

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 951 883**

51 Int. Cl.:

A01N 63/20	(2010.01) A01P 3/00	(2006.01)
A01N 63/22	(2010.01) A01P 7/00	(2006.01)
A01N 63/28	(2010.01) A01C 1/06	(2006.01)
A01N 63/38	(2010.01)	
A01N 37/46	(2006.01)	
A01N 43/16	(2006.01)	
A01N 51/00	(2006.01)	
A01N 37/50	(2006.01)	
A01N 47/24	(2006.01)	
A01N 43/36	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.07.2015 PCT/US2015/041086**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **28.01.2016 WO16014386**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.07.2015 E 15745672 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.05.2023 EP 3171696**

54 Título: **Composiciones que contienen lipo-quito-oligosacáridos y microorganismo para potenciar el crecimiento de las plantas**

30 Prioridad:

23.07.2014 US 201462027950 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.10.2023

73 Titular/es:

**NOVOZYMES BIOAG A/S (100.0%)
Krogshøjvej 36
2880 Bagsvaerd, DK**

72 Inventor/es:

**HABIB, AHSAN;
WOODS, KRISTI;
FRODYMA, MICHAEL y
SEMONES, SHAWN**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 951 883 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones que contienen lipo-quito-oligosacáridos y microorganismo para potenciar el crecimiento de las plantas

5 **CAMPO DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a métodos para potenciar el crecimiento de las plantas.

10 **ANTECEDENTES**

15 La simbiosis entre las bacterias gram-negativas del suelo, Rhizobiaceae y Bradyrhizobiaceae, y leguminosas tales como la soja está bien documentada La base bioquímica de estas relaciones incluye un intercambio de señales moleculares, en donde los compuestos señalizadores de planta a bacteria incluyen flavonas, isoflavonas y flavanonas, y los compuestos señalizadores de bacteria a planta, que incluyen los productos finales de la expresión de genes nod del bradirrizzobio y del rizobio, conocidos como lipo-quito-oligosacáridos (LCO, por sus siglas en inglés). La simbiosis entre estas bacterias y las leguminosas permite que la leguminosa fije el nitrógeno atmosférico para el crecimiento de las plantas, evitando así la necesidad de fertilizantes nitrogenados. Dado que los fertilizantes nitrogenados pueden aumentar significativamente el costo de los cultivos y están asociados con una serie de efectos contaminantes, la industria agrícola continúa sus esfuerzos para explotar esta relación biológica y desarrollar nuevos agentes y métodos para mejorar el rendimiento de las plantas sin aumentar el uso de fertilizantes nitrogenados.

20 El documento WO 2013/040366 describe composiciones que comprenden al menos un microorganismo solubilizador de fosfato y al menos un LCO y/o CO y soportes para potenciar el crecimiento de las plantas, en las que el microorganismo solubilizador de fosfato puede ser una cepa de *Bacillus* o *Streptomyces*.

25 El documento WO 2013/174836 describe composiciones de compuestos activos para aumentar el rendimiento de las plantas o estimular el crecimiento de las plantas que comprenden un LCO y un producto a base de *Bacillus firmus*. Las composiciones pueden comprender además plaguicidas.

30 El documento US 2013/096002 describe un método para potenciar el crecimiento de las plantas, que comprende tratar una planta o semilla de una planta con una cantidad eficaz de al menos dos LCOs.

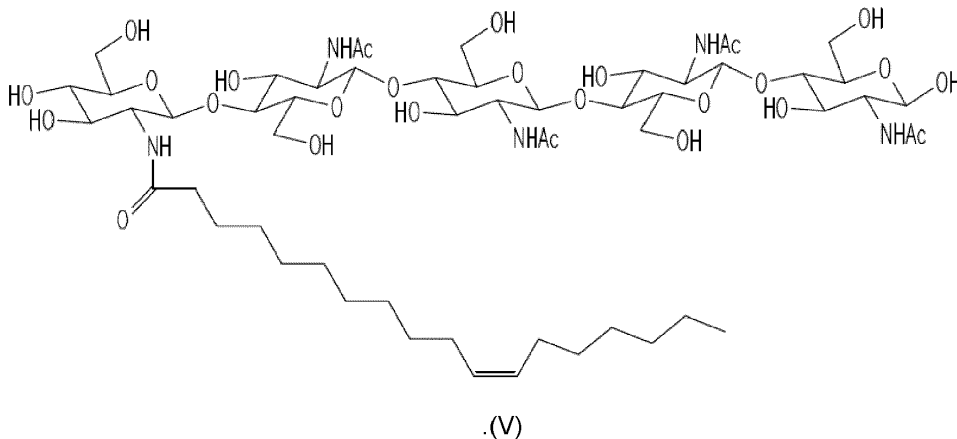
35 El documento US 2010/048404 describe composiciones insecticidas sinérgicas que comprenden un LCO y un insecticida.

El documento US 2010/113278 describe composiciones fungicidas sinérgicas que comprenden un LCO y fungicidas.

40 Rethwisch et al. describe composiciones Optimize™ que contienen LCO y *Bradyrhizobium japonicum* y LCO y su uso en el tratamiento de semillas para potenciar el crecimiento de las plantas.

SUMARIO

45 En esta memoria se describe un método para potenciar el crecimiento de una planta o parte de una planta, que comprende poner en contacto dicha planta o parte de una planta con al menos un compuesto de lipo-quito-oligosacáridos (LCO) y al menos un microorganismo beneficioso para la agricultura, en donde dicho al menos un microorganismo beneficioso para la agricultura es *Streptomyces lydicus* WYEC 108, *Trichoderma virens* GI-3 o *Bacillus amyloliquefaciens* SB3778; y en el que dicho al menos un LCO comprende el LCO representado por la estructura (V):



DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente invención se explica con mayor detalle a continuación.

5 A menos que se defina de otro modo, todos los términos y expresiones (incluidos los términos y expresiones técnicos y científicos) utilizados en esta memoria tienen el mismo significado que comúnmente entiende un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Se entenderá, además, que los términos y expresiones tales como los definidos en los diccionarios de uso común, deben interpretarse con un significado que sea consistente con su significado en el contexto de la memoria descriptiva y la técnica relevante y no deben interpretarse en un sentido idealizado o demasiado formal, a menos que así se defina expresamente en esta memoria. En aras de la brevedad y/o la claridad, es posible que no se describan en detalle funciones o construcciones bien conocidas

10 Tal como se utilizan en esta memoria, las formas en singular "un", "una" y "el", "la" también incluyen las formas en plural, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

15 Tal como se utilizan en esta memoria, el término "acaricida" se refiere a un agente o combinación de agentes, cuya aplicación es tóxica para un ácaro (es decir, mata a un ácaro, inhibe el crecimiento de un ácaro y/o inhibe la reproducción de un ácaro).

20 Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "agente beneficioso en agricultura" se refiere a cualquier agente (p. ej., agente químico o biológico) o combinación de agentes cuya aplicación provoca o proporciona un efecto beneficioso y/o útil en la agricultura (p. ej., potencia el crecimiento de las plantas), incluyendo, pero no limitados a microorganismos beneficiosos para la agricultura, bioestimulantes, nutrientes, plaguicidas (p. ej., acaricidas, gastropodicidas, herbicidas, insecticidas, nematocidas, rodenticidas y virucidas) y moléculas señales de plantas.

25 Tal como se utiliza en esta memoria, las expresiones "microorganismo beneficioso en agricultura", "microbio beneficioso en agricultura", "microorganismo beneficioso" y "microbio beneficioso" se refieren a un microorganismo que tiene al menos una propiedad beneficiosa en agricultura (p. ej., la capacidad de producir un agente beneficioso en agricultura tal como una de las moléculas señales de plantas descritas en esta memoria; para potenciar la absorción de nutrientes y/o agua; para fomentar y/o potenciar la fijación de nitrógeno; para potenciar el crecimiento; para potenciar la germinación de semillas; para potenciar la emergencia de plántulas; para aumentar el número de semillas o el tamaño; para romper la latencia o quiescencia de una planta, etc.).

30 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "y/o" pretende incluir cualquiera y todas las combinaciones de uno o más de los elementos enumerados asociados, así como la falta de combinaciones cuando se interpreta en la alternativa ("o").

35 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "bioestimulante" se refiere a un agente o combinación de agentes cuya aplicación potencia uno o más procesos metabólicos y/o fisiológicos de una planta o parte de la planta (p. ej., respiración, fotosíntesis, absorción de ácidos nucleicos, absorción de iones y/o suministro de nutrientes).

40 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "soporte" significa un "soporte agrónomicamente aceptable". Un "soporte agrónomicamente aceptable" se refiere a cualquier material que pueda utilizarse para administrar los componentes activos (p. ej., LCO, plaguicidas, microorganismos beneficiosos, etc.) a una planta, parte de una planta o lugar de crecimiento de una planta (p. ej., follaje, semilla, suelo). Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión el término "soporte compatible con el suelo" significa cualquier material que se puede añadir al suelo sin provocar/tener un efecto adverso sobre el crecimiento de las plantas, la estructura del suelo, el drenaje del suelo o similares. Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "soporte compatible con semillas" significa cualquier material que se puede añadir a una semilla sin provocar/tener un efecto adverso sobre la semilla, la planta que crece a partir de la semilla, la germinación de la semilla o similar. Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "soporte compatible foliar" significa cualquier material que se puede añadir a una planta o parte de la planta sin provocar/tener un efecto adverso sobre la planta, la parte de la planta, el crecimiento de la planta, la salud de la planta o similar.

45 Tal como se utiliza en esta memoria, los términos "comprenden", "comprende", la expresión "que comprende", los términos "incluyen", "incluye" e "incluyendo" especifican la presencia de características, etapas, operaciones, elementos y/o componentes establecidos, pero no impiden la presencia o adición de una o más de otras características, etapas, operaciones, elementos, componentes y/o grupos de los mismos.

50 Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "consiste esencialmente en" (y variantes gramaticales de la misma), aplicado a los métodos de la presente invención, significa que los métodos pueden contener componentes adicionales siempre que los componentes adicionales no alteren materialmente el método. La expresión "alterar materialmente", tal como se aplica a un método, se refiere a un aumento o disminución en la eficacia del método de al menos aproximadamente un 20 % o más. Por ejemplo, un componente añadido a un método de la presente invención "alteraría materialmente" el método si aumenta o disminuye la capacidad del método para potenciar el crecimiento de las plantas en al menos aproximadamente un 50 %.

60

65

- 5 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "control" o "controlar" tal como, p. ej., la frase: el "control" de plagas o poblaciones de plagas, o "controlar" plagas o poblaciones de plagas, o como en la frase: "controlar plagas", significa prevenir, reducir, matar, inhibir el crecimiento, inhibir la reproducción y/o eliminar una plaga o población de plagas como se define en esta memoria. De hecho, "control" o "controlar", tal como se utiliza en esta memoria se refiere a cualquier indicio de éxito en la prevención, muerte, inhibición, eliminación, reducción o mejora de una plaga o población de plagas.
- 10 Tal como se utiliza en esta memoria, las expresiones "cantidad eficaz", "concentración eficaz" y "dosis eficaz" (y variantes gramaticales de las mismas) se refieren a una cantidad, concentración o dosificación que es suficiente para provocar un efecto deseado (p. ej., crecimiento potenciado de la planta). El valor absoluto de la cantidad/concentración/dosis que es suficiente para provocar el efecto deseado puede verse afectado por factores tales como el tamaño (p. ej., área, superficie total, etc.) de la tierra que se está tratando y la estabilidad del o de los agentes beneficiosos para la agricultura que se están aplicando. Los expertos en la técnica comprenderán cómo seleccionar una cantidad/concentración/dosificación eficaz utilizando experimentos rutinarios de dosis-respuesta.
- 15 Tal como se utiliza en esta memoria, las expresiones "crecimiento potenciado" y "crecimiento potenciado de las plantas" se refieren a una mejora en una o más características del crecimiento y/o desarrollo de las plantas en comparación con una o más plantas de control (p. ej., una planta germinada a partir de una semilla no tratada o una planta no tratada). Características ejemplares de crecimiento/desarrollo de plantas incluyen, pero no se limitan a biomasa, altura, longitud de la hoja, masa de la hoja, número de hojas, área de la superficie de la hoja, volumen de la hoja, absorción de nutrientes, área de la raíz, diámetro de la raíz, longitud de la raíz, masa de la raíz, nodulación de la raíz, número de raíces, área de superficie de raíces, volumen de la raíz, germinación de semillas, emergencia de plántulas, diámetro de brotes, longitud de brotes, masa de brotes, número de brotes, área de superficie de brotes, volumen de brotes, dispersión y tasa de supervivencia.
- 20 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "follaje" se refiere a aquellas partes de una planta que normalmente crecen sobre el suelo, incluyendo, pero sin limitarse a, hojas, tallos gruesos, tallos, flores, cuerpos fructíferos y frutos.
- 25 Tal como se utiliza en esta memoria, las expresiones "aplicación foliar", "aplicado foliarmente" y variaciones gramaticales de los mismos, se refieren a la aplicación de uno o más ingredientes activos al follaje de una planta (p. ej., a las hojas de la planta). La aplicación puede efectuarse por cualquier medio adecuado, que incluye, pero no se limita a pulverizar la planta con al menos un LCO y al menos un microorganismo beneficioso para la agricultura. En algunas realizaciones, el al menos un LCO y al menos un microorganismo beneficioso para la agricultura se aplican a las hojas, tallos y/o tallos gruesos de la planta y no a las flores, cuerpos fructíferos o frutos de la planta.
- 30 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "herbicida" se refiere a un agente o combinación de agentes, cuya aplicación es tóxica para una mala hierba (es decir, mata a una mala hierba, inhibe el crecimiento de una mala hierba y/o inhibe la reproducción de una mala hierba).
- 35 Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "composición de inoculante" y el término "inóculo" se refieren a composiciones que comprenden células y/o esporas microbianas, siendo dichas células/esporas capaces de propagarse sobre o en un sustrato (p. ej., un suelo) cuando las condiciones (p. ej., temperatura, humedad, disponibilidad de nutrientes, pH, etc.) son favorables para el crecimiento microbiano.
- 40 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "insecticida" se refiere a un agente o combinación de agentes, cuya aplicación es tóxica para un insecto (es decir, mata a un insecto, inhibe el crecimiento de un insecto y/o inhibe la reproducción de un insecto).
- 45 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "isómero" incluye todos los estereoisómeros de los compuestos y/o moléculas a los que se refiere, incluyendo enantiómeros y diastereómeros, así como todos los confórmeros, rotámeros y tautómeros, a menos que se indique lo contrario. Compuestos y/o moléculas descritos en esta memoria incluyen todos los enantiómeros en forma levorrotatoria o dextrorrotatoria sustancialmente pura, o en una mezcla racémica, o en cualquier relación de enantiómeros. En los casos en los que las realizaciones describen un enantiómero (D), esa realización también incluye el enantiómero (L); en los casos en los que las realizaciones describen un enantiómero (L), esa realización también incluye el enantiómero (D). En los casos en los que las realizaciones describen un enantiómero (+), esa realización también incluye el enantiómero (-); en los casos en los que las realizaciones describen un enantiómero (-), esa realización también incluye el enantiómero (+). En los casos en los que las realizaciones describen un enantiómero (S), esa realización también incluye el enantiómero (R); en los casos en los que las realizaciones describen un enantiómero (R), esa realización también incluye el enantiómero (S). Se pretende que las realizaciones incluyan cualquier diastereómero de los compuestos y/o moléculas a los que se hace referencia en esta memoria en forma pura en cuanto a los diastereómeros y en forma de mezclas en todas las relaciones. A menos que la estereoquímica se indique explícitamente en una estructura química o nombre químico, la estructura química o el nombre químico pretende abarcar todos los estereoisómeros, confórmeros, rotámeros y tautómeros posibles de los compuestos y/o moléculas representados.
- 50
- 55
- 60
- 65

Tal como se utiliza en esta memoria, el término "nematicida" se refiere a un agente o combinación de agentes, cuya aplicación es tóxica para un nematodo (es decir, mata a un nematodo, inhibe el crecimiento de un nematodo y/o inhibe la reproducción de un nematodo).

- 5 Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "organismo fijador de nitrógeno" se refiere a un organismo capaz de convertir el nitrógeno atmosférico (N₂) en una forma que pueda ser utilizada por una planta o parte de la planta (p. ej., amoníaco (NH₃), amonio (NH₄⁺), etc).

- 10 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "nutriente" se refiere a un compuesto o elemento útil para nutrir una planta (p. ej., vitaminas, macrominerales, micronutrientes, oligoelementos, ácidos orgánicos, etc. que son necesarios para el crecimiento y/o desarrollo de la planta).

- 15 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "plaga" incluye cualquier organismo o virus que afecta negativamente a una planta, incluyendo, pero no limitados a organismos y virus que propagan enfermedades, dañan plantas huésped y/o compiten por los nutrientes del suelo. El término "plaga" abarca organismos y virus que se sabe que se asocian con las plantas y provocan un efecto perjudicial sobre la salud y/o el vigor de la planta. Las plagas de plantas incluyen, pero no se limitan a, arácnidos (p. ej., ácaros, garrapatas, arañas, etc.), bacterias, hongos, gasterópodos (p. ej., babosas, caracoles, etc.), plantas invasoras (p. ej., malas hierbas), insectos (p. ej., moscas blancas, trips, gorgojos, etc.), nematodos (p. ej., nematodo agallador, nematodo del quiste de la soja, etc.), roedores y virus (p. ej., virus del mosaico del tabaco (TMV), virus del marchitamiento del tomate (TSWV), virus del mosaico de la coliflor (CaMV), etc.).

- 20 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "plaguicida" se refiere a un agente o combinación de agentes, cuya aplicación es tóxica para una plaga (es decir, mata a una plaga, inhibe el crecimiento de una plaga y/o inhibe la reproducción de una plaga). Ejemplos no limitantes de plaguicidas incluyen herbicidas, insecticidas, acaricidas, nematicidas, rodenticidas, virucidas, gastropodicidas, etc.

Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "microorganismo solubilizador de fosfato" se refiere a un microorganismo capaz de convertir fosfato insoluble en una forma soluble de fosfato.

- 30 Tal como se utiliza en esta memoria, el término "planta" puede referirse a una planta completa, a cualquier parte de la misma, o a un cultivo celular o tisular derivado de una planta. Por lo tanto, el término "planta" puede referirse a cualquiera de las plantas completas, componentes u órganos de plantas (p. ej., hojas, tallos, raíces, etc.), tejidos vegetales, células vegetales y semillas. El término "planta" incluye todas las poblaciones de plantas que se producen de forma natural y no natural, incluyendo las plantas agrícolas, hortícolas y silvícolas. Por lo tanto, el término "planta" abarca las plantas obtenidas mediante métodos convencionales de fitomejoramiento y optimización (p. ej., selección asistida por marcado) y las plantas obtenidas mediante ingeniería genética, incluidos los cultivares protegibles y no protegibles por los derechos de obtentor.

- 40 Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "célula vegetal" se refiere a una célula de una planta intacta, una célula extraída de una planta o una célula derivada de una célula extraída de una planta. Así, la expresión "célula vegetal" incluye células dentro de semillas, cultivos en suspensión, embriones, regiones meristemáticas, tejido calloso, hojas, brotes, gametofitos, esporofitos, polen y microesporas.

- 45 Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "parte de la planta" puede hacer referencia a cualquier parte de una planta, incluidas las células vegetales individuales y los tejidos vegetales de los que se pueden derivar las plantas. Ejemplos de partes de plantas incluyen, pero no se limitan a anteras, embriones, flores, frutos, cuerpos fructíferos, hojas, óvulos, polen, rizomas, raíces, semillas, brotes, tallos y tubérculos, así como vástagos, portainjertos, protoplastos, callos y similares.

- 50 Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "material de propagación vegetal" se refiere a una parte de la planta a partir de la cual se puede generar una planta completa. Ejemplos de materiales de propagación vegetal incluyen, pero no se limitan a esquejes (p. ej., hojas, tallos), rizomas, semillas, tubérculos y células/tejidos que pueden cultivarse para formar una planta completa.

- 55 Tal como se utiliza en esta memoria, las expresiones "molécula señal" y "molécula señal vegetal" se refieren a un agente que, cuando se aplica a una planta o parte de una planta, da como resultado un crecimiento y/o desarrollo potenciado en comparación con plantas o partes de plantas no tratadas (p. ej., semillas y plantas cosechadas de semillas no tratadas). Ejemplos no limitativos de moléculas señal incluyen lipo-quito-oligosacáridos, quito-oligosacáridos, compuestos quitinosos, flavonoides, ácido jasmónico o derivados del mismo, ácido linoleico o derivados del mismo, ácido linolénico o derivados del mismo, karriquinas, etc.

Tal como se utiliza en esta memoria, el término "espora" y la expresión "espora microbiana" se refieren a un microorganismo en su estado latente, protegido.

- 65 Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "composición de inoculante estable" se refiere a la capacidad de una composición de inoculante de mejorar la tasa de supervivencia y/o una o más características de estabilidad

microbiana de un microorganismo contenido en ella. En general, una composición de inoculante se etiqueta como "estable" si mejora la tasa de supervivencia y/o al menos una característica de estabilidad microbiana de al menos un microorganismo contenido en ella.

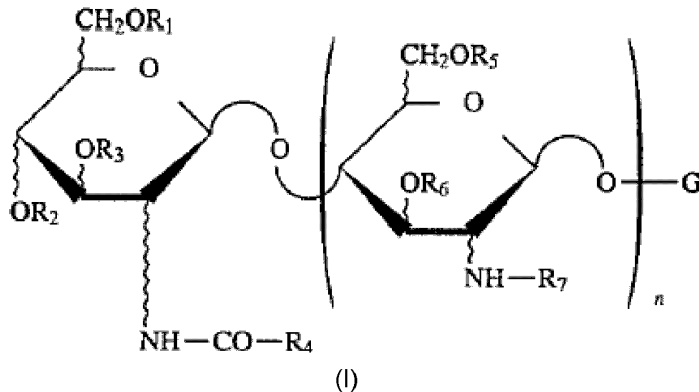
5 **MÉTODOS**

Los métodos de la invención comprenden poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un compuesto de lipo-quito-oligosacárido (LCO) que comprende el LCO representado por la estructura (V) y al menos un microorganismo beneficioso para la agricultura, en los que al menos un microorganismo beneficioso para la agricultura es *Streptomyces lydicus* WYEC 108, *Trichoderma virens* GI-3 o *Bacillus amyloliquefaciens* SB3778.

Los métodos de la invención dan como resultado un crecimiento potenciado de las plantas (p. ej., un mayor rendimiento de las plantas, tal como una mayor biomasa, un mayor número de frutos, fructificaciones incrementadas, un mayor número o tamaño de semillas, o una combinación de los mismos medido en kilogramos por hectárea, un mayor número de raíces, un mayor número de masa de raíces, un mayor volumen de raíces, una mayor área foliar, mayor soporte de plantas, mayor vigor de plantas, emergencia más rápida de plántulas (p. ej., emergencia potenciada), germinación más rápida (p. ej., germinación potenciada) o combinaciones de los mismos) en comparación con una planta o parte de planta no tratada.

20 **Lipo-quito-oligosacáridos:**

Los compuestos de lipo-quito-oligosacáridos (LCOs), también conocidos como señales simbióticas de Nod o factores de Nod, consisten en una cadena principal de oligosacáridos de residuos de N-acetil-D-glucosamina ("GlcNAc") unidos a β-1,4 con una cadena de acilo condensada con un componente graso enlazado a N en el extremo no reductor. Los LCOs difieren en el número de residuos de GlcNAc en la cadena principal, en la longitud y el grado de saturación de la cadena de acilo graso y en las sustituciones de residuos de azúcar reductores y no reductores. Véase, p. ej., Denarie, et al., Ann. Rev. Biochem. 65:503-35 (1996), Hamel, et al., Planta 232:787-806 (2010); Prome, et al., Pure & Appl. Chem. 70(1):55-60 (1998). Un ejemplo de un LCO se presenta a continuación como fórmula I:



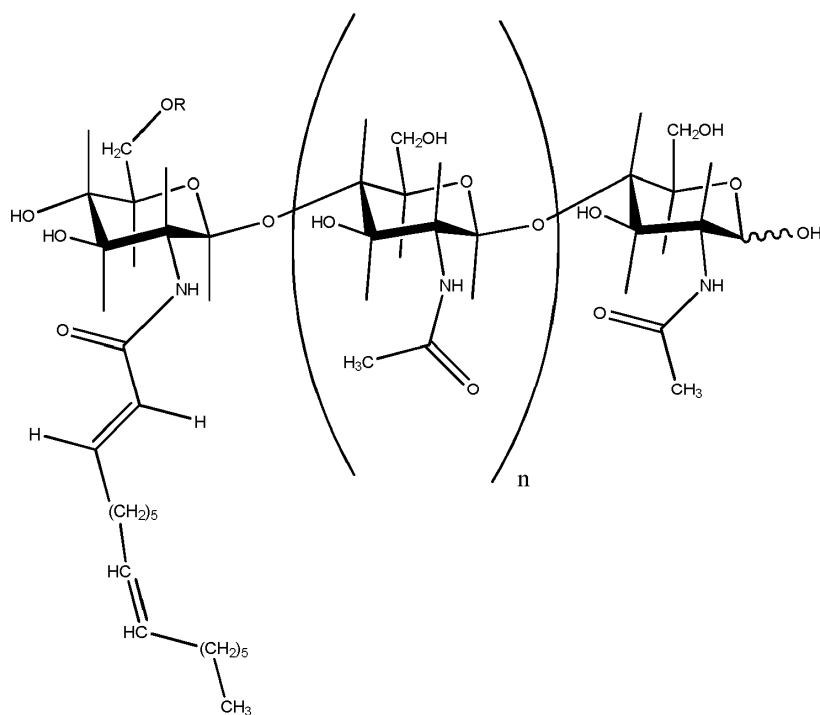
30 en la que:

35 G es una hexosamina que puede estar sustituida, por ejemplo, con un grupo acetilo en el nitrógeno, un grupo sulfato, un grupo acetilo y/o un grupo éter en un oxígeno,

40 R₁, R₂, R₃, R₅, R₆ y R₇, que pueden ser idénticos o diferentes, representan H, CH₃ CO-, C_x H_y CO-, en que x es un número entero entre 0 y 17, e y es un número entero entre 1 y 35, o cualquier otro grupo acilo tal como, por ejemplo, un carbamoilo,

R₄ representa una cadena alifática saturada o mono-, di- o tri-insaturada que contiene al menos 12 átomos de carbono, y n es un número entero entre 1 y 4.

45 Los LCOs se pueden obtener (aislar y/o purificar) de bacterias tales como Rhizobia, p. ej., *Rhizobium sp.*, *Bradyrhizobium sp.*, *Sinorhizobium sp.* y *Azorhizobium sp.* Las estructuras de LCO son características de cada una de las especies bacterianas de este tipo y cada una de las cepas puede producir múltiples LCOs con diferentes estructuras. Por ejemplo, LCOs específicos de *S. meliloti* también se han descrito en la patente de EE.UU. 5.549.718 con la fórmula II:



(II)

en donde R representa H o CH₃CO-- y n es igual a 2 o 3.

- 5 LCOs incluso más específicos incluyen NodRM, NodRM-1, NodRM-3. Cuando se acetilan (el R=CH₃CO--), se convierten en AcNodRM-1 y AcNodRM-3, respectivamente (patente de EE.UU. 5.545.718).

LCOs de *Bradyrhizobium japonicum* se describen en las patentes de EE.UU. 5.175.149 y 5.321.011. En términos generales, son fitohormonas pentasacáridos que comprenden metilfucosa. Se describe un cierto número de estos LCOs derivados de *B. japonicum*: BjNod-V (C_{18:1}); BjNod-V (Ac, C_{18:1}), BjNod-V (C_{16:1}); y BjNod-V (Ac, C_{16:0}) indicando "V" la presencia de cinco N-acetilglucosaminas; "Ac" una acetilación; el número que sigue a la "C" indica el número de carbonos en la cadena lateral del ácido graso; y el número que sigue a ":" el número de dobles enlaces.

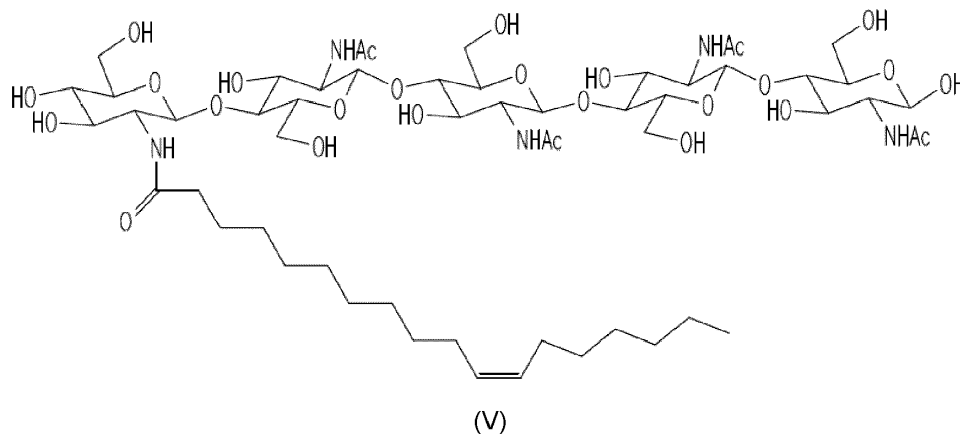
15 Los LCOs utilizados en realizaciones de la invención se pueden obtener (*es decir*, aislar y/o purificar) de cepas bacterianas que producen LCO, tales como cepas de *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium* (incluyendo *B. japonicum*), *Mesorhizobium*, *Rhizobium* (incluyendo *R. leguminosarum*), *Sinorhizobium* (incluyendo *S. meliloti*), (incluyendo *S. meliloti*), y cepas bacterianas manipuladas genéticamente para producir LCOs. En algunas realizaciones, existe una combinación de dos o más LCO obtenidos a partir de estos microorganismos rizobios y bradirrizobios.

20 Los LCOs son los determinantes primarios de la especificidad del huésped en la simbiosis de leguminosas (Diaz, et al., Mol. Plant-Microbe Interactions 13:268-276 (2000)). Por lo tanto, dentro de la familia de las leguminosas, géneros y especies específicos de rizobios desarrollan una relación simbiótica de fijación de nitrógeno con una leguminosa huésped específica. Estas combinaciones planta-huésped/bacteria se describen en Hungria, et al., Soil Biol. Biochem. 29:819-830 (1997), Ejemplos de estas asociaciones simbióticas de bacterias/leguminosas incluyen *S. meliloti*/alfalfa y trébol dulce; *R. leguminosarum biovar viciaelpeas* y lentejas; *R. leguminosarum biovar phaseolii/habas*; *Bradyrhizobium japonicum*/sojas; y *R. leguminosarum biovar trifolii*/trébol rojo. Hungria también enumera los inductores del gen Nod de flavonoides efectivos de las especies de rizobios y las estructuras LCO específicas que son producidas por las diferentes especies de rizobios. Sin embargo, la especificidad de LCO solo se requiere para establecer la nodulación en leguminosas. El uso de un LCO determinado no se limita al tratamiento de la semilla de su socio leguminoso simbiótico, con el fin de lograr un rendimiento incrementado de la planta medido en términos de kilogramos/hectárea número incrementado de raíces, longitud incrementada de raíces, masa incrementada de raíces, volumen incrementado de raíces y área incrementada de hojas, en comparación con las plantas cosechadas a partir de semillas no tratadas.

35 Los LCOs se pueden utilizar en diversas formas de pureza y se pueden utilizar solos o en forma de un cultivo de bacterias u hongos productores de LCO. Por ejemplo, OPTIMIZE[®] (disponible comercialmente de Novozymes BioAg Inc.) contiene un cultivo de *B. japonicum* que produce un LCO (LCO-V(C_{18:1}, MeFuc), MOR116). Los métodos para proporcionar LCOs sustancialmente puros incluyen eliminar las células microbianas de una mezcla de LCOs y el microbio, o continuar aislando y purificando las moléculas de LCO a través de la separación de fases del disolvente

LCO, seguido de cromatografía HPLC como se describe, por ejemplo, en la patente de EE.UU. 5.549.718. La purificación se puede mejorar mediante HPLC repetida, y las moléculas de LCO purificadas se pueden liofilizar para su almacenamiento a largo plazo. Los quito-oligosacáridos (Cos, por sus siglas en inglés) pueden utilizarse como materiales de partida para la producción de LCO sintéticos. Para los fines de algunas realizaciones, LCOs recombinantes adecuados para su uso son al menos 60 % puros, *p. ej.*, al menos 60 % puros, al menos 65 % puros, al menos 70 % puros, al menos 75 % puros, al menos 80 % puros, al menos 85 % puros, al menos 90 % puros, al menos 91 % puros, al menos 92 % puros, al menos 93 % puros, al menos 94 % puros, al menos 95 % puros, al menos 96 % puros, al menos 97 % puros, al menos 98 % puros, al menos 99 % puros, hasta 100 % puros.

El al menos un LCO para uso en métodos descritos en esta memoria comprende un LCO que tiene la siguiente estructura:



En algunas realizaciones, los métodos descritos en esta memoria comprenden poner en contacto una planta o parte de una planta con un LCO aproximadamente 1×10^{-20} M a aproximadamente 1×10^{-1} M. Por ejemplo, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender poner en contacto una planta o parte de una planta con aproximadamente 1×10^{-20} M, 1×10^{-19} M, 1×10^{-18} M, 1×10^{-17} M, 1×10^{-16} M, 1×10^{-15} M, 1×10^{-14} M, 1×10^{-13} M, 1×10^{-12} M, 1×10^{-11} M, 1×10^{-10} M, 1×10^{-9} M, 1×10^{-8} M, 1×10^{-7} M, 1×10^{-6} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-4} M, 1×10^{-3} M, 1×10^{-2} M, 1×10^{-1} M de uno o más LCOs. En algunas realizaciones preferidas, la concentración de LCO es 1×10^{-14} M a 1×10^{-5} M, 1×10^{-12} M to 1×10^{-6} M o 1×10^{-10} M a 1×10^{-7} M. En algunas realizaciones preferidas, la concentración de LCO es 1×10^{-14} M to 1×10^{-5} M, 1×10^{-12} M to 1×10^{-6} M o 1×10^{-10} M a 1×10^{-7} M.

Plaguicidas

En algunas realizaciones, los métodos de la invención comprenden, además, poner en contacto dicha planta o parte de planta con un plaguicida. Plaguicidas útiles pueden ser plaguicidas químicos, plaguicidas biológicos o combinaciones de los mismos. Ejemplos no limitantes de plaguicidas que pueden ser útiles para los métodos descritos en esta memoria incluyen herbicidas, insecticidas, acaricidas, nematocidas, rodenticidas, virucidas y combinaciones de los mismos. En realizaciones particulares, los métodos descritos en esta memoria comprenden, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con herbicidas, insecticidas, acaricidas, nematocidas y combinaciones de los mismos.

Herbicidas:

En una realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un herbicida ("h").

Ejemplos no limitantes de herbicidas pueden ser inhibidores de acetil CoA carboxilasa (ACCasa) (h.A.), inhibidores de acetolactato sintasa (ALS) (h.B.) o inhibidores de acetohidroxi ácido sintasa (AHAS) (h.C.), inhibidores del fotosistema II (h.D.), inhibidores del fotosistema I (h.E.), inhibidores de la protoporfirinógeno oxidasa (PPO o Protox) (h.F.), inhibidores de la biosíntesis de carotenoides (h.G.), inhibidores de la enolpiruvilo shikimato-3-fosfato sintasa (EPSP) (h.H.), inhibidores de la glutamina sintetasa (h.I.), inhibidores de la dihidropteroato sintetasa (h.J.), inhibidores de la mitosis (h.K.), inhibidores de la 4-hidroxifenil-piruvato-dioxigenasa (4-HPPD) (h.L.), auxinas sintéticas (h.M.), sales herbicidas de auxina (h.N.), inhibidores del transporte de auxina (h.O.) e inhibidores de ácido nucleico (h.P.), sales y ésteres de los mismos; mezclas racémicas e isómeros resueltos de las mismas; y combinaciones de los mismos.

Ejemplos específicos de posibles herbicidas ("h") incluyen ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) (h.1), ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T) (h. 2), ametrina (h.3), amicarbazona (h.4), aminociclopiracloro (h.5), acetocloro (h.6), acifluorfen (h.7), alacloro (h.8), atrazina (h.9), azafenidina (h.10), bentazon (h.11), benzofenap (h.12), bifenox (h.13), bromacil (h.14), bromoxinil (h.15), butacloro (h.16), butafenacil (h.17), butoxidim (h.18), carfentrazona-etil (h.19),

clorimuron (h.20), clorotoluron (h.21), cletodim (h.22), clodinafop (h.23), clomazona (h.24), cianazina (h.25), cicloxidim (h.26), cihalofop (h.27), desmedifam (h.28), desmetrina (h.29), dicamba (h.30), diclofop (h.31), dimefuron (h.32), diuron (h.33), ditiopir (h.34), fenoxaprop (h.35), fluazifop (h.36), fluazifop-P (h.37), fluometuron (h.38), flufenpir-etil (h.39), flumiclorac-pentil (h.40), flumioxazin (h.41), fluoroglicofen (h.42), flutiacet-metil (h.43), fomesafe (h.44), fomesafen (h.45), glifosato (h.46), glufosinato (h.47), haloxifop (h.48), hexazinona (h.49), imazamox (h.50), imazaquin (h.51), imazetapir (h.52), ioxinil (h.53), isoproturon (h.54), isoxaflutol (h.55), lactofen (h.56), linuron (h.57), mecoprop (h.58), mecoprop-P (h.59), mesotriona (h.60), metamitron (h.61), metazocloro (h.62), metibenzuron (h.63), metolacoloro (h.64) (y S-metolacoloro (h.65)), metoxuron (h.66), metribuzin (h.67), monolinuron (h.68), oxadiargil (h.69), oxadiazon (h.70), oxifluorfen (h.71), fenmedifam (h.72), pretilacoloro (h.73), profoxidim (h.74), prometon (h.75), prometrin (h.76), propacoloro (h.77), propanil (h.78), propaquizafop (h.79), propisocloro (h.80), piraflufen-etil (h.81), pirazon (h.82), pirazolinato (h.83), pirazoxifen (h.84), piridato (h.85), quizalofop (h.86), quizalofop-P (h.87) (p. ej., quizalofop-etil (h.88), quizalofop-P-etil (h.89), clodinafop-propargil (h.90), cihalofop-butil (h.91), diclofop-metil (h.92), fenoxaprop-P-etil (h.93), fluazifop-P-butil (h.94), haloxifop-metil (h.95), haloxifop-R-metil (h.96)), saflufenacil (h.97), setoxidim (h.98), siduron (h.99), simazina (h.100), simetrin (h.101), sulcotriona (h.102), sulfentazona (h.103), tebutiuron (h.104), tembotriona (h.105), tepraloxidim (h.106), terbacil (h.107), terbumeton (h.108), terbutilazina (h.109), taxtomin (p. ej., las taxtominas como se describe en la Patente de EE.UU. Nº: 7.989.393) (h.110), tenilcloro (h.111), tralkoxidim (h.112), tricopir (h.113), trietazina (h.114), tropramezona (h.115), y sales y ésteres de los mismos; mezclas racémicas e isómeros resueltos de las mismas, y combinaciones de las mismas.

20 Productos comerciales que contienen herbicidas están fácilmente disponibles. La concentración de herbicida en los métodos generalmente corresponderá a la tasa de uso etiquetada para un herbicida particular.

En realizaciones particulares, los métodos de la invención comprenden, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un herbicida ("h") seleccionado de (h.A.) a (h.P.); *es decir*, al menos un herbicida seleccionado del grupo que consiste en (h.A), (h.B), (h.C), (h.D), (h.E), (h.F), (h.G), (h.H), (h.I), (h.J), (h.K), (h.L), (h.M), (h.N), (h.O), (h.P), y combinaciones de los mismos.

En realizaciones más particulares, métodos de la invención comprenden, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un herbicida ("h") seleccionado de (h.1) a (h.115); *es decir*, al menos un herbicida seleccionado del grupo que consiste en (h.1), (h.2), (h.3), (h.4), (h.5), (h.6), (h.7), (h.8), (h.9), (h.10), (h.11), (h.12), (h.13), (h.14), (h.15), (h.16), (h.17), (h.18), (h.19), (h.20), (h.21), (h.22), (h.23), (h.24), (h.25), (h.26), (h.27), (h.28), (h.29), (h.30), (h.31), (h.32), (h.33), (h.34), (h.35), (h.36), (h.37), (h.38), (h.39), (h.40), (h.41), (h.42), (h.43), (h.44), (h.45), (h.46), (h.47), (h.48), (h.49), (h.50), (h.51), (h.52), (h.53), (h.54), (h.55), (h.56), (h.57), (h.58), (h.59), (h.60), (h.61), (h.62), (h.63), (h.64), (h.65), (h.66), (h.67), (h.68), (h.69), (h.70), (h.71), (h.72), (h.73), (h.74), (h.75), (h.76), (h.77), (h.78), (h.79), (h.80), (h.81), (h.82), (h.83), (h.84), (h.85), (h.86), (h.87), (h.88), (h.89), (h.90), (h.91), (h.92), (h.93), (h.94), (h.95), (h.96), (h.97), (h.98), (h.99), (h.100), (h.101), (h.102), (h.103), (h.104), (h.105), (h.106), (h.107), (h.108), (h.109), (h.110), (h.111), (h.112), (h.113), (h.114), (h.115), y combinaciones de los mismos.

Insecticidas, Acaricidas, Nematicidas:

En una realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o una parte de una planta con al menos un insecticida, acaricida, nematicida ("ian") o combinaciones de los mismos. Insecticidas, acaricidas y nematicidas útiles para los métodos descritos en esta memoria exhibirán adecuadamente actividad contra una amplia gama de nematodos, insectos y ácaros. Los insecticidas, acaricidas y nematicidas descritos en esta memoria pueden ser químicos ("cian"), microbianos ("bian") (p. ej., soluciones biológicas, tales como insecticidas, acaricidas y nematicidas fúngicos y/o bacterianos, etc.), o combinaciones de los mismos.

Insecticidas, Acaricidas y Nematicidas Químicos ("cian"):

Ejemplos no limitantes de insecticidas, acaricidas y nematicidas químicos ("cian") que pueden ser útiles para los métodos descritos en esta memoria incluyen carbamatos (cian.A), diamidas (cian.B), lactonas macrocíclicas (cian.C), neonicotinoides (cian.D), organofosfatos (cian.E), fenilpirazoles (cian.F), piretrinas (cian.G), espinosinas (cian.H), piretroides sintéticos (cian.I), ácidos tetrónicos (cian.J) y ácidos tetrámicos (cian.K).

En realizaciones particulares, insecticidas, acaricidas y nematicidas químicos útiles incluyen acrinatrina (cian.1), alfa-cipermetrina (cian.2), betaciflutrina (cian.3), cihalotrina (cian.4), cipermetrina (cian.5), deltametrina (cian.6), esfenvalerato (cian.7), etofenprox (cian.8), fenpropatrin (cian.9), fenvalerato (cian.10), flucitrinato (cian.11), fostiazato (cian.12), lambda-cihalotrina (cian.13), gamma-cihalotrina (cian.14), permetrina (cian.15), tau-fluvalinato (cian.16), transflutrina (cian.17), zeta-cipermetrina (cian.18), ciflutrina (cian.19), bifentrina (cian.20), teflutrina (cian.21), eflusilanato (cian.22), fubfenprox (cian.23), piretrina (cian.24), resmetrina (cian.25), imidacloprid (cian.26), acetamiprid (cian.27), tiametoxam (cian.28), nitenpiram (cian.29), tiacloprid (cian.30), dinotefuran (cian.31), clotianidín (cian.32), imidacloprid (cian.33), clorfluzaron (cian.34), diflubenzuron (cian.35), lufenuron (cian.36), teflubenzuron (cian.37), triflumuron (cian.38), novaluron (cian.39), flufenoxuron (cian.40), hexaflumuron (cian.41), bistrifluoruro (cian.42), noviflumuron (cian.43), buprofezin (cian.44), cirmazina (cian.45), metoxifenozida (cian.46), tebufenozida (cian.47), halofenozida (cian.48), cromafenozida (cian.49), endosulfan (cian.50), fipronil (cian.51), etiprol (cian.52), pirafluprol

(cian.53), piriprol (cian.54), flubendiamida (cian.55), clorantraniliprol (cian.56) (*p. ej.*, *Rynaxypyr* (cian.56a)), ciazipir (cian.57), emamectina (cian.58), emamectina benzoato (cian.59), abamectina (cian.60), ivermectina (cian.61), milbemectina (cian.62), lepimectina (cian.63), tebufenpirad (cian.64), fenpiroximato (cian.65), piridaben (cian.66), fenazaquin (cian.67), pirimidifen (cian.68), tolfenpirad (cian.69), dicofol (cian.70), cienopirafen (cian.71), ciflumetofen (cian.72), acequinocil (cian.73), fluacripirin (cian.74), bifenazato (cian.75), diafentiuron (cian.76), etoxazol (cian.77), clofentezina (cian.78), spinosad (cian.79), triaraten (cian.80), tetradifon (cian.81), propargita (cian.82), hexitiazox (cian.83), bromopropilato (cian.84), quinometionato (cian.85), amitraz (cian.86), pirifluquinazon (cian.87), pimetrozina (cian.88), flonicamid (cian.89), piriproxifen (cian.90), diofenolan (cian.91), clorfenapir (cian.92), metaflumizona (cian.93), indoxacarb (cian.94), clorpirifos (cian.95), spirodiclofen (cian.96), spiromesifen (cian.97), spirotetramat (cian.98), piridalil (cian.99), spinetoram (cian.100), acefato (cian.101), triazofos (cian.102), profenofos (cian.103), oxamil (cian.104), spinetoram (cian.105), fenamifos (cian.106), fenamipclotiafos (cian.107), 4-[[[6-cloropirid-3-il]metil](2,2-difluoroetil)amino}furan-2(5H)-ona (cian.108), cadusafos (cian.109), carbaril (cian.110), carbofuran (cian.111), etoprofos (cian.112), tiodicarb (cian.113), aldicarb (cian.114), aldoxicarb (cian.115), metamidofos (cian.116), metiocarb (cian.117), sulfoxaflor (cian.118), cfantraniliprol (cian.119), tioxafofen (cian.120), y combinaciones de los mismos.

En realizaciones particulares, métodos de la invención comprenden, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un insecticida, acaricida o nematocida químico ("cian") seleccionado de (cian.A) a (cian.K); es decir, al menos un insecticida, acaricida o nematocida químico seleccionado del grupo que consiste en (cian.A), (cian.B), (cian.C), (cian.D), (cian.E), (cian.F), (cian.G), (cian.H), (cian.I), (cian.J), (cian.K) y combinaciones de los mismos.

En realizaciones más particulares, métodos de la invención comprenden, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un insecticida, acaricida o nematocida químico ("cian") seleccionado de (cian.1) a (cian.120); es decir, al menos un insecticida, acaricida o nematocida químico seleccionado del grupo que consiste en (cian.1), (cian.2), (cian.3), (cian.4), (cian.5), (cian.6), (cian.7), (cian.8), (cian.9), (cian.10), (cian.11), (cian.12), (cian.13), (cian.14), (cian.15), (cian.16), (cian.17), (cian.18), (cian.19), (cian.20), (cian.21), (cian.22), (cian.23), (cian.24), (cian.25), (cian.26), (cian.27), (cian.28), (cian.29), (cian.30), (cian.31), (cian.32), (cian.33), (cian.34), (cian.35), (cian.36), (cian.37), (cian.38), (cian.39), (cian.40), (cian.41), (cian.42), (cian.43), (cian.44), (cian.45), (cian.46), (cian.47), (cian.48), (cian.49), (cian.50), (cian.51), (cian.52), (cian.53), (cian.54), (cian.55), (cian.56) (cian.56a), (cian.57), (cian.58), (cian.59), (cian.60), (cian.61), (cian.62), (cian.63), (cian.64), (cian.65), (cian.66), (cian.67), (cian.68), (cian.69), (cian.70), (cian.71), (cian.72), (cian.73), (cian.74), (cian.75), (cian.76), (cian.77), (cian.78), (cian.79), (cian.80), (cian.81), (cian.82), (cian.83), (cian.84), (cian.85), (cian.86), (cian.87), (cian.88), (cian.89), (cian.90), (cian.91), (cian.92), (cian.93), (cian.94), (cian.95), (cian.96), (cian.97), (cian.98), (cian.99), (cian.100), (cian.101), (cian.102), (cian.103), (cian.104), (cian.105), (cian.106), (cian.107), (cian.108), (cian.109), (cian.110), (cian.111), (cian.112), (cian.113), (cian.114), (cian.115), (cian.116), (cian.117), (cian.118), (cian.119), (cian.120) y combinaciones de los mismos.

Insecticidas, Acaricidas y Nematocidas Microbianos ("mian")

A) insecticidas, acaricidas y nematocidas fúngicos (mian.A)

En una realización particular, el insecticida, acaricida o nematocida microbiano es un insecticida, acaricida o nematocida fúngico. Ejemplos no limitantes de insecticidas, acaricidas o nematocidas fúngicos que pueden utilizarse en los métodos descritos en esta memoria se describen en McCoy, C. W., Samson, R. A., y Coucias, D. G. "Entomogenous fungi. En "CRC Handbook of Natural Pesticides. Microbial Pesticides, Part A. Entomogenous Protozoa and Fungi." (C. M. Inoffo, ed.), (1988): Vol. 5, 151-236; Samson, R. A., Evans, H.C., y Latge, J. P. "Atlas of Entomopathogenic Fungi." (Springer-Verlag, Berlin) (1988); y deFaria, M. R. y Wraight, S. P. "Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types." Biol. Control (2007), doi: 10.1016/j.biocontrol.2007.08.001.

En realizaciones, el insecticida, acaricida o nematocida fúngico puede ser un hongo del género *Aegerita*, *Akanthomyces*, *Alternaria*, *Arthrobotrys*, *Aschersonia*, *Ascophaera*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Blastodendron*, *Calonectria*, *Coelemomyces*, *Coelomycidium*, *Conidiobolus*, *Cordyceps*, *Couchia*, *Culicinomyces*, *Oactylaria*, *Engyodontium*, *Entomophaga*, *Entomophthora*, *Erynia*, *Filariomyces*, *Filobasidiella*, *Fusarium*, *Gibellula*, *Harposporium*, *Hesperomyces*, *Hirsutella*, *Hymenostilbe*, *Hypocrella*, *Isaria*, *Lecanicillium*, *Lagenidium*, *Leptolegnia*, *Massospora*, *Metarhizium*, *Meristacrum*, *Metschnikowia*, *Monacrosporium*, *Mycoderma*, *Myiophagus*, *Myriangium*, *Myrothecium*, *Nectria*, *Nematoctonus*, *Neozygites*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Pandora*, *Paraisaria*, *Pasteuria*, *Pleurodesmospora*, *Pochonia*, *Podonectria*, *Polycephalomyces*, *Pseudogibellula*, *Septobasidium*, *Sorospora*, *Sporodiniella*, *Stillbella*, *Tetranacrium*, *Tilachlidium*, *Tolypocladium*, *Torrubiella*, *Trenomyces*, *Trichoderma*, *Uredinella*, *Verticillium*, *Zoophthora*, y combinaciones de los mismos.

Ejemplos no limitantes de especies particulares que pueden ser útiles como insecticida, acaricida o nematocida fúngico en los métodos descritos en esta memoria incluyen *Alternaria cassia* (mian.A1), *Arthrobotrys dactyloides* (mian.A2), *Arthrobotrys oligospora* (mian.A3), *Arthrobotrys superb* (mian.A4), *Arthrobotrys dactyloides* (mian.A5), *Aspergillus parasiticus* (mian.A6), *Beauveria bassiana* (mian.A7), *Beauveria bassiana* isolate ATCC-74040 (mian.A7a), *Beauveria*

bassiana isolate ATCC-74250 (mian.A7b), *Dactylaria candida* (mian.A8), *Fusarium lateritum* (mian.A9), *Fusarium solani* (mian.A10), *Harposporium anguillulae* (mian.A11), *Hirsutella rhossiliensis* (mian.A12), *Hirsutella minnesotensis* (mian.A13), *Lecanicillium lecanii* (mian.A14), *Metarhizium anisopliae* (a la que también se puede aludir en la técnica como *Metarrhizium anisopliae*, *Metarhizium brunneum*, o "muscadina verde") (mian.A15), *Metarhizium anisopliae* aislado F52 (mian.A15a) (también conocida como *Metarhizium anisopliae* cepa 52, *Metarhizium anisopliae* cepa 7, *Metarhizium anisopliae* cepa 43, *Metarhizium anisopliae* BIO-1020, TAE-001 y depositada como DSM 3884, DSM 3885, ATCC 90448, SD 170 y ARSEF 7711) (disponible de Novozymes Biologicals, Inc., EE.UU.), *Monacrosporium cionopagum* (mian.A16), *Nematoctonus geogenius* (mian.A17), *Nematoctonus leiosporus* (mian.A18), *Meristacrum asterospermum* (mian.A19), *Myrothecium verrucaria* (mian.A20), *Paecilomyces fumosoroseus* (mian.A21), *Paecilomyces fumosoroseus* FE991 (mian.A21a) (en NOFLY® de FuturEco BioScience S.L., Barcelona, España), *Paecilomyces lilacinus* (mian.A22), *Pasteuria penetrans* (mian.A23), *Pasteuria usage* (mian.A24), *Pochonia chlamydopora* (mian.A25), *Trichoderma hamatum* (mian.A26), *Trichoderma harzianum* (mian.A27), *Trichoderma virens* (mian.A28), *Verticillium chlamydosporum* (mian.A29), *Verticillium lecanii* (mian.A30), y combinaciones de las mismas.

B) insecticidas, acaricidas y nematocidas bacterianos (mian.B)

En una realización particular, el plaguicida microbiano es un insecticida, acaricida o nematocida bacteriano.

En realizaciones, el insecticida, acaricida o nematocida bacteriano puede ser una bacteria del género *Actinomycetes*, *Agrobacterium*, *Arthrobacter*, *Alcaligenes*, *Aureobacterium*, *Azobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Chromobacterium*, *Clavibacter*, *Clostridium*, *Comomonas*, *Corynebacterium*, *Curtobacterium*, *Desulfotribitio*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Gluconobacter*, *Hydrogenophage*, *Klebsiella*, *Methylobacterium*, *Paenibacillus*, *Phyllobacterium*, *Phingobacterium*, *Photorhabdus*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Serratia*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces*, *Xenorhabdus*, *Variovorax*, y combinaciones de las mismas.

Ejemplos no limitantes de especies particulares que pueden ser útiles como un insecticida, acaricida o nematocida bacteriano en los métodos descritos en este memoria incluyen *Bacillus firmus* (mian.B1), *Bacillus firmus* isolate I-1582 (mian.B1a) (en BioNeem, *Votivo*), *Bacillus mycoides* (mian.B2), *Bacillus mycoides* aislado AQ726, NRRL B-21664 (mian.B2a), *Burkholderia* sp. (mian.B3), *Burkholderia* sp. nov. rinojensis (mian.B3a), *Burkholderia* sp. A396 sp. nov. rinojensis, NRRL B-50319 (mian.B3b), *Chromobacterium subtsugae* (mian.B4), *Chromobacterium subtsugae* sp. nov. (mian.B4a), *Chromobacterium subtsugae* sp. nov. aislado NRRL B-30655 (mian.B4b), *Chromobacterium vaccinii* (mian.B5), *Chromobacterium vaccinii* aislado NRRL B-50880 (mian.B5a), *Chromobacterium violaceum* (mian.B6), *Flavobacterium* sp. (mian.B7), *Flavobacterium* sp. aislado H492, NRRL B-50584 (mian.B7a), *Streptomyces lydicus* (mian.B8), *Streptomyces violaceusniger* (mian.B9), y combinaciones de las mismas.

Insecticidas, acaricidas o nematocidas microbianos comerciales se utilizan de manera más adecuada de acuerdo con las instrucciones del fabricante en las concentraciones recomendadas.

En realizaciones más particulares, los métodos de la invención comprenden, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un insecticida, acaricida o nematocida microbiano ("mian") seleccionado de (mian.A1) a (mian.B9); es decir, al menos un insecticida, acaricida o nematocida microbiano seleccionado del grupo que consiste en (mian.A1), (mian.A2), (mian.A3), (mian.A4), (mian.A5), (mian.A6), (mian.A7), (mian.A7a), (mian.A7b), (mian.A8), (mian.A9), (mian.A10), (mian.A11), (mian.A12), (mian.A13), (mian.A14), (mian.A15), (mian.A15a) (mian.A16), (mian.A17), (mian.A18), (mian.A19), (mian.A20), (mian.A21), (mian.A21a) (mian.A22), (mian.A23), (mian.A24), (mian.A25), (mian.A26), (mian.A27), (mian.A28), (mian.A29), (mian.A30) (mian.B1), (mian.B1a), (mian.B2), (mian.B2a), (mian.B3), (mian.B3a), (mian.B3b), (mian.B4), (mian.B4a), (mian.B4b), (mian.B5), (mian.B5a), (mian.B6), (mian.B7), (mian.B7a), (mian.B8), (mian.B9), y combinaciones de los mismos.

Agentes Agrícolas Beneficiosos Adicionales:

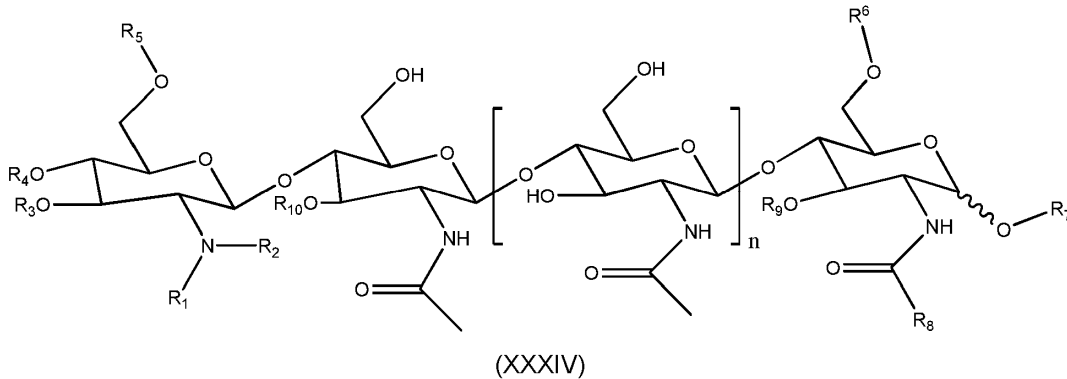
Los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un agente beneficioso en agricultura adicional. Ejemplos no limitativos de agentes beneficiosos en agricultura adicionales incluyen COs, compuestos quitinosos, flavonoides, compuestos inductores del gen nod, karriquinas, enzimas, nutrientes, bioestimulantes, etc., o combinaciones de los mismos.

COs:

Quito-oligosacáridos (COs), a veces denominados N-acetilquito-oligosacáridos, también están compuestos por residuos de GlcNAc, pero tienen decoraciones de cadenas laterales que los diferencian de las moléculas de quitina [(C₈H₁₃NO₅)_n, CAS N° 1398-61-4] y moléculas de quitosano [(C₅H₁₁NO₄)_n, CAS N° 9012-76-4]. Véase, p. ej., D'Haese et al., GLYCOBIOL. 12(6):79R (2002); Demont-Caulet et al., PLANT PHYSIOL. 120(1):83 (1999); Hanel et al., PLANTA 232:787 (2010); Muller et al., PLANT PHYSIOL. 124:733 (2000); Robina et al., TETRAHEDRON 58:521-530 (2002); Rouge et al., The Molecular Immunology of Complex Carbohydrates, in ADVANCES IN EXPERIMENTAL MEDICINE AND BIOLOGY (Springer Science, _); Van der Holst et al., CURR. OPIN. STRUC. BIOL. 11:608 (2001); y Wan et al.,

PLANT CELL 21:1053 (2009); PCT/F100/00803 (2000). Los quitos-oligosacáridos difieren de los lipo-quitos-oligosacáridos en que carecen de la cadena colgante de ácido graso.

5 En algunas realizaciones, los métodos de la presente invención comprenden poner en contacto una planta o parte de una planta con uno o más COs representados por la fórmula XXXIV:



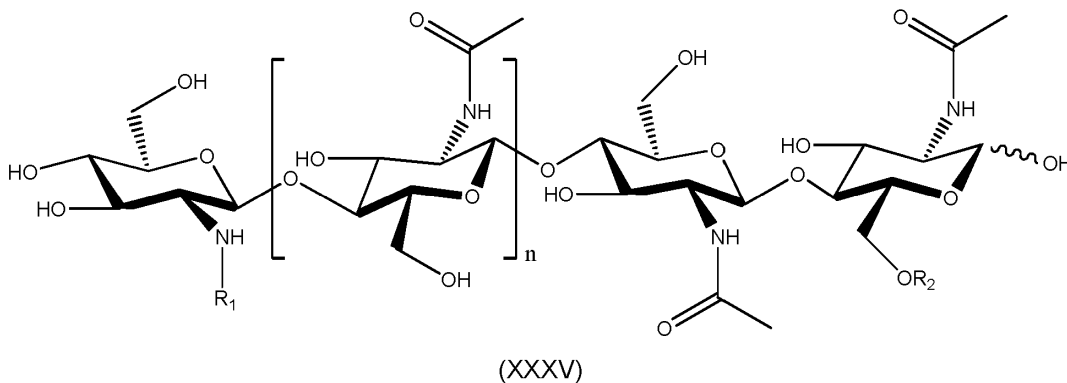
10 en la que R₁ representa hidrógeno o metilo; R₂ representa hidrógeno o metilo; R₃ representa hidrógeno, acetilo o carbamoilo; R₄ representa hidrógeno, acetilo o carbamoilo; R₅ representa hidrógeno, acetilo o carbamoilo; R₆ representa hidrógeno, arabinosilo, fucosil, acetilo, éster de sulfato, 3-*O*-S-2-*O*-MeFuc, 2-*O*-MeFuc y 4-*O*-AcFuc; R₇ representa hidrógeno, manosilo o glicerol; R₈ representa hidrógeno, metilo o -CH₂OH; R₉ representa hidrógeno, arabinosilo o fucosil; R₁₀ representa hidrógeno, acetilo o fucosil; y n representa 0, 1, 2 o 3.

15 Los quitos-oligosacáridos pueden obtenerse de cualquier fuente adecuada.

En algunas realizaciones, el CO se deriva de un lipo-quitos-oligosacárido que se produce de forma natural o no natural. Por ejemplo, en algunas realizaciones, métodos de la presente invención comprenden, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con uno o más COs derivados de un LCO obtenido (es decir, aislado y/o purificado) de una cepa que se produce de forma natural o modificada por ingeniería genética de *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium* (p. ej., *B. japonicum*), *Mesorhizobium*, *Rhizobium* (p.ej., *R. leguminosarum*), *Sinorhizobium* (p.ej., *S. meliloti*) o mycorrhizal fungus (p.ej., *Glomus intraradicus*). En algunas realizaciones, el CO se deriva de un LCO representado por una o más de las fórmulas I-IV y/o estructuras V-XXXIII. Por lo tanto, en algunas realizaciones, métodos de la presente invención pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con uno o más COs representados por una o más de las fórmulas I-IV y/o estructuras V-XXXIII excepto que el ácido graso colgante se reemplaza por un hidrógeno o un grupo metilo.

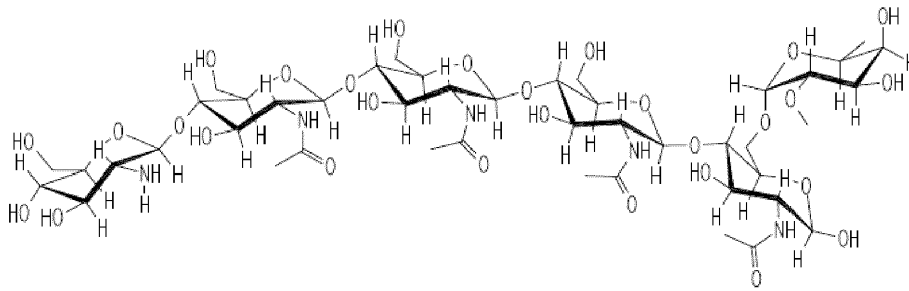
20 En algunas realizaciones, el CO es sintético. Métodos para la preparación de COs recombinantes son conocidos en la técnica. Véase, p. ej., Cottaz et al., METH. ENG. 7(4):311 (2005); Samain et al., CARBOHYDRATE RES. 302:35 (1997.); y Samain et al., J. BIOTECHNOL. 72:33 (1999).

25 Ejemplos de quitos-oligosacáridos (y derivados de los mismos) que pueden ser útiles en métodos de la presente invención se proporcionan a continuación como fórmula XXXV:

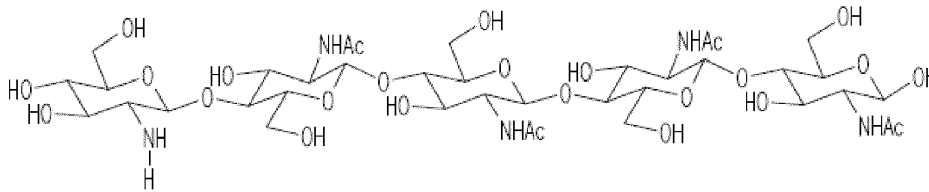


35 en el que n = 1 o 2; R₁ representa hidrógeno o metilo; y R₂ representa hidrógeno o SO₃H.

40 Ejemplos adicionales de quitos-oligosacáridos (y derivados de los mismos) que pueden ser útiles en métodos de la presente invención se proporcionan más adelante como XXXVI-XXXIX:

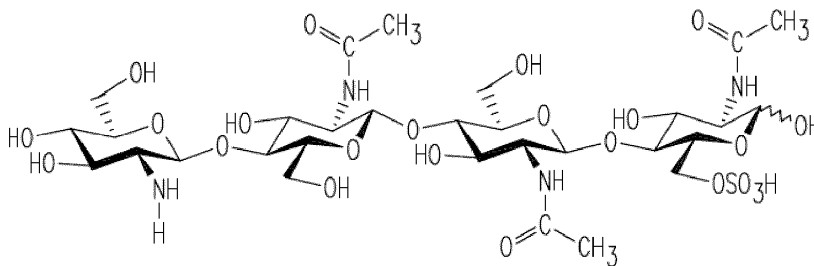


(XXXVI)

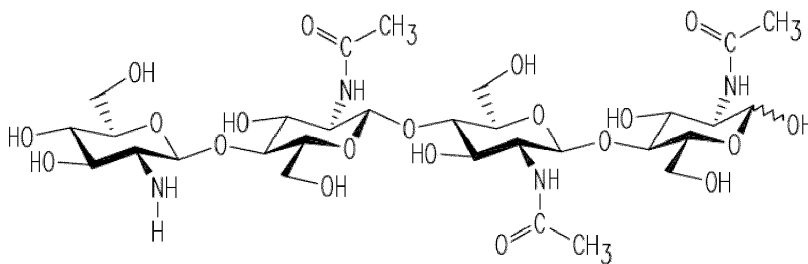


(XXXVII)

5



(XXXVIII)



(XXXIX)

- 10 Los COs (y derivados de los mismos) pueden utilizarse en diversas formas de pureza y pueden utilizarse solos o en forma de un cultivo de bacterias u hongos productores de CO. Para los fines de algunas realizaciones, COs recombinantes adecuados para su uso son al menos 60 % puros, p. ej., al menos 60 % puros, al menos 65 % puros, al menos 70 % puros, al menos 75 % puros, al menos 80 % puros, al menos 85 % puros, al menos 90 % puros, al menos 91 % puros, al menos 92 % puros, al menos 93 % puros, al menos 94 % puros, al menos 95 % puros, al menos 96 % puros, al menos 97 % puros, al menos 98 % puros, al menos 99 % puros, hasta 100 % puros.

Debe entenderse que los métodos de la presente invención pueden comprender poner en contacto plantas o partes de plantas con hidratos, isómeros, sales y/o solvatos de COs.

- 20 Por lo tanto, en algunas realizaciones, métodos de la invención comprenden, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más COs representados por una o más de las fórmulas XXXIV-XXXV y/o estructuras XXXVI-XXXIX y/o uno, dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más análogos, derivados, hidratos, isómeros, sales y/o solvatos de COs representado por una o más de las fórmulas XXXIV-XXXV y/o estructuras XXXVI-XXXIX.

25

En algunas realizaciones, métodos de la invención comprenden, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con aproximadamente 1×10^{-20} M a aproximadamente 1×10^{-1} M CO. Por ejemplo, los métodos de la invención comprenden, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con aproximadamente 1×10^{-20} M, 1×10^{-19} M, 1×10^{-18} M, 1×10^{-17} M, 1×10^{-16} M, 1×10^{-15} M, 1×10^{-14} M, 1×10^{-13} M, 1×10^{-12} M, 1×10^{-11} M, 1×10^{-10} M, 1×10^{-9} M, 1×10^{-8} M, 1×10^{-7} M, 1×10^{-6} M, 1×10^{-5} M, 1×10^{-4} M, 1×10^{-3} M, 1×10^{-2} M, 1×10^{-1} M de uno o más COs. En algunas realizaciones preferidas, la concentración de CO es 1×10^{-14} M a 1×10^{-5} M, 1×10^{-12} M to 1×10^{-6} M o 1×10^{-10} M a 1×10^{-7} M. En algunas realizaciones preferidas, la concentración de CO es 1×10^{-14} M to 1×10^{-5} M, 1×10^{-12} M to 1×10^{-6} M o 1×10^{-10} M a 1×10^{-7} M.

10 **Compuestos Quitinosos:**

Las quitinas y los quitosanos, que son componentes principales de las paredes celulares de los hongos y los exoesqueletos de insectos y crustáceos, también están compuestos por residuos de GlcNAc. Compuestos quitinosos incluyen quitina, (I U PAC: N-[5-[[3-acetilamino-4,5-dihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-2-il]metoximetil]-2-[[5-acetilamino-4,6-dihidroxi-2-(hidroximetil)oxan-3-il]metoximetil]-4-hidroxi-6-(hidroximetil)oxan-3-il]jetanamida), quitosan, (I U PAC:

5-amino-6-[5-amino-6-[5-amino-4,6-dihidroxi-2(hidroximetil)oxan-3-il]oxi-4-hidroxi-2-(hidroximetil)oxan-3-il]oxi-2(hidroximetil)oxan-3,4-diol), e isómeros, sales y solvatos de los mismos

20 Determinadas quitinas y compuestos de quitosano pueden obtenerse comercialmente, *p. ej.*, de Sigma-Aldrich, o pueden prepararse a partir de insectos, caparazones de crustáceos o paredes de células fúngicas. Métodos para la preparación de quitina y quitosano son conocidos en la técnica y se han descrito, por ejemplo, en la Patente de EE.UU. 4.536.207 (preparación a partir de caparazones de crustáceos), Pochanavanich, et al., Lett. Appl. Microbiol. 35:17-21 (2002) (preparación a partir de paredes de células fúngicas) y Patente de EE.UU. 5.965.545 (preparación a partir de caparazones de cangrejo e hidrólisis de quitosano comercial). Se pueden obtener quitinas y quitosanos desacetilados que oscilan entre menos del 35 % y más del 90 % de desacetilación y cubren un amplio espectro de pesos moleculares, *p. ej.*, oligómeros de quitosano de bajo peso molecular de menos de 15 kD y oligómeros de quitina de 0,5 a 2 kD; quitosano de "calidad práctica" con un peso molecular de aproximadamente 15 kD; y quitosano de alto peso molecular de hasta 70 kD. Determinadas composiciones de quitina y quitosano formuladas para el tratamiento de semillas también están disponibles comercialmente. Los productos comerciales incluyen, por ejemplo, ELEXA® (Plant Defense Boosters, Inc.) y BEYOND™ (Agrihouse, Inc.).

35 **Flavonoides:**

Los flavonoides son compuestos fenólicos que tienen la estructura general de dos anillos aromáticos conectados por un puente de tres carbonos. Los flavonoides son producidos por plantas y tienen muchas funciones, *p. ej.*, como moléculas de señalización beneficiosas y como protección contra insectos, animales, hongos y bacterias. Clases de flavonoides que se incluyen son conocidas en la técnica. Véase, Jain, et al., J. Plant Biochem. & Biotechnol. 11:1-10 (2002); Shaw, et al., Environmental Microbiol. 11:1867-80 (2006). Compuestos flavonoides están disponibles comercialmente, *p. ej.*, de Novozymes BioAg, Saskatoon, Canadá; Natland International Corp., Research Triangle Park, NC; MP Biomedicals, Irvine, CA; LC Laboratories, Woburn MA. Los compuestos flavonoides se pueden aislar de plantas o semillas, *p. ej.*, como se describe en las patentes de EE.UU. 5.702.752; 5.990.291; y 6.146.668. Los compuestos flavonoides también pueden ser producidos por organismos manipulados genéticamente, tales como levadura, como se describe en Ralston, et al., Plant Physiology 137:1375-88 (2005). Se pretende que los compuestos flavonoides incluyan todos los compuestos flavonoides así como isómeros, sales y solvatos de los mismos.

El flavonoide puede ser un flavonoide natural (*es decir*, no producido sintéticamente), un flavonoide sintético (*p. ej.*, un flavonoide sintetizado químicamente) o una combinación de los mismos. En una realización particular, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con un flavanol, una flavona, una antocianidina, un isoflavonoide, un neoflavonoide y combinaciones de los mismos, incluyendo todos los isómeros, solvatos, hidratos, formas polimórficas, cristalinas, forma no cristalina y variaciones salinas de los mismos.

En una realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un flavonoide. Todavía en otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un flavanol seleccionado del grupo que consiste en flavan-3-oles (*p. ej.*, catequina (C), galocatequina (GC), 3-galato de catequina (Cg), 3-galato de galocatequina (GCg), epicatequinas (EC), epigalocatequina (EGC), 3-galato de epicatequina (ECg), 3-galato de epigalocatequina (EGCg), etc.), flavan-4-oles, flavan-3,4-dioles (*p. ej.*, leucoantocianidina), proantocianidinas, y combinaciones de los mismos. Todavía en otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un flavanol seleccionado del grupo que consiste en catequina (C), galocatequina (GC), 3-galato de catequina (Cg), 3-galato de galocatequina (GCg), epicatequinas (EC), epigalocatequina (EGC), 3-galato de epicatequina (ECg), 3-galato de epigalocatequina (EGCg), flavan-4-ol, leucoantocianidina, proantocianidinas, y dímeros, trímeros, oligómeros o polímeros de los mismos.

En otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos una flavona. En aún otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos una flavona seleccionada del grupo que consiste en flavonas (*p. ej.*, luteolina, apigenina, tangeritina, etc.), flavonoles (*p. ej.*, quercetina, quercitrina, rutina, kaempferol, kaempferitrina, astragalina, soforaflavonoloso, miricetina, fisetina, isoramnetina, paquipodol, ramnazina, etc.), flavanonas (*p. ej.*, hesperetina, hesperidina, naringenina, eriodictiol, homoeriodictiol, etc.) y flavanonoles (*p. ej.*, dihidroquercetina, dihidrokaempferol, etc.). Todavía en otra realización, los métodos descritos en el presente memoria pueden comprender además poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos una flavona seleccionada del grupo que consiste en luteolina, apigenina, tangeritina, quercetina, quercitrina, rutina, kaempferol, kaempferitrina, astragalina, sophoraflavonoloso, miricetina, fisetina, isorhamnetina, paquipodol, ramnazina, hesperetina, hesperidina, naringenina, eriodictiol, homoeriodictiol, dihidroquercetina, dihidrocanferol y combinaciones de los mismos. En aún otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos una flavona seleccionada del grupo que consiste en luteolina, apigenina, tangeritina, quercetina, quercitrina, rutina, kaempferol, kaempferitrina, astragalina, soforaflavonoloso, miricetina, fisetina, isoramnetina, paquipodol, ramnazina, hesperetina, hesperidina, naringenina, eriodictiol, homoeriodictiol, dihidroquercetina, dihidrokaempferol, y combinaciones de los mismos.

En aún otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos una antocianidina. En aún otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos una antocianidina, seleccionada del grupo que consiste en cianidinas, delphinidinas, malvidinas, pelargonidinas, peonidinas, petunidinas y combinaciones de las mismas.

En otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un isoflavonoide. Todavía en otra realización, los métodos descritos en esta memoria comprenden poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un isoflavonoide seleccionado del grupo que consiste en fitoestrógenos, isoflavonas (*p. ej.*, genisteína, daidzeína, gliciteína, etc.) e isoflavanas (*e.g.*, equol, lonchocarpano, laxiflorano, etc.), y combinaciones de los mismos. En aún otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un isoflavonoide seleccionado del grupo que consiste en genisteína, daidzeína, gliciteína, equol, lonchocarpano, laxiflorano y combinaciones de los mismos.

En otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un neoflavonoide. En aún otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un neoflavonoide seleccionado del grupo que consiste en neoflavonas (*p. ej.*, calofilolida), neoflavenos (*p. ej.*, dalbergicromeno), coutareageninas, dalberginas, nivetinas y combinaciones de los mismos. En aún otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un neoflavonoide seleccionado del grupo que consiste en calofilolida, dalbergicromeno, coutareagenina, dalbergina, nivetina y combinaciones de los mismos.

En otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con uno o flavonoides seleccionados del grupo que consiste en catequina (C), galocatequina (GC), 3-galato de catequina (Cg), 3-galato de galocatequina (GCg), epicatequinas (EC), epigalocatequina (EGC) 3-galato de epicatequina (ECg), 3-galato de epigalocatequina (EGCg), flavan-4-ol, leucoantocianidina, proantocianidinas, luteolina, apigenina, tangeritina, quercetina, quercitrina, rutina, kaempferol, kaempferitrin, astragalina, soforaflavonoloso, miricetina, fisetina, isoramnetina, paquipodol, ramnazin, hesperetina, hesperidina, naringenina, eriodictiol, homoeriodictiol, dihidroquercetina, dihidrokaempferol, cianidinas, delphinidinas, malvidinas, pelargonidinas, peonidinas, petunidinas, genisteína, daidzeína, gliciteína, equol, lonchocarpano, laxiflorano, calofilolida, dalbergicromeno, coutareagenina, dalbergina, nivetina y combinaciones de los mismos. En aún otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un flavonoide seleccionado del grupo que consiste en hesperetina, hesperidina, naringenina, genisteína, daidzeína y combinaciones de las mismas. En una realización particular, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con el flavonoide hesperetina. En otra realización particular, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender poner en contacto una planta o parte de una planta con el flavonoide hesperidina. En aún otra realización particular, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con el flavonoide naringenina. En aún otra realización particular, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender poner en contacto una planta o parte de una planta con el flavonoide genisteína. En aún otra realización particular, el método descrito en esta memoria puede comprender poner en contacto una planta o parte de una planta con el flavonoide daidzeína.

Inductor(es) de Genes Nod No Flavonoides:

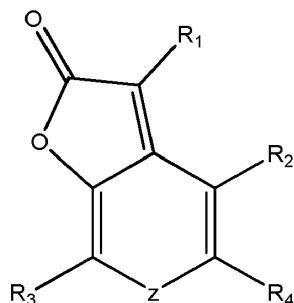
65 Ácido jasmónico (JA, ácido [1R-[1 α ,2 β (Z)]]-3-oxo-2-(pentenil)ciclopentanoacético) y sus derivados, ácido linoleico (ácido (Z,Z)-9,12-octadecadienoico) y sus derivados, y el ácido linolénico (ácido (Z,Z,Z)-9,12,15-octadecatrienoico) y

sus derivados, también pueden utilizarse en los métodos descritos en esta memoria. Los inductores del gen nod no flavonoide pretenden incluir no sólo los inductores del gen nod no flavonoide descritos en esta memoria, sino también isómeros, sales y solvatos de los mismos.

- 5 El ácido jasmónico y su éster metílico, el jasmonato de metilo (MeJA), conocidos colectivamente como jasmonatos, son compuestos a base de octadecanoide que se encuentran de forma natural en las plantas. El ácido jasmónico es producido por las raíces de las plántulas de trigo y por microorganismos fúngicos tales como *Botryodiplodia theobromae* y *Gibberella fujikuroi*, levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), y cepas patógenas y no patógenas de *Escherichia coli*. El ácido linoleico y el ácido linolénico se producen en el curso de la biosíntesis del ácido jasmónico.
- 10 Se informa que los jasmonatos, ácido linoleico y ácido linolénico (y sus derivados) son inductores de la expresión del gen nod o la producción de LCO por parte de rizobacterias. Véase, *p. ej.*, Mabood, Fazli, "Jasmonates induce the expression of nod genes in Bradyrhizobium japonicum", 17 de mayo de 2001; y Mabood, Fazli, "Linoleic and linolenic acid induce the expression of nod genes in Bradyrhizobium japonicum," USDA 3, 17 de mayo de 2001.
- 15 Derivados útiles de ácido linoleico, ácido linolénico y ácido jasmónico que pueden ser útiles en los métodos de la presente divulgación incluyen ésteres, amidas, glucósidos y sales. Ésteres representativos son compuestos en los que el grupo carboxilo del ácido linoleico, ácido linolénico o ácido jasmónico ha sido reemplazado por un grupo --COR, en que R es un grupo --OR¹, en el que R¹ es: un grupo alquilo, tal como un grupo alquilo C₁-C₈ no ramificado o ramificado, *p. ej.*, un grupo metilo, etilo o propilo; un grupo alqueno, tal como un grupo alqueno C₂-C₈ no ramificado o ramificado;
- 20 o ramificado; un grupo alquino, tal como un grupo alquino C₂-C₈ no ramificado o ramificado; un grupo arilo que tiene, por ejemplo, 6 a 10 átomos de carbono; o un grupo heteroarilo que tiene, por ejemplo, 4 a 9 átomos de carbono, en donde los heteroátomos en el grupo heteroarilo pueden ser, por ejemplo, N, O, P o S. Amidas representativas son compuestos en los que el grupo carboxilo del ácido linoleico, el ácido linolénico o ácido jasmónico ha sido reemplazado por un grupo -COR, en que R es un grupo NR²R³, en el que R² y R³ son independientemente: hidrógeno; un grupo alquilo, tal como un grupo alquilo C₁-C₈ no ramificado o ramificado, *p. ej.*, un grupo metilo, etilo o propilo; un grupo alqueno, tal como un grupo alqueno C₂-C₈ no ramificado o ramificado; un grupo alquino, tal como un grupo alquino C₂-C₈ no ramificado o ramificado; un grupo arilo que tiene, por ejemplo, 6 a 10 átomos de carbono; o un grupo heteroarilo que tiene, por ejemplo, 4 a 9 átomos de carbono, en donde los heteroátomos en el grupo heteroarilo pueden ser, por ejemplo, N, O, P o S. Los ésteres se pueden preparar mediante métodos conocidos, tales como adición nucleófila catalizada por ácidos, en donde el ácido carboxílico se hace reaccionar con un alcohol en presencia de una cantidad catalítica de un ácido mineral. Las amidas también se pueden preparar mediante métodos conocidos, tales como haciendo reaccionar el ácido carboxílico con la amina apropiada en presencia de un agente de acoplamiento tal como dicitohexil carbodiimida (DCC), en condiciones neutras. Sales adecuadas de ácido linoleico, ácido linolénico y ácido jasmónico incluyen, *p. ej.*, sales por adición de bases. Las bases que pueden utilizarse como reactivos para preparar sales de bases metabólicamente aceptables de estos compuestos incluyen las derivadas de cationes tales como cationes de metales alcalinos (*p. ej.*, potasio y sodio) y cationes de metales alcalinotérreos (*p. ej.*, calcio y magnesio). Estas sales se pueden preparar fácilmente mezclando juntos una solución de ácido linoleico, ácido linolénico o ácido jasmónico con una solución de la base. La sal puede precipitarse de la solución y recogerse por filtración o puede recuperarse por otros medios tales como por evaporación del disolvente.

40 **Karriquin(as):**

- Las karriquinas son 4H-pironas vinílogas *p. ej.*, 2H-furo[2,3-c]piran-2-onas, incluyendo derivados y análogos de los mismos. Se pretende que las karriquinas incluyan isómeros, sales y solvatos de las mismas. Ejemplos de estos compuestos están representados por la siguiente estructura:



- 50 en la que: Z es O, S o NR₅; R₁, R₂, R₃ y R₄ son cada uno independientemente H, alquilo, alqueno, alquino, fenilo, bencilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, feniloxi, benciloxi, CN, COR₆, COOR₆, halógeno, NR₆R₇ o NO₂; y R₅, R₆ y R₇ son cada uno independientemente H, alquilo o alqueno, o una sal biológicamente aceptable de los mismos. Ejemplos de sales biológicamente aceptables de estos compuestos pueden incluir sales por adición de ácidos formadas con ácidos biológicamente aceptables, ejemplos de los cuales incluyen hidrocloreto, hidrobromuro, sulfato o bisulfato, fosfato o hidrógeno-fosfato, acetato, benzoato, succinato, fumarato, maleato, lactato, citrato, tartrato, gluconato;
- 55 metanosulfonato, bencenosulfonato y ácido p-toluenosulfónico. Sales de metales biológicamente aceptables adicionales pueden incluir sales de metales alcalinos, con bases, ejemplos de las cuales incluyen las sales de sodio y

potasio. Ejemplos de compuestos abarcados por la estructura y que pueden ser adecuados para su uso en la presente divulgación incluyen los siguientes: 3-metil-2H-furo[2,3-c]piran-2-ona (en que $R_1=CH_3$, R_2 , R_3 , $R_4=H$), 2H-furo[2,3-c]piran-2-ona (en que R_1 , R_2 , R_3 , $R_4=H$), 7-metil-2H-furo[2,3-c]piran-2-ona (en que R_1 , R_2 , $R_4=H$, $R_3=CH_3$), 5-metil-2H-furo[2,3-c]piran-2-ona (en que R_1 , R_2 , $R_3=H$, $R_4=CH_3$), 3,7-dimetil-2H-furo[2,3-c]piran-2-ona (en que R_1 , $R_3=CH_3$, R_2 , $R_4=H$), 3,5-dimetil-2H-furo[2,3-c]piran-2-ona (en que R_1 , $R_4=CH_3$, R_2 , $R_3=H$), 3,5,7-trimetil-2H-furo[2,3-c]piran-2-ona (en que R_1 , R_3 , $R_4=CH_3$, $R_2=H$), 5-metoximetil-3-metil-2H-furo[2,3-c]piran-2-ona (en que $R_1=CH_3$, R_2 , $R_3=H$, $R_4=CH_2OCH_3$), 4-bromo-3,7-dimetil-2H-furo[2,3-c]piran-2-one (where R_1 , $R_3=CH_3$, $R_2=Br$, $R_4=H$), 3-methylfuro[2,3-c]pyridin-2(3H)-one (where $Z=NH$, $R_1=CH_3$, R_2 , R_3 , $R_4=H$), 3,6-dimethylfuro[2,3-c]pyridin-2(6H)-one (where $Z=N-CH_3$, $R_1=CH_3$, R_2 , R_3 , $R_4=H$).

Véase, la Patente de EE.UU. 7.576.213. Estas moléculas también se conocen como karriquinas. Véase, Halford, "Smoke Signals", en Chem. Eng. News (12 de abril de 2010), en las páginas 37-38 (informa que las karriquinas o butenólidos que se encuentran en el humo actúan como estimulantes del crecimiento y estimulan la germinación de las semillas después de un incendio forestal, y pueden vigorizar semillas como las de maíz, tomate, lechuga y cebolla que habían sido almacenadas). Estas moléculas son el objeto de la Patente de EE.UU. 7.576.213.

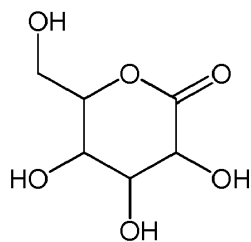
Nutriente(s):

En aún otra realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un nutriente beneficioso. Ejemplos no limitantes de nutrientes para uso en los métodos descritos en esta memoria incluyen vitaminas (*p. ej.*, vitamina A, complejo de vitamina B (*es decir*, vitamina B₁, vitamina B₂, vitamina B₃, vitamina B₅, vitamina B₆, vitamina B₇, vitamina B₈, vitamina B₉, vitamina B₁₂, colina) vitamina C, vitamina D, vitamina E, vitamina K, carotenoides (α -caroteno, β -caroteno, criptoxantina, luteína, licopeno, zeaxantina, etc.), macrominerales (*p. ej.*, fósforo, calcio, magnesio, potasio, sodio, hierro, etc.), minerales traza (*p. ej.*, boro, cobalto, cloruro, cromo, cobre, fluoruro, yodo, hierro, manganeso, molibdeno, selenio, zinc, etc.), ácidos orgánicos (*p. ej.*, ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico, ácido málico, taurina, etc.) y combinaciones de los mismos. En una realización particular, los métodos pueden comprender poner en contacto una planta o parte de una planta con fósforo, boro, cloro, cobre, hierro, manganeso, molibdeno, zinc o combinaciones de los mismos.

Gluconolactonas:

En al menos una realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos una gluconolactona. Alternativamente, la al menos una gluconolactona se puede aplicar de forma simultánea o secuencial, con los métodos descritos en esta memoria. La al menos una gluconolactona puede ser una gluconolactona natural (*es decir*, no producida sintéticamente), una gluconolactona sintética (*p. ej.*, una gluconolactona sintetizada químicamente) o una combinación de las mismas. La al menos una gluconolactona también puede estar en cualquier forma (*p. ej.*, oxidada, reducida o una combinación de especies oxidadas y reducidas).

En una realización, la al menos una gluconolactona tiene la fórmula molecular $C_6H_{10}O_6$ y una masa molar de aproximadamente $178,14 \text{ g mol}^{-1}$. En otra realización, la al menos una gluconolactona puede comprender gluconolactonas que tienen la estructura:

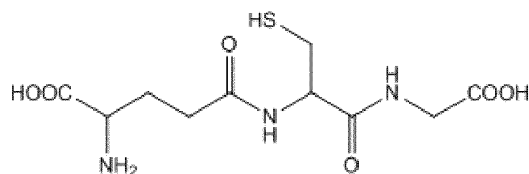


e isómeros, sales y solvatos de los mismos.

Glutaciones:

En al menos una realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un glutatión. Alternativamente, el al menos un glutatión se puede aplicar de forma simultánea o secuencial, con los métodos descritos en esta memoria. El al menos un glutatión puede ser un glutatión natural (*es decir*, no producido sintéticamente), un glutatión sintético (*p. ej.*, un glutatión sintetizado químicamente) o una combinación de los mismos. El al menos un glutatión también puede estar en cualquier forma (*p. ej.*, oxidada, reducida o una combinación de especies oxidadas y reducidas).

En una realización, el al menos un glutatión tiene la fórmula molecular $C_{10}H_{17}N_3O_6S$ y una masa molar de aproximadamente $307,32 \text{ g mol}^{-1}$. En otra realización, el al menos un glutatión puede comprender glutationes que tienen la estructura:



e isómeros, sales y solvatos de los mismos.

Bioestimulante(s):

10 En una realización, los métodos descritos en esta memoria pueden comprender, además, poner en contacto una planta o parte de una planta con al menos un bioestimulante. Los bioestimulantes pueden potenciar los procesos metabólicos o fisiológicos, tales como la respiración, la fotosíntesis, la absorción de ácidos nucleicos, la absorción de iones, el suministro de nutrientes o una combinación de los mismos. Ejemplos no limitantes de bioestimulantes incluyen extractos de algas marinas (*p. ej., ascophyllum nodosum*), ácidos húmicos (*p. ej., humato de potasio*), ácidos fúlvicos, mioinositol, glicina y combinaciones de los mismos. En otra realización, los métodos comprenden poner en contacto una planta o parte de una planta con extractos de algas marinas, ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, mioinositol, glicina y combinaciones de los mismos.

Métodos de contacto con una planta o parte de una planta:

20 La etapa de contacto se puede realizar mediante cualquier método conocido en la técnica (incluyendo las aplicaciones tanto foliares como no foliares). Ejemplos no limitativos de contacto con la planta o parte de una planta incluyen pulverizar una planta o parte de una planta, empapar una planta o parte de una planta, gotear sobre una planta o parte de una planta, espolvorear una planta o parte de una planta y/o recubrir una semilla. En una realización, la etapa de contacto se repite (*p. ej., más de una vez*, ya que en la etapa de contacto se repite dos, tres veces, cuatro veces, cinco veces, seis veces, siete veces, ocho veces, nueve veces, diez veces, etc.).

30 La cantidad del al menos un LCO eficaz para potenciar el crecimiento de las plantas de acuerdo con los métodos descritos en esta memoria, cuando se expresa en unidades de concentración, generalmente oscila entre aproximadamente 10^{-5} y aproximadamente 10^{-14} M (concentración molar), y en algunas realizaciones, entre aproximadamente 10^{-5} y aproximadamente 10^{-11} M, y en algunas otras realizaciones entre aproximadamente 10^{-7} y aproximadamente 10^{-8} M. Expresada en unidades de peso, la cantidad efectiva generalmente oscila entre aproximadamente 1 y aproximadamente 400 $\mu\text{g/cien peso (cwt)}$ de semilla, y en algunas realizaciones entre aproximadamente 2 y aproximadamente 70 $\mu\text{g/cwt}$, y en algunas otras realizaciones, entre aproximadamente 2,5 y aproximadamente 3,0 $\mu\text{g/cwt}$ de semillas (como se usa anteriormente 1 $\mu\text{g/cwt}$ de semillas 2,0 $\mu\text{g}/100 \text{ kg}$ de semillas).

40 Con el propósito de contactar una planta o parte de una planta indirectamente (*p. ej., tratamiento en surco*), la cantidad eficaz de al menos un LCO oscila generalmente entre 1 $\mu\text{g/acre}$ y aproximadamente 70 $\mu\text{g/acre}$, y en algunas realizaciones, entre aproximadamente 50 $\mu\text{g/acre}$ y aproximadamente 60 $\mu\text{g/acre}$. Con el propósito de contactar una planta o parte de una planta directamente (*p. ej., aplicación foliar*), la cantidad eficaz de al menos un LCO oscila generalmente entre 1 $\mu\text{g/acre}$ y aproximadamente 30 $\mu\text{g/acre}$, y en algunas realizaciones, entre aproximadamente 11 $\mu\text{g/acre}$ y aproximadamente 20 $\mu\text{g/acre}$. (como se utiliza arriba 1 $\mu\text{g/acre} = 0,4 \mu\text{g/hectárea}$)

45 En otro aspecto, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con al menos un LCO que comprende LCO (V) antes, después y/o simultáneamente con al menos un microorganismo beneficioso en agricultura seleccionado de *Streptomyces lydicus* WYEC 108, *Trichoderma virens* G1-3 y *Bacillus amyloliquefaciens* SB3778.

50 En realizaciones particulares, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención, antes, después y/o simultáneamente con al menos un plaguicida.

55 En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención antes de que al menos un herbicida contacte con la planta o parte de la planta. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención, antes de que al menos un insecticida contacte con la planta o parte de la planta. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención, antes de que al menos un acaricida contacte con la planta o parte de la planta. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención antes de que al menos un nematocida contacte con la planta o parte de la planta. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención, antes de que al menos un microorganismo beneficioso contacte con la planta o parte de la planta. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención,

antes de que al menos un un herbicida, insecticida, acaricida, nematocida, microorganismo beneficioso y combinaciones de los mismos entren en contacto con la planta o parte de la planta.

5 En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención después de que al menos un herbicida contacte con la planta o parte de la planta. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención, después de que al menos un insecticida contacte con la planta o parte de la planta. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención, después de que al menos un acaricida contacte con la planta o parte de la planta. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención después de que al menos un nematocida contacte con la planta o parte de la planta. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención, después de que al menos un microorganismo beneficioso contacte con la planta o parte de la planta. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención, después de que al menos un un herbicida, insecticida, acaricida, nematocida, microorganismo beneficioso y combinaciones de los mismos entren en contacto con la planta o parte de la planta.

15 En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención simultáneamente con al menos un herbicida. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención simultáneamente con al menos un insecticida. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con Z la combinación de la invención y al menos un microorganismo beneficioso para la agricultura simultáneamente con al menos un acaricida. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con Z la combinación de la invención simultáneamente con al menos un nematocida. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención simultáneamente con al menos un microorganismo beneficioso. En una realización, el método comprende poner en contacto la planta o parte de la planta con la combinación de la invención, simultáneamente con al menos un herbicida, insecticida, acaricida, nematocida, microorganismo beneficioso y combinaciones de los mismos.

20 Los métodos de la presente divulgación son aplicables a plantas o partes de plantas tanto leguminosas como no leguminosas. En una realización particular las plantas o partes de plantas se seleccionan del grupo que consiste en alfalfa, arroz, trigo, cebada, centeno, avena, algodón, canola, girasol, cacahuete, maíz, patata, boniato, haba, guisante, garbanzo, lenteja, achicoria, lechuga, escarola, col, coles de Bruselas, remolacha, chirivía, nabo, coliflor, brócoli, nabo, rábano, espinaca, cebolla, ajo, berenjena, pimiento, apio, zanahoria, calabaza, calabacín, pepino, manzana, pera, melón, cítricos, fresa, uva, frambuesa, piña, soja, tabaco, tomate, sorgo y caña de azúcar.

35 **EJEMPLOS**

Las unidades que no son SI utilizadas en los Ejemplos que figuran a continuación corresponden a las siguientes unidades SI:

40 1 µg/cwt de semillas = 2,0 µg/100 kg de semillas,

1 µg/acre = 0,4 µg/ha;

45 1 bushel/acre = 67,25 kg/ha

Ejemplo 1 (de acuerdo con la invención)

LCO y *Streptomyces lydicus* WYEC 108 aumentaron sinérgicamente el diámetro de los brotes de soja, el área de los brotes, el volumen de los brotes y el volumen de las raíces

50 Se pesaron semillas de soja (Asgrow 4831, A1024750, HU3U11) en lotes de 200 g. Cada uno de los lotes de semillas se trató con uno de los siguientes: un control de 2,4 ml de agua DI ("UTC"); Actinovate® STP (Novozymes BioAg, Inc., Brookfield, WI) a razón de 6 oz por cwt ("Actinovate"); LCO a 1,86 µg por cwt ("LCO"); Actinovate STP a razón de 6 oz por cwt y LCO a 1,86 µg por cwt ("Actinovate + LCO").

60 Para confirmar que *Streptomyces lydicus* en Actinovate se aplicó con éxito a las semillas, se colocó un gramo de semilla tratada en 99 ml de tampón fosfato y se agitó en un agitador de muñeca durante 30 min. Se realizaron diluciones en serie pipeteando 100 µl en 900 µl de tampón fosfato hasta alcanzar las diluciones deseadas, agitando en vórtice durante al menos 1 min para cada dilución. Volviendo a agitar la muestra, se sembraron 100 uL de cada dilución diana (2 y 3) con un mínimo de 3 réplicas en placas LB + dextrosa. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 5 días. Se observaron colonias de *Streptomyces lydicus* en las placas tanto Actinovate como Actinovate + Torque, y las colonias se hicieron visibles aproximadamente un día antes en las placas Actinovate + LCO.

Las semillas tratadas se plantaron en bandejas de 72 pocillos (1 bandeja por tratamiento) que contenían la mezcla de germinación ultrafina Fafard®. Los pisos sembrados se cortaron en cuadrados de 3 × 3 y se aleatorizaron. Cada cuadrado de 9 pocillos se consideró una repetición para el recuento de germinación.

- 5 Las plantas germinadas se recolectaron (3 submuestras por repetición) y se escanearon utilizando WinRhizo (Regent Instruments, Inc., Quebec, Canadá). Las plantas germinadas a partir de semillas tratadas con Actinovate + LCO exhibieron un aumento en el área media de los brotes, el diámetro medio de los brotes, el volumen medio de los brotes, el peso seco medio de los brotes, la longitud media de las raíces, el área media de las raíces y el volumen medio de las raíces, en comparación con las plantas tratadas con Actinovate o LCO solo. Las plantas germinadas a partir de semillas tratadas con Actinovate + LCO exhibieron un aumento sinérgico en el diámetro medio de los brotes, el área media de los brotes, el volumen medio de los brotes y el volumen medio de las raíces, en comparación con las plantas germinadas a partir de semillas tratadas con Actinovate o LCO solo.

Ejemplo 2 (de acuerdo con la invención)

- 15 **LCO y *Trichoderma virens* GI-3 aumentaron sinérgicamente la longitud de los brotes de soja, el área proyectada de los brotes y el área de superficie de los brotes**

- 20 Se pesaron semillas de soja (AG4531) en lotes de 200 g. Cada uno de los lotes de semillas se trató con uno de los siguientes: un control de 2,4 ml de agua DI ("UTC"); *Trichoderma virens* cepa GI-3 a 1×10^5 unidades formadoras de colonias por semilla ("GI-3"); LCO a 1,86 µg por cwt ("LCO"); o *Trichoderma virens* cepa GI-3 a 1×10^5 unidades formadoras de colonias por semilla y LCO a 1,86 µg por cwt ("GI-3 + LCO"). Las semillas se trataron usando un aparato de tratamiento de semillas Wintersteiger Hege 11 y se dejaron secar durante 10 minutos antes de plantar.

- 25 Las semillas tratadas se plantaron en bandejas de germinación de 72 celdas llenas de medio para macetas ProMix BX. Las bandejas sembradas se cultivaron en un invernadero y se regaron a capacidad de campo durante el período de crecimiento.

- 30 Las plantas germinadas se recolectaron 10 días después de la siembra y se analizaron utilizando WinRhizo (Regent Instruments, Inc., Quebec, Canadá). Como se muestra en las Tablas 1-3, las plantas germinadas a partir de semillas tratadas con GI-3 y LCO exhibieron un aumento sinérgico en la longitud promedio de los brotes, el área promedio proyectada de los brotes y el área de superficie promedio de los brotes, en comparación con las plantas germinadas a partir de semillas tratadas con GI-3 o LCO solo.

- 35 Tabla 1: Longitud media de los brotes de las plantas de soja cosechadas 10 días después de la siembra.

Tratamientos	Longitud, cm/Letras de Conexión (p ≤ 0,05)	Porcentaje de Aumento sobre el Control (%)
Control No tratado	12,07 ^B	N/D
GI-3	12,55 ^{AB}	3,98
GI-3 + LCO	14,63 ^A	21,21
LCO	13,44 ^{AB}	11,35

Tabla 2: Área media proyectada de brotes de plantas de soja cosechadas 10 días después de la siembra.

Tratamientos	Área Proyectada, cm ² /Letras de Conexión (p ≤ 0,05)	Porcentaje de Aumento sobre el Control (%)
Control No tratado	7,75 ^B	N/D
GI-3	8,62 ^{AB}	11,23
GI-3 + LCO	10,93 ^A	41,03
SP104	8,89 ^{AB}	14,71

Tabla 3: Área media proyectada de la superficie de brotes de plantas de soja cosechadas 10 días después de la siembra.

Tratamientos	Área de Superficie, cm ² /Letras de Conexión ($p \leq 0,05$)	Porcentaje de Aumento sobre el Control (%)
Control No tratado	24,36 ^B	N/D
GI-3	27,09 ^{AB}	11,21
GI-3 + LCO	34,32 ^A	40,89
LCO	27,95 ^{AB}	14,74

5

Ejemplo 3 (de acuerdo con la invención)

LCO y *Trichoderma virens* GI-3 aumentaron sinérgicamente la germinación del maíz, la longitud de los brotes, el área proyectada de los brotes, el área de la superficie de los brotes, la longitud de la raíz, el área proyectada de las raíces y el área de la superficie de las raíces

10

Se pesaron semillas de maíz (DKC 63-33) en lotes de 200 g. Cada uno de los lotes de semillas se trató con uno de los siguientes: un control de 2,1 mL de agua DI ("UTC"); *Trichoderma virens* cepa GI-3 a 1×10^5 unidades formadoras de colonias por semilla ("GI-3"); LCO a 1,86 μg por cwt ("LCO"); o *Trichoderma virens* cepa GI-3 a 1×10^5 unidades formadoras de colonias por semilla y LCO a 1,86 μg por cwt ("GI-3 + SP104"). Las semillas se trataron usando un aparato de tratamiento de semillas Wintersteiger Hege 11 y se dejaron secar durante 10 minutos antes de plantar.

15

Las semillas tratadas se plantaron en bandejas de germinación de 72 celdas llenas de medio para macetas ProMix BX. Las bandejas sembradas se cultivaron en un invernadero y se regaron a capacidad de campo durante el período de crecimiento.

20

Se realizó un recuento de la germinación 6 días después de la siembra, y las plantas germinadas se recolectaron 8 días después de la siembra y se analizaron utilizando WinRhizo (Regent Instruments, Inc., Quebec, Canadá). Sorprendentemente, las plantas germinadas a partir de semillas tratadas con GI-3 y LCO exhibieron un aumento sinérgico en la germinación, la longitud media de los brotes, el área promedio de los brotes proyectada, el área promedio de la superficie de los brotes, la longitud promedio de las raíces, el área promedio proyectada de las raíces y el área promedio de la superficie de las raíces, en comparación con plantas germinadas de semillas tratadas con GI-3 o LCO solo.

25

Ejemplo 4 (de acuerdo con la invención)

LCO y *Bacillus amyloliquefaciens* aumentaron sinérgicamente la biomasa de maíz

30

Se pesaron semillas de maíz (DKC 63-33) en lotes de 100 g. Cada uno de los lotes de semillas se trató con uno de los siguientes: un control de 500 μl de agua DI ("UTC"); 500 μl de caldo de fermentación *Bacillus amyloliquefaciens* cepa SB3778 ("SB3778"); 500 μl de LCO 10^{-8} M ("LCO"); o 250 μl de caldo de fermentación *Bacillus amyloliquefaciens* cepa SB3778 y 250 μl de LCO 10^{-8} M ("SB3778 + LCO"). Las semillas tratadas se dejaron secar durante 3-4 horas antes de plantarlas.

35

Las semillas tratadas se plantaron en bandejas de germinación llenas de medio para macetas Promix (5 hileras por tratamiento; 6 plántulas por hilera). Las bandejas sembradas se cultivaron durante dos semanas en una cámara de crecimiento a 25 °C y 70 % de humedad con 16 horas de luz por día, luego se cosecharon y analizaron

40

Como se muestra en la Tabla 4, las plantas germinadas a partir de semillas tratadas con SB3778 y LCO exhibieron un aumento sinérgico en la biomasa de peso seco, en comparación con las plantas germinadas a partir de semillas tratadas con SB3778 o LCO solo.

45

Tabla 4 Peso seco promedio de plantas de maíz cosechadas dos semanas después de la siembra.

Parámetro de rendimiento	Control	SB3281 + LCO	LCO	SB3281
Planta promedio DW (g)	0,219	0,234	0,224	0,224
% de aumento de peso seco		6,85%	2,30%	2,30%

Ejemplo 5 (no de acuerdo con la invención)

LCO aumentó el rendimiento de semillas de maíz tratadas con CruiserMaxx®

5 Semillas de maíz tratadas con CruiserMaxx® (tiametoxam, mefenoxam, fludioxonil; Syngenta Crop Protection, LLC, Greensboro, NC) ("control") o CruiserMaxx® y LCO (Torque® ST, Novozymes BioAg Inc., Brookfield, WI) ("CruiserMaxx + LCO").

10 Las semillas de Control y CruiserMaxx + LCO se plantaron en diversos lugares durante dos temporadas de cultivo separadas: Arkansaw, WI; Carroll, IA; Geneva, MN; Sparta, IL; Tekamah, NE; y Verona, WI durante la primera temporada de cultivo y Fishers, IN; Geneva, MN; Madison, WI; Richland, IA; Sparta, IL; y York, NE durante la segunda temporada de crecimiento.

15 El rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas CruiserMaxx + LCO superó el rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas de control en 2,03 bushels por acre.

Ejemplo 6 (no de acuerdo con la invención)

LCO aumentó el rendimiento de semillas de soja tratadas con Acceleron®

20 Semillas de soja tratadas con Acceleron® (piraclostrobina, metalaxil, imidacloprid; Monsanto Technology LLC, St. Louis, MO) ("control") o Acceleron® y LCO (Torque® ST, Novozymes BioAg Inc., Brookfield, WI) ("Acceleron + LCO").

25 Las semillas de Control y Acceleron + LCO se plantaron en diversos lugares durante tres temporadas de cultivo separadas: Campbell, MN; Fishers, IN; Sparta, IL; Verona, WI; y York, NE durante la primera temporada de cultivo, Arkansaw, WI; Carroll, IA; Madison, WI; y Sparta, IL durante la segunda temporada de cultivo, y Arkansaw, WI; Belleville, WI; Brookings, SD; Carroll, IA; Fishers, IN; Geneva, MN; Marissa, IL; y York, NE durante la tercera temporada de cultivo.

30 El rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas Acceleron + LCO superó el rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas de control en 1,6 bushels por acre.

Ejemplo 7 (no de acuerdo con la invención)

LCO aumentó el rendimiento de semillas de soja tratadas con CruiserMaxx® Plus

35 Semillas de soja tratadas con CruiserMaxx® (tiametoxam, mefenoxam, fludioxonil; Syngenta Crop Protection, LLC, Greensboro, NC) ("control") o CruiserMaxx® Plus y LCO (Torque® ST, Novozymes BioAg Inc., Brookfield, WI) ("CruiserMaxx Plus + LCO").

40 Las semillas de Control y CruiserMaxx Plus + LCO se plantaron en diversos lugares durante dos temporadas de cultivo separadas: Arkansaw, WI; Carroll, IA; y Sparta, IL durante la primera temporada de cultivo y Arkansaw, WI; Brookings, IL; Carroll, IA; Clarence, MO; Fishers, IN; Geneva, MN; Marissa, IL; y York, NE durante la segunda temporada de cultivo.

45 El rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas CruiserMaxx Plus + LCO superó el rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas de control en 2,2 bushels por acre.

Ejemplo 8 (no de acuerdo con la invención)

LCO aumentó el rendimiento de semillas de soja tratadas con CruiserMaxx® Plus

50 Semillas de soja tratadas con CruiserMaxx® Plus (tiametoxam, mefenoxam, fludioxonil; Syngenta Crop Protection, LLC, Greensboro, NC) ("control") o CruiserMaxx® Plus y LCO (ProStablish™, Novozymes BioAg Inc., Brookfield, WI) ("CruiserMaxx Plus + LCO").

55 **Se plantaron semillas de control y CruiserMaxx Plus + LCO en Campbell, MN y Sparta, IL.**

60 El rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas CruiserMaxx Plus + LCO superó el rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas de control en 3,0 bushels por acre.

Ejemplo 9 (no de acuerdo con la invención)

LCO aumentó el rendimiento de semillas de soja tratadas con Habas CruiserMaxx®

Semillas de soja tratadas con Habas CruiserMaxx® (tiametoxam, mefenoxam, fludioxonil; Syngenta Crop Protection, LLC, Greensboro, NC) ("control") o Habas CruiserMaxx® y LCO (ProStabliSM, Novozymes BioAg Inc., Brookfield, WI) ("Habas CruiserMaxx + LCO").

- 5 Las semillas de Control y Habas CruiserMaxx + LCO se plantaron en Campbell, MN; Fishers, IN; Geneva, MN; Sparta, IL; Tipp City, Ohio; Verona, WI; y York, NE.

El rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas Habas CruiserMaxx + LCO superó el rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas de control en 2,7 bushels por acre.

10

Ejemplo 10 (no de acuerdo con la invención)

LCO aumentó el rendimiento de semillas de soja tratadas con Trilex®

- 15 Semillas de soja tratadas con Trilex® 6000 (trifloxiestrobina, metalaxil, imidacloprid, *Bacillus pumilus* GB34; Bayer CropScience, Research Triangle Park, NC) ("control") o Trilex® 6000 y LCO (Torque® ST, Novozymes BioAg Inc., Brookfield, WI) ("Trilex + LCO").

20 Las semillas de Control y Trilex + LCO se plantaron en diversos lugares durante tres temporadas de cultivo separadas: Campbell, MN; Fishers, IN; Sparta, IL; Verona, WI; and York, NE durante la primera temporada de cultivo, Arkansaw, WI; Carroll, IA; Fitchburg, WI; y Sparta, IL durante la segunda temporada de cultivo, y Arkansaw, WI; Belleville, WI; Brookings, SD; Carroll, IA; Clarence, MO; Fishers, IN; Geneva, MN; Marissa, IL; y York, NE durante la tercera temporada de cultivo.

- 25 El rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas Trilex + LCO superó el rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas de control en 2,2 bushels por acre.

Ejemplo 11 (no de acuerdo con la invención)

LCO aumentó el rendimiento de semillas de soja tratadas con Trilex®

- 30 Semillas de soja tratadas con Trilex® 6000 (trifloxiestrobina, metalaxil, imidacloprid, *Bacillus pumilus* GB34; Bayer CropScience, Research Triangle Park, NC) ("control") o Trilex® 6000 y LCO (ProStabliSM, Novozymes BioAg Inc., Brookfield, WI) ("Trilex + LCO").

35 Las semillas de Control y Trilex + LCO se plantaron en diversos lugares durante dos temporadas de cultivo separadas: Campbell, MN; Fishers, IN; Sparta, IL; Verona, WI; and York, NE durante la primera temporada de cultivo, y Arkansaw, WI; Carroll, IA; Fitchburg, WI; y Sparta, IL durante la segunda temporada de cultivo.

- 40 El rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas Trilex + LCO superó el rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas de control en 2,7 bushels por acre.

Ejemplo 12 (no de acuerdo con la invención)

LCO aumentó el rendimiento de semillas de soja tratadas con Poncho®/Votivo® y Trilex®

- 45 Semillas de soja tratadas con Poncho®/Votivo® (clotianidina, *Bacillus firmus*; Bayer CropScience, Research Triangle Park, NC) Trilex® 2000 (Bayer CropScience, Research Triangle Park, NC) ("control") o Poncho®/Votivo®, Trilex® 2000, y LCO (Torque® ST, Novozymes BioAg Inc., Brookfield, WI) ("Poncho/Votivo + Trilex + LCO").

50 Se sembraron semillas de control y Poncho/Votivo + Trilex + LCO en Arkansaw, WI; Carroll, IA; Madison, WI; y Sparta, IL.

- 55 El rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas Poncho/Votivo + Trilex + LCO superó el rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas de control en 3,9 bushels por acre.

Ejemplo 13 (no de acuerdo con la invención)

LCO aumentó el rendimiento de semillas de soja tratadas con Poncho®/Votivo® y Trilex®

- 60 Semillas de soja tratadas con Poncho®/Votivo® (clotianidina, *Bacillus firmus*; Bayer CropScience, Research Triangle Park, NC) Trilex® 2000 (trifloxiestrobina, metalaxil; Bayer CropScience, Research Triangle Park, NC) ("control") o Poncho®/Votivo®, Trilex® 2000, y LCO (ProStabliSM, Novozymes BioAg Inc., Brookfield, WI) ("Poncho/Votivo + Trilex + LCO").

65

Se sembraron semillas de control y Poncho/Votivo + Trilex + LCO en Arkansaw, WI; Campbell, MN; Carroll, IA; Oregon, WI; y Sparta, IL.

5 El rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas Poncho/Votivo + Trilex + LCO superó el rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas de control en 2,0 bushels por acre.

Ejemplo 14 (no de acuerdo con la invención)

LCO aumentó el rendimiento de semillas de soja tratadas con Pioneer® Premium Seed Treatment

10 Semillas de soja tratadas con Pioneer@ Premium Seed Treatment (trifloxiestrobina, metalaxil, imidacloprid, *Bradyrhizobium japonicum*, LCO; DuPont Pioneer, Johnston, IA) ("control") o Pioneer@ Premium Seed Treatment y LCO (Torque® ST, Novozymes BioAg Inc., Brookfield, WI) ("PPST + LCO").

15 Se sembraron semillas de control y PPST + LCO en Fishers, IN; Oregon, WI; Sparta, IL; y York, NE.

El rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas PPST + LCO superó el rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas de control en 2,1 bushels por acre.

20 **Ejemplo 15 (no de acuerdo con la invención)**

LCO aumentó el rendimiento de semillas de soja tratadas con Pioneer® Premium Seed Treatment

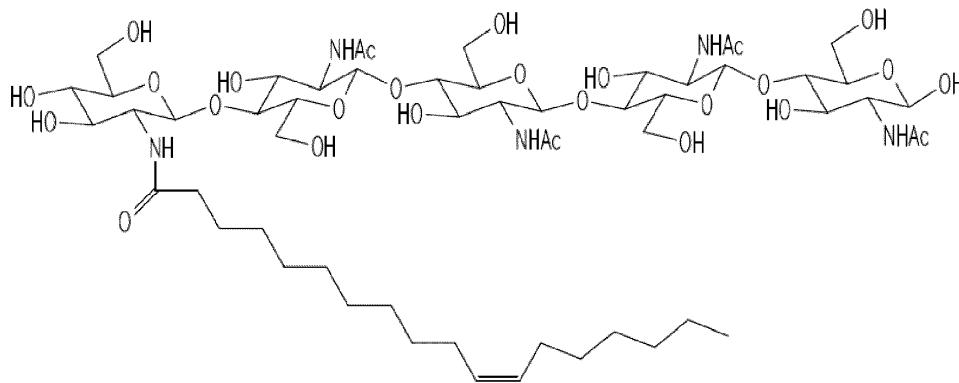
25 Semillas de soja tratadas con Pioneer@ Premium Seed Treatment (trifloxiestrobina, metalaxil, imidacloprid, *Bradyrhizobium japonicum*, LCO; DuPont Pioneer, Johnston, IA) ("control") o Pioneer@ Premium Seed Treatment y LCO (ProStabish™, Novozymes BioAg Inc., Brookfield, WI) ("PPST + LCO").

30 Semillas de Control y PPST + LCO se plantaron en diversos lugares durante dos temporadas de cultivo separadas: Fishers, IN; Oregon, WI; Sparta, IL; y York, NE durante la primera temporada de cultivo y Arkansaw, WI; Clarence, MN; Fishers, IN; Geneva, WI; Madison, WI; Sparta, IL; Stoneville, MS; y York, NE durante la segunda temporada de cultivo.

35 El rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas PPST + LCO superó el rendimiento promedio de plantas germinadas a partir de semillas de control en 1,3 bushels por acre.

REIVINDICACIONES

1. Un método para potenciar el crecimiento de una planta o parte de una planta, que comprende poner en contacto dicha planta o parte de una planta con al menos un lipo-quito-oligosacáridos (LCO) y al menos un microorganismo beneficioso para la agricultura, en donde dicho al menos un microorganismo beneficioso para la agricultura es *Streptomyces lydicus* WYEC 108, *Trichoderma virens* GI-3 o *Bacillus amyloliquefaciens* SB3778; y en el que dicho al menos un LCO comprende el LCO representado por la estructura (V):



2. El método de la reivindicación 1, que comprende, además, poner en contacto dicha planta o parte de la planta con al menos un insecticida, acaricida y/o nematocida.
3. El método de la reivindicación 2, en el que el uno o más insecticidas, acaricidas y/o nematocidas se seleccionan del grupo que consiste en carbamatos, diamidas, lactonas macrocíclicas, neonicotinoides, organofosfatos, fenilpirazoles, piretrinas, espinosinas, piretroides sintéticos, ácidos tetrónicos, ácidos tetrámicos y sales y ésteres de los mismos, mezclas racémicas e isómeros resueltos de los mismos y combinaciones de los mismos.
4. El método de la reivindicación 2, en el que uno o más insecticidas, acaricidas y/o nematocidas se seleccionan del grupo que consiste en acrinatrina, alfa-cipermetrina, betaciflutrina, cihalotrina, cipermetrina, deltametrina, esfenvalerato, etofenprox, fenpropatrin, fenvalerato, flucitrinato, fostiazato, lambda-cihalotrina, gamma-cihalotrina, permetrina, tau-fluvalinato, transflutrina, zeta-cipermetrina, ciflutrina, bifentrina, teflutrina, eflusilanato, fubfenprox, piretrina, resmetrina, imidacloprid, acetamiprid, tiametoxam, nitenpiram, tiacloprid, dinotefuran, clotianidin, imidaclozif, clorfluazuron, diflubenzuron, lufenuron, teflubenzuron, triflumuron, novaluron, flufenoxuron, hexaflumuron, bistrifluror, noviflumuron, buprofezin, ciromazina, metoxifenoza, tebufenoza, halofenoza, cromafenoza, endosulfan, fipronil, etiprol, pirafluprol, piriprol, flubendiamida, clorantraniliprol, ciazipir, emamectina, emamectina benzoato, abamectina, ivermectina, milbemectina, lepimectina, tebufenpirad, fenpiroximato, piridaben, fenazaquin, pirimidifen, tolfenpirad, dicofol, cienopirafen, ciflumetofen, acequinocil, fluacripirin, bifenazato, diafentiuron, etoxazol, clofentezina, spinosad, triaraten, tetradifon, propargita, hexitiazox, bromopropilato, quinometionato, amitraz, pirifluquinazon, pimetrozina, flonicamid, piriproxifen, diofenolan, clorfenapir, metaflumizona, indoxacarb, clorpirifos, spirodiclofen, spiromesifen, spirotetramat, piridalil, spinctoram, acefato, triazofos, profenofos, oxamil, spinetoram, fenamifos, fenamipclotiafos, 4-[[[6-cloropirid-3-il)metil](2,2-difluoroetil)amino]furan-2(5H)-ona, cadusafos, carbaril, carbofuran, etoprofos, tiodicarb, aldicarb, aldoxicarb, metamidofos, metiocarb, sulfoxaflor, cfantraniliprol, tiozazofen, y combinaciones de los mismos.
5. El método de la reivindicación 2, que comprende poner en contacto dicha planta o parte de la planta con al menos un insecticida seleccionado entre lambda-cihalotrina, gamma-cihalotrina, imidacloprid, tiametoxam, piriprol, clorantraniliprol, clotianidina, ciazipir, abamectina y/o pirimidifeno.
6. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que comprende, además, poner en contacto dicha planta o parte de la planta con al menos un herbicida.
7. El método de la reivindicación 6, en el que el al menos un herbicida se selecciona entre inhibidores de acetil CoA carboxilasa (ACCase), inhibidores de acetolactato sintasa (ALS) o inhibidores de acetohidroxi ácido sintasa (AHAS), inhibidores del fotosistema II, inhibidores del fotosistema I, inhibidores de la protoporfirinógeno oxidasa (PPO o Protox), inhibidores de la biosíntesis de carotenoides, inhibidores de la enolpiruvilo shikimato-3-fosfato sintasa (EPSP), inhibidores de la glutamina sintetasa, inhibidores de la dihidropteroato sintetasa, inhibidores de la mitosis, inhibidores de la 4-hidroxifenil-piruvato-dioxigenasa (4-HPPD), auxinas sintéticas, sales herbicidas de auxina, inhibidores del transporte de auxina e inhibidores de ácido nucleico, sales y ésteres de los mismos; mezclas racémicas e isómeros resueltos de los mismos; y combinaciones de los mismos.
8. El método de la reivindicación 6, donde el al menos un herbicida se selecciona entre ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T), ametrina, amicarbazona, aminociclopiraclo, acetocloro,

5 acifluorfen, alacloro, atrazina, azafenidina, bentazon, benzofenap, bifenox, bromacilo, bromoxinil, butacloro, butafenacil, butroxidim, carfentrazona-etil, clorimuron, clorotoluron, cletodim, clodinafop, clomazona, cianazina, cicloxidim, cihalofop, desmedifam, desmetrina, dicamba, diclofop, dimefuron, diuron, ditiopir, fenoxaprop, fluazifop, fluazifop-P, fluometuron, flufenpir-etil, flumiclorac-pentil, flumioxazin, fluoroglicofen, flutiacet-metil, fomesafe, fomesafen, glifosato, glufosinato, haloxifop, hexazinona, imazamox, imazaquin, imazetapir, ioxinil, isoproturon, isoxaflutol, lactofen, linuron, mecoprop, mecoprop-P, mesotriona, metamidron, metazoclor, metibenzuron, metolaclor, S-metolaclor, metoxuron, metribuzin, monolinuron, oxadiargilo, oxadiazon, oxifluorfen, fenmedifam, pretilacloro, profoxidim, prometon, prometrina, propaclor, propanil, propaquizafop, propisocloro, piraflufen-etil, pirazon, pirazolinato, pirazoxifeno, piridato, quizalofop, quizalofop-P, quizalofop-etil, quizalofop-P-etil, clodinafop-propargilo, cihalofop-butil, 10 diclofop-metil, fenoxaprop-P-etil, fluazifop-P-butil, haloxifop-metil, haloxifop-R-metilo, saflufenacil, setoxidim, siduron, simazina, simetrin, sulcotriona, sulfentrazona, tebutiuron, tembotriona, tepraloxidim, terbacilo, terbumeton, terbutilazina, taxtomina, tenilcloro, tralcoxidim, triclopir, trietazina, tropramezona y sales y ésteres de los mismos, mezclas racémicas e isómeros resueltos de los mismos, y combinaciones de los mismos.