

MEZCLAS SINÉRGICAS *BACILLUS THURINGIENSIS SUBESPECIE AIZAWAI* Y *BACILLUS THURINGIENSIS SUBESPECIE KURSTAKI* PARA EL CONTROL DE LA POLILLA DORSO DE DIAMANTE, LA ORUGA MILITAR DE LA REMOLACHA, EL BARRENADOR DE LA CAÑA DE AZÚCAR, LA FALSA MEDIDORA DE LA SOJA, EL GUSANO DE LA MAZORCA DE MAÍZ, EL GUSANO FALSO MEDIDOR DE LA COL Y EL BARRENADOR DEL MAÍZ DEL SUDOESTE

CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La presente invención se relaciona en general con el uso de cantidades sinérgicas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* en el control de la polilla dorso de diamante, la oruga militar de la remolacha, el barrenador de la caña de azúcar, la falsa medidora de la soja, el gusano de la mazorca de maíz, el gusano falso medidor de la col y el barrenador del maíz del sudoeste.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0002] El orden Lepidóptera es un orden de insectos que incluye polillas y mariposas. Se estima que hay más de 174.000 especies de Lepidópteros, incluidas en alrededor de 126 familias. Las especies de Lepidópteros sufren una metamorfosis completa durante su ciclo de vida. Los adultos se aparean y ponen huevos. Las larvas que emergen de los huevos tienen un cuerpo cilíndrico y piezas bucales masticatorias. Las larvas pasan por varias etapas de crecimiento denominadas instares hasta que alcanza el instar terminal y luego se transforman en pupas o crisálidas. Después, las Lepidópteras emergen como mariposas o polillas adultas.

[0003] Si bien hay algunas especies de Lepidóptera que son considerados como organismos beneficiosos debido a su atractivo estético, muchas especies causan daños devastadores en los cultivos. Específicamente, las polillas dorso de diamante, las orugas militares de la remolacha, los barrenadores de la caña de azúcar, las falsas medidoras de la soja, los gusanos de la mazorca de maíz, los gusanos falsos medidores de la col y los barrenadores del maíz del sudoeste son especialmente problemáticos para los productores de cultivos.

[0004] Las polillas dorso de diamante (*Plutella xylostella*) constituyen una plaga ampliamente distribuida que se puede dispersar por grandes distancias. Las larvas de la polilla dorso de diamante comen las hojas, yemas, flores y semillas-yemas de las plantas crucíferas. Una infestación masiva puede eliminar por completo todo el tejido foliar de una planta dejando

tan solo las venas de las hojas. Aún una infestación ligera puede dar como resultado que un lote completo de productos sea inadecuado para la venta. En el pasado, las polillas dorso de diamante eran tratadas con una variedad de insecticidas que incluyen piretroides.

[0005] Las orugas militares de la remolacha (*Spodoptera exigua*) comprenden otra plaga ampliamente distribuida que es difícil de controlar. Las larvas son consumidores voraces que defoliar las plantas huésped. Los instares más viejos también pueden penetrar en el interior de las plantas. Los daños ocasionados en la planta huésped la vuelve imposibles de comercializar. Las orugas militares de la remolacha son plagas de numerosos tipos de cultivos.

[0006] Los barrenadores de la caña de azúcar (*Diatraea saccharalis*) atacan mayormente los cultivos de caña de azúcar y de maíz dulce, pero también pueden infestar otras plantas huésped. Las larvas penetran en los tallos de las plantas más viejas causando debilidad de la planta y su rotura o muerte. En las plantas más jóvenes, morirá el verticilo interno de las hojas y esto afectará los rendimientos. También es común la aparición de infecciones fúngicas secundarias como resultado de la predación de las semillas de la caña. Se han logrado algunos éxitos en el control de los barrenadores de la caña de azúcar con insecticidas pero se deben aplicar a las plantas antes que las larvas penetren en los tallos.

[0007] Las falsas medidoras de la soja (*Chrysodeixis includens*) son polillas que prevalecen en América del Norte y Sur. Las larvas de las falsas medidoras de la soja pueden causar un importante daño en el follaje lo que da como resultado pérdidas significativas del cultivo. Las falsas medidoras de la soja son difíciles de controlar con insecticidas. La infestación por las falsas medidoras de la soja se puede exacerbar después que un insecticida no selectivo elimina los ‘predadores naturales’ de las falsas medidoras de la soja.

[0008] Los gusanos de la mazorca de maíz (*Helicoverpa zea*) se han descrito como la plaga más costosa para los cultivos en los EE.UU.. Los gusanos de la mazorca de maíz son difíciles de controlar con insecticidas porque pueden penetrar al interior de las plantas y evitar así la exposición a las aplicaciones de insecticidas. Los gusanos de la mazorca de maíz tienen numerosos predadores naturales pero los predadores y los parasitoides solos no son eficaces para prevenir los daños en las plantas de cultivo mediante *Helicoverpa zea*.

[0009] Los gusanos falsos medidores de la col (*Trichoplusia ni*) constituyen una plaga destructiva de cultivos en América del Norte. Durante su etapa larval, pueden comer tres veces

su peso corporal de material vegetal por día. Una vez que se hayan establecido en un campo de cultivo, son difíciles de controlar.

[00010] Los barrenadores del maíz del sudoeste (*Diatraea grandiosella*) causan daños en los cultivos en los EE.UU. y Méjico. Se estima que los barrenadores del maíz del sudoeste causan millones de dólares de daños cada año. Las primeras larvas que emergen después la invernación se alimentan del verticilo de la planta y pueden causar una destrucción total de la planta (muerte del cogollo). La segunda generación que emerge cuando la estación de crecimiento está más avanzada se alimenta de las axilas foliares y finalmente penetrarán en los tallos lo cual puede causar estrangulamiento y también puede conducir a la muerte de la planta.

[00011] *Bacillus thuringiensis* es una bacteria natural del suelo. Muchas cepas de *Bacillus thuringiensis* producen proteínas cristalinas durante su esporulación que se denomina δ -endotoxinas que se pueden usar como insecticidas biológicos. Las subespecies *aizawai* y *kurstaki* de *Bacillus thuringiensis*, producen cristales que paralizan el sistema digestivo de algunas larvas en unos pocos minutos. Finalmente, las larvas morirán debido a los múltiples efectos perjudiciales por las interacciones de las toxinas con los tejidos intestinales de la plaga blanco. *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* se encuentra disponible comercialmente como XenTari® (disponible de Valent BioSciences Corporation, XenTari es una marca comercial registrada de Valent BioSciences Corporation). *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se encuentra disponible comercialmente como Dipel® (disponible de Valent BioSciences Corporation, Dipel es una marca comercial registrada de Valent BioSciences Corporation). Sympatico™ es un producto comercial que es una combinación de sólidos de fermentación, esporas y toxinas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* (también disponible de Valent BioSciences Corporation).

[00012] Una ventaja del uso de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* es que son específicas del blanco. No son perjudiciales para los humanos u otras especies distintas del blanco. Se ha observado con frecuencia que cuando las plantas son tratadas con un insecticida no selectivo, dicho insecticida también mata a los predadores naturales de otras plagas. Esto puede causar un efecto rebote en el insecto blanco o en otras especies de plagas oportunistas. Por ejemplo, después de aplicar un plaguicida no selectivo para matar los barrenadores del maíz, se podría producir una infestación por ácaros

araña porque dicho plaguicida no selectivo también mató a los predadores naturales de los ácaros araña.

[00013] Aún otra ventaja de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* es que se pueden usar en los cultivos orgánicos. Cuando no hay intervalos estipulados de precosecha, también se puede utilizar en los cultivos justo antes de la cosecha. Esto le proporciona a los productores orgánicos, quienes tienen pocas opciones para el control de plagas, una manera segura y eficaz para manejar las infestaciones por insectos que en última instancia podrían arruinar un cultivo completo.

[00014] Por lo tanto, existe la necesidad de maneras seguras y eficaces para controlar la polilla dorso de diamante, la oruga militar de la remolacha, el barrenador de la caña de azúcar, la falsa medidora de la soja, el gusano de la mazorca de maíz, el gusano falso medidor de la col y el barrenador del maíz del sudoeste. Estos métodos deberán ser fáciles de aplicar, tener una mayor eficacia y ser efectivas en cuanto al costo.

RESUMEN DE LA INVENCION

[00015] La presente invención está dirigida a métodos para controlar la polilla dorso de diamante (*Plutella xylostella*), la oruga militar de la remolacha (*Spodoptera exigua*), el barrenador de la caña de azúcar (*Diatraea saccharalis*), la falsa medidora de la soja (*Chrysodeixis includens*), el gusano de la mazorca de maíz (*Helicoverpa zea*), el gusano falso medidor de la col (*Trichoplusia ni*) y el barrenador del maíz del sudoeste (*Diatraea grandiosella*), que comprenden aplicar una cantidad sinérgica de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a una planta, en donde la relación de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es de entre aproximadamente 1:0,001 y aproximadamente 1:3,5.

DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

[00016] El Solicitante descubrió que el uso de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* en un rango de relaciones de entre aproximadamente 1:0,001 y aproximadamente 1:3,5 proporcionaba efectos sinérgicos inesperados contra especies

de Lepidópteros específicas. Esta sinergia era inesperada porque la respuesta al tratamiento era altamente específica de la especie e impredecible.

[00017] También es seguro utilizar las mezclas sinérgicas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* con plantas comestibles. Los componentes de las mezclas también son seguros para usar en las plantas comestibles cultivadas de manera orgánica. Además, los componentes de las mezclas son específicos del blanco y no representan un riesgo para los insectos o animales beneficiosos.

[00018] Otra ventaja de la presente invención es que la combinación de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* cumple con los principios del Manejo Integrado de Plagas [*Integrated Pest Management*] (IPM). La mezcla de la presente de dos especies de *Bacillus thuringiensis* expone a las larvas a un rango de toxinas más amplio. Esto significa que la mezcla de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se puede aplicar repetidamente durante la misma estación y año tras año con un riesgo mínimo de desarrollar resistencia.

[00019] Aún otra ventaja de la presente invención es que permite aplicar menos *Bacillus thuringiensis* a la planta. Por ejemplo, dentro de las dosis indicadas en la etiqueta, se pueden aplicar dosis subletales de cada uno para obtener una dosis letal y controlar las larvas. Esto representa un ahorro de costo significativo para el productor.

[00020] Una ventaja adicional es que *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* son específicos del blanco. Esto significa que los humanos y otros organismos, que no son el blanco – tales como los predadores naturales de la polilla dorso de diamante, la oruga militar de la remolacha, el barrenador de la caña de azúcar, la falsa medidora de la soja, el gusano de la mazorca de maíz, el gusano falso medidor de la col y el barrenador del maíz del sudoeste – no serán perjudicados por los métodos de la presente invención.

[00021] En una forma de realización, la presente invención está dirigida a métodos para controlar una plaga de una planta de cultivo seleccionada del grupo que consiste en polillas dorso de diamante (*Plutella xylostella*), orugas militares de la remolacha (*Spodoptera exigua*), barrenadores de la caña de azúcar (*Diatraea saccharalis*), falsas medidoras de la soja (*Chrysodeixis includens*), gusanos de la mazorca de maíz (*Helicoverpa zea*), gusanos falsos medidores de la col (*Trichoplusia ni*) y barrenadores del maíz del sudoeste (*Diatraea*

grandiosella), que comprenden aplicar una cantidad sinérgica de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a una planta, en donde la relación de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es de entre aproximadamente 1:0,001 y aproximadamente 1:3,5.

[00022] Según se usa en la presente, una “plaga de la planta de cultivo” solamente se refiere a polillas dorso de diamante (*Plutella xylostella*), orugas militares de la remolacha (*Spodoptera exigua*), barrenadores de la caña de azúcar (*Diatraea saccharalis*), falsas medidoras de la soja (*Chrysodeixis includens*), gusanos de la mazorca de maíz (*Helicoverpa zea*), gusanos falsos medidores de la col (*Trichoplusia ni*) y barrenadores del maíz del sudoeste (*Diatraea grandiosella*).

[00023] En una forma de realización preferida, la relación de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es de entre aproximadamente 1:0,01 y aproximadamente 1:3. En una forma de realización más preferida, la relación de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es de entre aproximadamente 1:0,1 y aproximadamente 1:2,5.

[00024] En otra forma de realización, la presente invención está dirigida a métodos para controlar una plaga de una planta de cultivo en donde la cantidad de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai/Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* es de entre aproximadamente 5 y aproximadamente 400 gramos por hectárea. En una forma de realización preferida, la cantidad de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai/Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* es de entre aproximadamente 10 y aproximadamente 350 gramos por hectárea. En una forma de realización más preferida, la cantidad de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai/Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* es de entre aproximadamente 25 y aproximadamente 300 gramos por hectárea.

[00025] En una forma de realización adicional, la presente invención está dirigida a métodos para controlar una plaga de una planta de cultivo en donde la cantidad de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai/Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* es de entre aproximadamente 7.000 y aproximadamente 200.000 UI/mg. En una forma de realización preferida, la cantidad de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai/Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* es de entre aproximadamente 20.000 y aproximadamente 170.000 UI/mg. En una forma de realización más

preferida, la cantidad de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*/*Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* es de entre aproximadamente 25.000 y aproximadamente 100.000 UI/mg.

[00026] En aún otra forma de realización, la presente invención está dirigida a métodos para controlar una plaga de una planta de cultivo en donde la cantidad total de *Bacillus thuringiensis* es de entre aproximadamente 1.000 y aproximadamente 100.000 U/mg de *Spodoptera*. En una forma de realización preferida, la cantidad de *Bacillus thuringiensis* es de entre aproximadamente 10.000 y aproximadamente 90.000 U/mg de *Spodoptera*. En una forma de realización más preferida, la cantidad de *Bacillus thuringiensis* es de entre aproximadamente 15.000 y aproximadamente 70.000 U/mg de *Spodoptera*.

[00027] Aunque en algunas formas de realización, las dosis de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se expresan en gramos/hectárea, UI/mg o U/mg de *Spodoptera*, la invención no se limita a estos métodos de medición de la potencia. Si se desarrollan o comercializan otros productos con otras mediciones de potencia, es propio del conocimiento de un especialista en el arte, basado en la enseñanza del Solicitante en la presente, convertir las dosis a cantidades eficaces consistentes con la presente invención divulgada aquí a fin de lograr un control sinérgico de la plaga blanco de la planta de cultivo.

[00028] Además, la presente invención no se limita a un tipo específico de formulación. Por ejemplo, en los ejemplos en la presente, se usaron polvos técnicos no formulados como fuente de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis kurstaki*. Sin embargo, se pueden usar formulaciones como fuentes de estos activos que incluyen, pero en un sentido no taxativo, suspensiones emulsionables, formulaciones de polvos humectables, gránulos dispersables en agua, gránulos fluidos secos y otros gránulos.

[00029] Las cepas adecuadas de la subespecie de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* incluyen, pero en un sentido no taxativo, VBTS-1857, GB413 y GC-91 y subespecies transconjugadas, recombinantes y/o manipuladas genéticamente de las mismas.

[00030] Los productos comerciales adecuadas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* incluyen, pero en un sentido no taxativo, XenTari[®] (indicado precedentemente, disponible de Valent BioSciences Corporation, XenTari es una marca comercial registrada de Valent BioSciences Corporation), Solbit (disponible de Green Biotech Company), Bacchus[®] (disponible de Certis, Bacchus es una marca comercial registrada de Certis USA, L.L.C.), Agree[®]

(disponible de Certis, Agree es una marca comercial registrada de Certis USA, L.L.C.), Jackpot[®] (disponible de Certis, Jackpot es una marca comercial registrada de Certis USA, L.L.C.) y Turex[®] (disponible de Certis, Turex es una marca comercial registrada de Certis USA, L.L.C.).

[00031] Las cepas de subespecies de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* adecuadas incluyen, pero en un sentido no taxativo, VBTS-2546, VBTS-2528, BMP-123, EG-2348, EVB113-19, HD-1, PB-54, SA-11, SA-12, SB4, Z-52, EG-7841, y subespecies transconjugadas, recombinantes y/o manipuladas genéticamente de las mismas.

[00032] Los productos comerciales adecuados *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* incluyen, pero en un sentido no taxativo, DiPel[®] (indicado precedentemente, disponible de Valent BioSciences Corporation, DiPel es una marca comercial registrada de Valent BioSciences Corporation), BMP 123 (disponible de Becker Microbials), Lepinox Plus (disponible de CBC Biogard), Rapax (disponible de CBC Biogard), Bioprotec 3P (disponible de AEF Global), Bacillus Chemia (disponible de Chemia), Biolarv (disponible de Agrimix), Bacillus Agrogen WP (disponible de Yaser Ltd), Merger/Belthirul (disponible de Probelte), Delfin[®] (disponible de Certis, Delfin es una marca comercial registrada de Certis USA, L.L.C.), Javelin[®] WG (disponible de Certis, Javelin es una marca comercial registrada de Certis USA, L.L.C.), Costar[®] (disponible de Certis, Costar es una marca comercial registrada de Certis USA, L.L.C.), Deliver[®] (disponible de Certis, Deliver es una marca comercial registrada de Certis USA, L.L.C.), BeTa Pro (disponible de BASF), Biolep (disponible de Biotech Internacional Ltd), Full-Bac WDG (disponible de Becker Microbial), Bacillus MiPeru WP (disponible de Manejos Integrados Peru SA), y Crymax[®] (disponible de Certis, Crymax es una marca comercial registrada de Certis USA, L.L.C.).

[00033] En una forma de realización adicional, la presente invención está dirigida a métodos para controlar una plaga de una planta de cultivo que comprenden aplicar una cantidad sinérgica de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*, en donde la relación de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* a *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* es de entre aproximadamente 1:0,001 y aproximadamente 1:3,5, y en donde la planta se selecciona del grupo que consiste en hortalizas de raíz y tubérculos, hortalizas de bulbo, hortalizas de hoja no brasicáceas, hortalizas de hoja brasicáceas, legumbres suculentas o secas, hortalizas de fruto, hortalizas cucurbitáceas, frutos cítricos, frutos pomáceos, frutos de hueso,

bayas y frutos pequeños, árboles de frutos secos, granos de cereales, pastos y heno para forraje y piensos, piensos para animales no herbáceos, hierbas, especias, flores, plantas de jardín, flores ornamentales, alcauciles, espárragos, café, algodón, frutos tropicales, lúpulos, taro, maní, granadas, vegetales oleaginosos, caña de azúcar, tabaco, césped y berro.

[00034] En otra forma de realización, la planta de cultivo está modificada genéticamente. Una planta de cultivo "modificada genéticamente" es aquella en la cual se han eliminado genes específicos, o se han modificado o se han agregado copias de genes adicionales de ADN nativo o extraño. El cambio en el ADN de la planta de cultivo puede dar como resultado cambios en el tipo o la cantidad de ARN, proteínas y/u otras moléculas producidas por la planta de cultivo que pueden afectar su respuesta a distintos tipos de estrés abiótico (por ejemplo, herbicidas) o biótico (por ejemplo, insectos) y/o pueden afectar su crecimiento, desarrollo o rendimiento.

[00035] En una forma de realización preferida, las hortalizas de raíz y tubérculos se seleccionan del grupo que consiste en arracacha, arrurruz, alcachofa china, alcachofa de Jerusalén, remolacha de jardín, remolacha azucarera, bardana comestible, canna comestible, zanahoria, yuca amarga, yuca dulce, apio, raíz de chayote, perifollo bulboso, achicoria, chufa, yam (taro), Ginseng, rábano picante, leren, perejil tuberoso, pastinaca, papa, rábano, rábano oriental, colinabo, salsifí, salsifí negro, salsifí español, escaravía, batata, tanier, cúrcuma, nabo, jicama, ñame verdadero y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[00036] En otra forma de realización preferida, las hortalizas de bulbo se seleccionan del grupo que consiste en hojas frescas de cebollín, hojas frescas de cebollín chino, lirio de día bulbosa, *Elegans hosta*, fritilaria bulbosa, hojas de corona fritilaria, ajo bulboso, ajo bulboso de cabeza grande, ajo bulboso de serpiente, kurrat, *Allium cernuum*, puerro, puerro silvestre, lirio bulboso, cebolla arracimada de Beltsville, cebolla de bulbo, cebolla de bulbo china, cebolla fresca, cebolla verde, cebolla macrostem, cebolla perlada, cebolla de bulbo patata, bulbo de papa, puntas verdes de cebolla de árbol, puntas verdes de cebollín de Welsh, echalote de bulbo, hojas frescas de echalote y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[00037] En una forma de realización adicional, las hortalizas de hoja no brasicáceas se seleccionan del grupo que consiste en espinaca china, amaranto, hojas de amaranto, rúcula (roquette), cardo, apio, apio chino, lechuga china, perifolio, crisantemo de hojas comestibles, crisantemo garland, hierba de los canónigos, berro de jardín, berro de tierras altas, diente de león,

hojas de diente de león, acederas (dique), endivia (escarola), hinojo de Florencia, lechuga de cabeza, lechuga de hoja, melisa, perejil, verdolaga de jardín, verdolaga de invierno, radicchio (achicoria roja), ruibarbo, espinaca, espinaca de Nueva Zelanda, espinaca de Malabar, acelga, tampala y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[00038] En otra forma de realización, las hortalizas de hoja brasicáceas se seleccionan del grupo que consiste en brócoli, brócoli chino (*gai lon*), brócoli rabi (*rapini*), repollitos de Bruselas, col, col chino (*bok choy*), col napa chino, brécol chino (*gai choy*), coliflor, brócoli de cavalo, berza, kale, colinabo, mostaza japonesa, hojas de mostaza, mostaza espinaca, hojas de colza y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[00039] En aún otra forma de realización, las legumbres de hortalizas suculentas o secas se seleccionan del grupo que consiste en habas *Lupinus*, habas *Phaseolus*, habas *Vigna*, porotos pallares (fava), garbanzo, guar, *Canavalia virosa*, frijol lablab, lenteja, arvejas *Pisum*, frijol guandú, poroto de soja, poroto de soja de semilla inmadura, frijol espada, maní y cultivares, variedades e híbridos de los mismos. En una forma de realización preferida, las habas *Lupinus* incluyen lupino de grano, altramuz dulce, altramuz blanco, altramuz blanco e híbridos de los mismos. En otra forma de realización preferida, las habas *Phaseolus* incluyen habas de campo, frijol riñón, poroto pallar, haba marina, frijol pinto, frijol corredor, judías verdes, frijol teparí, frijol de cera e híbridos de los mismos. En aún otra forma de realización preferida, las habas *Vigna* incluyen frijol de adzuki, frijol de espárrago, frijoles ojos negros, alubia catjang, ejote largo chino, chícharo de vaca, guisante sureño Crowder, frijol de polilla, poroto mung, frijol de arroz, chícharo salvaje, frijol urd, habichuela china e híbridos de los mismos. En otra forma de realización, las arvejas *Pisum* incluyen arveja enana, arveja de vaina comestible, guisante inglés, arveja de campo, arveja de jardín, habichuela verde, arveja china, chaucha japonesa e híbridos de los mismos. En una forma de realización preferida, la legumbre vegetal seca es poroto de soja. En una forma de realización más preferida, la legumbre vegetal seca es un poroto de soja modificado genéticamente.

[00040] En una forma de realización adicional, las hortalizas de fruto se seleccionan del grupo que consiste en tomate de arbusto, cocona, tomate grosella, hierba mora, cereza de goji, alquequenje, garra del diablo, naranjilla, okra, berenjena silvestre, pepino, pimientos, ajíes, roseta, tomate roseta Scout, berenjena, berenjena escarlata, berenjena africana, mora de sol,

tomatillo, tomate, tomate de árbol, y cultivares, variedades e híbridos de los mismos. En una forma de realización preferida, los pimientos incluyen pimientos morrones, guindilla, pimienta de cocina, pimientos, pimientos dulces e híbridos de los mismos.

[00041] En una forma de realización, las hortalizas cucurbitáceas se seleccionan del grupo que consiste en chayote, fruto del chayote, calabaza de cera (melón de conserva chino), sandía blanca, pepino, pepinillos, calabazas comestibles, especies de *Momordica*, melones amarillos, zapallos, calabazas de verano, calabazas de invierno, sandía, y cultivares, variedades e híbridos de los mismos. En una forma de realización preferida, las calabazas comestibles incluyen *hyotan*, cucuzza, hechima, okra china e híbridos de los mismos. En otra forma de realización preferida, las hortalizas de *Momordica* incluyen balsamina, pepinillo del diablo (*balsam pear*), melón amargo, pepino chino e híbridos de los mismos. En otra forma de realización preferida, el melón amarillo incluye cantalupo verdadero, cantalupo, casaba, melón Crenshaw, melón Pershaw dorado, melón rocío de miel, melón Honey ball, melón mango, melón persa, melón ananá, melón Santa Claus, melón serpiente e híbridos de los mismos. En aún otra forma de realización preferida, la calabaza de verano incluye calabaza de cuello curvo, calabaza aplanada, calabaza de cuello recto, médula vegetal (*Vegetable marrow*), calabacín e híbridos de los mismos. En una forma de realización preferida adicional, la calabaza de invierno incluye calabaza dulce, calabaza, calabaza tipo Hubbard, calabaza bellota, calabaza espagueti e híbridos de los mismos.

[00042] En otra forma de realización, los frutos cítricos se seleccionan del grupo que consiste en ñimas, calamondín, citrón, pomelo, pomelo de verano japonés, quinoto, limones, mandarina mediterránea, naranja amarga, naranja dulce, toronja, mandarina Satsuma, naranja tachibana, tangelo, mandarina tangerina, tangor, naranja trifoliada, *Uniq Fruit* y cultivares, variedades e híbridos de los mismos. En una forma de realización preferida, las limas se seleccionan del grupo que consiste en lima del desierto australiano, lima dedo australiano, lima redonda australiana, lima dedo del río Brown, lima blanca del monte, lima salvaje de Nueva Guinea, lima dulce, lima del río Russell, lima de Tahití e híbridos de los mismos.

[00043] En una forma de realización, los frutos pomáceos se seleccionan del grupo que consiste en manzana, azarole, manzana silvestre, níspero japonés, *mayhaw*, níspero, pera, pera

asiática, membrillo, membrillo chino, membrillo japonés, tejocote y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[00044] En otra forma de realización, los frutos de hueso se seleccionan del grupo que consiste en damasco, cereza dulce, cereza ácida, nectarina, durazno, ciruela, ciruela de arena, ciruela Damson, ciruela japonesa, ciruela-damasco, ciruela fresca y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[00045] En una forma de realización adicional, las bayas y los frutos pequeños se seleccionan del grupo que consiste en uva del río Amur, baya de aronia, arrayán, gayuba o uva de oso, mirtilo, zarzamora, arándano azul, arándano azul de arbusto bajo, arándano azul de arbusto alto, grosella búfalo, baya búfalo, fruto de che, guayaba chilena, cereza silvestre, cornijuelo, camemoro, arándano rojo, arándano rojo de arbusto alto, cassis, zarzaparrilla roja, sáuco, agracejo europeo, grosella espinosa, uva, madreselva comestible, hierba mora, grosella josta, zarza (Bayas de Saskatoon), arándano de montaña, flor de la pasión, bayas de pimienta de montaña, mora, arándanos australianos, grosella nativa, baya de perdiz, Falsa, cereza de fuego, frambuesa negra, frambuesa roja, clavo lilli pilli, salal, baya de Schisandra, bayas marítimas, baya de Saskatoon, frutilla, frambuesa silvestre y cultivares, variedades e híbridos de los mismos. En una forma de realización preferida, las zarzamoras incluyen la zarzamora andina, zarzamora ártica, *bingleberry*, mora satén negro, zarza de Boysen, mora, zarza de California, pimienta de los monjes, zarzamora Cherokee, zarzamora Cheyenne, zarzamora común, *coryberry*, *darrowberry*, *dewberry*, baya sin espinas de Dirksen, zarzamora siempre verde, bayas del Himalaya, *hullberry*, *lavacaberry*, baya de Logan, *lowberry*, baya de Lucrelia, zarzamora mamut, *marionberry*, mora, *Mures deronce*, *nectarberry*, *dewberry* del norte, *olallieberry*, baya siempre verde de Oregón, *phenomenalberry*, *rangeberry*, *ravenberry*, *rossberry*, zarzamora de Shawnee, *dewberry* del sur, *tayberry*, zarza de Young, zarzamora e híbridos de los mismos.

[00046] En otra forma de realización, los frutos secos de árboles se seleccionan del grupo que consiste en almendra, nuez de haya, nuez de Brasil, nuez blanca, castaña de cajú, castañas, castaña chinquapín, avellana (avellano de Lambert), nuez americana, nuez de macadamia, nuez de pecan, pistacho, nogal negro, nogal europeo, y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[00047] En una forma de realización adicional, los granos de cereales se seleccionan del grupo que consiste en cebada, alforfón, mijo perlado, mijo proso, avena, maíz, maíz de campo, maíz dulce, maíz de semilla, pochoclo, arroz, centeno, sorgo (milo), especies de sorgo, sorgo de grano, pasto Sudán (semilla), teosinte, triticale, trigo, arroz silvestre, y cultivares, variedades e híbridos de los mismos. En una forma de realización preferida, el grano de cereal es maíz. En una forma de realización más preferida, el grano de cereal es maíz modificado genéticamente.

[00048] En aún otra forma de realización, el forraje, pienso y heno de pasto se seleccionan del grupo que consiste en los pastos que son miembros de la familia *Graminaae* excepto la caña de azúcar y aquellas especies que están incluidas en el grupo de granos de cereales, pastos de pastura y prados y pastos cultivados para heno o ensilaje. En formas de realización adicionales, los pastos *Graminaae* pueden ser verdes o curados.

[00049] En una forma de realización, los piensos para animales no herbáceos se seleccionan del grupo que consiste en alfalfa, haba aterciopelada, trébol trifoliado, trébol dulce, kudzu, trébol japonés, lupino, pipirigallo, trébol común, algarroba, algarroba corona, astrágalo chino, y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[00050] En otra forma de realización, las hierbas y especias se seleccionan del grupo que consiste en pimienta de Jamaica, angélica, anís, semilla de anís, anís estrellado, semilla de achiote, bálsamo, albahaca, borraja, pimpinela, manzanilla, brotes de alcaparra, algaravea, algaravea negra, cardamomo, corteza de casia, yemas de casia, menta gatuna, semilla de apio, perifolio, cebollín, cebollín chino, canela, salvia esclarea, brotes de clavo, hojas de coriandro, semillas de coriandro, hierba de Santa María, hojas de culantro, semillas de culantro, hojas de cilantro, semillas de cilantro, comino, hierba de eneldo, semillas de eneldo, hinojo, hinojo común, semillas de hinojo de Florencia, fenogreco, granos del paraíso, marrubio, hisopo, bayas de enebro, lavanda, hierba limón, hojas de apio del monte, semillas de apio del monte, macís, caléndula, mejorana, menta, semillas de mostaza, capuchina, nuez moscada, perejil, menta poleo, pimienta negra, pimienta blanca, semillas de amapola, romero, ruda, azafrán, salvia, ajedrea de verano, ajedrea de invierno, laurel, hierba lombriguera, estragón, tomillo, vainilla, gaulteria, asperilla, ajeno, y cultivares, variedades e híbridos de los mismos. En una forma de realización preferida, las mentas se seleccionan del grupo que consiste en hierba buena, menta peperina e híbridos de los mismos.

[00051] En aún otra forma de realización, los alcauciles se seleccionan del grupo que consiste en alcachofa china, alcauciles de Jerusalén y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[00052] En una forma de realización, los frutos tropicales se seleccionan del grupo que consiste en anona, palta, kiwi marrón, kiwiño, banana, plátano, caimito, carambola (fruta de estrella), guayaba, ojo de dragón, sapodilla, papaya, fruta de la pasión, mango, lichi, jaca, fruta de dragón, mamey, coco, cherimoya, canistel, Monster, manzana de cera, granadas, rambután, pulasán, mora de Pakistán, langsát, chempedak, durián, higo, ananá, jaboticaba, manzana de montaña, ananá, y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[00053] En una forma de realización adicional, los vegetales oleaginosos se seleccionan del grupo que consiste en borraja, caléndula, planta de ricino oleaginoso, árbol de sebo, semillas de algodón, crambe, cufea, echium, euforbia, onagra, semilla de lino, camelina, oreja de liebre, mostaza, jojoba, lesquerella, planta de la plata, hierba de la pradera, algodoncillo, semilla de níger, rábano oleaginoso, semillas de amapola, escaramujo, sésamo, áster de Stokes, violeta de los jardines, eucalipto de sebo, planta de té oleaginosa, vermonia, canola, o colza oleaginosa, alazor, girasol, y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

[00054] Las cantidades sinérgicas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se pueden aplicar a las semillas, follaje o a un área donde se pretende cultivar las plantas.

[00055] Las cantidades sinérgicas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se pueden aplicar una vez o muchas veces durante la estación de crecimiento. Si *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se aplican más de una vez, la cantidad total aplicada no debería exceder una dosis anual máxima determinada por las agencias de protección ambiental o las dosis relevantes de las etiquetas.

[00056] Según se usa en la presente, una “planta” se refiere a por lo menos una planta y no a una población de plantas.

[00057] Según se usa en la presente, los términos “control” o “que controla” significan una disminución en la cantidad de daño ocasionado en las plantas por las larvas, una reducción en la población de la plaga, una interferencia con el desarrollo del ciclo de vida u otro efecto fisiológico o de comportamiento que resulta en la protección de las plantas.

[00058] Según se usa en la presente, todos los valores numéricos relativos a cantidades, porcentajes en peso y semejantes, se definen como “alrededor de” o “aproximadamente” cada valor particular, más o menos un 10%. Por ejemplo, la frase “por lo menos 5,0% en peso” se interpretará como “por lo menos entre 4,5% y 5,5% en peso”. Por ello, las cantidades dentro del 10% de los valores reivindicados están comprendidos dentro del alcance de las reivindicaciones.

[00059] Las formas de realización divulgadas son simplemente ejemplos de formas de realización de los conceptos de la invención que se divulga en la presente y no deben considerarse como limitantes, a menos que se defina de esa manera.

[00060] Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar la presente invención y ofrecer instrucciones a un especialista en el arte sobre la manera de elaborar y usar la invención. No pretenden ser limitantes en modo alguno.

EJEMPLOS

[00061] Los siguientes ejemplos ilustran la sinergia de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* (“Bta”) y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* (“Btk”) en el control de la polilla dorso de diamante, la oruga militar de la remolacha, el barrenador de la caña de azúcar, la falsa medidora de la soja, el gusano de la mazorca de maíz, el gusano falso medidor de la col y el barrenador del maíz del sudoeste. En los siguientes ejemplos se usaron polvos de grado técnico. En cada uno de los siguientes ejemplos, los estudios se condujeron de la siguiente manera.

[00062] Para estas pruebas, se emplearon métodos de inmersión foliar de laboratorio estandarizados para inocular el o los tratamientos en el material vegetal. Se colocaron hojas tratadas, secas, en cajas de Petri (100 x 25 mm) que contienen papel de filtro humectado con 500 µl de H₂O destilada (“dH₂O”). Luego se infestó cada caja de Petri con entre 5 y 10 larvas, dependiendo de la especie. Se tomaron puntajes de eficacia a intervalos específicos. Para cada prueba se calcularon los puntajes de sinergia.

Ejemplo 1: Polilla dorso de diamante

[00063] En este estudio, se observó la respuesta de larvas de la polilla dorso de diamante a cantidades sinérgicas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* (“Bta”) y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* (“Btk”). Los resultados de este estudio se muestran en la siguiente Tabla 1.

Tabla 1

	% de eficacia				
Tiempo después del tratamiento (h)	Control negativo de dH ₂ O	<i>Bta</i>	<i>Btk</i>	<i>Btk + Bta</i> (Relación 1:3,2)	Relación de sinergia
24	0	3	3	6	1,02
48	0	7	20	52	2,02

[00064] Como se puede observar en la Tabla 1, las mezclas de la presente invención proporcionaron un efecto más que aditivo. El Solicitante pudo determinar que esta respuesta era sinérgica mediante el uso de la siguiente fórmula: $\%C_{exp} = A + B - (AB/100)$.

[00065] $\%C_{exp} = A + B - (AB/100)$, donde $\%C_{exp}$ es la eficacia esperada y “en donde A y B son los niveles de control por el [insecticida] individual. Si la relación entre la eficacia observada experimentalmente de la mezcla *Cobs* y la eficacia esperada de la mezcla es mayor que 1, hay interacciones sinérgicas en la mezcla”. (Gisi, *Synergistic Interaction of Fungicides in Mixtures*, The American Phytopathological Society, 86: 11, 1273-1279, 1996). Según un abordaje conservador, el Solicitante determinará si hay presencia de sinergia a relaciones de $\geq 1,15$.

[00066] Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* a una concentración de 10 ppm (10 µg/ml). Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a una concentración de 3,125 ppm (3,125 µg/ml). La mezcla de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*/*Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se aplicó a una concentración de 10 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y 3,125 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*.

[00067] Una relación sinérgica que es indicativa de sinergia es este ensayo como un predictor de la sinergia que se observará en el campo a las dosis de campo normales (o a las dosis que se observan naturalmente a medida que los ingredientes activos son degradados en el

tiempo por exposición a lluvias, radiación UV y temperaturas extremas). Este ensayo se eligió por su capacidad para predecir con precisión los índices de mortalidad de las larvas en el campo.

[00068] Los resultados de este cálculo indicaron que la relación de sinergia era de 1,02 a las 24 horas y de 2,02 a las 48 horas. Dado que un hallazgo mayor que 1 es indicativo de sinergia (por Gisi, o aún $\geq 1,15$ por el Solicitante), la relación de 2,02 es sinérgica. Se demostró sinergia a una relación de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* de 1:3,2.

Ejemplo 2: Oruga militar de la remolacha

[00069] En este estudio, se observó la respuesta de larvas de la oruga militar de la remolacha a cantidades sinérgicas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*. Los resultados de este estudio se muestran en la siguiente Tabla 2.

Tabla 2

Tiempo después del tratamiento (h)	% de eficacia				
	Control negativo de dH ₂ O	<i>Bta</i>	<i>Btk</i>	<i>Btk + Bta</i> (Relación 1:3,2)	Relación de sinergia
24	0	0	7	10	1,43
48	0	0	7	17	2,43

[00070] Como se puede observar en la Tabla 2, las mezclas de la presente invención proporcionaron un efecto más que aditivo. El Solicitante pudo determinar que esta respuesta era sinérgica mediante el uso de la siguiente fórmula: $\%C_{exp} = A + B - (AB/100)$.

[00071] Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* a una concentración de 10 ppm (10 µg/ml). Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a una concentración de 3,125 ppm (3,125 µg/ml). La mezcla de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*/*Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se aplicó a una concentración de 10 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y 3,125 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*.

[00072] Los resultados de este cálculo indicaron que la relación de sinergia era de 1,43 a las 24 horas y de 2,43 a las 48 horas. Dado que un hallazgo mayor que 1 es indicativo de sinergia, las relaciones de 1,43 y superiores son sinérgicas. Se demostró sinergia a una relación de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* de 1:3,2.

Ejemplo 3: Gusano falso medidor de la col

[00073] En este estudio, se observó la respuesta de larvas del gusano falso medidor de la col a cantidades sinérgicas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*. Los resultados de este estudio se muestran en la siguiente Tabla 3.

Tabla 3

	% de eficacia				
Tiempo después del tratamiento (h)	Control negativo de dH ₂ O	<i>Bta</i>	<i>Btk</i>	<i>Btk</i> + <i>Bta</i> (Relación 1:3,2)	Relación de sinergia
24	0	0	0	3	n/d
48	0	3	3	16	2,71

[00074] Como se puede observar en la Tabla 3, las mezclas de la presente invención proporcionaron un efecto más que aditivo. El Solicitante pudo determinar que esta respuesta era sinérgica mediante el uso de la siguiente fórmula: $\%C_{exp} = A + B - (AB/100)$.

[00075] Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* a una concentración de 10 ppm (10 µg/ml). Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a una concentración de 3,125 ppm (3,125 µg/ml). La mezcla de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*/*Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se aplicó a una concentración de 10 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y 3,125 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*.

[00076] Los resultados de este cálculo indicaron que la relación de sinergia era de 2,71 a las 48 horas. Dado que un hallazgo mayor que 1 es indicativo de sinergia, la relación de 2,71 es

claramente sinérgica. Se demostró sinergia a una relación de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* de 1:3,2.

Ejemplo 4: Barrenador de la caña de azúcar

[00077] En este estudio, se observó la respuesta de larvas del barrenador de la caña de azúcar a cantidades sinérgicas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*. Los resultados de este estudio se muestran en la siguiente Tabla 4.

Tabla 4

Tiempo después del tratamiento (h)	% de eficacia				
	Control negativo de dH ₂ O	<i>Bta</i>	<i>Btk</i>	<i>Btk + Bta</i> (Relación 1:3,2)	Relación de sinergia
24	0	0	7	18	2,57
48	0	13	7	24	1,26

[00078] Como se puede observar en la Tabla 4, las mezclas de la presente invención proporcionaron un efecto más que aditivo. El Solicitante pudo determinar que esta respuesta era sinérgica mediante el uso de la siguiente fórmula: $\%C_{exp} = A + B - (AB/100)$.

[00079] Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* a una concentración de 10 ppm (10 µg/ml). Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a una concentración de 3,125 ppm (3,125 µg/ml). La mezcla de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*/*Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se aplicó a una concentración de 10 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y 3,125 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*.

[00080] Los resultados de este cálculo indicaron que la relación de sinergia era de 2,57 a las 24 horas y de 1,26 a las 48 horas. Dado que un hallazgo mayor que 1 es indicativo de sinergia, las relaciones de 1,26 y superiores son sinérgicas. Se demostró sinergia a una relación de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* de 1:3,2.

Ejemplo 5: Barrenador del maíz del sudoeste

[00081] En este estudio, se observó la respuesta de larvas del barrenador del maíz del sudoeste a cantidades sinérgicas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*. Los resultados de este estudio se muestran en la siguiente Tabla 5.

Tabla 5

	% de eficacia				
Tiempo después del tratamiento (h)	Control negativo de dH ₂ O	<i>Bta</i>	<i>Btk</i>	<i>Btk</i> + <i>Bta</i> (Relación 1:3,2)	Relación de sinergia
24	4	10	4	11	NS
48	4	14	18	18	NS

[00082] Como se puede observar en la Tabla 5, las mezclas de la presente invención proporcionaron un efecto más que aditivo. El Solicitante pudo determinar que esta respuesta era sinérgica mediante el uso de la siguiente fórmula: $\%C_{exp} = A + B - (AB/100)$.

[00083] Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* a una concentración de 10 ppm (10 µg/ml). Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a una concentración de 3,125 ppm (3,125 µg/ml). La mezcla de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*/*Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se aplicó a una concentración de 10 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y 3,125 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*.

[00084] Los resultados de este cálculo indicaron que no hubo sinergia a las 24 y a las 48 horas.

Ejemplo 6: Falsa medidora de la soja

[00085] En este estudio, se observó la respuesta de larvas de la falsa medidora de la soja a cantidades sinérgicas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*. Los resultados de este estudio se muestran en la siguiente Tabla 6.

Tabla 6

	% de eficacia				
Tiempo después del tratamiento (h)	Control negativo de dH ₂ O	<i>Bta</i>	<i>Btk</i>	<i>Btk + Bta</i> (Relación 1:2,5)	Relación de sinergia
24	0	7	4	21	1,96
48	0	14	8	41	1,96

[00086] Como se puede observar en la Tabla 6, las mezclas de la presente invención proporcionaron un efecto más que aditivo. El Solicitante pudo determinar que esta respuesta era sinérgica mediante el uso de la siguiente fórmula: $\%C_{exp} = A + B - (AB/100)$.

[00087] Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* a una concentración de 25 ppm (25 µg/ml). Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a una concentración de 10 ppm (10 µg/ml). La mezcla de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*/*Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se aplicó a una concentración de 25 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y 10 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*.

[00088] Los resultados de este cálculo indicaron que la relación de sinergia era de 1,96 a las 24 y a las 48 horas. Dado que un hallazgo mayor que 1 es indicativo de sinergia, la relación de 1,96 es sinérgica. Se demostró sinergia a una relación de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* de 1:2,5.

Ejemplo 7: Gusano de la mazorca de maíz

[00089] En este estudio, se observó la respuesta de larvas del gusano de la mazorca de maíz a cantidades sinérgicas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*. Los resultados de este estudio se muestran en la siguiente Tabla 7.

Tabla 7

	% de eficacia				
Tiempo	Control	<i>Bta</i>	<i>Btk</i>	<i>Btk + Bta</i>	Relación

después del tratamiento (h)	negativo de dH ₂ O			(Relación 1:2,5)	de sinergia
24	0	7	7	27	2,0
48	0	20	20	36	1,0

[00090] Como se puede observar en la Tabla 7, las mezclas de la presente invención proporcionaron un efecto más que aditivo. El Solicitante pudo determinar que esta respuesta era sinérgica mediante el uso de la siguiente fórmula: $\%C_{exp} = A + B - (AB/100)$.

[00091] Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* a una concentración de 25 ppm (25 µg/ml). Se aplicó *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a una concentración de 10 ppm (10 µg/ml). La mezcla de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*/*Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se aplicó a una concentración de 25 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* y 10 ppm de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*.

[00092] Los resultados de este cálculo indicaron que la relación de sinergia era de 2,0 a las 24 horas. Dado que un hallazgo mayor que 1 es indicativo de sinergia, la relación de 2,0 es sinérgica. Se demostró sinergia a una relación de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* de 1:2,5.

[00093] En resumen, se observó sinergia contra la polilla dorso de diamante, la oruga militar de la remolacha, el barrenador de la caña de azúcar, la falsa medidora de la soja, el gusano de la mazorca de maíz, el gusano falso medidor de la col y el barrenador del maíz del sudoeste.