-1-il]oxi}-3-metoxifenil)etil]-N'-(metilsulfonil)valinamida, 5-cloro-7-(4-metilpiperidin-1-il)-6-(2,4,6-trifluorofenil)[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidina, 5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-tiol, propamocarb-fosetilo, 1-[(4-metoxifenoxi)metil]-2,2-dimetilpropil 1H-imidazol-1-carboxilato, 1-metil-N-[2-(1,1,2,2-tetrafluoroetoxi)fenil]-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxamida, 2,3,5,6-tetracloro-4-(metilsulfonil)piridina, 2-butoxi-6-yodo-3-propil-4H-cromen-4-ona, 2-fenilfenol y sales, 3-(difluorometil)-1-metil-N-[2-(1,1,2,2-tetrafluoroetoxi)fenil]-1H-pirazol-4-carboxamida, 3,4,5-tricloropiridina-2,6-dicarbonitrilo, 3-[5-(4-clorofenilo)-2,3-dimetilisoxazolidin-3-il]piridina, 3-cloro-5-(4-clorofenilo)-4-(2,6-difluorofenil)-6-metilpiridazina, 4-(4-clorofenil)-5-(2,6-difluorofenil)-3,6-dimetilpiridazina, quinolin-8-ol, sulfato de quinolin-8-ol (2:1) (sal), 5-metil-6-octil-3,7-dihidro[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidin-7-amina, 5-etil-6-octil-3,7-dihidro[1,2,4]triazolo[1,5-a]pirimidin-7-amina, bentiazol, betoxazina, capsimicina, carvona, quinometionat, cloroneb, cufraneb, ciflufenamida, cimoxanilo, ciprosumulfamida, dazomet, debacarb, diclorofeno, diclorometil, diclorometil, dicloran, difenozquat, metilsulfato de difenozquat, difenilamina, ecomat, ferimazona, flumetover, fluopicolida, fluoroimida, flusulfamida, flutianilo, fosetil-aluminio, fosetil-calcio, fosetil-sodio, hexaclorobenceno, irumamicina, isotianilo, metasulfocarb, metil (2E)-2-{2-[(ciclopropil[(4-metoxifenil)imino]metil]tio)metil]fenil}-3-metoxi-acrilato, isotiocianato de metilo, metrafenona, (5-bromo-2-metoxi-4-metilpiridin-3-il)(2,3,4-trimetoxi-6-metilfenil)-metanona, mildiomicina, tolnifanida, N-(4-clorobencil)-3-[3-metoxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]propanoamida, N-[(4-clorofenil)(ciano)metil]-3-[3-metoxi-4-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]propanoamida, N-[(5-bromo-3-cloropiridin-2-il)metil]-2,4-dicloropiridina-3-carboxamida, N-[1-(5-bromo-3-cloropiridin-2-il)etil]-2-fluoro-4-yodopiridina-3-carboxamida, N-[(Z)-[(ciclopropilmetoxi)imino][6-(difluorometoxi)-2,3-difluorofenil]metil]-2-fenilacetamida, N-[(E)-[(ciclopropilmetoxi)imino][6-(difluorometoxi)-2,3-difluorofenil]metil]-2-fenilacetamida, natamicina, dimetilditiocarbamato de níquel, nitrotal-isopropilo, octilinona, oxamocarb, oxifentiina, pentaclorofenol y sales, ácido fenazina-1-carboxílico, fenotrina, ácido fosforoso y sus sales, fosetilato de propamocarb, propanosina-sodio, proquinazid, pirrolnitrina, quintozeno, S-prop-2-en-1-il 5-amino-2-(1-metiletil)-4-(2-metilfenil)-3-oxo-2,3-dihidro-1H-pirazol-1-carbotioato, tecloftalam, tecnazeno, triazóxido, triclamida, 5-cloro-N'-fenil-N'-prop-2-in-1-iltiofeno-2-sulfonohidrazida y zarilamida.

30 En una realización preferente, los fungicidas se seleccionan de la siguiente lista: Azoxistrobina, Boscalid, BYF 14182: (N-[2-(1,3-dimetilbutil)fenil]-5-fluoro-1,3-dimetil-1H-pirazol-4-carboxamida), Carbendazim, Fenamidona, Fludioxonil, Fluopicolida, Fluoxastrobina, Fluquinconazol, Flutriafol, Ipconazol, Iprodiona, Isotianilo, Mefenoxam, Metalaxilo, Pencycuron, Procloraz, Protioconazol, Piraclostrobina, Pirimetanilo, Siltiofam, Tebuconazol, Tiram, Tolilfluánida, Triadimenol, Triazóxido, Trifloxistrobina, Triflumuron, Triticonazol.

35 En otra realización preferente, el fungicida es N-[2-[1,1'-bi(ciclopropil)-2-il]fenil]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida.

Los fungicidas más preferentes de acuerdo con la invención son: Fluoxastrobina, Ipconazol, Metalaxilo, Mefenoxam, Protioconazol, Piraclostrobina, Trifloxistrobina, BYF 14182, azoxistrobina.

Las combinaciones preferentes que comprenden el agente de control biológico y al menos un agente de control de insectos son las combinaciones (C1) o (C2) o cualquiera de (C1-9) a (C1-10):

40 (C1) Combinaciones en las que el agente de control biológico es una espora de CNM I-1582 y el agente de control de insectos se selecciona de la lista: Clotianidina, imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, acetamiprid, metiocarb, tiodicarb, beta-ciflutrina, ciflutrina, deltametrina, teflutrina, emamectina-benzoato, avermectina, spirodiclofen, spiromesifen, spirotetramat, flubendiamida, clorantraniliprol (Rynaxypyr) o Ciantraniliprol (Cyazypyr). 4-[[[6-4-[(6-cloropiridin-3-il)metil](2,2-difluoretil)amino]furan-2(5H)-ona conocida a partir del documento WO 2007/115644].

45 (C2) Combinaciones en las que el agente de control biológico es una espora de *Bacillus firmus* CNM I-1582 y el agente de selección de insectos se selecciona de la lista: Clotianidina, imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, acetamiprid, metiocarb, tiodicarb, beta-ciflutrina, ciflutrina, deltametrina, teflutrina, emamectina-benzoato, avermectina, spirodiclofen, spiromesifen, spirotetramat, flubendiamida, clorantraniliprol (Rynaxypyr) o Ciantraniliprol (Cyazypyr).

50 (C1-1) Combinaciones en las que el agente de control biológico es una espora de *Bacillus firmus* CNM I-1582 y el agente de control de insectos está compuesto por clotianidina.

(C1-2) Combinaciones en las que el agente de control biológico es una espora de *Bacillus firmus* CNM I-1582 y el agente de control de insectos está compuesto por imidacloprid.

55 (C1-3) Combinaciones en las que el agente de control biológico es una espora de *Bacillus firmus* CNM I-1582 y el agente de control de insectos está compuesto por clotianidina e imidacloprid.

(C1-4) Combinaciones en las que el agente de control biológico es una espora de *Bacillus firmus* CNM I-1582 y el agente de control de insectos está compuesto por clotianidina y  $\beta$ -ciflutrina.

(C1-5) Combinaciones en las que el agente de control biológico es una espora de *Bacillus firmus* CNCM I-1582 y el agente de control de insectos está compuesto por tiametoxam y teflutrina.

(C1-6) Combinaciones en las que el agente de control biológico es una espora de *Bacillus firmus* CNCM I-1582 y el agente de control de insectos está compuesto por clotianidina e imidacloprid.

5 (C1-7) Combinaciones en las que el agente de control biológico es una espora de *Bacillus firmus* CNCM I-1582 y el agente de control de insectos está comprendido bien por tiodicarb el imidacloprid o por tiodicarb y clotianidina.

(C1-8) Combinaciones en las que el agente de control biológico es una espora de *Bacillus firmus* CNCM I-1582 y el agente de control de insectos está comprendido bien por Clotianidina y fipronil o fipronil y ((STET)) imidacloprid.

10 (C1-9) Combinaciones en las que el agente de control biológico es una espora de *Bacillus firmus* CNCM I-1582 y el agente de control de insectos está compuesto por

a) clorantraniliprol y

15 b) imidacloprid o clotianidina o tiametoxam o tiacloprid o acetamiprid o nitenpiram o sulfoxaflor o uno de los compuestos seleccionados de la lista 4-[[[(6-bromopirid-3-il)metil](2-fluoretil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115644), 4-[[[(6-fluoropirid-3-il)metil](2,2-difluoretil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115644), 4-[[[(2-cloro-1,3-tiazol-5-il)metil](2-fluoretil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115644), 4-[[[(6-cloropirid-3-il)metil](2-fluoretil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115644), 4-[[[(6-cloropirid-3-il)metil](2,2-difluoretil)amino]furan-2(5H)-ona conocida a partir del documento WO 2007/115644), 4-[[[(6-cloro-5-fluoropirid-3-il)metil](metil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115643), 4-[[[(5,6-dicloropirid-3-il)metil](2-fluoretil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115646), 4-[[[(6-clor-5-fluoropirid-3-il)metil](ciclopropil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115643), 4-[[[(6-cloropirid-3-il)metil](ciclopropil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento EP-A-0 539 588), 4-[[[(6-cloropirid-3-il)metil](metil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento EP-A-0 539 588), [(6-cloropiridin-3-il)metil](metil)oxido- $\lambda^4$ -sulfan-ilidencianamida (conocido a partir del documento WO 2007/149134), [1-(6-cloropiridin-3-il)etil](metil)oxido- $\lambda^4$ -sulfanilidencianamida (conocido a partir del documento WO 2007/149134) y sus diastereómeros (A) y (B).

(C1-10) Combinaciones en las que el agente de control biológico es una espora de *Bacillus firmus* CNCM I-1582 y el agente de control de insectos está compuesto por

30 a) Ciantraniliprol

35 b) imidacloprid o clotianidina o tiametoxam o tiacloprid o acetamiprid, o nitenpiram o sulfoxaflor o uno de los compuestos seleccionados de la lista 4-[[[(6-bromopirid-3-il)metil](2-fluoretil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115644), 4-[[[(6-fluoropirid-3-il)metil](2,2-difluoretil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115644), 4-[[[(2-cloro-1,3-tiazol-5-il)metil](2-fluoretil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115644), 4-[[[(6-cloropirid-3-il)metil](2-fluoretil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115644), 4-[[[(6-cloropirid-3-il)metil](2,2-difluoretil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115644), 4-[[[(6-cloro-5-fluoropirid-3-il)metil](metil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115643), 4-[[[(5,6-dicloropirid-3-il)metil](2-fluoretil)amino]furan-2(5H)-ona (conocida a partir del documento WO 2007/115646), 4-[[[(6-cloro-5-fluoropirid-3-il)metil](ciclopropil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento WO 2007/115643), 4-[[[(6-cloropirid-3-il)metil](ciclopropil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento EP-A-0 539 588), 4-[[[(6-cloropirid-3-il)metil](metil)amino]furan-2(5H)-ona (conocido a partir del documento EP-A-0 539 588), [(6-cloropiridin-3-il)metil](metil)oxido- $\lambda^4$ -sulfan-ilidencianamida (conocido a partir del documento WO 2007/149134), [1-(6-cloropiridin-3-il)etil](metil)oxido- $\lambda^4$ -sulfanilidencianamida (conocido a partir del documento WO 2007/149134) y sus diastereómeros (A) y (B).

En una realización adicional, las composiciones desveladas en la presente invención pueden contener una isoflavona. Las isoflavonas son sustancias químicas de las plantas que se están presentes principalmente en miembros de la familia vegetal Leguminosae. Están basadas en una estructura de anillo difenólico sencillo tal como se describe por ejemplo por Carlson y col (1980) Journal of Chromatography 198,193-1 97 y la patente de EE.UU. N° 7033621, cuyos contenidos se incorporan mediante referencia. Los ejemplos de isoflavonas útiles en el componente (It) de la presente invención incluyen, pero sin limitación, genisteína, biochanina A, 10 formononetina, daidzeína, gliciteína, hesperetina, naringenina, chalcona, cumarina, Ambiol(2-metil-4-[dimetilaminometil]-5-hidro-, ascorbato y pratenseína y las sales y ésteres de las mismas. La formononetina; hesperetina, naringenina y sales, ésteres y mezclas de los mismos son isoflavonas preferentes.

55 En una realización preferente, se mezcla una isoflavona con las composiciones (C1), C(2), (C1-1) a (C1-10).

Una isoflavona especialmente preferente es la formononetina bien sea como una sal como el ácido libre.

En una realización adicional, las composiciones desveladas en la presente invención pueden contener un inoculante, en particular un inoculante de suelo. Son ejemplos de dichos inoculantes las bacterias del género *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Streptomyces*, *Burkholderia*, *Agrobacterium*, Endomicorrizas, Ectomicorrizas y Micorrizas Vesiculares-Arbusculares (VA).

- 5 En una realización preferente, se mezcla un inoculante con una de las composiciones (C1), C(2), (C1-1) a (C1-10).

La presente invención también proporciona procedimientos para tratar a una planta mediante la aplicación de una variedad de formulaciones personalizadas en una cantidad eficaz bien en la tierra (es decir, en surcos), una parte de la planta (es decir, empapado) o sobre la semilla antes de la siembra (es decir, recubrimiento o revestimiento). Las formulaciones personalizadas incluyen soluciones (SL), concentrados emulsionables (CE), polvos humedecibles (PH), concentrado de suspensión (CS y SF), polvos humedecibles (PH), polvos solubles (PS), gránulos (GR), concentrado de emulsión-suspensión (SE), materiales naturales y sintéticos impregnados con un compuesto activo y cápsulas de liberación controlada (LC) muy finamente en sustancias poliméricas. En una realización, el agente de control de insectos y el agente de control biológico se formulan en polvos que están disponibles bien en una formulación lista para usar o se mezclan conjuntamente en el momento del uso. En cualquiera de las realizaciones, puede mezclarse el polvo con la tierra antes de o en el momento de la siembra. En una realización alternativa, uno o ambos del agente de control biológico o del agente de control de insectos es una formulación líquida que se mezcla conjuntamente en el momento del tratamiento. Un experto habitual en la materia entiende que una cantidad eficaz de las composiciones de la invención depende de la formulación final de la composición así como del tamaño de la planta o el tamaño de la semilla a tratar. Dependiendo de la formulación final y del procedimiento de aplicación, pueden introducirse también uno o más aditivos adecuados en las presentes composiciones. Pueden añadirse a las presentes composiciones adhesivos tales como la carboximetilcelulosa y polímeros naturales y sintéticos en la forma de polvos, gránulos o látex, tales como la goma arábiga, quitina, alcohol polivinílico y acetato de polivinilo, así como fosfolípidos naturales, tales como las cefalinas y lecitinas, y fosfolípidos sintéticos.

En una realización preferente, las composiciones se formulan en una solución, o emulsión o suspensión sencilla estable. Para las soluciones, los compuestos químicos activos (es decir, el agente de control de insectos) se disuelven en disolventes antes de añadir el agente de control biológico. Los disolventes líquidos adecuados incluyen compuestos aromáticos a base de petróleo, tales como el xileno, tolueno o los alquilnaftalenos, hidrocarburos alifáticos, tales como ciclohexano o parafinas, por ejemplo fracciones del petróleo, aceites minerales y vegetales, alcoholes, tales como el butanol o el glicol así como sus éteres y ésteres, cetonas, tales como metil etil cetona, metil isobutilcetona o ciclohexanona, disolventes polares fuertes, tales como dimetilformamida y dimetilsulfóxido. Para la emulsión o suspensión, el medio líquido es agua. En una realización, el agente de control de insectos y el agente de control biológico se suspenden en líquidos separados y se mezclan en el momento de la aplicación. En una realización preferente de la suspensión, el agente de control de insectos y el agente de control biológico se combinan en una formulación lista para usar que muestra una vida útil de al menos dos años. En uso, el líquido puede rociarse o atomizarse en las hojas o en surcos en el momento de sembrar el cultivo. La composición líquida puede introducirse en la tierra antes de la germinación de la semilla o directamente en la tierra en contacto con las raíces utilizando una variedad de técnicas que incluyen, pero sin limitación, irrigación por goteo, aspersores, inyección en la tierra o empapado de la tierra.

Opcionalmente, pueden añadirse estabilizantes y tampones, incluyendo sales de metales alcalinos y alcalinotérreos y ácidos orgánicos, tales como el ácido cítrico y el ácido ascórbico, ácidos inorgánicos, tales como el ácido clorhídrico o ácido sulfúrico. También pueden añadirse biocidas y pueden incluir formaldehídos o agentes que liberan formaldehído y derivados de ácido benzoico, tales como el ácido p-hidroxibenzoico.

En una realización, las composiciones sólidas o líquidas además contienen agentes funcionales capaces de proteger a las semillas de los efectos nocivos de los herbicidas selectivos tales como el carbón activado, nutrientes (fertilizantes) y otros agentes capaces de mejorar la germinación y calidad de los productos o una combinación de los mismos.

En una realización particularmente preferente, las composiciones de la presente invención se formulan como un tratamiento de las semillas. El tratamiento de las semillas comprende al menos un agente de control de insectos y al menos un agente de control biológico. De acuerdo con la presente invención, las semillas se recubren sustancialmente de manera uniforme por una o más capas de las composiciones desveladas en el presente documento usando procedimientos convencionales de mezclado, rociado o una combinación de los mismos a través del uso de un equipo de aplicación del tratamiento que esté específicamente diseñado y fabricado para aplicar con precisión, seguridad y eficacia los productos de tratamiento de semillas a las semillas. Dicho equipo usa diversos tipos de tecnología de recubrimiento tal como revestidores rotatorios, revestidores de tambor, técnicas de lecho fluidificado, técnicas de lecho en surtidor, nieblas rotatorias o una combinación de los mismos. Los tratamientos líquidos de semillas tales como los de la presente invención pueden aplicarse bien por medio de un disco "atomizador" giratorio o una boquilla rociadora que distribuye uniformemente el tratamiento con semillas en la semilla a medida que se mueve a través del patrón de rociado. Preferentemente, este se mezcla con o cae sobre la semilla durante un periodo de tiempo adicional para alcanzar la distribución adicional del tratamiento y la desecación. Pueden tratarse o no tratarse las semillas antes que recubrirlas con las composiciones de la invención para aumentar la uniformidad de la germinación y la emergencia. En una realización alternativa, puede dosificarse una



formulación en polvo seco sobre la semilla en movimiento y permitir la mezcla hasta que se distribuya completamente.

Pueden recubrirse las semillas por medio de un proceso de recubrimiento semidiscontinuo o continuo. En una realización de recubrimiento continuo, el equipo de flujo continuo dosifica simultáneamente el flujo de semillas y los productos de tratamiento de semillas. Una compuerta, cono y orificio, rueda de semillas o dispositivo de pesada (cinta o derivadora) regula el flujo de semillas. Una vez que se determina el flujo de semillas a través del equipo de tratamiento, se calibra la velocidad de flujo de las semillas con respecto a la velocidad de flujo de semillas con el fin de suministrar la dosis deseada a la semilla mientras esta fluye a través del equipo de tratamiento de semillas. Adicionalmente, un sistema informatizado puede controlar la entrada de semillas en la máquina de recubrimiento, manteniendo de este modo un flujo constante de la cantidad apropiada de semilla.

En una realización de recubrimiento semidiscontinuo, el equipo de tratamiento semidiscontinuo pesa una cantidad prescrita de semillas y coloca la semilla en una cámara o pila de tratamiento cerrada en la que se aplica entonces la dosis de tratamiento de semillas correspondiente. Este lote se vierte a continuación, pero de la cámara de tratamiento en preparación para el tratamiento del siguiente lote. Con sistemas de control informatizados, este proceso en lotes se automatiza permitiendo que se repita constantemente el proceso de tratamiento en lotes.

En cualquier realización, la maquinaria de recubrimiento de semillas puede manejarse opcionalmente mediante un controlador lógico programable que permite que diversos equipos se inicien y se detengan sin la intervención del empleado. Los componentes de este sistema están comercialmente disponible a partir de varias fuentes tales como Gustafson Equipment of Shakopee, MN.

Pueden añadirse una variedad de aditivos a las formulaciones de tratamiento de semillas que comprenden las composiciones de la invención. Pueden añadirse aglutinantes y estos incluyen los compuestos preferentemente de un polímero adhesivo que puede ser natural o sintético sin ningún efecto fitotóxico sobre la semilla a recubrir. Puede emplearse cualquiera de una variedad de colorantes, incluyendo cromóforos orgánicos clasificados como nitroso, nitro, azo, incluyendo monoazo, bisazo y poliazos, difenilmetano, triarilmetano, xanteno, metina, acridina, tiazol, tiazina, indamina, indofenol, azina, oxazina, antraquinona y ftalocianina. Otros aditivos que pueden añadirse incluyen nutrientes traza tales como sales de hierro, manganeso, boro, cobre, cobalto, molibdeno y cinc. Puede aplicarse un polímero u otro agente de control del polvo para retener el tratamiento sobre la superficie de la semilla.

Otros aditivos convencionales del tratamiento de semillas incluyen, pero sin limitación, agentes de recubrimiento, agentes humectantes, agentes tampón y polisacáridos. Puede añadirse al menos un transportador aceptable para la agricultura a la formulación para el tratamiento de semillas tal como agua, sólidos o polvos secos. Los polvos secos pueden proceder de una variedad de materiales tales como el carbonato cálcico, yeso, vermiculita, talco, humus, carbón activado y diversos compuestos de fósforo.

En una realización, la composición de recubrimiento de semillas puede comprender al menos una carga que es un componente orgánico o inorgánico, natural o sintético, con el que se combinan los componentes activos para facilitar su aplicación sobre la semilla. Preferentemente, la carga es un sólido inerte tal como las arcillas, los silicatos naturales o sintéticos, sílice, resinas, ceras, fertilizantes sólidos (por ejemplo sales de amonio), minerales naturales de la tierra, tales como caolines, arcillas, talco, lima, cuarzo, atapulgita, montmorillonita, bentonita o tierras de diatomeas, o minerales sintéticos, tales como la sílice, aluminio o los silicatos, en particular los silicatos de aluminio o de magnesio.

Cualquier semilla vegetal capaz de germinar para formar una planta que sea susceptible al ataque por nematodos y/o hongos patógenos puede tratarse de acuerdo con la invención. Las semillas adecuadas incluyen aquellas de los cultivos de col, verduras, frutas, árboles, cultivos de fibras, cultivos de aceite, cultivos de tubérculos, café, flores, leguminosas, cereales, así como otras plantas de especies monocotiledóneas y dicotiledóneas. Preferentemente, las semillas de cultivo que se recubren incluyen, pero sin limitación, semillas de soja, cacahuete, tabaco, pastos, trigo, cebada, centeno, sorgo, arroz, colza, remolacha azucarera, girasol, tomate, pimiento, judía, lechuga patata, y zanahoria. Lo más preferentemente, se recubren semillas de algodón o maíz (dulce, de campo, semilla o de palomitas) con las presentes composiciones.

Las composiciones de acuerdo con la presente invención muestran inesperadamente un vigor de la planta y rendimiento total mejorado combinando cantidades eficaces para la agricultura de al menos un agente de control biológico ecológico y al menos un agente de control de insectos. Estos resultados inesperados se atribuyen a la combinación de las propiedades nematocidas y/o fungicidas del agente de control biológico y las propiedades potenciadoras de la masa radicular del agente de control de insectos.

Una ventaja adicional es el aumento sinérgico de la actividad insecticida y/o fungicida de los agentes de la invención en comparación con los compuestos activos respectivos, que se extiende más allá de la suma de la actividad de ambos compuestos activos aplicados individualmente. De este modo se hace posible una optimización de la cantidad de compuesto activo aplicado.

También se considerará ventajoso que las combinaciones de la invención puedan usarse también en particular con semillas transgénicas de modo que las plantas que emerjan de esta semilla sean capaces de expresar una proteína

dirigida contra plagas y patógenos. Mediante el tratamiento de dichas semillas con los agentes de la invención, ya pueden controlarse determinadas plagas y patógenos mediante la expresión de, por ejemplo, las proteínas insecticidas, y es adicionalmente sorprendente que se dé un efecto de complementación sinérgica con los agentes de la invención, lo que mejora aún más la eficacia de la protección de la infestación por plagas y patógenos.

5 Los agentes de la invención son adecuados para la protección de la semilla de variedades vegetales de todos los tipos, tal como ya se ha descrito, que se usan en agricultura, en invernaderos, en silvicultura, en la construcción de jardines o en viñedos. En particular, esto concierne a las semillas de maíz, cacahuate, canola, colza, amapola, olivo, coco, cacao, algodón de soja, remolacha, (por ejemplo remolacha azucarera y remolacha forrajera), arroz, mijo, 10 trigo, cebada, avena, centeno, girasol, caña de azúcar o tabaco. Los agentes de la invención también son adecuados para el tratamiento de la semilla de plantas frutales y verduras tal como se describe anteriormente. Una particular importancia está asociada al tratamiento de la semilla de maíz, soja, algodón, trigo y canola o colza. Por lo tanto, por ejemplo, la combinación del número (1) es particularmente adecuada para el tratamiento de la semilla de maíz.

15 Tal como ya se ha descrito, el tratamiento de la semilla transgénica con un agente de la invención es de particular importancia. Esto concierne a las semillas de las plantas que generalmente contienen al menos un gen heterólogo que controla la expresión de un polipéptido con propiedades insecticidas especiales. El gen heterólogo de la semilla transgénica puede originarse a partir de microorganismos tales como *Bacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Trichoderma*, *Clavibacter*, *Glomus* o *Gliocladium*. La presente invención es particularmente adecuada para el 20 tratamiento de una semilla transgénica que contiene al menos un gen heterólogo que se origina de *Bacillus* sp, y cuyo producto génico muestra actividad contra el barrenador del maíz y/o el gusano de la raíz del Maíz occidental. Se prefiere particularmente un gen heterólogo que se origina a partir de *Bacillus thuringiensis*.

25 Las esporas bacterianas sorprendentemente no solamente retienen sus propiedades nematocidas y/o fungicidas en presencia de un agente químico de control de insectos, sino que demuestran una capacidad potenciada para colonizar el sistema radicular de la planta. Esta capacidad potenciada conduce a la amplificación de su actividad nematocida y/o fungicida y, por lo tanto, el resultado es el vigor mejorado que, a su vez, da como resultado un rendimiento mejorado.

30 Las ventajas de la presente invención serán evidentes a partir de la descripción de los siguientes ejemplos no limitantes. Los siguientes ejemplos muestran simplemente una realización preferente de la presente invención. Tal como demuestran los siguientes ejemplos, las composiciones de acuerdo con la presente invención muestran un vigor de la planta y rendimiento total inesperadamente mejorado combinando cantidades eficaces para la agricultura de al menos un agente de control biológico ecológico y al menos un agente de control de insectos. Estos resultados inesperados se atribuyen a la combinación de las propiedades nematocidas y/o fungicidas del agente de control biológico y las propiedades potenciadoras de la masa radicular del agente de control de insectos. Tal como se 35 demuestra adicionalmente en los siguientes ejemplos, las esporas bacterianas sorprendentemente no solamente retienen sus propiedades nematocidas y/o fungicidas en presencia de un agente químico de control de insectos sino que demuestran una capacidad potenciada para colonizar el sistema radicular de la planta. Esta capacidad potenciada conduce a la amplificación de su actividad nematocida y/o fungicida y, por lo tanto, el resultado es el vigor mejorado que, a su vez, da como resultado un rendimiento mejorado.

### Ejemplo 1

40 Se diseñaron experimentos para ilustrar la capacidad de determinadas bacterias para colonizar los sistemas radiculares. En este experimento particular, tanto las semillas de algodón no tratadas como las semillas tratadas con esporas de *Bacillus firmus* (un nematocida biológico) se sembraron en un suelo esterilizado en autoclave para minimizar la flora natural. Se cosecharon las plántulas tres semanas más tarde. Usando agua estéril y un homogeneizador, se procesaron los sistemas radiculares para recuperar las bacterias.

45 Aunque todas las muestras contenían múltiples especies de bacterias, *B. firmus* solamente se aisló a partir de los sistemas radiculares que crecieron a partir de la semilla tratada. Este experimento ilustró que el *B. firmus*, cuando se utilizaba como un tratamiento de la semilla, era capaz de crecer y proliferar dentro de la rizosfera.

### Ejemplo 2

50 El experimento del Ejemplo 1 se llevó a cabo entonces con un procedimiento de recuperación alterado. En la cosecha, se enjuagaron la mitad de los sistemas radiculares de la semilla tratada en agua estéril durante 30 segundos y en lugar de usar un homogeneizador, se colocó el sistema radicular entero directamente en una placa de agar de soja triptico. De nuevo, no se recuperó *B. firmus* a partir de las muestras no tratadas y aunque se recuperó de los sistemas radiculares de las plantas no aclaradas que crecieron a partir de la semilla tratada, no fue consistentemente la especie de bacteria predominante recuperada. En los sistemas radiculares enjuagados sin embargo, *B. firmus* no solamente se recuperó, sino que resultó ser consistentemente la especie de bacteria 55 predominante. Este experimento ilustró que el *B. firmus*, cuando se utilizaba como un tratamiento de la semilla, no solamente era capaz de crecer y proliferar dentro de la rizosfera, sino que realmente era capaz de colonizar los sistemas radiculares. También se llevaron a cabo experimentos similares con otras bacterias beneficiosas para la

agricultura para probar la colonización de la raíz.

Para sostener adicionalmente que las bacterias recuperadas de los sistemas radiculares enjuagados de este experimento fue de la misma especie y cepa usada en el tratamiento original, se realizaron un análisis de 500 pares de bases de ADN y comparaciones de ARN. Los resultados de estos ensayos indicaron que las bacterias recuperadas no solamente eran de la misma especie, sino que tenían un patrón RiboPrint indistinguible de las bacterias usadas en el tratamiento de la semilla.

### Ejemplo 3

Se realizó un experimento para demostrar que las potenciaciones del sistema radicular se obtuvieron a través del uso de insecticidas neonicotinoides. En este experimento se trató la semilla de algodón con una base fungicida y uno de los tres insecticidas neonicotinoides de uso común: imidacloprid (vendido bajo la marca comercial GAUCHO 600@.375 mg de ia/semilla), clotianidina (vendido bajo la marca comercial PONCHO 600@.375 mg de ia/semilla), y tiometoxam (vendido bajo la marca comercial CRUIS-ER@.34 mg de ia/semilla).

TABLA 1

	Longitud (cm)	Área de Superficie (cm <sup>2</sup> )	Volumen (cm <sup>3</sup> )	P/H/C
<b>CTRL</b>	66,11 b	11,66 b	0,17 b	47,53 b
<b>Imidacloprid</b>	92,56 a	20,11 a	0,35 a	85,60 a
<b>Clotianidina</b>	88,11 a	16,77 a	0,29 a	93,93 a
<b>Tiometoxam</b>	95,01 a	17,43 a	0,28 a	77,17 a

15 CTRL significa control

Se plantaron cincuenta semillas de cada uno de los cuatro tratamientos. Las plantas crecieron en suelo convencional en una cámara de crecimiento cubierta de temperatura controlada y no experimentaron ninguna presión de enfermedad o de insectos significativa. Se cosecharon las plántulas 28 días después de la siembra y se analizaron usando el sistema de análisis radicular WinRhizo®. No hubo diferencias significativas en la germinación.

20 En la Tabla 1, se hizo una comparación de la Longitud, Área de Superficie, Volumen y las Puntas/Horquillas/Cruzamientos, a través del análisis de 40-45 plantas por tratamiento y mediante el promedio de 10 repeticiones poniendo entre paréntesis la mediana para cada categoría. Aunque hubo una variación tanto dentro de las categorías como dentro de los tratamientos, los resultados mostraron que todos los insecticidas neonicotinoides proporcionaron una respuesta de crecimiento estadísticamente significativa por encima del tratamiento base en cada una de las cuatro categorías basadas en la DMS (diferencia mínima significativa) y un margen de error del 5 %.

### Ejemplo 4

Se realizó el siguiente experimento para demostrar los beneficios nematocidas inesperados alcanzados combinando nematocidas biológicos con insecticidas neonicotinoides no nematocidas. Se sembraron las semillas de soja (Variedad - S2743-4RR) con un envase de fungicida base e imidacloprid (vendido bajo la marca comercial GAUCHO 600@ 62,5 mg de IA/100 kg), un nematocida biológico o una combinación de ambos. Se sembraron las semillas entonces en un suelo convencional y un suelo infestado con nematodos de los Quistes de Soja. Se cosecharon las plantas 28 días más tarde (~50 plantas / tratamiento / tipo de suelo) y se compararon sus alturas y mediante un análisis del sistema radicular WinRhizo® (longitud, área de superficie, volumen, puntas, horquillas y cruzamientos (P/H/C))

TABLA 2

	Longitud (cm)	Área de Superficie (cm <sup>2</sup> )	Volumen (cm <sup>3</sup> )	P/H/C	Altura (cm)	% de diferencia
<b>1) IN</b>	281,93	66,40	1,25	497,68	26,78	
<b>2) IN(NQS)</b>	167,41	44,51	0,97	283,90	19,09	52,52%
<b>3) NB</b>	339,82	80,01	1,52	681,73	27,90	
<b>4) NB (NQS)</b>	258,61	69,86	1,53	475,35	22,33	22,69%
<b>5) IN/NB</b>	315,53	74,92	1,43	587,70	26,01	

<b>6) IN/NB(NQS)</b>	337,09	69,21	1,17	550,55	24,14	7,81%
<b>1) IN - Insecticida Neonicotinoide 2) IN(NQS) - Insecticida Neonicotinoide con Nematodos de los Quistes de Soja, 3) NB - Nematicida Biológico, 4) NB(NQS) - Nematicida Biológico con Nematodos de los Quistes de Soja, 5) IN/NB - Insecticida Neonicotinoide y Nematicida Biológico, 6) IN/NB(NQS) - Insecticida Neonicotinoide y Nematicida Biológico con Nematodos de los Quistes de Soja,</b>						

La última columna de la Tabla 2 compara la diferencia porcentual total de cada uno de los tratamientos con la presión del nematodo de los quistes de soja. Las plantas con el insecticida solo fueron las peores, con retraso del crecimiento tanto por encima como por debajo de la tierra y una reducción promedio total del 53 %. El nematicida biológico mostró el control de nematodos que tenía una diferencia menor de la mitad de la diferencia porcentual al 23 %. El mejor tratamiento total contenía tanto el nematicida biológico como el insecticida y solamente tuvo un 8 % de diferencia en el desarrollo vegetal total.

Mientras que el insecticida solo no tiene un efecto nematicida directo, parece tener un impacto y potenciar la actividad nematicida del nematicida biológico.

**10 Ejemplo 5**

Existen muchos factores a tener en cuenta cuando se analizan los datos de rendimiento y los estudios comparativos pueden ser difíciles debido al hecho de que las condiciones ambientales y la presencia o ausencia de diversa(s) presione(s) de enfermedad/nematodo/insecto pueden fluctuar incluso dentro del mismo campo. Aunque exista variabilidad, examinando un conjunto de datos lo suficientemente grande, comienzan a emerger patrones.

La tabla 3 ilustra los promedios de 10 ensayos de campo en los que se comparó el rendimiento entre un fungicida químico control (base) y el tratamiento base con, un fungicida biológico, un insecticida neonicotinoide y una combinación tanto del fungicida biológico como del insecticida neonicotinoide. La Tabla 3 también incluye 7 ensayos de campo de un protocolo similar excepto porque estos ensayos se sembraron en áreas conocidas por la infestación con nematodos y se usó un nematicida biológico en lugar del fungicida biológico. Estos 17 ensayos incluyen los promedios de todos los datos recogidos a partir de estos dos protocolos en 2007.

**TABLA 3**

Promedio de 10 ensayos de campo con fungicida biológico en 2007			Promedio de 7 ensayos de campo con nematicida biológico en 2007		
	Rendimiento/B U	% de mejora		Rendimiento/B U	% de mejora
FC	60,84		FC	41,48	
FC/FB	60,82	-0,03%	FC/FB	42,81	3,10%
FC/IN	62,07	2,02%	FC/IN	42,27	1,91%
FC/IN	63,23	3,93%	FC/IN/NB	43,67	5,27%
FC = Fungicida Control, FB = Fungicida Biológico, NB = Nematicida Biológico, IN = Insecticida Neonicotinoide					

Usando una ecuación tomada a partir de la fórmula de Colby para la sinergia (descubierta en el artículo "Calculating Synergistic and Antagonistic Responses of Herbicide Combinations", por S. R. Colby, 11 de abril de 1966, Artículo Científico N° A 1271, Estación de Experimentación Agrícola de Maryland, Departamento de Agronomía, University of Maryland, College Park, Maryland), el aumento porcentual esperado en el rendimiento a partir de la combinación de los agentes de control biológico y los insecticidas neonicotinoideos (E) se calcula usando el aumento porcentual en el rendimiento obtenido a partir del uso de los agentes de control biológico solos (P1) y el aumento porcentual en el rendimiento obtenido a partir del uso del insecticida neonicotinoide solo (P2).

$$E = P1 + P2 - (P1(P2)/100)$$

Aplicando la ecuación a los ensayos anteriores, el aumento porcentual esperado para el tratamiento combinado en los ensayos con fungicidas habría sido del 1,99 % (sin embargo el aumento real fue del 3,93 %) y el aumento porcentual esperado del tratamiento combinado para los ensayos con nematicidas sería del 4,95 % (sin embargo el aumento real fue del 5,27 %).

**REIVINDICACIONES**

1. Una composición que comprende una espora de *Bacillus firmus* CNCM I-1582 y un agente de control de insectos, en la que el agente de control de insectos se selecciona de la lista: clotianidina, imidacloprid, tiacloprid, tiametoxam, acetamiprid, metiocarb, tiodicarb, beta-ciflutrina, ciflutrina, deltametrina, teflutrina, emamectina-benzoato, avermectina, spirodiclofen, spiromesifen, spirotetramat, flubendiamida, clorantraniliprol, o Ciantraniliprol 4-[[[6-cloropirid-3-il)metil](2,2-difluoretil)amino} furan-2(5H)-ona conocido a partir del documento WO 2007/115644).
2. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 que además comprende un fungicida.
3. Composiciones de acuerdo con la reivindicación 2 en las que el fungicida se selecciona de la lista Azoxistrobina Boscalid, BYF 14182, Carbendazim, Carboxina, Fenamidona, Fludioxonil, Fluopicolida, Fluoxastrobina, Fluquinconazol, Flutriafol, Iaconazol, Iprodiona, Isotianilo, Mefenoxam, Metalaxilo, Pencicuron, Procloraz, Protiocozonazol, Piraclostrobina, Pirimetanilo, Siltiofam, Tebuconazol, Tiram, Tolilfluanida, Triadimenol, Triazóxido, Trifloxistrobina, Triflumuron, Triticonazol.
4. Composiciones de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 3 que además comprende una isoflavona o un inoculante de la tierra.
5. Composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 que contiene además principios activos o agentes de control biológico.
6. Un procedimiento para el tratamiento que comprende aplicar una composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 a una semilla, planta o suelo en el que está creciendo una planta o en el que se desea que crezca una planta.
7. Una formulación de tratamiento de semillas que comprende la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5.
8. Una formulación de rociado para la aplicación por empapado en surcos que comprende la composición de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5.
9. Procedimiento de tratamiento de una planta, que comprende las etapas de proporcionar al menos una composición de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende
  - a) del 1 % en p/p al 80 % en p/p basándose en la formulación completa de los agentes de control de insectos, y
  - b) la relación de la bacteria formadora de esporas con respecto a los agentes de control de insectos o los fungicidas está en el intervalo de 50:1 a 1:100, basándose en una preparación de la bacteria formadora de esporas que contiene  $10^{11}$ /g,
 y aplicar la composición a la planta.
10. El procedimiento de la reivindicación 9, en el que la composición se aplica al suelo, a una semilla, fruto y/o una planta o una parte de una planta.
11. El procedimiento de la reivindicación 9, en el que la semilla se selecciona del grupo que consiste en semilla de soja, trigo, cebada, arroz, colza, remolacha azucarera, tomate, judía, zanahoria, algodón y maíz.
12. El procedimiento de la reivindicación 9, en el que la composición se aplica a una raíz de una planta.
13. El procedimiento de la reivindicación 9, en el que la composición se aplica al suelo antes de la germinación de la semilla y/o directamente al suelo en contacto con una raíz de una planta o en la que se desea que crezca una planta.