

Señor  
**Director de la Dirección de Nuevas Creaciones**  
Superintendencia de Industria y Comercio  
Ministerio de Comercio, Industria y Turismo  
E. S. D.

Re.: Expediente No. **NC2017/0007120**  
Solicitud de Patente PCT entrada en Fase Nacional, para:  
**“FORMULACIONES COMBINADAS DE BACILLUS THURINGIENSIS  
SUBESPECIE KURSTAKI Y BACILLUS THURINGIENSIS SUBESPECIE  
AIZAWAI”**  
Solicitante: **VALENT BIOSCIENCES LLC**

## **RESPUESTA A REQUERIMIENTO DE REQUISITOS MÍNIMOS**

Yo, **MARGARITA CASTELLANOS ABONDANO**, mayor de edad, identificada y domiciliada como aparece al pie de mi firma, obrando en mi calidad de apoderada de la sociedad solicitante del asunto citado en la referencia, en atención a su oficio No. **10666** notificado el **26 de julio 2017**, atentamente me permito completar la documentación de la presente solicitud de patente.

Para este propósito adjunto los siguientes traducciones al idioma español documentos de la solicitud internacional PCT/US2016/013628.

- Descripción
- Reivindicaciones
- Resumen

Señor Director,



**Margarita Castellanos Abondano**  
C.C. No. **39.779.654** de Bogotá  
T.P.A. No. **70.819** del C.S.J.  
Calle 94A No. 7A-09 - Bogotá, D.C.  
Teléfono: 7560770

## FORMULACIONES COMBINADAS DE *BACILLUS THURINGIENSIS SUBESPECIE KURSTAKI* Y *BACILLUS THURINGIENSIS SUBESPECIE AIZAWAI*

### CAMPO DE LA INVENCION

**[0001]** La presente invención se relaciona en general con una formulación agronómica que comprende una cepa de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y una cepa de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* de gran potencia, en donde la relación en peso entre *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es entre aproximadamente 20:80 y aproximadamente 80:20. La presente invención también está dirigida a métodos para usar las formulaciones de la presente invención en el control de plagas de cultivos y a métodos de elaboración de la formulación de la presente.

### ANTECEDENTES DE LA INVENCION

**[0002]** *Bacillus thuringiensis* es una bacteria natural del suelo. Muchas cepas de *Bacillus thuringiensis* producen proteínas cristalinas durante su esporulación que se denominan  $\delta$ -endotoxinas que se pueden usar como un insecticida biológico. Las subespecies *kurstaki* y *aizawai* de *Bacillus thuringiensis* producen cristales que, luego de su ingesta, paralizan el sistema digestivo de algunas larvas en unos pocos minutos. Finalmente, las larvas mueren de inanición.

**[0003]** Una ventaja de usar las subespecies *kurstaki* y *aizawai* de *Bacillus thuringiensis* es que son seguras para humanos y para el medio ambiente. Dado que las subespecies *kurstaki* y *aizawai* de *Bacillus thuringiensis* son insecticidas específicos del blanco, no producen daños en humanos o en los insectos que no son el blanco. Además, las subespecies *kurstaki* y *aizawai* de *Bacillus thuringiensis* también se pueden usar 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.

**[0004]** Recientemente, se descubrió una cepa de gran potencia de *Bacillus thuringiensis*, la subespecie *kurstaki*. Esta cepa, 2546, provee por lo menos el doble de la cantidad de  $\delta$ -endotoxinas que otras cepas.

**[0005]** El orden Lepidóptera es un orden de insectos que incluye polillas o 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.

**[0006]** 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. Se ha informado que algunas especies de Lepidóptera desarrollaron resistencia a los insecticidas utilizados comúnmente, posiblemente como resultado de omitir la rotación de los procedimientos de control químico. Por lo tanto, existe la necesidad de formulaciones seguras y eficaces para el control de plagas de Lepidópteros. Estas formulaciones deberán ser fáciles de aplicar, tener una mayor eficacia, un riesgo reducido de índices de resistencia crecientes y ser efectivas en cuanto al costo.

#### RESUMEN DE LA INVENCION

**[0007]** En un aspecto, la presente invención está dirigida a formulaciones agronómicas que comprenden entre aproximadamente 10 y aproximadamente 40% p/p de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis*, y entre aproximadamente 60 y aproximadamente 90% p/p de un diluyente, en donde los sólidos de fermentación, las esporas y las toxinas insecticidas derivan de una cepa de gran potencia las subespecies *kurstaki* y *aizawai* de *Bacillus thuringiensis*, y la relación de pesos de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es de entre aproximadamente 20:80 y aproximadamente 80:20.

**[0008]** En otro aspecto, la presente invención está dirigida a métodos para usar las formulaciones de la presente invención en el control de plagas de cultivos.

**[0009]** En aún otro aspecto, la presente invención está dirigida a métodos de elaboración de las formulaciones de la presente invención.

## DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

**[00010]** El Solicitante ha creado inesperadamente una nueva formulación para un control eficaz de plagas de plantas de cultivo. El uso de una cepa de gran potencia es crítico para el éxito de las formulaciones porque si se usara una cepa *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* de baja potencia, las toxinas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* estarán demasiado diluidas después de su combinación con *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* para lograr los elevados índices de mortalidad deseados de la plaga blanco de las plantas de cultivo.

**[00011]** Además, las formulaciones del Solicitante incluyen un diluyente y un rango específico de *Bacillus thuringiensis* total que proporciona índices de eficacia superiores. El Solicitante no esperaba que las formulaciones de la presente invención pudieran proporcionar índices de mortalidad excelentes de numerosas especies de plantas de cultivo. Las formulaciones de la presente invención también son eficaces contra plagas que han desarrollado resistencia a un insecticida de uso común, tal como clorantraniliprol.

**[00012]** Las formulaciones del Solicitante proveen protección contra un rango más amplio de plagas de cultivos que la protección obtenida usando cualquiera de las cepas de *Bacillus thuringiensis* solas. Cada una de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* contiene diferentes perfiles de toxinas. Los nuevos métodos para combinar toxinas y esporas de ambas cepas en un solo producto le permitieron al Solicitante lograr una mayor eficacia con un mayor rango de larvas de Lepidópteros.

**[00013]** 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). Al combinar diferentes toxinas, y un amplio rango de toxinas, es muy poco probable que los insectos puedan expresar mutaciones de manera dominante que les permitan sobrevivir a todas las toxinas.

**[00014]** Aún otra ventaja de la presente invención es que requiere aplicar menos *Bacillus thuringiensis* total a las plantas. El productor no tendrá necesidad de pasar a los plaguicidas sintéticos biológicos alternativos lo cual resulta entonces en un ahorro de costo significativo para el productor.

**[00015]** Una ventaja adicional de las formulaciones de la presente invención es que tanto *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* como *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* son específicas

del blanco. Esto significa que los humanos y otros organismos que no son blancos, tales como los predadores naturales de las plagas blanco, no se verán perjudicados por los métodos de la presente invención.

**[00016]** En una forma de realización, la presente invención está dirigida a formulaciones agronómicas que comprenden entre aproximadamente 10 y aproximadamente 40% p/p de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis*, y entre aproximadamente 60 y aproximadamente 90% p/p de un diluyente, en donde los sólidos de fermentación, las esporas y las toxinas insecticidas derivan de una cepa de gran potencia las subespecies *kurstaki* y *aizawai* de *Bacillus thuringiensis*, y la relación de pesos de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es de entre aproximadamente 20:80 y aproximadamente 80:20.

**[00017]** En una forma de realización preferida, la cepa de gran potencia de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se selecciona del grupo que consiste en ABTS-351, VBTS-2528 y VBTS-2546. En una forma de realización más preferida, la cepa de gran potencia de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* es VBTS-2546.

**[00018]** Según se usa en la presente, una cepa de “gran potencia” de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se refiere a una cepa con una potencia expresada como la fermentación de cerveza en el momento de la cosecha de por lo menos 7500 IU/mg o con una potencia de lechada concentrada de por lo menos 28.000 UI/mg. El porcentaje de sólidos en los líquidos de fermentación que contienen  $\delta$ -endotoxinas (también conocidas como toxinas Cry), esporas, metabolitos solubles sinérgicos y proteínas solubles puede variar en un rango de entre aproximadamente 7% y 20% p/p dependiendo de la manera en que se recupera o concentra la cosecha de fermentación.

**[00019]** En otra forma de realización preferida, la relación de pesos de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es de entre aproximadamente 30:70 y aproximadamente 70:30. En una forma de realización más preferida, la relación de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es de

entre aproximadamente 55:45 y aproximadamente 65:35. En una forma de realización más preferida aún, la relación es de aproximadamente 60:40.

**[00020]** En otra forma de realización, las formulaciones contienen múltiples  $\delta$ -endotoxinas Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1C, Cry 1D y Cry 2Aa.

**[00021]** En aún otra forma de realización, la cantidad total de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis* en la formulación es de entre aproximadamente 15 y aproximadamente 35% p/p. En una forma de realización preferida, la cantidad total de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis* en la formulación es de entre aproximadamente 23 y aproximadamente 29% p/p.

**[00022]** En otra forma de realización, las formulaciones contienen entre aproximadamente 65 y aproximadamente 80% p/p de diluyente. En una forma de realización preferida, las formulaciones contienen entre aproximadamente 63 y aproximadamente 70% p/p de diluyente.

**[00023]** Los diluyentes adecuado incluyen aceite de maíz, aceite de soja, aceite de semillas de algodón, aceite de canola, aceite de palma, aceite de semillas metilado, aceite parafínico, isoparafinas, mezclas de aceites y glicoles, entre otros. Un diluyente preferido es el aceite parafínico.

**[00024]** En una forma de realización adicional, las formulaciones contienen un aditivo reológico. En una forma de realización preferida, las formulaciones contienen entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 2,5% p/p de un aditivo reológico. En una forma de realización más preferida, las formulaciones contienen entre aproximadamente 1 y aproximadamente 2% p/p de un aditivo reológico. En una forma de realización aún más preferida, las formulaciones contienen entre aproximadamente 1,2 y aproximadamente 1,8% p/p de un aditivo reológico.

**[00025]** Los aditivos reológicos adecuados incluyen arcilla hectorita organofílica, arcilla de montmorillonita modificada, arcilla de bentonita modificada y derivados del aceite de ricino (hidrogenados y/o modificados orgánicamente) entre otros. Un aditivo reológico preferido es la arcilla de montmorillonita modificada.

**[00026]** En aún otra forma de realización, las formulaciones contienen por lo menos un emulsionante. En una forma de realización preferida, las formulaciones contienen entre

aproximadamente 2 y aproximadamente 9% p/p de por lo menos un emulsionante. En una forma de realización más preferida, las formulaciones contienen entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7% p/p de por lo menos un emulsionante. En una forma de realización aún más preferida, las formulaciones contienen entre aproximadamente 5 y aproximadamente 6% p/p de por lo menos un emulsionante.

**[00027]** Los emulsionantes adecuados incluyen agentes tensioactivos no iónicos, aniónicos, catiónicos, anfotéricos y otros agentes tensioactivos poliméricos o sus mezclas. Preferiblemente, el emulsionante es no iónico porque es fácilmente soluble en el diluyente preferido, ayuda a estabilizar la suspensión, forma fácilmente emulsiones estables y no es fitotóxico para los cultivos. Los emulsionantes preferidos incluyen ésteres de ácidos grasos y poliol y derivados polietoxilados de los mismos y polisorbato 20.

**[00028]** En otra forma de realización, entre un 35 y un 50% p/p aproximadamente de los sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas totales son sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*. En una forma de realización preferida, entre un 38 y un 42% p/p aproximadamente de los sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas totales son sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*.

**[00029]** En una forma de realización adicional, entre un 55 y un 65% p/p aproximadamente de los sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas totales son sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*. En una forma de realización preferida, entre un 58 y un 62% p/p aproximadamente de los sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas totales son sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*.

**[00030]** En otra forma de realización, la presente invención está dirigida a métodos para controlar larvas de Lepidópteros que comprenden aplicar las formulaciones de la presente invención a una planta de cultivo. La formulación preferiblemente es adecuada para ser aplicada ya sea diluida con agua o con aceites. La formulación de la presente invención también se puede aplicar sola o en combinación con los plaguicidas de uso común, tales como clorantraniliprol, ciantraniliprol y espinosad (una mezcla de Syinossyn A y Syinossyn D).

**[00031]** En una forma de realización preferida, se aplican entre aproximadamente 5 y aproximadamente 600 gramos de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas combinadas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* por hectárea. En una forma de realización más preferida, se aplican entre aproximadamente 10 y aproximadamente 350 gramos de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas combinadas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* por hectárea. En una forma de realización más preferida aún, se aplican entre aproximadamente 25 y aproximadamente 300 gramos de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas combinadas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* por hectárea.

**[00032]** 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, DBMU/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.

**[00033]** Además, la presente invención no se limita a un tipo específico de formulación. Por ejemplo, en los ejemplos en la presente, se usó una suspensión emulsionable como fuente de *Bacillus thuringiensis kurstaki/Bacillus thuringiensis aizawai*. Sin embargo, se pueden usar otros tipos de formulaciones que incluyen, pero en un sentido no taxativo, formulaciones de polvos humectables, gránulos dispersables en agua, gránulos secos que fluyen y otros sistemas de suministro.

**[00034]** Las cepas adecuadas de la subespecie de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* incluyen, pero en un sentido no taxativo, VBTS-1857, GB413, GC-91 y cepas recombinantes, transconjugadas y modificadas.

**[00035]** Las formulaciones de la presente invención se pueden usar para controlar muchas plagas de cultivos diferentes. En el siguiente cuadro se enumeran varias plagas blanco de cultivos que son adecuadas para ser controladas con las formulaciones de la presente invención.

| Nombre común | Nombre científico |
|--------------|-------------------|
|--------------|-------------------|

| Nombre común                                       | Nombre científico                                                                                                         |
|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Mariposa esfinge de Achema (Gusano cornudo)        | <i>Eumorfa achemon</i>                                                                                                    |
| Oruga de alfalfa                                   | <i>Colias eurytheme</i>                                                                                                   |
| Polilla del almendro                               | <i>Caudra cautella</i>                                                                                                    |
| Polilla amorbia                                    | <i>Amorbia humerosana</i>                                                                                                 |
| Gusano militar                                     | <i>Spodoptera spp.</i> , por ejemplo <i>exigua</i> , <i>frugiperda</i> , <i>littoralis</i> , <i>Pseudaletia unipuncta</i> |
| Polilla del penacho del alcaucil                   | <i>Platyptilia carduidactyla</i>                                                                                          |
| Oruga de la azalea                                 | <i>Datana major</i>                                                                                                       |
| Gusano de bolsa                                    | <i>Thyridopteryx ephemeraeformis</i>                                                                                      |
| Polilla de la banana                               | <i>Hypercompe scribonia</i>                                                                                               |
| Saltarín de la banana                              | <i>Erionota thrax</i>                                                                                                     |
| Gusano capullero de cabeza negra                   | <i>Acleris gloverana</i>                                                                                                  |
| Gusano de flores                                   | <i>Epiglae apiata</i>                                                                                                     |
| Gusano del roble de California                     | <i>Phryganidia californica</i>                                                                                            |
| Oruga medidora                                     | <i>Paleacrita merriccata</i>                                                                                              |
| Gusano de los frutos del cerezo                    | <i>Grapholita packardi</i>                                                                                                |
| Polilla de la marca china                          | <i>Nymphula stagnata</i>                                                                                                  |
| Gusano cortador de los cítricos                    | <i>Xylomyges curialis</i>                                                                                                 |
| Polilla de la manzana                              | <i>Cydia pomonella</i>                                                                                                    |
| Oruga de los copos de algodón                      | <i>Helicoverpa zea</i>                                                                                                    |
| Gusano de los frutos del arándano                  | <i>Acrobasis vaccinii</i>                                                                                                 |
| Gusano de la col de rayas cruzadas                 | <i>Evergestis rimosalis</i>                                                                                               |
| Gusano cortador                                    | Varias especies de <i>Noctuide</i> , por ejemplo <i>Agrotis ipsilon</i>                                                   |
| Polilla dorso de diamante                          | <i>Plutella xylostella</i>                                                                                                |
| Polilla del montecillo de hierba del abeto Douglas | <i>Orgyia pseudotsugata</i>                                                                                               |
| Polilla esfinge (Gusano cornudo)                   | <i>Erinnyis ello</i>                                                                                                      |
| Gusano de la hoja del olmo                         | <i>Ennomos subsignaria</i>                                                                                                |
| Barrenador del maíz europeo                        | <i>Ostrinia nubilalis</i>                                                                                                 |
| Polilla de la uva europea                          | <i>Lobesia botrana</i>                                                                                                    |
| Saltarín europeo (Saltarín de Essex)               | <i>Thymelicus lineola</i>                                                                                                 |
| Oruga tejedora del otoño                           | <i>Melissopus latiferreanus</i>                                                                                           |
| Enrolladora de las hojas de Filbert                | <i>Archips rosanus</i>                                                                                                    |
| Gusano de fuego                                    | <i>Rhopobota naevana</i>                                                                                                  |
| Enrolladora de las hojas de los árboles frutales   | <i>Archips argyrospilia</i>                                                                                               |
| Polilla de las bayas                               | <i>Paralobesia viteana</i>                                                                                                |
| Enrolladora de las hojas del pomelo                | <i>Platynota stultana</i>                                                                                                 |
| Gusano cortador de la vid (suelo solamente)        | <i>Harrisina americana</i>                                                                                                |
| Gusano medidor                                     | <i>Mocus latipes</i>                                                                                                      |

| Nombre común                                | Nombre científico                                       |
|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------|
| Gusano del trébol verde                     | <i>Plathypena scabra</i>                                |
| Mariposa del arco de rayas verdes           | <i>Dryocampa rubicunda</i>                              |
| Polilla lagarta                             | <i>Lymantria dispar</i>                                 |
| Oruga de la polilla                         | <i>Phobetrion pitheciun</i>                             |
| Gusano de la cabeza                         | <i>Helicoverpa zea</i>                                  |
| Oruga medidora de la cicuta                 | <i>Lambdina fiscellaria</i>                             |
| Gusano cornudo                              | <i>Manduca spp.</i>                                     |
| Gusano de la col importado                  | <i>Pieris rapae</i>                                     |
| Polilla de la harina de la India            | <i>Plodia interpunctella</i>                            |
| Polilla ojo de venado                       | <i>Automeris io</i>                                     |
| Gusano capullero del pino Jack              | <i>Choristoneura pinus</i>                              |
| Polilla marrón claro del manzano            | <i>Epiphyas postvittana</i>                             |
| Gusano medidor                              | Varios Noctuidae, por ejemplo<br><i>Trichoplusia ni</i> |
| Gusano del melón                            | <i>Diaphania hyalinata</i>                              |
| Oruga tejedora de la mimosa                 | <i>Homadula anisocentra</i>                             |
| Enrolladora de las hojas de bandas oblicuas | <i>Choristoneura rosaceana</i>                          |
| Polilla de la adelfa                        | <i>Syntomeida epilais</i>                               |
| Enrolladora de las hojas omnívora           | <i>Platynota stultana</i>                               |
| Oruga medidora omnívora                     | <i>Sabulodes aegrotata</i>                              |
| Papilio gigante del naranjo                 | <i>Papilio cresphontes</i>                              |
| Polilla tortrix del naranjo                 | <i>Argyrotaenia citrana</i>                             |
| Polilla de los frutos oriental              | <i>Grapholita molesta</i>                               |
| Polilla ojo de búho                         | <i>Anthera poliphemus</i>                               |
| Barrenadota pequeña del durazno             | <i>Anarsia lineatella</i>                               |
| Barrenador de la nuez pecan                 | <i>Acrobasis nuxvorella</i>                             |
| Mariposa del pino                           | <i>Neophasia menapia</i>                                |
| Gusano de las vainas                        | <i>Helicoverpa zea</i>                                  |
| Oruga                                       | <i>Hemileuca oliviae</i>                                |
| Enrolladora de las hojas de bandas rojas    | <i>Argyrotaenia velutinana</i>                          |
| Oruga gibosa roja                           | <i>Schizura concinna</i>                                |
| Complejo de gusanos de las cáscaras         | Varios leps.                                            |
| Oruga de silla de montar                    | <i>Sibine stimulea</i>                                  |
| Oruga de silla de montar prominente         | <i>Heterocampa guttivitta</i>                           |
| Oruga salina                                | <i>Estigmene acrea</i>                                  |
| Oruga tejedora del césped                   | <i>Crambus spp.</i>                                     |
| Falsa medidora de la soja                   | <i>Pseudoplusia includens</i>                           |
| Gusano de las hojas                         | <i>Ennomos subsignaria</i>                              |
| Gusano de los frutos Sparganothis           | <i>Sparganothis sulfureana</i>                          |
| Oruga medidora de primavera y otoño         | <i>Paleacrita vernata</i> y <i>Alsophila pometaria</i>  |
| Gusano capullero del abeto                  | <i>Choristoneura fumiferana</i>                         |
| Oruga de las tiendas                        | Varios Lasiocampidae                                    |
| Basilides tecla-tecla (Geyr)                | <i>Thecla basilides</i>                                 |

| Nombre común                                                                                 | Nombre científico            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|
| Gusano capullero del tabaco                                                                  | <i>Heliothis virescens</i>   |
| Gusano cornudo del tabaco                                                                    | <i>Manduca sexta</i>         |
| Polilla del tabaco                                                                           | <i>Ephestia elutella</i>     |
| Gusano de los frutos del tomate                                                              | <i>Helicoverpa zea</i>       |
| Polilla copetuda de los brotes del manzano                                                   | <i>Platynota idaeusalis</i>  |
| Barrenadora pequeña                                                                          | <i>Anarsia lineatella</i>    |
| Vaquita                                                                                      | <i>Oisphanes sp</i>          |
| Gusano cortador variegado                                                                    | <i>Peridroma saucia</i>      |
| Enrolladora de las hojas variegada                                                           | <i>Platynota flavedana</i>   |
| Oruga medidora de la soja                                                                    | <i>Anticarsia gemmatalis</i> |
| Oruga del nogal                                                                              | <i>Datana integerrima</i>    |
| Oruga tejedora                                                                               | <i>Hyphantria cunea</i>      |
| Polilla de matas de hierbas del oeste                                                        | <i>Orgyia vetusta</i>        |
| Barrenador del tallo de maíz del sur                                                         | <i>Diatraea crambidoides</i> |
| Barrenador de la caña de azúcar                                                              | <i>Diatraea saccharalis</i>  |
| Gusano de la mazorca de maíz, gusano del capullo de algodón, gusano de los frutos del tomate | <i>Helicoverpa zea</i>       |
| Gusano capullero del tabaco                                                                  | <i>Heliothis virescens</i>   |

**[00036]** En una forma de realización adicional, la presente invención está dirigida a métodos para controlar una plaga de plantas de cultivo que comprenden aplicar las formulaciones de la presente invención a una planta de cultivo, en donde dicha planta de cultivo 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/subtropicales, lúpulos, taro, maní, granadas, cultivos de vegetales oleaginosos, árboles y arbustos, caña de azúcar, tabaco, césped y berro.

**[00037]** 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 resultar en 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.

**[00038]** 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.

**[00039]** 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.

**[00040]** 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.

**[00041]** 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.

**[00042]** 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 urid, 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 y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

**[00043]** 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, pimiento de cocina, pimientos, pimientos dulces y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

**[00044]** 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 y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

**[00045]** 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.

**[00046]** 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.

**[00047]** 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.

**[00048]** 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, camemoro,

arándano rojo, arándano rojo de arbusto alto, cassis, zarzaparrilla roja, sauco, agracejo europeo, grosella espinosa, uva, madreelva comestible, hierba mora, grosella josta, zarza (Baya 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.

**[00049]** 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.

**[00050]** 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.

**[00051]** 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 *Graminae* 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 *Graminae* pueden ser verdes o curados.

**[00052]** 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.

**[00053]** 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.

**[00054]** 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.

**[00055]** En una forma de realización, los frutos subtropicales/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, bananas, guayaba, ananá, y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

**[00056]** 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.

**[00057]** En otra forma de realización, los árboles y los arbustos se seleccionan del grupo que consiste en árboles forestales, árboles de sombra y arces azucareros, y cultivares, variedades e híbridos de los mismos.

**[00058]** Las formulaciones de la presente invención se pueden aplicar a las semillas, al follaje o a un área donde se pretende cultivar la planta.

**[00059]** En una forma de realización alternativa, las formulaciones de la presente invención se aplican a productos agronómicos almacenados. Los productos almacenados incluyen, pero en un sentido no taxativo, granos, porotos de soja, semillas de girasol, semillas de cultivos, semillas de condimentos, especias, hierbas, semillas para aves y pochoclo.

**[00060]** Las formulaciones de la presente invención se pueden aplicar en sus formas no diluida (pura) o diluida con agua o aceites hasta una concentración deseada antes de la aplicación.

**[00061]** Las formulaciones de la presente invención también pueden incluir otros adyuvantes. Los adyuvantes adecuados pueden incluir conservantes, agentes tensioactivos, dispersantes, aglutinantes, polímeros, reguladores del pH, agentes de control de la deriva, protectores UV, colorantes, agentes microencapsulantes, azúcares, almidones, agentes de flujo, arcillas, nutrientes, humectantes, reguladores o estimulantes del crecimiento vegetal, estimulantes de alimentación, otros compuestos naturales, derivados de manera natural o sintéticos con propiedades insecticidas o fungicidas o acaricidas o con resistencia sistémica adquirida (SAR), entre otros. La elección de un componente y la concentración elegida para la misma puede variar dependiendo del tipo de formulación, la dilución final, el método de aplicación (aérea o molido), complejo de plagas de cultivos y cultivos, la mezcla de tanques a utilizar, requisitos de estabilidad, costo del tratamiento entre muchos otros requisitos.

**[00062]** Las formulaciones también puede contener aditivos, por ejemplo, aditivos para mejorar la resistencia a las lluvias, de protección UV, para mejorar la estabilidad térmica, para las propiedades de control de deriva y estimulantes de alimentación.

**[00063]** En aún otra forma de realización, la formulación de la presente invención se aplica a las plantas de cultivo con otro ingrediente agronómico activo. El otro ingrediente activo puede ser, por ejemplo, un fungicida, un insecticida, un acaricida, un regulador del crecimiento vegetal o un estimulante del crecimiento vegetal.

**[00064]** En una forma de realización preferida, la formulación de la presente invención se aplica a las plantas de cultivo junto con por lo menos un insecticida de diamida antranílica. Las diamidas antranílicas preferidas son clorantraniliprol y flubendiamida.

**[00065]** El clorantraniliprol es una diamida antranílica. El clorantraniliprol presenta una baja toxicidad para humanos y mamíferos. Además, es eficaz a dosis de uso bajas. Al igual que *Bacillus thuringiensis*, el clorantraniliprol debe ser ingerido por las larvas para que sea eficaz. El clorantraniliprol fuerza a los músculos de las larvas a liberar todo su calcio almacenado, lo que hace que las larvas dejen de alimentarse y finalmente mueran.

**[00066]** En otra forma de realización, la formulación de la presente invención se aplica a las plantas de cultivo con un ovicida. En una forma de realización preferida, el ovicida es tiacarb.

**[00067]** Los ingredientes activos adicionales se pueden formular con los sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*. Los ingredientes activos adicionales también se pueden mezclar en el tanque con las formulaciones de la presente invención. Como alternativa, los ingredientes activos adicionales se pueden aplicar por separado pero al mismo tiempo que las formulaciones o en forma de rotación con la aplicación de la presente invención.

**[00068]** En una forma de realización preferida, las formulaciones de la presente invención se aplican cuando las larvas son jóvenes (instares tempranos) y se están alimentando activamente y más importante aún antes de haber excedido los umbrales económicos de daños.

**[00069]** En aún otra forma de realización, las formulaciones de la presente invención se aplican a las plantas de cultivo por lo menos una vez por estación. En una forma de realización

preferida, las formulaciones se aplican entre uno y siete veces por estación, dependiendo de la presión de la plaga, el crecimiento del cultivo y las condiciones ambientales, tal como la caída de lluvias inmediatamente después de la aplicación. En una forma de realización más preferida, las formulaciones se aplican aproximadamente tres veces por estación. Las formulaciones de la presente invención se pueden aplicar al suelo, con un equipo de aplicación aérea o mediante irrigación con un rociador junto con cantidades de agua u otros vehículos suficientes como para proporcionar una cobertura exhaustiva de las partes infestadas de las plantas.

**[00070]** Independientemente del número de aplicaciones por estación, la dosis total no debería exceder una dosis anual máxima determinada por las agencias de protección ambiental o la dosis relevante en la etiqueta.

**[00071]** En una forma de realización adicional, la presente invención está dirigida a métodos para producir las formulaciones de la presente invención. El método incluye fermentar por separado una cepa de gran potencia de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* cepa en medios de crecimiento y condiciones de crecimiento optimizados; conservar y combinar las lechadas de fermentación a una relación específica ya sea de potencias o de sólidos que contienen toxinas cristalinas de *Bacillus thuringiensis*, esporas, metabolitos sinérgicos y proteínas insecticidas vegetativas, secar por aspersión la lechada de fermentación combinada para obtener un ingrediente activo de grado técnico; procesar, caracterizar las propiedades físicas y biológicas y formularla en diversas formas de producto preferidas entre las cuales se puede mencionar una suspensión emulsionable concentrada y gránulos dispersables en agua. La lechada combinada también se puede formular directamente con dispersantes, estabilizantes, agentes tensioactivos y diluyentes y se pueden granular mediante secado por aspersión en un granulador semicontinuo o de lecho fluido para obtener una formulación que fluye seca o granular humectable. En una forma de realización alternativa, las cervezas fermentadas se pueden concentrar mediante métodos conocidos por los especialistas en el arte como, por ejemplo, mediante centrifugación, evaporación, microfiltración o ultrafiltración o con una combinación de dos o más métodos de recuperación.

**[00072]** Según se usa en la presente, una “planta” se refiere a por lo menos una planta y no a una población de plantas.

**[00073]** Según se usa en la presente, con referencia a la relación de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis aizawai*, la relación incluye el % en peso de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* en comparación con el % en peso de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis aizawai*.

**[00074]** 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.

**[00075]** 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.

**[00076]** 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.

**[00077]** 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**

**[00078]** Como fuente de *Bacillus thuringiensis* subespecie *kurstaki*, en los siguientes ejemplos se usó la cepa VBTS-2546 de *Bacillus thuringiensis kurstaki*.

**[00079]** Como fuente de *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai*, en los siguientes ejemplos se usó la cepa ABTS-1857 de *Bacillus thuringiensis aizawai* (disponible en Valent BioSciences Corporation).

[00080] Como fuente de diluyente, en los siguientes ejemplos se usó Sunspray 6N (disponible en R. E. Carroll, Inc., y otros), un aceite parafínico agrícola liviano en aerosol derivado del petróleo.

[00081] Como fuente de aditivo reológico, en los siguientes ejemplos se usó Bentone® 38 (disponible en Elementis Specialties, Inc., Bentone es una marca comercial registrada de Elementis Specialties, Inc.), una arcilla de montmorillonita modificada.

[00082] Como fuente de emulsionante, en los siguientes ejemplos se usó Atplus™ 300FA (disponible en Crop Care Croda), un emulsionante compuesto por ésteres de ácidos grasos de polioles y derivados polietoxilados de éstos.

[00083] Como fuente de emulsionante, en los siguientes ejemplos se usaron los agentes tensioactivos polisorbato 20 o Tween 20 (disponibles en Croda Crop Care).

### **Ejemplo 1**

[00084] Se prepararon formulaciones de la presente invención según se indica. *Bacillus thuringiensis* subespecie *kurstaki* y *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* se fermentaron por separado. Las suspensiones de fermentación se combinaron en una mezcla para tanques con una proporción de sólidos de fermentación entre *Bacillus thuringiensis* subespecie *kurstaki* y *Bacillus thuringiensis* *aizawai* de 60:40. Luego se secó la suspensión por aspersión y se la tamizó para obtener un ingrediente activo de calidad técnica.

[00085] En un tanque con un mezclador, se preparó un concentrado en gel con una parte del diluyente, el aditivo reológico y el emulsionante. En un tanque separado con un mezclador, se cargó el aceite parafínico agrícola en aerosol, el concentrado en gel, el ingrediente activo y los emulsionantes restantes. La formulación se mezcló hasta que se tornó homogénea. La formulación se tamizó para eliminar las partículas con diámetros superiores a aproximadamente 100 micrómetros. En la tabla 1 se detalla un ejemplo de una formulación. La cantidad del diluyente, los aditivos reológicos y los emulsionantes puede variar en función de la concentración de *Bacillus thuringiensis* subespecie *kurstaki* y *Bacillus thuringiensis* *aizawai*, que a su vez puede variar en función de la potencia de la suspensión de fermentación.

**Tabla 1. Formulación del concentrado en suspensión emulsionable**

| Componente                                                                                                                                                   | kg/lote         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| <i>Bacillus thuringiensis</i> subespecie <i>kurstaki</i> más <i>Bacillus thuringiensis</i> subespecie <i>aizawai</i> , ingredientes activos de grado técnico | 260,0           |
| Diluyente                                                                                                                                                    | 669,0-<br>714,0 |
| Aditivo reológico                                                                                                                                            | 16,0            |
| Emulsionante/aditivo polar                                                                                                                                   | 5,0             |
| Emulsionante                                                                                                                                                 | 5,0             |
| Total                                                                                                                                                        | 1000,0          |

**Ejemplo 2. Potencia de las formulaciones**

[00086] Se prepararon seis lotes adicionales de una formulación de la presente invención con cantidades de *Bacillus thuringiensis* subespecie *kurstaki* y *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* que variaron entre aproximadamente 25% y aproximadamente 28% p/p. Se evaluó la potencia y la LC<sub>50</sub> de las formulaciones sobre la oruga de la col, la polilla con dorso de diamante y la oruga marchadora de la remolacha. Los resultados de estos estudios se resumen en las tablas 2, 3 y 4.

**Tabla 2. Potencia y LC<sub>50</sub> sobre la oruga de la col**

| Formulación | % de <i>Btk+Bta</i><br>(proporción<br>0,6:0,4) | Potencia<br>(IU/mg) | SD   | LC <sub>50</sub> sobre la<br>de oruga de la<br>col, µg/ml |
|-------------|------------------------------------------------|---------------------|------|-----------------------------------------------------------|
| 2A          | 26,5                                           | 18385               | 943  | 30,3                                                      |
| 2B          | 26,5                                           | 17592               | 163  | 31,6                                                      |
| 2C          | 26,5                                           | 18658               | 1198 | 30,0                                                      |
| 2D          | 27,0                                           | 19561               | 627  | 28,5                                                      |
| 2E          | 28,0                                           | 19538               | 3167 | 29,0                                                      |

|       |       |       |      |      |
|-------|-------|-------|------|------|
| 2F    | 25,0  | 18627 | 2058 | 30,1 |
| Media | 26,58 | 18727 |      | 29,9 |

**Tabla 3. Potencia y LC<sub>50</sub> sobre la polilla con dorso de diamante**

| Formulación    | % de <i>Btk+Bta</i><br>(proporción<br>0,6:0,4) | LC <sub>50</sub> , µg/ml | IC de 95%<br>(µg/ml) | Potencia,<br>DBMU/mg |
|----------------|------------------------------------------------|--------------------------|----------------------|----------------------|
| 2 <sup>a</sup> | 26,5                                           | 1,59                     | 1,02-2,17            | 47803                |
| 2B             | 26,5                                           | 2,00                     | 1,39-2,80            | 38003                |
| 2C             | 26,5                                           | 1,87                     | 1,52-2,29            | 40645                |
| 2D             | 27,0                                           | 1,62                     | 1,19-2,07            | 46917                |
| 2E             | 28,0                                           | 1,81                     | 1,50-2,11            | 41992                |
| 2F             | 25,0                                           | 1,45                     | 1,00-1,85            | 52418                |
| Media          | 26,58                                          | 1,72                     |                      | 44630                |

Nota. Referencia para *Bta*: LC<sub>50</sub>: 1,25 µg/ml (IC: 0,922-1,56); potencia: 60805 DBMU/mg.

**Tabla 4. Potencia y LC<sub>50</sub> sobre la oruga marchadora**

| Formulación | % de <i>Btk+Bta</i><br>(proporción 0,6:0,4) | LC <sub>50</sub> , µg/ml | IC de 95% (µg/ml)) |
|-------------|---------------------------------------------|--------------------------|--------------------|
| 2A          | 26,5                                        | 169                      | 143-202            |
| 2B          | 26,5                                        | 196                      | 175-221            |
| 2C          | 26,5                                        | 197                      | 158-251            |
| 2D          | 27,0                                        | 169                      | 124-239            |
| 2E          | 28,0                                        | 147                      | 131-265            |
| 2F          | 25,0                                        | 182                      | 161-206            |
| Media       | 26,58                                       | 177                      |                    |

Nota. Referencia para *Bta*: LC<sub>50</sub>: 27,8 µg/ml (IC: 24,6-31,4).

[00087] En la tabla 2 se observa que las formulaciones de la presente invención tuvieron una potencia superior a 17590 IU/mg sobre la oruga de la col. En función de la LC<sub>50</sub> sobre la oruga de la col, la polilla con dorso de diamante y la oruga marchadora de la remolacha que se detalla en las tablas 2, 3 y 4, puede concluirse que con una proporción en peso de 0,6:0,4 entre *Bacillus thuringiensis kurstaki* y *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* de acuerdo con la invención, fue posible obtener una acción sinérgica. Estos resultados fueron inesperados, debido a que con otras proporciones entre *Bacillus thuringiensis kurstaki* y *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* no se obtuvieron resultados comparables.

### **Ejemplo 3. Contenido de toxinas de las formulaciones**

[00088] Se sometieron formulaciones de la presente invención a una HPLC de intercambio iónico, de acuerdo con métodos convencionales conocidos por aquellos versados en la técnica (véase la Patente de los EEUU N° 5523211). En resumen, se solubilizaron cristales paraesporales de *Bacillus thuringiensis*, se los separó y se los cuantificó para determinar el nivel de las toxinas Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1C y Cry1D en las formulaciones de la presente invención. En la tabla 5 a continuación se observan picos claros para las toxinas Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1C y Cry1D.

**Tabla 5. Resultados de la HPLC de intercambio iónico**

| Muestra                         | Cry1C              | Cry1D            | Cry1Aa             | Cry1Ab             | Cry1Ac            | Toxinas<br>P1 totales |
|---------------------------------|--------------------|------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-----------------------|
| <i>Btk</i> ,<br>referencia      | -                  | -                | 1408915<br>(32,97) | 1935756<br>(45,31) | 927755<br>(21,72) | 4272426               |
| <i>Bta</i> ,<br>referencia      | 1990546<br>(39,29) | 149093<br>(2,94) | 919525<br>(18,15)  | 2006976<br>(39,62) | -                 | 5066140               |
| Formulación<br>del ejemplo<br>1 | 479077<br>(17,71)  | 130040<br>(4,81) | 442808<br>(16,37)  | 1107617<br>(40,93) | 545870<br>(20,18) | 2705412               |

[00089] En este estudio, se confirmó que en *Bacillus thuringiensis* subespecie *kurstaki* se expresan las toxinas Cry1Aa, Cry1Ab y Cry1Ac, y que en *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* se expresan las toxinas Cry1C, Cry1D, Cry1Aa y Cry1Ab. En la tabla 5 se observa que las formulaciones de la presente invención contienen las toxinas expresadas en *Bacillus thuringiensis* subespecie *kurstaki* y *Bacillus thuringiensis aizawai*.

#### **Ejemplo 4. Mezclas para tanques**

[00090] Según se indicó con anterioridad, las formulaciones de la presente invención pueden procesarse para obtener mezclas para tanques por sí solas o en combinación con otros ingredientes activos. En la tabla 6 se detallan algunas mezclas para tanques. La presente invención no se limita a estos ejemplos.

**Tabla 6. Ejemplos de mezclas para tanques con *Btk/Bta* (60:40) de 1,2-4,7 litros**

| Mezcla             | Cantidad de aditivos por hectárea                                                                     |
|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4A, 1,2-4,7 litros | 1,0-2,1 litros de Prevathon™ (concentrado en suspensión con 5% de RenaXypyr® o clorrantraniliprol)    |
| 4B, 1,2-4,7 litros | 0,26-0,55 litros de Coragen® (concentrado en suspensión con 18,4% de RenaXypyr® o clorrantraniliprol) |
| 4C, 1,2-4,7 litros | 0,5-1,5 litros de Exirel™ (suspoemulsión con 10,2% de Cyazypyr)                                       |
| 4D, 1,2-4,7 litros | 0,245-0,420 kg de Avaunt® (gránulos dispersables con 30% de indoxacarb)                               |
| 4E, 1,2-4,7 litros | 0,2-0,7 litros de Asana® XL (concentrado emulsionable con 8,4% de esfenvalerato)                      |
| 4F, 1,2-4,7 litros | 0,07-0,73 litros de Nuprid®4F Max (concentrado fluido con 40,4% de imidacloprid)                      |
| 4G, 1,2-4,7 litros | 0,16-0,83 litros de Fastac™ CE (concentrado emulsionable con 10,9% de alfa-cipermetrina)              |

|                    |                                                                                                     |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4H, 1,2-4,7 litros | 0,11-0,73 litros de Spintor® 2SC (concentrado en suspensión con 22,8% de spinosad)                  |
| 4I, 1,2-4,7 litros | 0,11-0,29 litros de Belt® SC (concentrado en suspensión con 39% flubendiamida, disponible en Bayer) |

### **Ejemplo 5**

[00091] Se realizó un estudio para determinar el efecto de una proporción en peso sinérgica entre *Bacillus thuringiensis* subespecie *kurstaki* y *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* sobre diversas especies de insectos con una resistencia conocida al clorantraniliprol, un insecticida habitual. Prevathon™ (disponible en DuPont™) es un concentrado en suspensión con 5% de clorantraniliprol, que se usó como fuente de clorantraniliprol en los dos estudios. Sympatico™ es un concentrado en suspensión emulsionable (disponible en Valent BioSciences Corporation) que se usó como fuente de *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* y *Bacillus thuringiensis* *kurstaki*. Sympatico™ contiene una proporción de sólidos de fermentación, esporas y toxinas entre *Bacillus thuringiensis* subespecie *kurstaki* y *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* de aproximadamente 60:40. Se sembraron parcelas con col y se las infestó de manera natural con poblaciones resistentes al clorantraniliprol de polillas con dorso de diamante (*Plutella xylostella*) y orugas del repollo (*Crociodolomia pavonana*).

**Tabla 7**

| Tratamiento                                 | Tasa (g/ha) | Rendimiento (kg/parcela) |
|---------------------------------------------|-------------|--------------------------|
| Control sin tratar                          | -           | 46,2                     |
| <i>Btk/Bta</i> 0,6:04                       | 421         | 89,9                     |
| <i>Btk/Bta</i> 0,6:04                       | 612         | 111,2                    |
| <i>Btk/Bta</i> 0,6:04 más clorantraniliprol | 421+30,9    | 119,3                    |
| <i>Btk/Bta</i> 0,6:04 más clorantraniliprol | 612+30,9    | 132,9                    |
| Clorantraniliprol                           | 30,9        | 67,0                     |

[00092] En la tabla 7 se observa que con una proporción en peso sinérgica entre *Bacillus thuringiensis* subespecie *kurstaki* y *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* se obtuvo un incremento significativo en el rendimiento. Mientras que el rendimiento del control sin tratar y las parcelas tratadas con clorantraniliprol fue de apenas 46,2 y 67,0 kg/parcela, respectivamente, el rendimiento de las parcelas tratadas con *Bacillus thuringiensis* *kurstaki*/*Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* fue de al menos 89,9 kg/parcela. Con este estudio, se confirmó que las mezclas sinérgicas de *Bacillus thuringiensis* *kurstaki* y *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* son eficaces para controlar las larvas que han desarrollado resistencia al clorantraniliprol.

### **Ejemplo 6**

[00093] Se realizó otro estudio para determinar el efecto de una proporción en peso sinérgica entre *Bacillus thuringiensis* subespecie *kurstaki* y *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* sobre especies de insectos con una resistencia conocida al clorantraniliprol, un insecticida habitual.

**Tabla 8**

| Tratamiento                                 | Tasa (g de i.a./ha) | Rendimiento (kg/parcela) |
|---------------------------------------------|---------------------|--------------------------|
| Control sin tratar                          | -                   | 46,0                     |
| <i>Btk/Bta</i> 0,6:04                       | 306                 | 96,7                     |
| <i>Btk/Bta</i> 0,6:04                       | 612                 | 116,5                    |
| <i>Btk/Bta</i> 0,6:04 más clorantraniliprol | 306+30,9            | 155,0                    |
| <i>Btk/Bta</i> 0,6:04 más clorantraniliprol | 612+30,9            | 204,7                    |
| Clorantraniliprol                           | 30,9                | 88,3                     |

[00094] En la tabla 8 se observa que con una proporción en peso sinérgica entre *Bacillus thuringiensis* subespecie *kurstaki* y *Bacillus thuringiensis* subespecie *aizawai* se obtuvo un incremento significativo en el rendimiento. Además, las formulaciones de la presente invención con clorantraniliprol fueron especialmente eficaces para incrementar el rendimiento.

## **REIVINDICACIONES:**

1. Una formulación agronómica, que comprende:  
entre aproximadamente 10 y aproximadamente 40% p/p de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis*; y  
entre aproximadamente 60 y aproximadamente 90% p/p de un diluyente;  
en donde los sólidos de fermentación, las esporas y las toxinas insecticidas derivan de una cepa de gran potencia de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*, y la relación de pesos de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es de entre 20:80 y 80:20 aproximadamente.
2. La formulación de la reivindicación 1, en la cual la cepa de gran potencia de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* se selecciona del grupo que consiste en ABTS-351, VBTS-2528 y VBTS-2546.
3. La formulación de la reivindicación 2, en la cual la cepa de gran potencia de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* es VBTS-2546.
4. La formulación de la reivindicación 1, en la cual la relación de pesos de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es de entre aproximadamente 30:70 y aproximadamente 70:30.
5. La formulación de la reivindicación 4, en la cual la relación de pesos de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es de entre aproximadamente 55:45 y aproximadamente 65 a 35.
6. La formulación de la reivindicación 1, en la cual la cantidad total de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis* es de entre aproximadamente 15 y aproximadamente 35% p/p.

7. La formulación de la reivindicación 6, en la cual la cantidad total de sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis* es de entre aproximadamente 20 y aproximadamente 29% p/p.
8. La formulación de la reivindicación 1, que además comprende entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 2,5% p/p de un aditivo reológico.
9. La formulación de la reivindicación 1, que además comprende entre aproximadamente 2 y aproximadamente 9% p/p de un emulsionante.
10. La formulación de la reivindicación 1, en la cual entre un 35 y un 50% p/p aproximadamente de los sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas totales son sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai*.
11. La formulación de la reivindicación 1, en la cual entre un 50 y un 65% p/p aproximadamente de los sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas totales son sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*.
12. Un método para controlar larvas de Lepidópteros, que comprende aplicar la formulación de la reivindicación 1 a una planta de cultivo.
13. El método de la reivindicación 12, en el cual la planta de cultivo es una planta de cultivo GM.
14. El método de la reivindicación 12, en el cual se aplican entre aproximadamente 5 y aproximadamente 400 gramos de los sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* por hectárea.
15. El método de la reivindicación 14, en el cual se aplican entre aproximadamente 10 y aproximadamente 350 gramos de los sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* por hectárea.

16. El método de la reivindicación 15, en el cual se aplican entre aproximadamente 25 y aproximadamente 300 gramos de los sólidos de fermentación, esporas y toxinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* por hectárea.
17. El método de la reivindicación 12, que además comprende aplicar una cantidad eficaz de clorantliliprol a la planta de cultivo.
18. El método de la reivindicación 12, que además comprende aplicar una cantidad eficaz de un ovicida a la planta de cultivo.
19. El método de la reivindicación 12, en el cual la formulación se aplica entre 1 y 5 veces por estación de crecimiento.

**FORMULACIONES COMBINADAS DE *BACILLUS THURINGIENSIS***  
**SUBESPECIE KURSTAKI Y *BACILLUS THURINGIENSIS* SUBESPECIE AIZAWAI**

RESUMEN

Una formulación agronómica que comprende una cepa de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* y una cepa de *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* de gran potencia, en donde la relación de pesos de *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki* a *Bacillus thuringiensis subsp aizawai* es de entre 20:80 a 80:20 aproximadamente. La presente invención también está dirigida a métodos de elaboración de la formulación de la presente invención y de uso de la misma para controlar eficazmente las plagas de cultivos.