



(51) Clasificación Internacional de Patentes:
A01N 63/04 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:
PCT/MX2013/000163

(22) Fecha de presentación internacional:
13 de diciembre de 2013 (13.12.2013)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:
MX/a/2012/014536
13 de diciembre de 2012 (13.12.2012) MX

(71) Solicitante: INSTITUTO DE ECOLOGÍA, A.C.
[MX/MX]; Carretera Antigua a Coatepec No.351, Col. El Haya, Xalapa, Veracruz, 91070 (MX).

(72) Inventores: CARRIÓN VILLANOVO, Gloria Luz
Laura; Calle Picacho No.22, Fraccionamiento El Peñascal, Xalapa, Veracruz, 91150 (MX). HERNÁNDEZ LEAL, Tania Isadora; Calle Nanchital No. 16, Col. Virginia Cordero, Xalapa, Veracruz, 91010 (MX). LÓPEZ LIMA, José Daniel; Andador Azalea No. 35, Fraccionamiento Lomas Verdes, Xalapa, Veracruz, 91098 (MX). NÚÑEZ SÁNCHEZ, Ángel Enrique; Calle Ezequiel Alatríste No.

22, Col. Francisco Ferrer Guardia, Xalapa, Veracruz, 91020 (MX).

(74) Mandatario: LABASTIDA LÓPEZ, Carlos; 5 de Mayo No. 278, Tepepan, Xochimilco, México, D.F., 16020 (MX).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa, para toda clase de protección regional admisible): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI,

[Continúa en la página siguiente]

(54) Title: BIOCONTROL OF PHYTO-PARASITIC NEMATODES USING *PAECILOMYCES*

(54) Título : BIOCONTROL DE NEMATÓDOS FITOPARÁSITOS MEDIANTE *PAECILOMYCES*

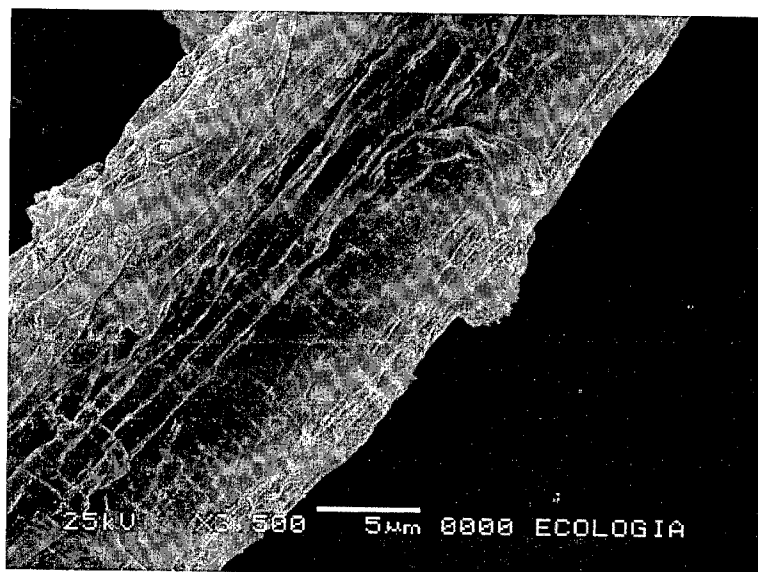


FIGURA 2

(57) Abstract: The invention relates to the use of *Paecilomyces carneus* for the prevention and/or control and/or eradication of phyto-parasitic nematodes, sedentary and migratory endoparasites, sedentary and migratory ectoparasites and semi-endoparasites from the following families Anguinidae, Aphelenchidae, Aphelenchoididae, Cricenematidae, Dolichodoridae, Hemicycliophoridae, Heteroderidae, Hoplolaimidae, Iotonchidae, Neotylenchidae, Pratylenchidae, Sphaerulariidae, Tylenchidae and Tylenchulidae: Suborder Tylenchina; Longidoridae: Suborder Dorylaimina; Trichodoridae: Suborder Diphtherophorina. The compositions and processes of the invention can be used in the prevention and/or control and/or eradication of phyto-parasitic nematodes that infect and/or infest the large majority of crops for animal and human consumption, as well as generating optimum conditions in the soil in order to improve the yield of the crop, with the option of producing organic products.

[Continúa en la página siguiente]

(57) Resumen:



CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, —
TG).

Publicada:

— con informe de búsqueda internacional (Art. 21(3))

antes de la expiración del plazo para modificar las reivindicaciones y para ser republicada si se reciben modificaciones (Regla 48.2(h))

— con la parte de lista de secuencias de la descripción (Regla 5.2(a))

La presente invención se refiere al uso de *Paecilomyces carneus* para la prevención y/o control y/o erradicación de nemátodos fitoparásitos, endoparásitos migratorios y sedentarios, semiendoparásitos y ectoparásitos migratorios y sedentarios de las familias Anguinidae, Aphelenchidae, Aphelenchoididae, Criconematidae, Dolichodoridae, Hemicycliophoridae, Heteroderidae, Hoplolaimidae, Iotonchidae, Neotylenchidae, Pratylenchidae, Sphaerulariidae, Tilenchidae y Tylenchulidae: Sub-orden Tylenchina; Longidoridae: Sub-orden Dorylaimina; Trichodoridae: Sub-orden Diphtherophorina. Las composiciones y procesos, producto de la presente invención son útiles en la prevención y/o control y/o erradicación de nemátodos fitoparásitos que infectan y/o infestan a la gran mayoría de cultivos para consumo animal y humano, al mismo tiempo que se generan las condiciones óptimas en el suelo para mejorar el rendimiento del cultivo, con la alternativa de obtener productos orgánicos.

BIOCONTROL DE NEMÁTODOS FITOPARÁSITOS MEDIANTE *PAECILOMYCES***Campo de la Invención**

5 La presente invención se refiere al uso de *Paecilomyces carneus* para la prevención y/o control y/o erradicación de nemátodos fitoparásitos, endoparásitos migratorios y sedentarios, semiendoparásitos y ectoparásitos migratorios y sedentarios de las familias

10 *Anguinidae*, *Aphelenchidae*, *Aphelenchoididae*,
 Criconematidae, *Dolichodoridae*, *Hemicyclophoridae*,
 Heteroderidae, *Hoplolaimidae*, *Iotonchidae*, *Neotylenchidae*,
 Pratylenchidae, *Sphaerulariidae*, *Tilenchidae* y
 Tylenchulidae: Sub-orden *Tylenchina*; *Longidoridae*: Sub-

15 orden *Dorylaimina*; *Trichodoridae*: Sub-orden
 Diphtherophorina. Las composiciones y procesos, producto de la presente invención son útiles en la prevención y/o control y/o erradicación de nemátodos fitoparásitos que infectan y/o infestan a la gran mayoría de cultivos para

20 consumo animal y humano, al mismo tiempo que se generan las condiciones óptimas en el suelo para mejorar el rendimiento del cultivo, con la alternativa de obtener productos orgánicos.

25 Antecedentes de la Invención

 Las plagas, son un factor biológico que daña a los cultivos sin importar la región donde se encuentren. El daño causado por las plagas en los cultivos reduce la calidad del producto y la cantidad de producción ya que le

30 impiden a las plantas tener un óptimo desarrollo y,

dependiendo de la plaga y el nivel de infestación de éstas pueden llegar a causar la muerte del hospedero.

Dentro de las plagas que afectan a los cultivos de manera significativa, tanto en calidad, como en cantidad, son los nemátodos fitoparásitos, los cuales son microscópicos y dependiendo de su ciclo de vida afectan a la planta en diferentes formas. Algunos de los daños que provocan en los cultivos son: marchitez, clorosis, enanismo, raquitismo, defoliación, falta de vigor, necrosis de las partes afectadas resultando en un cultivo débil o la muerte del mismo y, por lo tanto pérdida en la producción. En el esfuerzo para controlar las plagas que atacan a los cultivos, los agricultores se ven en la necesidad de utilizar plaguicidas químicos, algunas de las desventajas que presentan éstos es el alto riesgo que representan al momento de su aplicación; la presencia de éstos en los productos alimenticios puede resultar en daños a la salud de los consumidores; asimismo la modificación del pH y contenido de minerales en cantidades fitotóxicas como consecuencia de la aplicación excesiva de plaguicidas químicos deriva en la pérdida de la fertilidad del suelo; también pueden tener un efecto en la calidad del producto; así como la generación de resistencia de las plagas a los agentes químicos lo que resulta en la necesidad de aplicar mayor cantidad de los mismos.

En el estado de la técnica, se describen diferentes métodos para el control de nemátodos, entre ellos se encuentran métodos químicos como pueden ser: uso de 2R,5R-dihidroxi metil-3R,4R-dihidroxipirrolidina (No. Pat. WO/1999/ 059414); un agente químico con la fórmula

condensada C27H30O9 (No. Pat. WO/1993/002083); al uso de Fluopiram para el control de nemátodos (No. Pat. WO/2012/038476); composición de fertilizante a base de 1 a 70% de hipofosfito de potasio y fosfito de amonio, 1-30% de fertilizante bórico (No. Pat. CN101492323), entre otras.

Por otra parte, existen métodos biológicos donde se emplean microorganismos para el control de nemátodos, entre éstos se encuentran: *Sphingobacterium cepa spiritivorum* C-926 y *Corynebacterium paurometabolum* C-924 (No. Pat. MX 250042); *Pasteuria* spp. (No. Pat. MX 193344); hongos del género *Arthrobotrys* (No. Pat. US 4,666,714); *Bacillus thuringiensis* (No. Pat. US 5,270,448); *Streptomyces dicklowii* ATCC 55274 (No. Pat. US 5,549,889); hongo *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* (No. Pat. US2009169518); *Verticillium chlamydosporium* CC 334168 (No. Pat. WO/1991/001642), entre otras.

Otra opción es la combinación de compuestos químicos con agentes biológicos como pueden ser: Buprofezina y *Paecilomyces* sp. (No. Pat. US 5,885,598); Silafluofen y/o Etofenprox con *Paecilomyces* sp. (No. Pat. US 5,888,989), entre otras. Por último, se encuentran los métodos que implican la modificación genética para generar cultivos resistentes a los nemátodos tal y como los descritos en los siguientes documentos de patente: GEP20002245, US 6,294,712, US 7,576,261, CN1903014, WO/2003/080838, entre otros.

Las desventajas que se han observado en los métodos químicos son los descritos anteriormente por la aplicación de nematicidas; en cuanto a la combinación de agentes químicos con agentes biológicos, aún cuando en ocasiones se

logra disminuir la cantidad del agente químico, las desventajas no desaparecen; la modificación genética de los cultivos para crear cultivos resistentes, es una opción que, además de un costo elevado, presenta el riesgo a largo plazo para los consumidores ya que no se puede tener la seguridad de la implicación que tendrá el consumo de dichos productos a largo plazo.

En la actualidad, los métodos biológicos son de los más aceptados y convenientes ya que se utilizan microorganismos que son inocuos para el consumidor final y ayudan a conservar la calidad de los suelos, de los cultivos y por lo tanto del producto final.

En la actualidad, el hongo del género *Paecilomyces* spp. se emplea como nematocida ya que ataca a los nemátodos de una manera efectiva y sin dañar los cultivos, los documentos de patente US 7,435,411 B2, CN101418264 y US 20050008619 describen el uso de una composición que contiene *Paecilomyces lilacinus* para el control de plagas en suelo; los documentos de patente US 5,989,543, CN101422168, DE102005024783, CN101081982, CA2059642, US 5,360,607, US 5,989,543, CN101518265 describen el uso de *Paecilomyces lilacinus*; *Paecilomyces fumosoroseus*, *Paecilomyces lilacinus* 251, *Paecilomyces lilacinus* 252, *Paecilomyces lilacinus* 253, y *Paecilomyces lilacinus* 254; y, *Paecilomyces cicadae* para el control de nemátodos y, finalmente, en la solicitud de patente MX/a/2011/004510 se describe el uso de *Paecilomyces carneus* cepa IE-431 para la prevención y/o control y/o erradicación de nemátodos formadores de quistes en cultivos de Solanáceas.

Entre los nemátodos de mayor riesgo para los cultivos

se encuentran los agalladores del género *Meloidogyne* spp., entre otros; los lesionadores y barrenadores de raíz que son endoparásitos migratorios entre los que se encuentran los nemátodos de los géneros *Ditylenchus* spp., *Pratylenchus* spp. y *Radopholus* spp., entre otros; y ectoparásitos sedentarios y migratorios entre los que se encuentran los nemátodos de los géneros *Helicotylenchus* spp., *Criconemoides* spp. y *Xiphinema* spp., entre otros. En la Tabla 1 se muestran los principales cultivos que son afectados por dichos nemátodos:

Tabla 1. Cultivos afectados por nemátodos

Nombre común	Nombre Científico	<i>Meloidogyne</i>	<i>Pratylenchus</i>	<i>Helicotylenchus</i>	<i>Criconemoides</i>	<i>Radopholus</i>	<i>Hoplolaimus</i>	<i>Xiphinema</i>	<i>Ditylenchus</i>
Acelga	<i>Beta vulgaris</i>								
Agave	<i>Agave atrovirens</i>	X	X						
Aguacate	<i>Persea americana</i>	X	X						
Ajo	<i>Allium sativum</i>		X						
Alfalfa	<i>Medicago sativa</i>	X	X						
Algodón	<i>Gossypium hirsutum</i>	X	X						
Anonas	<i>Anona spp.</i>								
Árbol del caucho	<i>Hevea brasiliensis</i>								
Arroz	<i>Oryza sativa</i>		X						
Avena	<i>Avena sativa</i>		X						
Bambú	<i>Bambusa spp.</i>								
Begonia	<i>Begonia spp.</i>	X							
Berenjena	<i>Solanum melongena</i>	X							
Cacahuete	<i>Arachis hypogea</i>	X							
Café	<i>Coffea arábica</i>	X							
Cacao	<i>Theobroma cacao</i>		X						
Calabazita	<i>Cucurbita pepo</i>	X							
Casuarina	<i>Casuarina spp.</i>								
Camelia	<i>Camelia spp.</i>	X							
Camote	<i>Ipomea batatas</i>	X							
Canela	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>								

Tabla 1. Cultivos afectados por nematodos (Continuación)

Nombre común	Nombre Científico	Meloidogyne	Pratylenchus	Helicotylenchus	Criconeimoides	Radopholus	Hoplolaimus	Xiphinema	Ditylenchus
Caña de azúcar	<i>Sacharum officinarum</i>	X	X		X			X	
Cártamo	<i>Carthamus tinctorius</i>		X	X					
Cebolla blanca	<i>Allium cepa</i>	X	X						X
Cedro	<i>Chamaecyparis spp.</i>	X							
Cítricos	<i>Citrus spp.</i>	X		X	X	X	X	X	X
Cocotero	<i>Cocos nucifera</i>			X					
Coliflor	<i>Brassica oleracea var. Botrytis</i>		X	X	X			X	X
Clavel	<i>Dianthus caryophyllus</i>	X	X	X				X	
Crysantemo	<i>Chrysanthemum morifolium</i>	X							
Chayote	<i>Sechium edule</i>	X					X		
Chile	<i>Capsicum annum</i>	X	X					X	X
Durazno	<i>Prunus persica</i>	X	X				X	X	X
Epazote	<i>Chenopodium ambrisioides</i>	X							
Espinaca	<i>Spinacea oleracea</i>				X				
Estropajo	<i>Lufa cylindrica</i>	X							
Fresa	<i>Fragaria spp.</i>	X	X	X			X	X	X
Fresno blanco	<i>Fraxinus americana</i>	X							
Frijol	<i>Phaseolus vulgaris</i>	X	X	X			X	X	
Gardenia	<i>Gardenia jasminoides</i>	X							X
Garbanzo	<i>Cicer arietium</i>	X					X		
Gladiola	<i>Gladiolus spp.</i>								X
Guayaba	<i>Psidium guajava spp.</i>	X							
Haba	<i>Vicia faba</i>	X							
Higo	<i>Ficus carica</i>			X					
Jicama	<i>Pachirizus angulatus</i>	X							
Lechuga	<i>Lactuca sativa</i>	X	X	X					
Limón	<i>Citrus limón</i>				X				
Maíz	<i>Zea mays</i>		X	X	X		X	X	X
Manzano	<i>Malus spp.</i>	X	X	X			X	X	
Mango	<i>Manguifera indica</i>		X	X	X			X	
Margarita	<i>Aster spp.</i>	X							
Margariton	<i>Chrysanthemum máximum</i>	X	X						
Melón	<i>Cucumis melo</i>	X	X	X	X			X	
Menta	<i>Mentha piperita</i>	X	X	X			X		
Ñame	<i>Dioscorea spp.</i>		X						
Nogal	<i>Juglans regia</i>	X		X	X			X	X
Nopal	<i>Opuntia spp.</i>			X	X				

Tabla 1. Cultivos afectados por nematodos (Continuación)

Nombre común	Nombre Científico	Meloidogyne	Pratylenchus	Helicotylenchus	Criconeimoides	Radopholus	Hoplolaimus	Xiphinema	Ditylenchus
Okra	<i>Abelmoschus esculentus</i>	X							
Papaya	<i>Carica papaya</i>	X						X	X
Papa	<i>Solanum tuberosum</i>	X	X	X			X	X	X
Pasto	<i>Echinocloa spp.</i>		X	X		X	X	X	X
Pepino	<i>Cucumis sativus</i>	X						X	
Plátano	<i>Musa spp.</i>	X	X	X		X	X	X	
Pimienta gorda	<i>Pimenta dioica</i>			X					
Pino	<i>Pinus spp</i>		X				X		
Pino de México	<i>Pinus hartwegii</i>	X							
Piña	<i>Ananas cominus</i>	X	X	X	X			X	
Pomelo	<i>Citrus maxima</i>					X			
Sandía	<i>Citrullus lanatus</i>	X		X				X	
Sauce blanco	<i>Salix alba</i>	X							
Sorgo	<i>Sorghum vulgare</i>		X				X		X
Soya	<i>Glycine max</i>		X	X				X	
Tabaco	<i>Nicotiana tabacum</i>			X	X			X	X
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i>	X	X	X				X	
Tomate de cascara	<i>Physalis spp.</i>		X	X					
Trigo harinero	<i>Triticum aestivum</i>		X					X	
Trigo	<i>Fagopyrum esculentum</i>	X							
Vid	<i>Vitis vinifera</i>	X	X	X				X	
Vinca de Madagascar	<i>Vinca rosea</i>	X							
Violeta africana	<i>Saint paulina spp.</i>	X							
Zanahoria	<i>Daucus carota</i>	X							

Los nemátodos endoparásitos sedentarios son aquellos que deforman las raíces de diversos cultivos debido a que inducen el crecimiento excesivo de las células en el sitio de alimentación dentro de la raíz lo cual ocasiona la formación de agallas (*Meloidogyne spp.*).

Los nemátodos endoparásitos migratorios se introducen completamente en la raíz de su hospedero, desplazándose en el córtex y alimentándose del citoplasma de las células

causando gran destrucción de tejidos por lo que atrofian el sistema radicular de las plantas (*Ditylenchus* spp., *Pratylenchus* spp. y *Radopholus* spp., entre otros).

5 Los nemátodos semiendoparásitos se fijan profundamente a la planta hospedera, dejando parte del cuerpo expuesto al exterior. Los juveniles se liberan al suelo al eclosionar para posteriormente fijarse a la raíz de la planta (*Heterodera* spp. y *Punctodera* spp., entre otros).

10 Los nemátodos ectoparásitos sedentarios introducen solo la parte cefálica de su cuerpo en la planta hospedera y no suelen desprenderse salvo para la reproducción. Ovipositan directamente en el suelo (*Helicotylenchus* spp., *Tylenchorhynchus* spp. y *Crictonemoides* spp., entre otros).

15 Los ectoparásitos migratorios se alimentan en un sitio durante un tiempo corto y únicamente introducen el estilete en la raíz de la planta. Algunos inducen la formación de sincitios; célula multinucleada con hiperplasia donde se alimenta el nemátodo (*Xiphinema* spp., *Longidorus* spp. y *Trichodorus* spp., entre otros).

20 La agricultura constituye el sector productivo más importante en la mayoría de los países, donde ocupa un lugar importante en la generación de empleos, el aumento general de los ingresos agrícolas es condición necesaria para estimular el crecimiento del conjunto de la economía, 25 incluidos los sectores no agrícolas que venden sus productos y servicios a la población rural.

México cuenta con un territorio nacional de 198 millones de hectáreas de las cuales 145 millones se dedican a la actividad agropecuaria, es por esto que la agricultura 30 representa un sector productivo importante, con una

participación del 4% en el Producto Interno Bruto nacional, es una actividad fundamental en el medio rural, en el cual habita todavía una parte altamente significativa de la población nacional.

5 Las diferencias climáticas entre las diferentes regiones del mundo e inclusive, entre las regiones de cada país son significativas en cuanto a clima y ecosistema, por lo que el control de plagas en los cultivos de dichas regiones es de vital importancia para que los agricultores
10 sean competitivos a nivel nacional e internacional.

Por lo anterior, es necesario contar con un método de control de plagas tal que funcione en diferentes condiciones del suelo y del ambiente, que además no afecte la calidad del producto ni la salud de los productores y/o
15 consumidores, en la presente invención se describe el uso de un hongo para el control de nemátodos que presenta una eficacia y eficiencia sobresalientes y de bajo costo.

Objeto de la Invención

20 La presente invención se refiere al uso de la cepa biológicamente pura de *Paecilomyces carneus*, RGM2140 depositada en la Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos, así como las composiciones, métodos y uso para la prevención y/o control y/o erradicación de nemátodos
25 fitoparásitos endoparásitos migratorios y sedentarios, semiendoparásitos y ectoparásitos migratorios y sedentarios de las Familias Anguinidae, Aphelenchidae, Aphelenchoididae, Criconematidae, Dolichodoridae, Hemicycliophoridae, Heteroderidae, Hoplolaimidae,
30 Iotonchidae, Neotylenchidae, Pratylenchidae,

Sphaerulariidae, Tilenchidae y Tylenchulidae: Sub-orden Tylenchina; Longidoridae: Sub-orden Dorylaimina; Trichodoridae: Sub-orden Diphtherophorina, que infectan y/o infestan cultivos con la finalidad de obtener productos inocuos de calidad para consumo animal y humano.

Breve Descripción de las Figuras de la Invención

FIGURA 1. *Meloidogyne* spp. parasitada por *Paecilomyces carneus* cepa IE-431.

FIGURA 2. Desarrollo de *Paecilomyces carneus* cepa RGM2140 sobre *Pratylenchus* spp. a las 72 hrs

FIGURA 3. Desarrollo de *Paecilomyces carneus* cepa RGM2140 sobre *Pratylenchus* spp. a las 120 hrs.

FIGURA 4. Gráfica de Patogenicidad de *Paecilomyces carneus* cepa RGM2140 sobre *Hoplolaimus* spp.

FIGURA 5. Gráfica de Patogenicidad de *Paecilomyces carneus* cepa RGM2140 sobre *Criconemoides* spp.

Descripción Detallada de la Invención

La presente invención se relaciona al uso y aplicación de una o más células de *Paecilomyces carneus* para el control y/o prevención y/o erradicación de nemátodos fitoparásitos de los grupos de: endoparásitos migratorios y/o endoparásitos sedentarios y/o semiendoparásitos y/o ectoparásitos migratorios y/o ectoparásitos sedentarios de las Familias Anguinidae, Aphelenchidae, Aphelenchoididae, Criconematidae, Dolichodoridae, Hemicyclophoridae, Heteroderidae, Hoplolaimidae, Iotonchidae, Neotylenchidae, Pratylenchidae, Sphaerulariidae, Tilenchidae y Tylenchulidae: Sub-orden Tylenchina; Longidoridae: Sub-

orden *Dorylaimina*; *Trichodoridae*: Sub-orden *Diphtherophorina* que infectan y/o infestan los suelos de cultivos.

Las cepas de *Paecilomyces carneus* IE-412, IE-416, IE-418 (RGM2140), IE-419, IE-431, IE-451 y IE-452 se encuentran registradas, conservadas y almacenadas en el cepario de hongos del Instituto de Ecología A.C. (INECOL), la producción y/o aislamiento y/o mantenimiento de dichas cepas se lleva a cabo mediante su reproducción en un medio de cultivo sólido constituido por al menos una fuente de nitrógeno y/o al menos una fuente de carbono y/o por una o más sales minerales y/o al menos un vehículo apropiado y/o al menos un agente antibiótico y/o al menos un agente potenciador del crecimiento. La temperatura de incubación del hongo en el medio de cultivo se encuentra entre 13°C y 37°C.

La propagación y/o reproducción del hongo consiste en la inoculación de células en composiciones de medios sólidos o líquidos que comprenden uno o más aminoácidos y/o uno o más carbohidratos de cadena larga y/o una o más sales minerales y/o uno o más vehículos y/o uno o más agentes antibióticos y/o uno o más agentes reguladores de pH en cantidades suficientes. El cultivo es fijo o estático y con oxigenación ininterrumpida en un porcentaje entre el 40% y 90% de contenido de oxígeno para permitir el desarrollo óptimo del hongo *Paecilomyces carneus*.

El mecanismo de acción de *Paecilomyces carneus* se caracteriza por la producción de enzimas específicas que le permiten degradar la cutícula y penetrar al interior del nemátodo en cualquiera de sus estadios (huevos juveniles y

adultos, entre otros) donde crece y se reproduce hasta provocar la muerte de los diferentes grupos taxonómicos de nemátodos fitoparásitos.

La cepa RGM2140 de *Paecilomyces carneus* se caracteriza por presentar la secuencia de nucleótidos de DNA codificado que se presenta a continuación:

GGGATCATTACCGAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACTTATACCATTTA
CTGTTGCTTCGGCGGGTCACGGCCCCGGGGAAGGACAGCGGTCCCGTCAGGCCTCAGC
TGCCCCCCCCCGGAAACAGGCGCCCGCCGGGGAACCTCAAACCTCTTCTGTATTTCTTTAT
10 CTAATATATACTGTCTGAGTAAAACTAAAATGAATCAAACTTTCAACAACGGATCTC
TTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGAA
TTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGTATTCTGGCGGGCAT
GCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGTCCCCTGTGGACTCGGTGTTGGGGACCGG
CGAGACAGCCGCGGATCTTCTTCCGCAGCGAGTCGCCGCCCCCCCAAATGACTTGGCGGC
15 CTCGTCGCGGCCCTCCTCTGCGTAGTATAGCACACCTCGCAACAGGAGCCCGGCGAATG
GCCACTGCCGTAAACCCCCCAACTTTTTTCAGAGTTGACCTCGAATCAGGTAGGAATAC
CCGCTGAACTTAAGCATATCA

La cepa RGM2140 de *Paecilomyces carneus* presenta las siguientes características estructurales:

20 Micelio con crecimiento radial, conidióforos erectos, en PDA crece 12 mm en 10 días, micelio blanco vellosos polvosos, en EMA crece de 9 a 11 mm en diez días. En ambos medios tiñe el reverso de la placa de medio de cultivo de color verde oscuro 29F8 de acuerdo a la carta de colores
25 Farver y Farver de Wanscher y Kornerup de 1961. Micelio blanco, textura filamentosa polvosa. En agar avena (AA) crece 18 a 20 mm en diez días. Micelio con textura polvosa debido a la esporulación, la cual se torna de blanca a ligeramente rosácea 7A2 en AA en un tiempo mayor a 55 días
30 después de inoculados. Tiñe ligeramente el medio de cultivo

en el reverso de la caja de amarillo grisáceo 3C3 ó 3C4 de manera irregular después de 35 días, y en las partes más viejas de color verde olivo 3E7. Células conidiógenas en forma de botella, adelgazándose hacia la punta en un cuello muy delgado, monofialídicas, o en verticilios bien definidos de 2 a 5 células, aunque predominan los grupos de 3 a 4 células, con una longitud mínima de: 7.2 a 8.8µm; la longitud más frecuente es de: 9.6 a 10.4µm y la mayor longitud está entre: 11 a 14.4 µm. El ancho es de 1.6 a 2.4µm. Conidios subglobosos, elipsoidales a esféricos, equinulados, dispuestos en cadenas. Las esporas miden de 2.4 a 4.0µm de longitud y de ancho 1.6 a 2.4µm. En discos de 5mm, la esporulación es de 25×10^6 esporas.

La cepa RGM2140, de *Paecilomyces carneus* producto de esta invención, se caracteriza por contar con la capacidad de infectar y/o infestar nemátodos fitoparásitos de los grupos de: endoparásitos migratorios y/o endoparásitos sedentarios y/o semiendoparásitos y/o ectoparásitos migratorios y/o ectoparásitos sedentarios de la clasificación de acuerdo con el análisis molecular propuesto por De Ley P. y Blaxter. M. en el 2004, de las siguientes familias: *Anguinidae* y/o *Aphelenchidae* y/o *Aphelenchoididae* y/o *Criconeematidae* y/o *Dolichodoridae* y/o *Hemicyclophoridae* y/o *Heteroderidae* y/o *Hoplolaimidae* y/o *Iotonchidae* y/o *Neotylenchidae* y/o *Pratylenchidae* y/o *Sphaerulariidae* y/o *Tilenchidae* y/o *Tylenchulidae*: Suborden *Tylenchina*; y/o *Longidoridae*: Sub-orden *Dorylaimina*; y/o *Trichodoridae*: Sub-orden *Diphtherophorina*.

Durante la investigación del uso y la aplicación de la cepa IE-431 de *Paecilomyces carneus* para el control y/o

prevención y/o erradicación de nemátodos fitoparásitos endoparásitos migratorios y sedentarios, semiendoparásitos y ectoparásitos migratorios y sedentarios, se determinó que dicha cepa aún cuando infecta a dichos nemátodos, requiere de mínimo 15 días para la infección sin controlar y/o erradicar los nemátodos, excepto en el caso de *Meloidogyne* spp. De manera sorprendente y no esperada se determinó que la cepa RGM2140 de *Paecilomyces carneus* infesta y/o infecta a los nemátodos fitoparásitos en un tiempo menor a 72 horas, controlando y/o erradicando a las familias de nemátodos antes mencionadas.

Una primera etapa de evaluación de la efectividad y eficacia de la cepa RGM2140 de *Paecilomyces carneus*, se realizó colocando células (conidiosporas y/o blastosporas y/o fragmentos de hifas) en suspensión de *Paecilomyces carneus* RGM2140 en contacto con nemátodos endoparásitos migratorios y sedentarios, semiendoparásitos y ectoparásitos migratorios y sedentarios entre los que se encuentran: *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Radopholus* spp., *Helicotylenchus* spp., *Criconemoides* spp.; *Hoplolaimus* spp.; *Xiphinema* spp. y, de manera separada, se colocaron los mismos nemátodos en contacto con *Paecilomyces carneus* cepa IE-431.

Los resultados de esta primera etapa, para la cepa de *Paecilomyces carneus* IE-431 fueron los siguientes:

1. Se reduce la viabilidad de las masas de huevos, juveniles y adultos de nemátodos del género *Meloidogyne* spp.
2. A las 24 horas de haber sido puestos en contacto, el hongo germinó y penetró al hospedero.

3. A las 72 horas el micelio se encontró en desarrollo tanto en el interior como en el exterior de las masas de huevos y hembras de *Meloidogyne* spp.

4. A las 120 horas el hongo invadió completamente el total de la masa de huevos y el interior de las hembras de *Meloidogyne* spp. (Figura 1).

Los resultados de esta primera etapa, para la cepa IE-431 de *Paecilomyces carneus* con *Pratylenchus* spp., *Hoplolaimus* spp. y *Criconemoides* spp. fueron los siguientes:

1. A las 120 horas de haber sido puestos en contacto, se visualizó algunas esporas del hongo germinando sobre la cutícula del nemátodo.

2. A los 15 días, el micelio se encontró con un incipiente desarrollo en el exterior del nemátodo, por lo que no es posible el control y/o erradicación del mismo.

Los resultados de esta primera etapa, para la cepa de *Paecilomyces carneus* RGM2140 con *Pratylenchus* spp. fueron los siguientes:

1. A las 48 horas de haber sido puestos en contacto, el hongo germinó y penetró al nemátodo.

2. De 72 (Figura 2) a 120 horas (Figura 3) el micelio se encontró en desarrollo tanto en el interior como en el exterior del nemátodo, lo que indica el potencial de control y/o erradicación del mismo.

En una segunda etapa, se realizó la evaluación de la patogenicidad expresada como % de mortalidad con la cepa RGM2140 de *Paecilomyces carneus* en contacto con nemátodos ectoparásitos (Figura 4):

1. Se obtuvo el 26% de mortalidad en los individuos

de *Hoplolaimus* spp. a las 24 horas de exposición a *Paecilomyces carneus* RGM2140.

2. A las 72 h de exposición al hongo se encontró un 68% de mortalidad en *Hoplolaimus* spp.

5 3. A las 120 h de exposición al hongo se encontró un 78% de mortalidad de los individuos de *Hoplolaimus* spp.

4. Por el contrario en el tratamiento Testigo únicamente se encontró el 26% de individuos de *Hoplolaimus* spp. muertos a las 120 h después del inicio del
10 experimento.

En la evaluación de la patogenicidad expresada como % de mortalidad con la cepa RGM2140 de *Paecilomyces carneus* en contacto con *Criconemoides* spp. (Figura 5):

1. Se obtuvo el 46% de mortalidad de individuos de
15 *Criconemoides* spp. a las 24 h de exposición a la cepa RGM2140 de *Paecilomyces carneus*.

2. A las 72 h de exposición a la cepa RGM2140 de *Paecilomyces carneus* se encontró más del 80% de individuos de *Criconemoides* spp. parasitados por el hongo.

20 3. Finalmente a las 120 h de haber infectado a los nemátodos *Criconemoides* spp. con la cepa RGM2140 de *Paecilomyces carneus* se encontró el 96% de los individuos muertos y con esporulación visible.

4. Por el contrario en el tratamiento Testigo, a las
25 120 h no se observó evidencia de micelio y únicamente se encontró un porcentaje de mortalidad del 16.6%.

En una tercera etapa, se realizó el uso combinado del procedimiento de aplicación de *Paecilomyces carneus* con la rotación de cultivos y aplicación de *Beauveria bassiana* y
30 *Lecanicillium lecanii* para el combate en paralelo con otras

plagas existentes en los cultivos como pueden ser: thrips (Orden Thysanoptera), mosquita blanca (Orden Hemiptera), pulgón *Aphis* spp. (Orden Hemiptera) (las cuales pueden afectar a la planta desde sus etapas tempranas, por lo cual afectan significativamente a la producción) y el tache o frailecillo, *Macrodactylus* spp. (orden Coleoptera), que es un insecto omnívoro y, puede acabar con un cultivo en pocos días; y, enfermedades causadas por Helotiales como *Botrytis fabae* (mancha chocolate) y/o *B. cinerea* (podredumbre gris) y/o enfermedades causadas por Uredinales como *Uromyces* spp. y/o *Puccinia* spp. y/o *Tranzschelia* spp. (royas) que los productores de diversos cultivos ya no pueden controlar con los productos químicos que se venden en el mercado.

Para la prevención y/o control y/o erradicación de nemátodos y además de dichas plagas y enfermedades, se utilizó *Lecanicillium lecanii* en etapas tempranas del desarrollo de las plantas, aplicándolo por separado o en combinación con *Paecilomyces carneus* en el suelo.

Los resultados sorprendentemente obtenidos fueron la reducción significativa de las plagas de thrips, mosquita blanca y pulgón, y una reducción casi total de las manchas chocolate. En cuanto a la roya, el cultivo se mantiene limpio hasta la producción de vaina y llenado de las mismas en el caso del haba, es decir, cuando la semilla está madura y lista para cosechar.

De manera adicional, se aplicó *Beauveria bassiana* para el control de *Macrodactylus* spp. En 2 o más días dicha plaga empieza a morir y disminuye significativamente su afectación a los cultivos. Para obtener mejores resultados, se aplica el hongo *Beauveria bassiana* durante la labranza

para afectar desde antes el estado larvario y así disminuir la población.

Los resultados obtenidos, fueron un incremento en el rendimiento de las plantas de haba en las parcelas tratadas con control biológico, en comparación con las parcelas de control químico (50% menos vainas) y la parcela testigo.

Por lo tanto, la cepa RGM2140 de *Paecilomyces carneus* se caracteriza porque reduce la población de nemátodos desde la primera aplicación con una efectividad total alcanzada en tres a cinco días en nemátodos de las Familias Anguinidae y/o Aphelenchidae y/o Aphelenchoididae y/o Crictonematidae y/o Dolichodoridae y/o Hemicyclophoridae y/o Heteroderidae y/o Hoplolaimidae y/o Iotonchidae y/o Neotylenchidae y/o Pratylenchidae y/o Sphaerulariidae y/o Tilenchidae y/o Tylenchulidae: Sub-orden Tylenchina; y/o Longidoridae: Sub-orden Dorylaimina; y/o Trichodoridae: Sub-orden Diphtherophorina. En cambio, la cepa IE-431 no logra llevar a cabo su acción nematicida en la mayoría de los fitoparásitos antes mencionados, pero resulta extremadamente efectiva y específica en nemátodos endoparásitos y/o semiendoparásitos de la Familia Heteroderidae.

La presente invención describe un método para el aislamiento y/o mantenimiento y/o reproducción masiva de *Paecilomyces carneus*, así como el uso y/o aplicación de la misma para el control y/o prevención y/o erradicación de nemátodos que infectan y/o infestan las áreas de cultivo de acelga, agave, aguacate, ajo, alfalfa, algodón, anonas, árbol del caucho, arrayán, arroz, avena, baricoco, bambú, begonia, berenjena, brócoli, cacahuete, café, cacao,

caimito, calabacita, calabaza, calabacín, capulín, casuarina, camelia, camote, canela, caña de azúcar, carambola, chabacano, cártamo, cebada, cebolla, cedro, cidra o citro, ciruela, cítricos, cocotero, col, coliflor, 5 clavel, crisantemo, cuajinicuil o jinicuilo, chicozapote, chicharo, chile, durazno, epazote, espinaca, estropajo, frambuesa, fresa, fresno, frijol, gardenia, garbanzo, gladiola, granada, guayaba, haba, higo, jicama, lechuga, lima, limón, maíz, mamey, mandarina, manzano, mango, 10 margarita, margariton, melón, membrillo, menta, mora, ñame, naranja, nectarina, nogal, nopal, okra, papaya, papa, pastos, pepino, pera, plátano, pimienta, pino, piña, pitahaya, pomelo, sandía, sauce blanco, satsumas o tangerinas, sorgo, soya, tabaco, tomate, tomate de cáscara, 15 toronja, trigo, vid, vinca de Madagascar, violeta africana, zanahoria, jobo, chapote amarillo, chirimoya, guanábana, icaco, marañón, melón, níspero, pepino cohombro, persimón, pomarroja, sandia, zapote amarillo, zapote blanco, zapote negro, zaramuyo o saramuya, entre otras cultivos donde se 20 propagan este tipo de parásitos.

Para la preparación de composiciones con células de *Paecilomyces carneus* pueden desarrollarse para su aplicación en forma de suspensión, gránulos, polvo, liofilizados, pellets, formas de liberación controlada, 25 bomba ecológica, gel, jaleas, pastas, cápsulas, células inmovilizadas, emulsión, microemulsión, solución y/o combinaciones de las mismas.

Ejemplos

A continuación se presentan de manera descriptiva no limitativa, composiciones nematocidas de *Paecilomyces carneus* obtenidas:

5

Ejemplo 1: Composición 1 de *Paecilomyces carneus* cepa RGM2140.

COMPONENTE	CANTIDAD
Células de <i>Paecilomyces carneus</i>	0.5×10^7 células/mL
Jugo de Zanahoria	80-100 mL
Levadura	0.1-5.0 g/L
Ampicilina	500 mg
Agua	c.b.p. 1000 mL

10 Ejemplo 2: Composición 2 de *Paecilomyces carneus* cepa RGM2140.

COMPONENTE	CANTIDAD
Células de <i>Paecilomyces carneus</i>	0.5×10^7 células/mL
Avena	20-50 g/L
Levadura	0.1-5.0 g/L
Cloranfenicol	1000 mg
Agua	c.b.p. 1000 mL

Ejemplo 3: Composición 3 de *Paecilomyces carneus* cepa RGM2140.

COMPONENTE	CANTIDAD
Células de <i>Paecilomyces carneus</i>	0.5×10^7 células/mL
Avena	5-25 g/L
Levadura	0.1-5.0 g/L
Cloranfenicol	1000 mg
Agua	c.b.p. 1000 mL

Ejemplo 4: Composición 4 para el aislamiento y
5 mantenimiento de *Paecilomyces carneus* cepa RGM2140.

COMPONENTE	CANTIDAD
Células de <i>Paecilomyces carneus</i>	0.5×10^7 células/mL
Zanahoria	50-160 g/L
Papa	20-50 g/L
Cloranfenicol	1000 mg
Agua	c.b.p. 1000 mL

Ejemplo 5: Composición 5 para el aislamiento y
mantenimiento de *Paecilomyces carneus* cepa RGM2140.

COMPONENTE	CANTIDAD
Células de <i>Paecilomyces carneus</i>	0.5×10^7 células/mL
Centeno	15 - 50 g/L
Cloranfenicol	1000 mg
Agua	c.b.p. 1000 mL

Paecilomyces carneus consiste de manera general en:

Una o más aplicaciones de la o las composiciones de *Paecilomyces carneus* se realiza al suelo al menos 10 días antes de la siembra para la desinfección del mismo. El
5 número de aplicaciones está en función de la especie del nemátodo fitoparásito y su densidad de población.

En el caso de cultivos cuya siembra se realiza a partir de: tubérculos, bulbos, rizomas, cormos, entre otros, consiste en sumergirlos en la o las composiciones
10 por al menos una hora antes de la siembra.

Para el trasplante de cultivos arbustivos y/o arbóreos, la aplicación se realiza de manera directa a la raíz de la planta y/o al suelo donde se sembrará.

Cuando se trate de cultivos sembrados a partir de
15 semillas, la o las composiciones se aplican en el surco antes de depositar la semilla y/o directamente en la semilla un poco antes de la siembra.

De manera opcional y no limitativa, la aplicación de la o las composiciones se realiza después de la siembra y/o
20 durante el desarrollo del cultivo.

Durante y/o después de la cosecha y/o durante el periodo de rotación de cultivo y/o descanso del suelo, se lleva a cabo la aplicación de la o las composiciones al suelo para prevenir nuevas infestaciones y/o controlar y/o
25 erradicar la población de nemátodos fitoparásitos remanentes. Con esta práctica se prepara al suelo para el siguiente ciclo de cultivo.

De manera complementaria, a dicha composición puede adicionarse uno o más agentes biológicos para el control de
30 nemátodos seleccionados de los siguientes: *Bacillus*

thuringiensis, *Bacillus thuringiensis* ATCC 55273, *Bacillus firmus* CNCMI-1582, *Sphingobacterium cepa spiritivorum*, *Corynebacterium paurometabolum*, *Arthrobotrys* spp., *Pasteuria penetrans* 98-35, *Streptomyces dicklowii*, *Stevia rebaudiana*, *Streptomyces rubrogriseus*, *Pochonia chlamydosporia*, *Monacrosporium ullum*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Verticillium chlamydosporium* CC 334168, *Bacillus subtilis* No. DSM17231 y/o *Bacillus licheniformis* DSM 17236, *Verticillium chlamydosporium*, *Paecilomyces lilacinus*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Paecilomyces lilacinus* 251, *Paecilomyces lilacinus* 252, *Paecilomyces lilacinus* 253, y *Paecilomyces lilacinus* 254, *Rhizoctonia solani* AG-4, *Fusarium oxysporum*, *Pythium* sp., *Phytophthora nicotiana*, *Verticillium dahliae*, *Paecilomyces cicadae*, *Sphingobacterium spiitivorum* C-926 y/o *Corynebacterium paurometabolum* C-924 *Paecilomyces carneus* cepa IE-431 y/o *Beauveria bassiana* y/o *Lecanicillium lecanii* y/o *Calcarisporium* spp. y/o combinaciones de las mismas.

De manera integral, la presente invención proporciona las siguientes ventajas:

1. Método biológico para el manejo racional de nemátodos plaga en cultivos.
2. Mejoramiento de la calidad del suelo de cultivos.
3. Recuperación de suelos dañados por uso de agentes químicos como plaguicidas.
4. Obtención de productos agrícolas y recursos forestales de calidad.
5. Mejoramiento en el rendimiento de los cultivos y/o recursos forestales.

6. Favorece la disposición de macroelementos como el fósforo en el suelo a la planta y mejora la fertilidad del suelo. Su eficiencia de solubilización de fosfatos es comparable a la que presentan *Penicillium* spp. y
- 5 *Aspergillus* spp.
7. La erradicación de los nemátodos fitoparásitos se observa desde la primera aplicación en menor tiempo comparado con otros tipos de control.
8. Las composiciones nematicidas obtenidas son
- 10 inocuas para el ser humano, las plantas y los animales.
9. Permite la combinación con otros métodos de control como la rotación de cultivo, descanso del suelo entre otros.
10. Es un método sustentable de prevención y/o
- 15 control y/o erradicación de nemátodos fitoparásitos, de fácil manejo y/o aplicación.
11. Es un método económico y rentable a corto, mediano y largo plazo.
12. La especificidad obedece a la producción de
- 20 enzimas específicas que atacan a los nemátodos fitoparásitos sin afectar a los nemátodos de vida libre benéficos al agroecosistema.

REIVINDICACIONES

1. Uso del hongo *Paecilomyces carneus* para el control y/o prevención y/o erradicación de nemátodos
5 fitoparásitos.

2. Uso del hongo *Paecilomyces carneus* de conformidad con la reivindicación 1, para el control y/o prevención y/o erradicación de nemátodos fitoparásitos en donde dichos nemátodos fitoparásitos se seleccionan del grupo
10 consistente en: endoparásitos migratorios y/o endoparásitos sedentarios y/o semiendoparásitos y/o ectoparásitos migratorios y/o ectoparásitos sedentarios o combinaciones de los mismos.

3. Uso del hongo *Paecilomyces carneus* de conformidad
15 con las reivindicaciones 1 y 2, en donde los nemátodos fitoparásitos pertenecen a las Familias: Anguinidae, Aphelenchidae, Aphelenchoididae, Criconematidae, Dolichodoridae, Hemicycliphoridae Heteroderidae, Hoplolaimidae, Iotonchidae, Neotylenchidae, Pratylenchidae,
20 Sphaerulariidae, Tilenchidae y Tylenchulidae: Sub-orden Tylenchina; Longidoridae: Sub-orden Dorylaimina; Trichodoridae: Sub-orden Diphtherophorina y/o combinaciones de las mismas.

4. Uso del hongo *Paecilomyces carneus* de conformidad
25 con la reivindicaciones 1 a 3, en donde los nemátodos fitoparásitos pertenecen a los géneros: *Aphelenchus* spp. y/o *Aphelencoides* spp. y/o *Meloidogyne* spp. y/o *Pratylenchus* spp. y/o *Radopholus* spp. y/o *Helicotylenchus* spp. y/o *Criconema* spp. y/o *Cactodera* spp. y/o *Tylenchulus*
30 spp. y/o *Punctodera* spp. y/o *Nacobbus* spp. y/o *Rotylenchus*

spp. y/o *Rotylenchulus* spp. y/o *Tylenchus* spp. y/o *Ditylenchus* spp. y/o *Belonolaimus* spp. y/o *Cricconemoides* spp. y/o *Hoplolaimus* spp. y/o *Xiphinema* spp. y/o *Heterodera* spp. y/o *Longidorus* spp. y/o *Trichodorus* spp. y/o
 5 *Discocricconemella* spp. y/o *Hemicyclophora* spp., *Paratylenchus* spp. y/o *Tylenchorhynchus* spp. y/o combinaciones de los mismos.

5. Uso del hongo *Paecilomyces carneus* de conformidad con la reivindicaciones 1 a 4, aplicado junto con
 10 *Lecanicillium lecanii* y/o *Beauveria bassiana* para el control y/o prevención y/o erradicación de insectos plaga en donde dichos insectos plaga se seleccionan del Orden de: Thysanoptera y/o Hemiptera y/o Hemiptera y/o Coleoptera o combinaciones de los mismos.

15 6. Uso del hongo *Paecilomyces carneus* de conformidad con la reivindicaciones 1 a 5, aplicado junto con *Lecanicillium lecanii* y/o *Calcarisporium arbuscula* y/o *Calcarisporium ovalisporum* para el control y/o prevención y/o erradicación de enfermedades causadas por hongos en
 20 donde dichos hongos se seleccionan del grupo consistente en: Helotiales como *Botrytis fabae* y/o *B. cinerea* y/o Uredinales (royas) como *Uromyces* spp. y/o *Puccinia* spp. y/o *Tranzschelia* spp. y/o enfermedades de la raíz de varios cultivos como *Rhizoctonia* spp. y/o *Fusarium* spp. y/o
 25 combinaciones de los mismos.

7. Un cultivo biológicamente puro de *Paecilomyces carneus* cepa RGM2140 depositada en el Banco de Recursos Genéticos Microbianos de la Colección Chilena de Recursos Genéticos Microbianos (CChRGM) en Chile, correspondiente a
 30 la (cepa IE418 depositada en el cepario del Instituto de

Ecología, A.C. de Xalapa, Veracruz), caracterizada porque presenta la secuencia genética:

```

gggatcatta ccgagtttac aactcccaaa cccctgtga acttatacca tttactgttg 60
cttcggcggg tcacggcccc ggggaaggac agcggtcgcc gtcaggcctc agctgccccg 120
5 ccccgaaac aggcgccccg cggggaactc aaactcttct gtatttcttt atctaataata 180
tactgtctga gtaaaaacta aaatgaatca aaactttcaa caacggatct cttggttctg 240
gcatcgatga agaacgcagc gaaatgcgat aagtaatgtg aattgcagaa ttcagtgaat 300
catcgaatct ttgaacgcac attgcgcccc ccagtattct ggcgggcatg cctgttcgag 360
cgtcatttca accctcaagt cccctgtgga ctcggtgttg gggaccggcg agacagccgc 420
10 ggatcttctt cgcagcgag tcgcgcccc ccaatgact tggcggcctc gtcgcgcccc 480
tcctctgcgt agtatagcac acctcgcaac aggagcccg cgaatggcca ctgccgtaaa 540
accccccaac tttttcagag ttgacctoga atcaggtagg aatacccgct gaacttaagc 600
atatca
606

```

15 8. Composición nematocida que comprende el hongo de conformidad con las reivindicaciones 1 a 7, caracterizada porque comprende a) una o más células de *Paecilomyces carneus* y/o b) al menos un agente propagador de *Paecilomyces carneus* y/o c) al menos un agente antibiótico y/o d) al menos un acarreador de células y/o e) al menos un agente regulador de pH y/o f) al menos un aditivo y/o g) al menos un dispositivo para la aplicación de la composición nematocida.

25 9. Composición de conformidad con la reivindicación 8, caracterizada porque el agente propagador de *Paecilomyces carneus* consiste en: una o más fuentes de carbohidratos obtenidos de: zanahoria, papa, avena, centeno, malta, camote, cebada, maíz, arroz, trigo, yuca, sorgo y/o combinaciones de los mismos.

30 10. Composición de conformidad con las reivindicaciones 8 y 9 caracterizada porque contiene como agente nematocida, células de *Paecilomyces carneus* solas o

en combinación con uno o más agentes de control biológico seleccionados de *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus thuringiensis* ATCC 55273, *Bacillus firmus* CNCMI-1582, *Sphingobacterium spiritivorum*, *Corynebacterium*

5 *paurometabolum*, *Arthrobotrys* spp., *Pasteuria penetrans* 98-35, *Streptomyces dicklowii*, *Stevia rebaudiana*, *Streptomyces rubrogriseus*, *Pochonia chlamydosporia*, *Monacrosporium* ullum, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Verticillium chlamydosporium* CC 334168, *Bacillus subtilis* No. DSM17231

10 y/o *Bacillus licheniformis* DSM 17236, *Verticillium chlamydosporium*, *Paecilomyces lilacinus*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Paecilomyces lilacinus* 251, *Paecilomyces lilacinus* 252, *Paecilomyces lilacinus* 253, *Paecilomyces lilacinus* 254, *Rhizoctonia solani* AG-4,

15 *Fusarium oxysporum*, *Pythium* sp., *Phytophthora nicotiana*, *Verticillium dahliae*, *Paecilomyces cicadae*, *Sphingobacterium spiitivorum* C-926 y/o *Corynebacterium paurometabolum* C-924, *Paecilomyces carneus* cepa IE-431, *Lecanicillium lecanii*, *Beauveria bassiana*, *Calcarisporium*

20 *arbuscula*, *Calcarisporium ovalisporum* y/o extractos vegetales utilizados para el control de plagas y/o combinaciones de las mismas.

11. El procedimiento para la prevención y/o control y/o erradicación de nemátodos fitoparásitos caracterizado

25 porque comprende los pasos de: 1) desinfección del suelo mediante la aplicación de *Paecilomyces carneus* al suelo al menos 10 días antes de la siembra y/o desinfección de tubérculos y/o bulbos y/o rizomas y/o cormos y/o raíces y/o suelo y/o semillas mediante la aplicación directa de

30 *Paecilomyces carneus* al menos una hora antes de la siembra

y/o 2) controlar de la densidad de población de nemátodos fitoparásitos mediante la aplicación de *Paecilomyces carneus* al suelo después de la siembra y/o durante el desarrollo del cultivo y/o 3) erradicar los nemátodos fitoparásitos mediante la aplicación de *Paecilomyces carneus* al suelo durante y/o después de la cosecha y/o durante el periodo de rotación de cultivo y/o descanso del suelo.

12. Uso del hongo *Paecilomyces carneus* de conformidad con las reivindicaciones 1 a 11 para el control y/o prevención y/o erradicación de una o más especies de nemátodos agalladores de la raíz del cafeto.

13. Uso del hongo *Paecilomyces carneus* de conformidad con las reivindicaciones 1 a 12 en combinación con *Lecanicillium lecanii* y/o *Calcarisporium arbuscula* y/o *Calcarisporium ovalisporum* para el control y/o prevención y/o erradicación de la corchosis provocada por uno o más nemátodos agalladores de la raíz y/o uno o más hongos fitoparásitos del cafeto.

14. Uso del hongo *Paecilomyces carneus* de conformidad con las reivindicaciones 1 a 11 en combinación con *Lecanicillium lecanii* y/o *Calcarisporium arbuscula* y/o *Calcarisporium ovalisporum* para el control y/o prevención y/o erradicación de la costra negra de la papa provocada por el hongo *Rhizoctonia solani*.

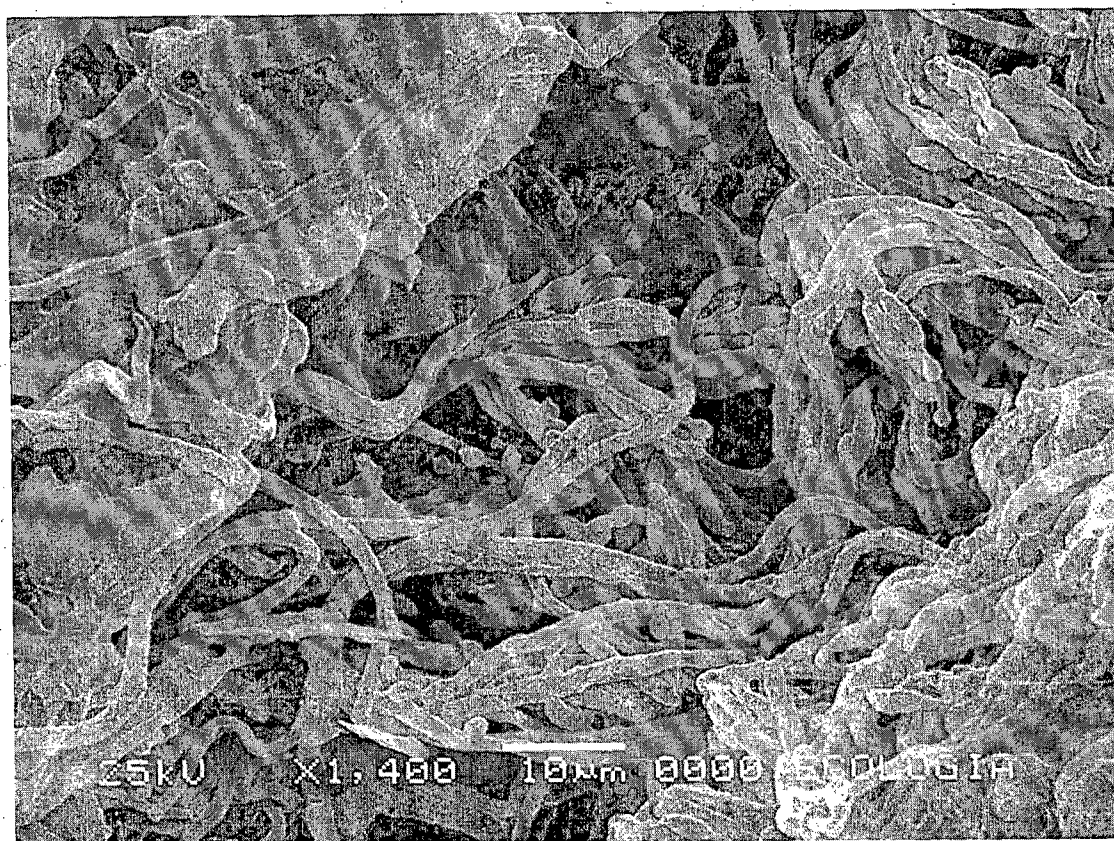


FIGURA 1

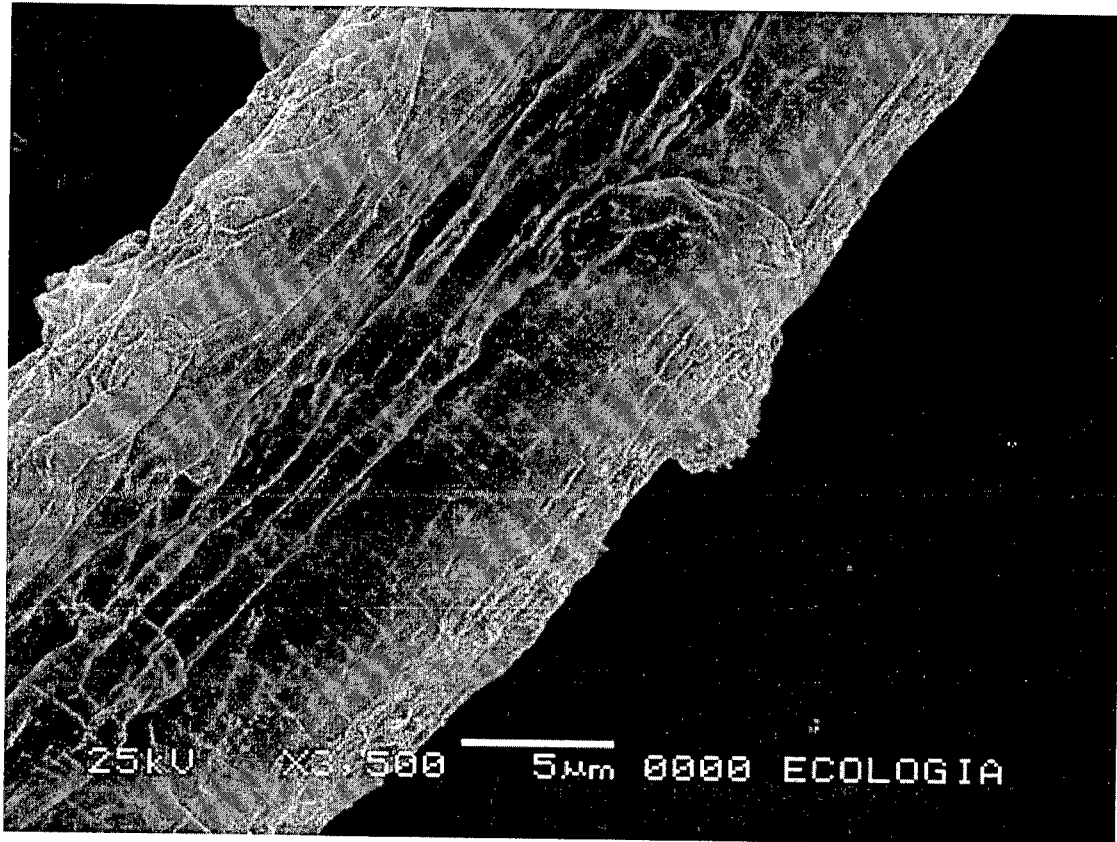


FIGURA 2

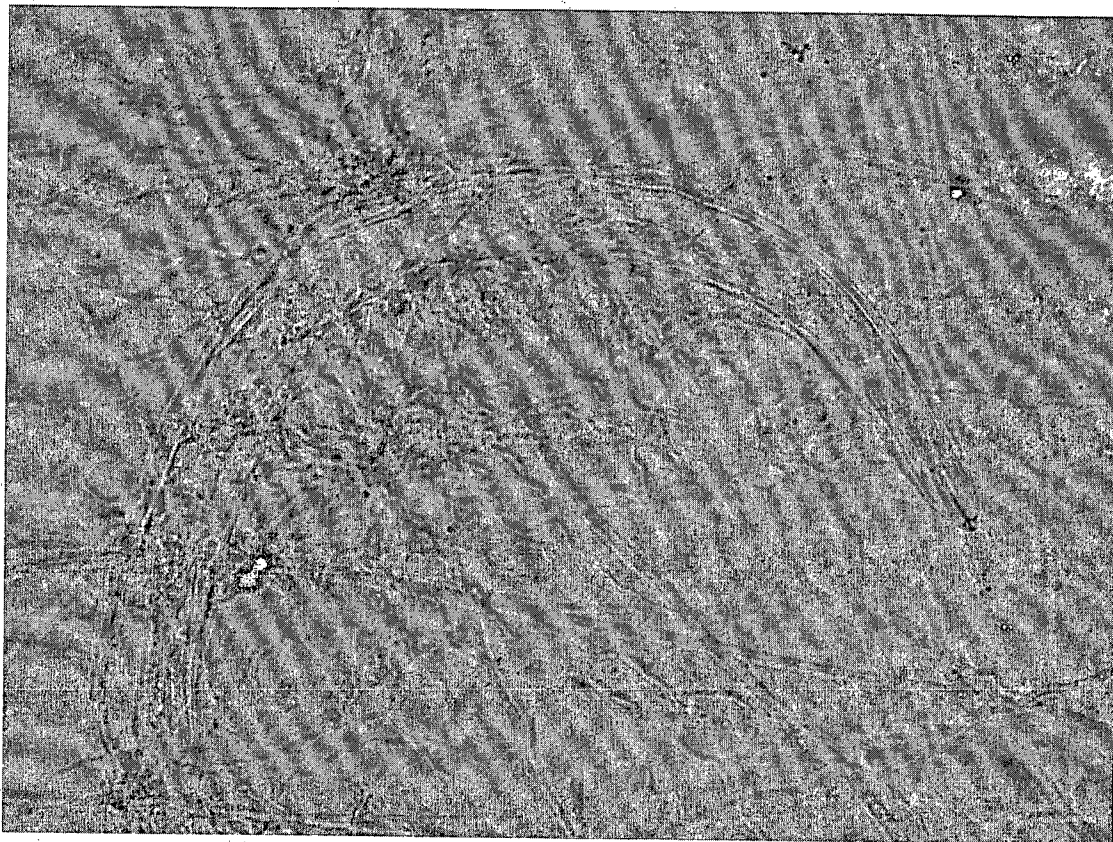


FIGURA 3

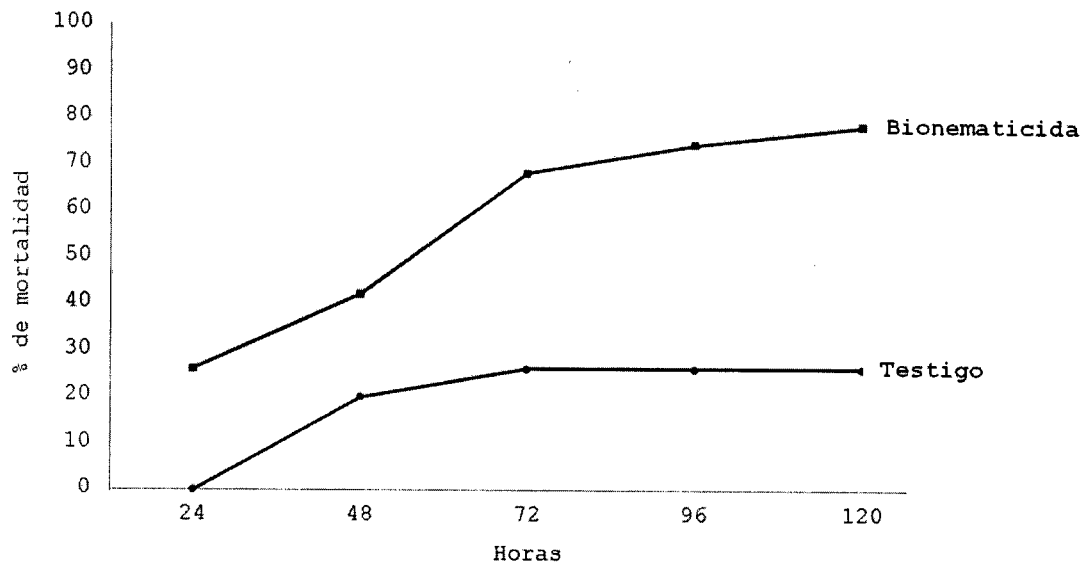


FIGURA 4

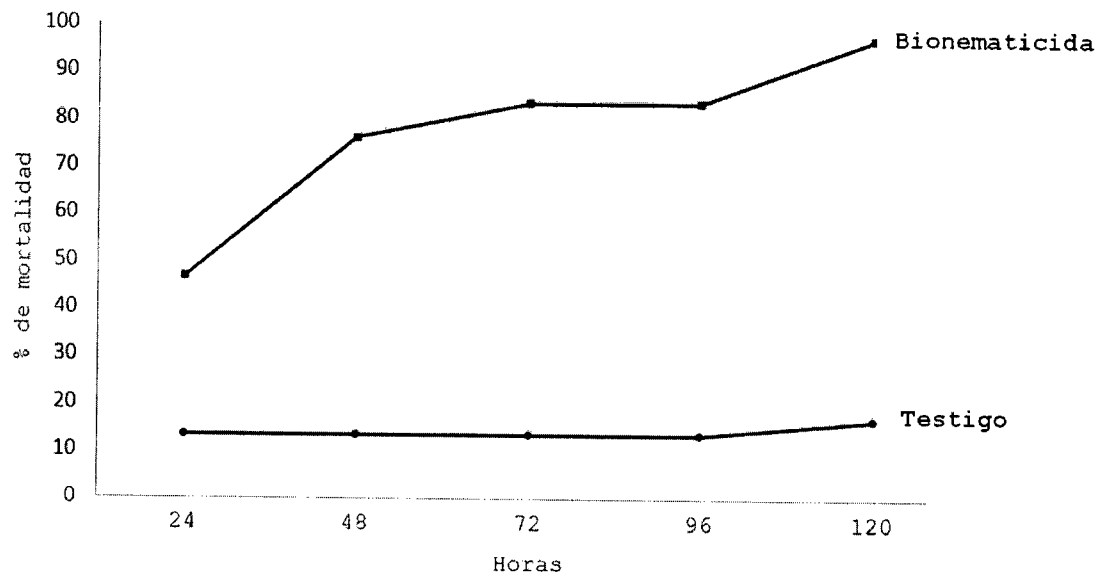


FIGURA 5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/MX2013/000163

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A01N63/04 (2006.01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPODOC, INVENES, WPI, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2012148251 A2 (INST DE ECOLOGIA A C ET AL.) 01/11/2012, claims.	1-3, 8-11
X	NUÑEZ, A. E. Aislamiento y evaluación de hongos nematófagos asociados a quistes de <i>Globodera rostochiensis</i> (Woll.) en la región del Cofre de Perote. 2002. Tesis Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Tecomán, Colima, Universidad de Colima México, pags 1, 50, 66, 75, 78 y 93.	1-3
A	BOAG B et al. Nematodes and nematophagous fungi associated with cereal fields and permanent pasture in eastern Scotland NEMATODES. <i>Crop Research</i> (Edinburgh) 1989 VOL: 29 No: 1 Pags:1-10 ISSN 0264-3049	1-14

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.	
"E" earlier document but published on or after the international filing date	
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means.	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
09/04/2014

Date of mailing of the international search report
(24/04/2014)

Name and mailing address of the ISA/

OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
Facsimile No.: 91 349 53 04

Authorized officer
I. Rueda Molíns

Telephone No. 91 3493279

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

Information on patent family members

PCT/MX2013/000163

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO2012148251 A2	01.11.2012	US2014079670 A1	20.03.2014
		CN103619178 A	05.03.2014
		EP2700318 A2	26.02.2014
		CO6831974 A2	10.01.2014
		CA2834250 A1	01.11.2012
		AU2012248892 A1	14.11.2013
		MX2011004510 A	30.01.2012
-----	-----	-----	-----

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°

PCT/MX2013/000163

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

A01N63/04 (2006.01)

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A01N

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

EPODOC, INVENES, WPI, BIOSIS

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones n°
X	WO 2012148251 A2 (INST DE ECOLOGIA A C ET AL.) 01/11/2012, reivindicaciones.	1-3, 8-11
X	NUÑEZ, A. E. Aislamiento y evaluación de hongos nematófagos asociados a quistes de <i>Globodera rostochiensis</i> (Woll.) en la región del Cofre de Perote. 2002. Tesis Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Tecomán, Colima, Universidad de Colima México, páginas 1, 50, 66, 75, 78 y 93.	1-3
A	BOAG B et al. Nematodes and nematophagous fungi associated with cereal fields and permanent pasture in eastern Scotland. <i>Crop Research (Edinburgh)</i> 1989 VOL: 29 No: 1 Pags:1-10 ISSN 0264-3049, todo el documento.	1-14

☐ En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos ☒ Los documentos de familias de patentes se indican en el anexo

* Categorías especiales de documentos citados:	"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.
"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.	"X" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.
"E" solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.	"Y" documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.
"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).	"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.
"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.	
"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.	

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.
09/04/2014

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional.
24 de abril de 2014 (24/04/2014)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional
OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS
Paseo de la Castellana, 75 - 28071 Madrid (España)
N° de fax: 91 349 53 04

Funcionario autorizado
I. Rueda Molíns
N° de teléfono 91 3493279

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Informaciones relativas a los miembros de familias de patentes

Solicitud internacional n°

PCT/MX2013/000163

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
WO2012148251 A2	01.11.2012	US2014079670 A1	20.03.2014
		CN103619178 A	05.03.2014
		EP2700318 A2	26.02.2014
		CO6831974 A2	10.01.2014
		CA2834250 A1	01.11.2012
		AU2012248892 A1	14.11.2013
		MX2011004510 A	30.01.2012
-----	-----	-----	-----