



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 287 165**

51 Int. Cl.:
A01N 53/00 (2006.01)
A01N 51/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **01979363 .7**
86 Fecha de presentación : **02.10.2001**
87 Número de publicación de la solicitud: **1322165**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **02.07.2003**

54 Título: **Tratamiento de semillas con combinaciones de piretrinas/piretroides y tiametoxan.**

30 Prioridad: **06.10.2000 US 238485 P**
01.10.2001 US 968173

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.12.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.12.2007

73 Titular/es: **Monsanto Technology L.L.C.**
800 North Lindbergh Blvd.
St. Louis, Missouri 63167, US
Syngenta Participations AG.

72 Inventor/es: **Asrar, Jawed y**
Kohn, Frank, C.

74 Agente: **Carpintero López, Francisco**

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

Tratamiento de semillas con combinaciones de piretrinas/piretroides y tiametoxan.

5 Antecedentes de la invención

(1) Campo de la invención

Esta invención se refiere de manera general al control de las plagas de plantas y de manera más particular a conseguir la protección frente al daño de los insectos a las semillas y a las partes de las plantas mediante el tratamiento de las semillas de las plantas con combinaciones de pesticidas; de manera concreta, la invención se refiere al control del daño de insectos a las semillas y a las partes de las plantas mediante el tratamiento de las semillas de las plantas con una combinación de tiametoxan con piretrinas y/u otros piretroides sintéticos.

15 (2) Descripción de la técnica relacionada

Es de extrema importancia en la industria agrícola el control de los insectos y artrópodos relacionados. Cada año, estas plagas destruyen un 15% estimado de los cultivos agrícolas en los Estados Unidos e incluso más que eso en los países en desarrollo. Algunos de estos daños se producen en el suelo cuando los patógenos, insectos y otras de dichas plagas de las plantas transmitidas a través del suelo atacan las semillas tras la plantación. La mayor parte del resto del daño se produce por los gusanos de la raíz; los patógenos de las plantas que se alimentan de o dañan de cualquier otra manera las raíces de las plantas; y por los gusanos cortadores, los barrenadores europeos del maíz, que se alimentan de o dañan las partes de la planta por encima del terreno. Se proporcionan en, por ejemplo, Metcalf, en *Destructive and Useful Insects*, (1962); y Agrios, en *Plant Pathology* 3ª Ed., Academic Press (1988) las descripciones generales del tipo y los mecanismos de ataque de las plagas sobre los cultivos agrícolas.

El período durante la germinación de la semilla, el brote y el crecimiento inicial son particularmente críticos debido a que las raíces y brotes de la planta en crecimiento son pequeños e incluso una pequeña cantidad de daño puede acabar con la planta completa. Además, no se han desarrollado completamente en esta etapa algunas defensas naturales de la planta y la planta es vulnerable al ataque. No resulta sorprendente que el control de las plagas que atacan las semillas y las partes de las plantas por encima del terreno durante esta etapa temprana del crecimiento de la planta sea un área bien desarrollada de la agricultura.

Actualmente, el control de las plagas que atacan los cultivos post emergentes implica principalmente la aplicación de pesticidas orgánicos sintéticos al suelo, o a las plantas en crecimiento mediante pulverización foliar. Debido a la preocupación acerca del impacto de los pesticidas químicos sobre la salud pública y el medio ambiente, se ha hecho mucho esfuerzo para reducir la cantidad de los pesticidas químicos que se usan. Se ha dedicado una parte significativa de este esfuerzo al desarrollo de cultivos transgénicos producidos mediante ingeniería genética para expresar productos nocivos para los insectos procedentes de microorganismos. Por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos N° 5.877.012 de Estruch y col. describe la clonación y expresión de las proteínas de organismos tales como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Clavibacter* y *Rhizobium* en plantas para obtener plantas transgénicas con resistencia a plagas tales como los gusanos cortadores negros, gusanos cogolleros, algunos barrenadores y otras plagas de insectos. La publicación WO/EP97/07089 de Privalle y col. ilustra la transformación de las monocotiledóneas, tales como el maíz, con una secuencia de ADN recombinante que codifica una peroxidasa para la protección de la planta del ataque de barrenadores del maíz, gusanos de la mazorca y gusanos cortadores. Jansens y col., en *Crop Sci.*, 37(5):1616-1624 (1997), informaron de la producción de maíz transgénico que contenía un gen que codificaba una proteína cristalina de *Bacillus thuringiensis* que controló ambas generaciones de barrenador europeo del maíz. Las Patentes de los Estados Unidos N°s 5.625.136 y 5.859.336 de Kozziel y col. informan que la transformación del maíz con un gen de *B. thuringiensis* que codificaba las delta-endotoxinas proporcionó el maíz transgénico con resistencia mejorada al barrenador europeo del maíz.

Armstrong y col., en *Crop Science*, 35(2):550-557 (1995) han compilado un informe exhaustivo de ensayos de campo de maíz transgénico que expresa una proteína insecticida de *B. thuringiensis*.

Sin embargo, en el estado presente de la ingeniería celular de las plantas, los maíces transgénicos son normalmente resistentes únicamente a las plagas específicas de dicho cultivo, por ejemplo, el maíz transgénico que expresa una toxina *Bt* frente al gusano de la raíz del maíz. Es frecuentemente necesario aplicar pesticidas sintéticos a dichas plantas transgénicas para controlar el daño producido por otras plagas.

Los insecticidas tales como los piretroides sintéticos, organofosfatos y carbamatos; los fungicidas tales como los azoles y las anilopirimidinas; y los acaricidas tales como los pirazoles; y similares, son muy efectivos frente a algunas plagas de las plantas de la parte superior del terreno cuando se aplican en el momento apropiado y con los procedimientos apropiados. Se pueden aplicar pesticidas apropiados en el momento de la plantación como bandas superficiales, bandas "T", o en surco, pero estas aplicaciones requieren el trabajo adicional de aplicar el pesticida en el mismo momento en el que se siembran las semillas. Esto complica el trabajo de la plantación y el equipo adicional necesario para la aplicación del pesticida es costoso de adquirir y requiere mantenimiento y atención durante el uso. Además, debe tenerse cuidado en incorporar los pesticidas adecuadamente en la capa más superior del suelo para una actividad óptima. (Véase, por ejemplo, los requerimientos de aplicación y las precauciones para el uso de la teflutrina que se describen en el folleto titulado *Force 3G Insecticide*, publicado por Zeneca Ag Products, Wilmington, DE (1998)).

La actividad de los pesticidas que se han aplicado en forma de aplicaciones en surco en el momento de la siembra se dirige normalmente a la protección de la semilla o las raíces de la planta. Se ha informado, sin embargo, de cierta protección frente a las plagas de la parte superior del terreno tales como los barrenadores del maíz, con dichos tratamientos mediante insecticidas que se sabe que son sistémicos. Keaster y Fairchild, *J. Econ. Entomol.*, 61(2):367-369 (1968). Debido a que dichos pesticidas químicos son moléculas complejas que son caras de producir, adquirir y usar, es deseable que su actividad no se diluya o pierda por la migración lejos del emplazamiento deseado de la acción por la filtración de la humedad o por la vaporización.

Una vez que la planta ha emergido del suelo, se usa más a menudo el pulverizado foliar de los pesticidas para controlar aquellas plagas que atacan los brotes y el follaje de la planta. Sin embargo, se debe aplicar la pulverización foliar en los momentos concretos que coincidan con la presencia y actividad de la plaga con el fin de tener el efecto más beneficioso. Puede ser difícil o imposible la aplicación en ese momento si, por ejemplo, las condiciones del tiempo limitan el acceso al campo. Además, se deben monitorizar de cerca las plantas para observar los signos tempranos de la actividad de la plaga con el fin de aplicar el pesticida en el momento en el que las plagas son más vulnerables.

Se ha encontrado que los piretroides sintéticos proporcionan un control excelente de las plagas del orden Lepidoptera, tales como los gusanos cortadores, cuando se aplican en forma de pulverización foliar o de gránulos incorporados a la superficie en el momento de la plantación. Sin embargo, debido a que esta clase de insecticidas tiene una toxicidad muy alta para los peces, por ejemplo, se debe tener gran cuidado en limitar la escorrentía del insecticida procedente tanto de los gránulos como de la pulverización hacia las aguas superficiales. Además, se debe llevar a cabo la pulverización foliar en los momentos en los que existe poco viento, y a continuación únicamente con el equipo apropiado que se monitoriza cuidadosamente durante el uso.

Se ha encontrado también en algunos casos, con pesticidas y técnicas de aplicación concretos, que cuando dos o más de dichos pesticidas se usan en una combinación concreta dan como resultado una eficacia mayor que cuando uno cualquiera de dichos pesticidas se usa en solitario. Se ha informado de dichos beneficios de combinar pesticidas para las combinaciones de fosmet con diflubenzuron (Patente de los Estados Unidos N° 4.382.927); O-etil-O-[4-(metiltio)-fenil]-S-propil fosfoditionato y N'-(4-cloro-o-tolil)-N,N-dimetilformamida (Patente de los Estados Unidos N° 4.053.595); bacillus thuringiensis y clordimeform (Patente de los Estados Unidos N° 3.937.813); si se desea, decametrina y diclorvos con propoxur (Patente de los Estados Unidos N° 4.863.909); fenvalerato y fosmet (Patente de los Estados Unidos N° 4.263.287); y fosalone y malation (Patente de los Estados Unidos N° 4.064.237). Sin embargo, cada una de estas combinaciones se aplicó directamente a la planta en crecimiento tal como se había descrito anteriormente en forma de pulverizaciones o polvos, o se aplicó al suelo alrededor de la planta en forma de, por ejemplo, gránulos.

El Documento WO 9740692 describe las combinaciones de uno cualquiera de los diversos derivados de oxadiazina con uno de una larga lista de diferentes insecticidas. Aunque la solicitud menciona que las combinaciones se pueden aplicar al material de propagación de la planta para su protección, así como a los brotes y hojas de la planta, no se proporcionan ejemplos para demostrar que una cualquiera de las combinaciones relacionadas es realmente eficaz. Se describen más combinaciones de pesticidas en las Patentes de los Estados Unidos N°s 4.415.561, 5.385.926, 5.972.941 y 5.952.358. Sin embargo, en la técnica existente, se han encontrado pocas orientaciones o ninguna como procedimientos para predecir qué combinaciones de pesticidas darán como resultado dicha eficacia inesperadamente superior y qué combinaciones no la darán.

Es bien conocido el control de las plagas aplicando insecticidas directamente a las semillas de la planta. Por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos N° 5.696.144 describe que el barrenador europeo del maíz produjo menos daño por ataque a las plantas de maíz en crecimiento a partir de semillas tratadas con un compuesto de 1-arilpirazol a una tasa de 500 g por quintal (45,5 kg) de semillas que las plantas control en crecimiento a partir de semillas no tratadas. De manera adicional, la Patente de los Estados Unidos N° 5.876.739 de Tumblad y col (y su pariente, la Patente de los Estados Unidos N° 5.849.320) describe un procedimiento para controlar insectos barrenadores del suelo que implicar tratar las semillas con un recubrimiento que contiene uno o más ligantes poliméricos y un insecticida. Esta referencia proporciona una lista de insecticidas que identifica como candidatos para el uso en este recubrimiento y también nombra numerosos insectos diana potenciales. Sin embargo, mientras que la patente 5.876.739 expone que el tratamiento de las semillas de maíz con un recubrimiento que contiene un insecticida concreto protege las raíces del maíz del daño por los gusanos de la raíz del maíz, no indica o sugiere de otra manera que el tratamiento de las semillas del maíz con cualquier combinación concreta de insecticidas proporcione a la semilla o a la planta protección sinérgica, o cualquier otra ventaja inesperada.

De esta manera, aunque se ha avanzado rápidamente en la técnica de proteger los brotes y el follaje -así como las semillas y las raíces- de una planta del daño por plagas, aún permanecen diversos problemas. Podría ser útil, por ejemplo, proporcionar un procedimiento para el control del daño por plaga a las raíces y el follaje de las plantas sin la necesidad de aplicar un pesticida en el momento de la siembra de la semilla, bien como banda incorporada a la superficie, o en surco, por ejemplo, o requiriendo una aplicación de campo posterior de un pesticida durante el crecimiento de la planta. Podría ser útil también si el procedimiento para controlar la plaga redujera la cantidad de pesticida que se requería para proporcionar un cierto nivel de protección a la planta. Por tanto, podría ser útil si dicho procedimiento pudiera acoplarse con la actividad biopesticida de las plantas transgénicas, o con la actividad insecticida de otros materiales activos para proporcionar un alcance más amplio de protección que el que se proporciona por los elementos transgénicos, o los insecticidas activos en solitario.

El Documento WO-A-97/40 692 expone que la combinación de un pesticida de una lista que incluye ciflutrina y cis-resmetrina con un compuesto definido por una fórmula que incluye tiametoxam proporciona composiciones sinérgicas adecuadas para el tratamiento de la semilla.

- 5 El Documento WO-A-97/22 254 expone que se obtuvieron composiciones sinérgicas que comprenden de manera más preferible tiametoxam y un piretroide, por ejemplo, beta-ciflutrina y que son adecuadas para el tratamiento de la semilla.

Resumen de la invención

10

De manera breve, por tanto, la presente invención se dirige a un nuevo procedimiento para reducir el daño por una plaga a una semilla y/o a los brotes y follaje de una planta en crecimiento a partir de la semilla, comprendiendo el procedimiento tratar la semilla no sembrada con una combinación que comprende tiametoxam y teflutrina en la que se aplica el tiametoxam a una tasa que es superior de 200 g/100 kg de semillas. Se proporcionan también las semillas

15

La invención se dirige también a una nueva composición para el tratamiento de una semilla no sembrada que comprende tiametoxam y al menos una piretrina o piretroide sintético seleccionado entre el grupo constituido por flumetrina, kadetrina, bioresmetrina, tetrametrina, fenotrina, empenetrina, cifenotrina, pralletrina, imiprotrina, alletrina y bioalletrina.

20

La invención se dirige también a una nueva semilla que se protege frente a múltiples plagas, que comprende una semilla que tiene al menos un gen heterólogo que codifica la expresión de una proteína que es activa frente a una primera plaga y, de manera adicional, tiene adherida a la misma una combinación que comprende tiametoxam y teflutrina en la que se aplica el tiametoxam a una tasa que es superior de 200 g/100 kg de semillas.

25

Por tanto, entre las ventajas encontradas que se van a conseguir mediante la presente invención se puede señalar la provisión de un procedimiento para el control del daño por plaga a las semillas y/o brotes y al follaje de las plantas sin la necesidad de aplicar un pesticida en el momento de la siembra de la semilla, bien como banda incorporada a la superficie, o en surco, por ejemplo, o requiriendo una aplicación de campo posterior de un pesticida durante el crecimiento de la planta; la provisión de un procedimiento para el control de una plaga que reduzca la cantidad de pesticida que se requiere para la provisión de un cierto nivel de protección a la planta; y la provisión de un procedimiento que se pueda acoplar con la actividad biopesticida de las plantas transgénicas para ampliar de forma selectiva el alcance de la protección que se proporciona a los brotes y al follaje de la planta transgénica.

35

Descripción detallada de la forma de realización preferida

De acuerdo con la presente invención, se ha descubierto que el tratamiento de las semillas no sembradas de la planta con una composición que incluye una combinación específica de insecticidas no sólo protege las semillas por sí mismas, sino que -de manera sorprendente- proporciona también un control después de la emergencia de las plagas que atacan o de otra manera dañan los brotes y/o el follaje de la planta. La combinación de insecticidas que se han encontrado para conseguir dichos resultados es una combinación tal como se ha descrito anteriormente.

40

En unas formas de realización preferidas, la combinación sujeto de insecticidas proporciona de manera inesperada una protección superior en la que la combinación de los insecticidas proporciona un nivel de protección a la semilla y/o a la planta que es superior al nivel de protección que -basándose en el estado actual de la técnica- podría predecirse de la protección proporcionada por los componentes individuales aplicados de manera separada.

45

Esta actividad sinérgica reduce la cantidad total de pesticida que se requiere para proporcionar un cierto nivel de protección. De manera adicional, al ser más económico su uso, la capacidad para usar una cantidad reducida de pesticida para un nivel dado de protección tiene la ventaja de que los tratamientos de las semillas con cantidades reducidas de insecticidas son menos fitotóxicos para la semilla que cuando los insecticidas se usan de manera separada.

50

Otra ventaja del nuevo tratamiento es que se puede usar con semillas transgénicas del tipo de las que tienen un gen heterólogo que codifica la expresión de una proteína pesticida en la planta transgénica que crece a partir de la semilla. El tratamiento de dicha semilla con un pesticida proporciona la capacidad de protegerla frente a una plaga con rasgo transgénico y proporciona una protección sorprendentemente mejorada frente a la misma plaga, y/o la protege frente a otras plagas con la combinación sujeto de insecticidas.

55

Tal como se usan en el presente documento, los términos “efecto pesticida” y “actividad pesticida” significan cualquier acción directa o indirecta sobre la plaga diana que da como resultado un daño reducido por ataque en las semillas, raíces, brotes y follaje de las plantas que crecen a partir de las semillas tratadas, en comparación con las plantas que crecen a partir de semillas no tratadas. Los términos “activo frente a la (primera o segunda) plaga” tienen también el mismo significado. Dichas acciones directas o indirectas incluyen inducir la muerte de la plaga, repeler la plaga a partir de las semillas, raíces, brotes y/o follaje de la planta, inhibir el ataque de la plaga sobre, o la puesta de sus huevos sobre, las semillas, raíces, brotes y/o follaje de la planta, e inhibir o evitar la reproducción de la plaga. El término “actividad insecticida” tiene el mismo significado que actividad pesticida, excepto si ésta está limitada por aquellos ejemplos en los que la plaga es un insecto. Cuando se usa en el presente documento el término “pesticida”,

60

65

esto no significa que incluya los pesticidas que se producen mediante la semilla concreta o la planta que crece a partir de la semilla concreta que se trata con el pesticida.

5 Tal como se usan en el presente documento, los “brotes y el follaje” de una planta deben entenderse como los brotes, tallos, ramas, hojas y otros apéndices de los tallos y las ramas de la planta después que ha brotado la semilla, pero sin incluir las raíces de la planta. Debe entenderse que es preferible que los brotes y el follaje de una planta sean aquellas partes no raíz de la planta que han crecido a partir de la semilla y se localizan a una distancia de al menos una pulgada (2,54 cm) lejos de la semilla a partir de la cual emergen (fuera de la región de la semilla), y de manera más preferible, por ser las partes no raíz de la planta que están en o por encima de la superficie del suelo. Tal como se usa
10 en el presente documento, debe entenderse que la “región de la semilla” va a ser la región comprendida dentro de una pulgada (2,54 cm) alrededor de la semilla.

Se puede encontrar información acerca de piretrinas y piretroides y tiametoxam en *The Pesticide Manual*, 11ª Ed., C. D. S. Tomlin, Ed., British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, Reino Unido (1997).

15 Los piretroides que son útiles en la presente composición incluyen piretrinas y piretroides sintéticos seleccionados entre (RS)-alfa-ciano-3-fenoxibencil (R)-2-[2-cloro-4-(trifluorometil)anilino]-3-metilbutanoato (tau-fluvalinato; CAS RN 102851-06-9); carboxilato de (2,3,5,6-tetrafluoro-4-metilfenil)-metil-(1 alfa, 3 alfa)-(Z)-(±)-3-(2-cloro-3,3,3-trifluoro-1-propenil)-2,2-dimetilciclopropano (teflutrina; CAS RN 79538-32-2); carboxilato de ciano(4-fluoro-3-fenoxifenil)metil 3-[2-cloro-2-(4-clorofenil) etenil]-2,2-dimetilciclopropano (flumetrina; CAS RN 69770-45-2); carboxilato de 5-1-bencil-3-furilmetil-d-cis(1R,3S,E)-2,2-dimetil-3-(2-oxo-,2,2,4,5 tetrahidro tiofenilidenometil) ciclopropano (kadertrina, RU15525; CAS RN 58769-20-3); carboxilato de (1R-trans)-[5-(fenilmetil)-3-furanil]metil 2,2-dimetil-3-(2-metil-1-propenil)ciclopropano (bioresmetrina; CAS RN 28434-01-7); cis-trans-crisantemato de 3,4,5,6-tetra hidro-ftalamidometil-(IRS) (tetrametrina; CAS RN 7696-12-0); carboxilato de 3-fenoxibencil-d,l-cis,trans 2,2-dimetil-3-(2-metilpropenil) ciclopropano (fenotrina; CAS RN 26002-80-2); (empentrina; CAS RN 54406-48-3); (cifenotrina; CAS RN 39515-40-7); (pralletrina; CAS RN 23031-36-9); (imiprottrina; CAS RN 72963-72-5); carboxilato de (RS)-3-alil-2-metil-4-oxociclopent-2-enil-(1A,3R; 1R,3S)-2,2-dimetil-3-(2-metilprop-1-enil) ciclopropano (aletrina; CAS RN 584-79-2); (bioaletrina; CAS RN 584-79-2). Se cree que se pueden usar en la presente invención las mezclas de uno o más de los piretroides sintéticos anteriormente mencionados.

30 Las piretrinas y piretroides sintéticos que son útiles en las presentes composiciones pueden ser de cualquier calidad o pureza que se encuentre en el comercio como piretrinas y piretroides sintéticos. Se pueden tolerar en las composiciones sujeto otros materiales que acompañan a las piretrinas y a los piretroides sintéticos en las preparaciones comerciales como impurezas, en tanto en cuanto dichos otros materiales no desestabilicen la composición o reduzcan o destruyan de manera significativa la actividad de cualquiera de los componentes del insecticida frente a la plaga diana. Una persona normalmente experta en la técnica de la producción de insecticidas puede identificar fácilmente aquellas impurezas que se pueden tolerar y aquellas que no.

40 Tiametoxam (3-[(2-cloro 5-tiazolil)metil]tetrahidro-5-metil-N-nitro-4H-1,3,5-oxadiazin-4-imina; CAS RN 153729-23-4) comprende uno de los componentes de insecticidas de la presente combinación.

Los insecticidas de tiametoxam que son útiles en las presentes composiciones pueden ser de cualquier calidad o pureza que se encuentre en el comercio como tiametoxam. Se pueden tolerar en las composiciones sujeto otros materiales que acompañan al tiametoxam en las preparaciones comerciales como impurezas, en tanto en cuanto dichos otros materiales no desestabilicen la composición o reduzcan o destruyan de manera significativa la actividad de cualquiera de los componentes del insecticida frente a la plaga diana. Una persona normalmente experta en la técnica de la producción de insecticidas puede identificar fácilmente aquellas impurezas que se pueden tolerar y aquellas que no.

50 Cuando se describe un insecticida en el presente documento, se debe entender que se pretende que la descripción incluya las formas de sales del insecticida así como cualquier forma isomérica y/o tautomérica del insecticida que presente la misma actividad insecticida que la forma del insecticida que se describe.

Se aplica el tratamiento a la semilla antes de la siembra de la semilla, de tal manera que se simplifica la operación de siembra. De esta manera, se pueden tratar las semillas, por ejemplo, en una localización central y a continuación dispersarse para la plantación. Esto permite a la persona que planta las semillas evitar la manipulación y el uso de insecticidas -alguno de los cuales puede ser tóxico- y manipular y plantar solamente las semillas tratadas de una manera que sea convencional para las semillas no tratadas de manera habitual. En algunas combinaciones se prefiere que al menos una de las piretrinas o piretroides sintéticos sea un insecticida sistémico.

60 Se ha encontrado también que se puede proteger una semilla transgénica frente a múltiples plagas cuando la semilla tiene al menos un gen heterólogo que codifica la expresión de una proteína que es activa frente a una primera plaga y, de manera adicional, que tiene adherida a la misma una composición que comprende toflutrina y tiametoxam en la que el tiametoxam está presente en una cantidad superior a 200 mg/100 kg de semilla. Se prefiere que la composición que contiene la combinación sinérgica de insecticidas esté presente en una cantidad efectiva para proporcionar protección a los brotes y al follaje de la planta frente al daño por al menos una segunda plaga.

Cuando la semilla transgénica tiene al menos un gen heterólogo que codifica la expresión de una proteína que es activa frente a una primera plaga, se puede tratar la semilla con una combinación sinérgica de insecticidas, cuya combinación tiene actividad frente al menos una segunda plaga. Se puede usar el presente procedimiento cuando la primera plaga y la segunda plaga son la misma, para el objetivo, por ejemplo de obtener el control efectivo de una plaga de daño elevado o particularmente resistente. Pero en una forma de realización separada, el rasgo transgénico protege la semilla y/o la planta de una primera plaga y se selecciona la composición de la combinación de insecticidas para controlar una segunda plaga que es diferente de la primera plaga. Este procedimiento es particularmente ventajoso cuando un gen transgénico expresado proporciona un producto de gen que puede proteger una planta transgénica de una plaga, pero no tiene actividad frente a una segunda plaga diferente. En este caso, se puede seleccionar una combinación de insecticidas de la presente invención que tenga actividad frente a la segunda plaga, proporcionando de esta manera protección a la semilla y a la planta frente a ambas plagas. Por medio de explicación, cuando se denominan en el presente documento una “primera” plaga y una “segunda” plaga, deberá entenderse que cada uno de los términos puede incluir únicamente una plaga, o puede incluir dos o más plagas.

Se contempla que se pueda usar el presente procedimiento para proteger las semillas, raíces y/o las partes por encima del terreno de los cultivos del campo, forraje, plantaciones, invernadero, huerto o viñedo, ornamentales, plantación o árboles forestales. Las semillas que son útiles en la presente invención pueden ser semillas de cualquier especie de planta. Sin embargo, son preferibles las semillas de las especies de plantas que son agrónomicamente importantes. De manera concreta, las semillas pueden ser de maíz, cacahuete, canola/colza, soja, cucurbitáceas, crucíferas, algodón, remolachas, arroz, sorgo, remolacha azucarera, trigo, cebada, centeno, girasol, tomate, caña de azúcar, tabaco, avena común, así como otros vegetales y cultivos de hoja. Se prefiere que la semilla sea de maíz, soja, o semilla de algodón; y más preferido que las semillas sean semillas de maíz.

En una forma de realización de la invención, tal como se ha mencionado anteriormente, la semilla es una semilla transgénica de la que puede crecer una planta transgénica. La semilla transgénica de la presente invención se diseña mediante ingeniería genética para expresar una característica deseable y, en concreto, para tener al menos un gen heterólogo que codifica la expresión de una proteína que es activa como pesticida y, de manera concreta, tiene actividad insecticida. Puede derivarse el gen heterólogo en las semillas transgénicas de la presente invención a partir de un microorganismo tal como *Bacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Trichoderma*, *Clavibacter*, *Glomus*, *Gliocladium* y hongos micorrízicos. De manera particular, se cree que el presente procedimiento podría ser especialmente beneficioso cuando el gen heterólogo es uno que se deriva de un microorganismo *Bacillus sp.* y la proteína es activa frente al barrenador europeo del maíz. Un microorganismo *Bacillus sp.* preferido es *Bacillus thuringiensis*. Es particularmente preferido cuando el gen heterólogo codifica una delta-endotoxina Cry3Bb modificada derivada de *Bacillus thuringiensis*.

La plaga diana para la presente invención es un adulto o las larvas de cualquier insecto u otra plaga que se alimenta de la semilla, raíces y/o brotes y follaje de la planta que se va a proteger mediante el procedimiento sujeto. Dichas plagas incluyen pero no se limitan a:

del orden Lepidoptera, por ejemplo,

Acleris spp., *Adoxophyes* spp., *Aegeria* spp., *Agrotis* spp., *Alabama argillaceae*, *Amylois* spp., *Anticarsia gemmatilis*, *Archips* spp., *Argyrotaenia* spp., *Autographa* spp., *Busseola fusca*, *Cadra cautella*, *Carposina nipponensis*, *Chilo* spp., *Choristoneura* spp., *Clysia ambiguella*, *Cnaphalocrocis* spp., *Cnephasia* spp., *Cochylis* spp., *Coleophora* spp., *Crocidolomia binotalis*, *Cryptophlebia leucotreta*, *Cydia* spp., *Diatraea* spp., *Diparopsis castanea*, *Earias* spp., *Ephesia* spp., *Eucosma* spp., *Eupoecilia ambiguella*, *Euproctis* spp., *Hellula undalis*, *Hyphantria cunea*, *Keiferia lycopersicella*, *Leucophaea maderae*, *Lithocollethis* spp., *Lobesia botrana*, *Lymantria* spp., *Lyonetia* spp., *Malacosoma* spp., *Mamestra brassicae*, *Manduca sexta*, *Operophtera* spp., *Ostrinia nubilalis*, *Pammene* spp., *Pandemis* spp., *Panolis flammea*, *Pectinophora gossypiella*, *Photorima operculella*, *Pieris rapae*, *Pieris* spp., *Plutella xylostella*, *Prays* spp., *Scirpophaga* spp., *Sesamia* spp., *Sparganothis* spp., *Spodoptera* spp., *Synanthedon* spp., *Thaumetopoea* spp., *Tortrix* spp., *Trichoplusia ni* y *Yponomeuta* spp.; del orden Coleoptera, por ejemplo,

Agriotes spp., *Anthonomus* spp., *Atomaria linearis*, *Chaetocnema tibialis*, *Cosmopolites* spp., *Curculio* spp., *Derestes* spp., *Diabrotica* spp., *Epilachna* spp., *Eremnus* spp., *Leptinotarsa decemlineata*, *Lissorhoptrus* spp., *Melolontha* spp., *Oryzaephilus* spp., *Otiorhynchus* spp., *Phlyctinus* spp., *Popillia* spp., *Psylliodes* spp., *Rhizopertha* spp., *Scarabeidae*, *Sitophilus* spp., *Sitotraga* spp., *Tenebrio* spp., *Tribolium* spp., y *Trogoderma* spp.;

del orden Orthoptera, por ejemplo

Blatta spp., *Blattella* spp., *Gryllotalpa* spp., *Leucophaea maderae*, *Locusta* spp., *Periplaneta* spp., y *Schistocerca* spp.; del orden Isoptera, por ejemplo,

Reticulitermes spp.; del orden Psocoptera, por ejemplo,

Liposcelis spp.; del orden Anoplura, por ejemplo,

Haematopinus spp., *Linognathus* spp., *Pediculus* spp., *Pemphigus* spp. y *Phylloxera* spp.; del orden Mallophaga, por ejemplo,

Damalinea spp. y Trichodectes spp.; del orden Thysanoptera, por ejemplo,

Franklinella spp., Hercinothrips spp., Taeniothrips spp., *Thrips palmi*, *Thrips tabaci* y *Scirtothrips aurantii*; del orden Heteroptera, por ejemplo,

Cimex spp., *Distantiella theobroma*, Dysdercus spp., Euchistus spp., Eurygaster spp., Leptocorisa spp., Nezara spp., Piesma spp., Rhodnius spp., *Sahlbergella singularis*, Scotinophara spp. y Triatoma spp.; del orden Homoptera, por ejemplo,

Aleurothrixus floccosus, *Aleyrodes brassicae*, Aonidiella spp., Aphididae, Aphis spp., Aspidiotus spp., *Bemisia tabaci*, Ceroplaster spp., *Chrysomphalus aonidium*, *Chrysomphalus dictyospermi*, *Coccus hesperidum*, Empoasca spp., *Eriosoma larigerum*, Erythroneura spp., Gascardia spp., Laodelphax spp., *Lacanium corni*, Lepidosaphes spp., Macrosiphus spp., Myzus spp., Nhotettix spp., Nilaparvata spp., Paratoria spp., Pemphigus spp., Planococcus spp., Pseudaulacaspis spp., Pseudococcus spp., Psylla spp., *Pulvinaria aethiopica*, Quadraspidiotus spp., Rhopalosiphum spp., Saissetia spp., Scaphoideus spp., Schizaphis spp., Sitobion spp., *Trialeurodes vaporariorum*, *Trioza erytrae* y *Unaspis citri*; del orden Hymenoptera, por ejemplo,

Acromyrmex, Atta spp., Cephus spp., Diprion spp., Diprionidae, *Gilpinia polytoma*, Hoplocampa spp., Lasius spp., *Monomorium pharaonis*, Neodiprion spp., Solenopsis spp. y Vespa spp.; del orden Diptera, por ejemplo,

Aedes spp., *Antherigona soccata*, *Bibio hortulanus*, *Calliphora erythrocephala*, Ceratitis spp., Chrysomyia spp., Culex spp., Cuterebra spp., Dacus spp., *Drosophila melanogaster*, Fannia spp., Gastrophilus spp., Glossina spp., Hypoderma spp., Hyppobosca spp., Liriomyza spp., Lucilia spp., Melanagromyza spp., Musca spp., Oestrus spp., Orseolia spp., *Oscinella frit*, *Pegomyia hyoscyami*, Phorbia spp., *Rhagoletis pomonella*, Sciara spp., Stomoxys spp., Tabanus spp., Tannia spp. y Tipula spp., del orden Siphonaptera, por ejemplo,

Ceratophyllus spp. y *Xenopsylla cheopis* y del orden Thysanura, por ejemplo,

Lepisma saccharina.

En cada forma de realización de la invención se aplica una combinación de dos o más insecticidas a una semilla en una cantidad efectiva; esto es, una cantidad suficiente para proporcionar protección a la semilla y/o los brotes y el follaje de la planta que crece a partir de la semilla. Tal como se usa en el presente documento, se consigue la “protección” si el porcentaje de daño por ataque a la semilla y/o los brotes y el follaje a los 10 días tras la infestación (DAI) con la plaga se reduce para las semillas o plantas tratadas que crecen a partir de las semillas tratadas en comparación con las semillas o plantas no tratadas que crecen a partir de semillas no tratadas. En una forma de realización preferida, una ventaja inesperada de las composiciones de la presente invención es que el componente de insecticidas de la composición trabaja sinérgicamente. Tal como se usa aquí, cuando se dice que una combinación demuestra “sinergia”, lo que significa es que el grado de protección que se proporciona a una semilla y/o los brotes y el follaje de una planta que crece a partir de una semilla, mediante el tratamiento de la semilla por el presente procedimiento (usando una combinación de insecticidas), es superior al grado de protección que podría esperarse en función de la protección proporcionada por cada uno de los componentes de la composición aplicado de manera separada.

Se describen con detalle en los Ejemplos los procedimientos para el cálculo de si una combinación insecticida concreta proporciona un grado de protección sinérgico frente a las plagas. En resumen, sin embargo, se puede calcular tal como describen Colby, y Robert, S., en *Weeds*, 15(1):20-22 (1967). si una combinación de insecticidas proporciona sinergia en la protección frente al daño por el gusano cortador. Se calculó el valor umbral (establecido como el % de control) para la sinergia de una combinación como = (% de control para el tratamiento A)*(% de control para el tratamiento B)/100(n-1); en el que n = número de ingredientes activos en la combinación. Un porcentaje medido del valor control que es inferior al del valor umbral calculado indica la sinergia de la combinación.

Cuando en el presente documento se menciona el “grado de protección”, se entiende que incluye la cantidad de daño producido por el insecto diana a las semillas que se han tratado con una cantidad dada de insecticida (y a las plantas que brotan de la misma) en relación con la cantidad de daño producido a las semillas y a las plantas no tratadas. Pero “grado de protección” puede referirse también al número de tipos diferentes de plagas diana que se afectan por el tratamiento y a la longitud del período de protección. En otras palabras, un grado sinérgico de protección puede incluir la protección inesperadamente efectiva a niveles reducidos de ingrediente activo, así como la protección frente a una variedad inesperadamente amplia de plagas, o la protección para un período de tiempo inesperadamente largo (o particularmente efectivo de otra manera).

La cantidad de composición insecticida de la presente invención que proporcionará protección a los brotes y al follaje de la planta variará dependiendo de la combinación pesticida concreta, la concentración de ingredientes activos en la composición, la naturaleza de la formulación en la que se aplica, el tipo de semilla, y la(s) plaga(s) diana. Tal como se usa en el presente documento, una cantidad de la composición efectiva para proporcionar protección a la semilla y/o los brotes y el follaje de la planta frente al daño por la plagas la cantidad más baja de dicho pesticida que proporcionará dicha protección. Asumiendo que la composición está comprendida por un 100% de ingredientes activos, entonces, de manera general, la cantidad de la composición sujeto usada oscilará entre aproximadamente un 0,005% a un 25% del peso de la semilla, y de manera más preferible, entre aproximadamente un 0,01% a aproximadamente un 10%. Un

intervalo aún más preferido es un 0,01% a un 1% del ingrediente activo en relación con el peso de la semilla, e incluso un intervalo más preferido es un 0,05% a un 0,5%.

Las composiciones sujeto están cada una compuestas por al menos dos compuestos insecticidas. Cuando se usan dos componentes, las cantidades relativas de los dos insecticidas pueden oscilar entre 1:1000 y 1000:1, en peso. Se prefiere, sin embargo, que la relación en peso de los dos insecticidas oscile entre 1:100 y 100:1, más preferida es una relación de 1:10 a 10:1, y aún más preferida es una relación de 1:3 a 3:1.

En el procedimiento de la presente invención se aplica a una semilla la combinación de insecticidas. Aunque se cree que se puede aplicar el presente procedimiento a una semilla en cualquier estado fisiológico, se prefiere que la semilla esté en un estado suficientemente duradero de tal manera que no se produzca daño durante el proceso de tratamiento. Normalmente la semilla podría ser una semilla que se hubiera cosechado desde el campo; retirada de la planta; y separada de cualquier mazorca, tallo, cáscara externa y pulpa que rodee u otro material de la planta no semilla. La semilla podría ser también biológicamente estable para la extensión en la que el tratamiento no produciría daño biológico a la semilla. En una forma de realización, por ejemplo, se puede aplicar el tratamiento a la semilla de maíz que se ha cosechado, limpiado y secado con un contenido de humedad por debajo de aproximadamente un 15% en peso. En una forma de realización alternativa, la semilla puede ser una que se ha secado y a continuación se ha preparado con agua y/u otro material y a continuación se ha vuelto a secar antes o durante el tratamiento con el pesticida. Dentro de las limitaciones tales como se han descrito, se cree que se puede aplicar el tratamiento a la semilla en cualquier momento entre la cosecha de la semilla y la siembra de la semilla. Tal como se usa en el presente documento, se entiende que el término "semilla sin sembrar" incluye la semilla en cualquier período entre la cosecha de la semilla y la siembra de la semilla en el terreno para el objetivo de la germinación y crecimiento de la planta.

Cuando se dice que la semilla sin sembrar está "tratada" con la composición, no se entiende que dicho tratamiento incluya aquellas prácticas en las que se aplica el pesticida al suelo, sino más bien a la semilla. Dichos tratamientos, por ejemplo, como la aplicación del pesticida en franjas, franjas en T, o en surco, en el mismo momento en el que se siembran las semillas no se consideran incluidos en la presente invención.

Se puede aplicar "sola" la composición que comprende una combinación de pesticidas, esto es, sin ningún componente diluyente o adicional presente. Sin embargo, se aplica normalmente la composición a las semillas en forma de una formulación de pesticida. Esta formulación puede contener uno o más de otros componentes deseables que incluyen, pero no se limitan a diluyentes líquidos, ligantes que sirven como una matriz para el pesticida, rellenos para proteger a las semillas durante las condiciones de estrés, y plastificantes para mejorar la flexibilidad, adhesión y/o esparcibilidad del recubrimiento. De manera adicional, para las formulaciones pesticidas oleosas que contienen poco o ningún relleno, puede ser deseable añadir a la formulación agentes de secado tales como carbonato de calcio, caolín o arcilla de bentonita, perlite, tierra de diatomeas o cualquier otro material adsorbente. Se conoce en la técnica el uso de dichos componentes en los tratamientos de la semilla. Véase, por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos N° 5.876.739. El técnico experto puede seleccionar fácilmente los componentes deseables para usar en la formulación pesticida dependiendo del tipo de semilla que se va a tratar y del pesticida concreto que se selecciona. De manera adicional, se pueden usar formulaciones comerciales fácilmente disponibles, tal como se demuestra en los ejemplos a continuación.

Se pueden tratar también las semillas con uno o más de los siguientes ingredientes: otros pesticidas, que incluyen compuestos que actúan únicamente por debajo del terreno; fungicidas, tales como captano, tiram, metalxil, fludioxonil, oxadixil, e isómeros de cada uno de aquellos materiales y similares; herbicidas, que incluyen compuestos seleccionados entre carbamatos, tiocarbamatos, acetamidas, tiaminas, dinitroanilinas, éteres de glicerol, piridazinonas, uracilos, fenoxis, ureas, y ácidos benzoicos; protectores de herbicidas tales como benzoazina, derivados de bencidril, N,N-dialil dicloroacetamida, diversos dihaloacilos, compuestos de oxazolidinilo y tiazolidinilo, etanona, compuestos de anhídrido naftálico, y derivados de oxima; fertilizantes; y agentes de biocontrol tales como bacterias recombinantes o que se producen de manera natural y hongos de los géneros *Rhizobium*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Trichoderma*, *Glomus*, *Gliocladium* y hongos micorríceos. Se pueden añadir estos ingredientes como capa separada sobre la semilla o se pueden añadir de manera alternativa como parte de la composición pesticida.

De manera preferible, la cantidad de composición nueva u otros ingredientes usados en el tratamiento de la semilla no deberá inhibir la generación de la semilla, o producir daño fitotóxico a la semilla.

La composición de la presente invención puede estar en forma de una suspensión; emulsión; suspensión de partículas en un medio acuoso (por ejemplo, agua); polvo humectable, gránulos humectables (fluidificables en seco); y gránulos secos. Se formula como una suspensión o lechada, la concentración del ingrediente activo en la formulación está de manera preferible aproximadamente de un 0,5% a aproximadamente un 99% en peso (p/p), de manera preferible de un 5-50%.

Tal como se ha mencionado anteriormente, se pueden incorporar en la formulación otros ingredientes inactivos o inertes convencionales. Dichos ingredientes inertes incluyen, pero no se limitan a: agentes de pegado convencionales, agentes dispersantes tales como metilcelulosa (Methocel A15LV o Methocel A15C, por ejemplo, sirven como agentes combinados dispersantes/de pegado para uso en los tratamientos de semillas), alcohol polivinílico (por ejemplo, Elvanol 51-05), lecitina (por ejemplo, Yelkinol P), dispersantes poliméricos (por ejemplo, polivinilpirrolidona/acetato de vinilo PVP/VA S-630), espesantes (por ejemplo arcillas espesantes tales como Van Gel B para mejorar la viscosidad

y reducir la sedimentación de las suspensiones de partículas), estabilizantes de la emulsión, tensioactivos, compuestos anticongelantes (por ejemplo, urea), tintes, colorantes, y similares. Se pueden encontrar ingredientes inertes adicionales útiles en la presente invención en McCutcheon's, vol. 1, "*Emulsifiers and Detergents*", MC Publishing Company, Glen Rock, Nueva Jersey, Estados Unidos de América, 1996. Se pueden encontrar ingredientes inertes adicionales útiles en la presente invención en McCutcheon's, vol. 2, "*Functional Materials*", MC Publishing Company, Glen Rock, Nueva Jersey, Estados Unidos de América, 1996.

Se pueden aplicar los pesticidas, las composiciones de combinaciones de pesticidas, y las formulaciones de la presente invención a las semillas mediante cualquier metodología estándar de tratamiento de la semilla, que incluye, pero no se limita a la mezcla en un depósito (por ejemplo, una botella o bolsa), aplicación mecánica, volteo, pulverización, e inmersión. Se puede usar cualquier material activo o inerte convencional para poner en contacto las semillas con los pesticidas de acuerdo con la presente invención, tales como materiales convencionales de recubrimiento de película que incluyen, pero no se limitan a materiales de recubrimiento de película basados en agua tales como Sepiret (Seppic, Inc., Fairfield, NJ) y Opacoat (Berwind Pharm Services, Westpoint, PA).

Se puede aplicar la combinación de pesticidas sujeto a una semilla en forma de un componente de un recubrimiento de semilla. Los procedimientos y composiciones de recubrimiento de semillas que se conocen en la técnica son útiles cuando se modifican mediante la adición de una de las formas de realización de la combinación de pesticidas de la presente invención. Dichos procedimientos de recubrimiento y equipos para su aplicación se describen en, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos N^{os} 5.918.413, 5.891.246, 5.554.445, 5.389.399, 5.107.787, 5.080.925, 4.759.945 y 4.465.017. Se describen las composiciones de recubrimiento de semillas, por ejemplo, en las Patentes de los Estados Unidos N^{os} 5.939.356, 5.882.713, 5.876.739, 5.849.320, 5.834.447, 5.791.084, 5.661.103, 5.622.003, 5.580.544, 5.328.942, 5.300.127, 4.735.015, 4.634.587, 4.383.391, 4.372.080, 4.339.456, 4.272.417 y 4.245.432, entre otras.

Los recubrimientos de semillas útiles contienen uno o más ligantes y al menos una de las combinaciones sujeto de pesticidas.

Los ligantes que son útiles en la presente invención comprenden de manera preferible un polímero adhesivo que puede ser natural o sintético y no tiene efecto fitotóxico sobre la semilla que se va a recubrir. Se puede seleccionar el ligante entre los acetatos de polivinilo; copolímeros de acetato de polivinilo; alcoholes polivinílicos; copolímeros de alcohol polivinílico; celulosas, que incluyen etilcelulosas, metilcelulosas, hidroximetilcelulosas, hidroxipropilcelulosas y carboximetilcelulosa; polivinilpirrolidonas; polisacáridos, que incluyen almidón, almidón modificado, dextrinas, maltodextrinas, alginato y quitosanes; grasas; aceites; proteínas, que incluyen gelatina y ceínas; gomas arábicas; gomas lacas; cloruro de vinilideno y copolímeros de cloruro de vinilideno; lignosulfonatos de calcio; copolímeros acrílicos; polivinilacrilatos; óxido de polietileno; polímeros y copolímeros de acrilamida; acrilato de polihidroxietilo, monómeros de metilacrilamida; y policloropreno.

Se prefiere que el ligante se seleccione de tal manera que pueda servir como matriz para la combinación de pesticidas sujeto. Aunque los ligantes descritos anteriormente pueden ser todos útiles como matriz, el ligante específico dependerá de las propiedades de la combinación de pesticidas. Tal como se usa en el presente documento, el término "matriz", significa una fase sólida continua de uno o más compuestos ligantes a través de la cual se distribuyen como fase discontinua una o más de las combinaciones sujeto de pesticidas. De manera opcional, pueden estar también presentes en la matriz un ligante y/u otros componentes. Debe entenderse que el término matriz incluye lo que puede verse como un sistema matriz, un sistema depósito o un sistema microencapsulado. De manera general, un sistema matriz está constituido por una combinación de pesticidas de la presente invención y un relleno dispersado de manera uniforme en el interior de un polímero, mientras que un sistema depósito está constituido por una fase separada que comprende la combinación de pesticidas sujeto, que está físicamente dispersa en el interior de una fase polimérica que la rodea y limita la velocidad. La microencapsulación incluye el recubrimiento de partículas pequeñas o gotitas de líquido, pero también las dispersiones en una matriz sólida.

Puede variar la cantidad de ligante en el recubrimiento, pero estará en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 25% del peso de la semilla, de manera más preferible entre aproximadamente 0,05 a aproximadamente 15%, e incluso de manera más preferible entre aproximadamente 0,1% a aproximadamente 10%.

Tal como se ha mencionado más arriba, la matriz puede contener de forma opcional un relleno. El relleno puede ser un absorbente o un relleno inerte, tales como los que se conocen en la técnica, y pueden incluir serrines, arcillas, carbón activo, azúcares, tierra de diatomeas, harinas de cereal, sólidos inorgánicos de grano fino, carbonato de calcio y similar. Las arcillas y los sólidos inorgánicos que se pueden usar incluyen bentonita cálcica, caolín, arcilla blanca, talco, perlita, mica, vermiculita, sílices, polvo de cuarzo, montmorillonita, y mezclas de los mismos. Los azúcares que pueden ser útiles incluyen dextrina y maltodextrina. Las harinas de cereal incluyen harina de trigo, harina de avena y harina de cebada.

El relleno se selecciona de forma que proporcione un microclima adecuado a la semilla, por ejemplo, se usa el relleno para aumentar la velocidad de carga de los ingredientes activos, y para ajustar el control de la liberación de los ingredientes activos. El relleno puede ayudar en la producción o procedimiento de recubrir la semilla. La cantidad de relleno puede variar, pero por lo general, el peso de los componentes del relleno estará comprendido en el intervalo entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente el 75% del peso de las semillas, más preferiblemente

entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente el 50%, e incluso más preferiblemente entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente el 15%.

Los pesticidas que son útiles en el recubrimiento son aquellas combinaciones de pesticidas que se describen en el presente documento. La cantidad de pesticida que se incluye en el recubrimiento variará dependiendo del tipo de semilla y del tipo de ingredientes activos, pero el recubrimiento contendrá una cantidad de la combinación de pesticidas que sea efectiva como pesticidas. Cuando los insectos forma la plaga diana, dicha cantidad será una cantidad de de la combinación de pesticidas que sea efectiva como insecticida. Tal como se usa en el presente documento, una cantidad que sea efectiva como insecticida significa que dicha cantidad de insecticida matará las plagas de insectos en sus estados de crecimiento de larva o pupa, o reducirá o retrasará de forma consistente la cantidad del daño producido por las plagas de insectos. Por lo general, la cantidad de pesticida en el recubrimiento estará comprendida en el intervalo entre aproximadamente 0,005 y aproximadamente el 50% del peso de las semillas. Un intervalo más preferido para los pesticidas está comprendido entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente el 40%, es más preferido entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente el 20%.

La cantidad exacta de la combinación de pesticidas que se incluye en el recubrimiento se determina fácilmente por una persona experta en la técnica, y variará dependiendo del tamaño de la semilla a recubrir. Los pesticidas del recubrimiento no deben inhibir la germinación de la semilla, y debe ser eficaz en la protección de la semilla y/o de la planta durante dicho periodo en el ciclo de vida del insecto en el cual ocasiona daño a la semilla o la planta. En general, el recubrimiento será eficaz durante aproximadamente 0 a 120 días tras la siembra.

El recubrimiento es particularmente eficaz para acomodar cargas elevadas de pesticida, tal como se necesita para tratar plagas típicamente refractarias, tales como el gusano de la raíz del maíz, previniendo al mismo tiempo una fitotoxicidad inaceptable debido al incremento en la carga de pesticida.

De manera opcional, se puede usar un plastificante en la formulación de recubrimiento. Los plastificantes se usan típicamente para hacer que la película que forma la capa de recubrimiento sea más flexible, para mejorar la adhesión y la esparcibilidad, y para mejorar la velocidad de procesamiento. La flexibilidad mejorada de la película es importante para minimizar el escamado, rotura o exfoliación durante el procedimiento de almacenamiento, manipulación o siembra. Se pueden usar muchos plastificantes, sin embargo, los plastificantes útiles incluyen polietilenglicol, glicerol, ftalato de butilbencilo, benzoatos de glicol y compuestos relacionados. El intervalo de plastificante en la capa de recubrimiento estará comprendido en el intervalo entre aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 20% en peso.

Cuando la combinación de pesticidas usada en el recubrimiento sea una formulación de tipo oleoso, y esté presente poco o nada de relleno, puede ser útil acelerar el procedimiento de secado mediante el secado de la formulación. Esta etapa opcional se puede llevar a cabo por medios conocidos en la técnica, y pueden incluir la adición de carbonato de calcio, caolín o arcilla de bentonita, perlita, tierra de diatomeas, o cualquier material absorbente que se añade, preferiblemente junto con la capa de recubrimiento de pesticida para absorber el aceite o el exceso de humedad. La cantidad de carbonato de calcio o compuestos relacionados necesarios para proporcionar de manera efectiva un recubrimiento efectivo estará comprendida en el intervalo entre aproximadamente un 0,5% y aproximadamente un 10% del peso de la semilla.

Los recubrimientos formados con la combinación de pesticidas son capaces de conseguir una baja velocidad de liberación del pesticida por difusión o movimiento a través de la matriz hasta el medio circundante.

El recubrimiento se puede aplicar prácticamente a cualquier semilla de cultivo que se describe en el presente documento, incluyendo cereales, vegetales, plantas ornamentales y frutos.

Además de la capa de recubrimiento, la semilla se puede tratar con uno o más de los siguientes ingredientes: otros pesticidas, entre los que se incluyen fungicidas y herbicidas; protectores de herbicidas; fertilizantes y/o agentes biocontrol. Estos ingredientes se pueden añadir como una capa separada o de forma alternativa se pueden añadir en la capa de recubrimiento de pesticida.

La formulación de pesticida se puede aplicar a las semillas usando técnicas y maquinaria de recubrimiento convencionales, tales como técnicas de lecho fluidificado, el procedimiento de molinos de cilindros, tratadores de semillas rotoestáticos, y recubridores de tambor. Pueden ser útiles otros procedimientos, tales como los lechos en surtidor. Las semillas se pueden dimensionar antes del recubrimiento. Tras el recubrimiento, las semillas se secan normalmente y se transfieren a una máquina dimensionadora para el dimensionado. Dichos procedimientos son conocidos en la técnica.

Las semillas tratadas con pesticida se pueden envolver también con una película de sobrerrecubrimiento para proteger el recubrimiento de pesticida. Dichos sobrerrecubrimientos son conocidos en la técnica y se pueden aplicar usando técnicas de recubrimiento convencionales tales como lecho fluidizado y de película en tambor.

En otra forma de realización de la presente invención, se puede introducir un pesticida en la superficie o en el interior de una semilla usando el cebado de matriz sólida. Por ejemplo, se puede mezclar una cantidad del pesticida con un material de matriz sólida y a continuación la semilla se pone en contacto con el material de matriz sólida durante un tiempo para permitir que el pesticida se introduzca en la semilla. A continuación, la semilla puede separarse de manera opcional del material de matriz sólida y almacenarse o usarse, o la mezcla de material de matriz sólida más

la semilla se pueden almacenar o plantar directamente. Los materiales de matriz sólida que son útiles en la presente invención incluyen poliacrilamida, almidón, arcilla, sílice, alúmina, tierra, arena, poliurea, poliacrilato, o cualquier otro material capaz de absorber o adsorber el pesticida durante un tiempo, y liberar dicho pesticida en el interior o sobre la superficie de la semilla. Es útil asegurarse de que el pesticida y el material de matriz sólida son compatibles entre sí. Por ejemplo, el material de matriz sólida debe elegirse de forma que pueda liberar el pesticida a una velocidad razonable, por ejemplo, a lo largo de un periodo de minutos, horas o días.

La presente invención realiza además la imbibición como otro procedimiento para tratar la semilla con el pesticida. Por ejemplo, la semilla de planta se puede combinar durante un periodo de tiempo con una solución que comprende entre aproximadamente un 1% en peso hasta aproximadamente un 75% en peso del pesticida en un solvente como el agua. Preferiblemente, la concentración de la solución está comprendida entre aproximadamente un 5% en peso hasta aproximadamente un 50%, más preferiblemente entre aproximadamente un 10% en peso hasta aproximadamente un 25% en peso. Durante el tiempo en el que la semilla está combinada con la solución, la semilla capta (embebe) una parte del pesticida. De forma opcional, la mezcla de semilla de planta y la solución se puede agitar, por ejemplo mediante agitación, rodillazo, voleo u otros medios. Tras la imbibición, la semilla se puede separar de la solución y secarse de forma opcional, por ejemplo mediante golpeo o secado al aire.

En otra forma de realización adicional, se puede mezclar un pesticida en polvo directamente con la semilla. De manera opcional se puede usar un agente de pegado para adherir el polvo a la superficie de la semilla. Por ejemplo, se puede mezclar una cantidad de semillas con un agente de pegado y agitar de forma opcional para asegurar el recubrimiento uniforme de la semilla con el agente de pegado. La semilla recubierta con el agente de pegado se puede mezclar con el pesticida en polvo. La mezcla se puede agitar, por ejemplo mediante volteo, para asegurar el contacto entre el agente de pegado y el pesticida en polvo, consiguiendo de esta forma que el pesticida en polvo se pegue a la semilla.

La presente invención proporciona también una semilla que se ha tratado con el procedimiento anteriormente descrito.

Las semillas tratadas de la presente invención se pueden usar para la propagación de plantas de la misma forma que las semillas tratadas convencionalmente. Las semillas tratadas se pueden almacenar, manipular, escardar y apilar de la misma manera que cualquier otra semilla tratada con pesticida. Deben tomarse las medidas de seguridad adecuadas para limitar el contacto de la semilla tratada con seres humanos, comida, o material alimenticio, agua y pájaros y animales, salvajes o domésticos.

Las formas de realización preferidas de la invención se describen en los ejemplos siguientes.

Ejemplo de referencia 1

Este ejemplo ilustra la eficiencia del tratamiento de semillas con lambda-cihalotrina (n° CAS 79538-32-2) respecto de los tratamientos granulados del suelo con teflutrina (n° CAS 79538-32-2) contra el daño por alimentación producido por larvas del gusano cortador negro sobre los brotes y el follaje.

Se preparó una formulación para el tratamiento de semillas diluyendo el insecticida WARRIOR® (Zeneca Ag Products, Wilmington, DE), que contiene como ingrediente activo lambda-cihalotrina al 14%, en agua como vehículo. Esta formulación se aplicó durante un minuto a temperatura ambiente a veinticinco gramos de semillas de maíz Pioneer (Cultivar PN3394) en un tratador de semillas rotoestático en las tasas de 125 g, 250 g o 500 g de ingrediente activo (IA) por 100 kg de semillas. Se dejó asentarse las semillas tratadas sin tapar de cuatro a veinticuatro horas antes de la plantación.

Las semillas, tratadas y sin tratar (Pioneer, híbrido PN3394), se plantaron en una mezcla de suelo constituida por arcilla calcárea Dupo, Perlite al 30%, arena gruesa al 20% (calidad WB-10) en seis grupos de cubetas (20 in de largo x 15 in de ancho x 8 in de profundidad (50,8 cm x 38,1 cm x 20,32 cm). Se plantaron doce semillas por cubeta, y se plantaron tres cubetas para cada régimen de tratamiento. Se usaron aplicaciones al suelo de FORCE® 3GR, que contiene como ingrediente activo gránulos de teflutrina al 3%, en dos conjuntos de cubetas que contenían semillas sin tratar. Se aplicó el FORCE® 3GR tanto en el surco o se incorporó a una banda de 5 in (12,7 cm) de sustrato en el momento de la plantación. Las cubetas se irrigaron por aspersión hasta que las plantas se infestaron con las larvas del gusano cortador negro.

La tasa de aplicación del FORCE 3GR se recoge en unidades de gramos del ingrediente activo por hectárea (g/ha), mientras que la tasa de aplicación del WARRIOR T a las semillas se recoge en unidades de gramos del ingrediente activo por 100 kg de semillas (g/100 kg). Aunque la conversión de una de estas unidades en la otra variará algo de acuerdo con el tipo de semilla que se esté usando, el tamaño y peso de la semilla, y la densidad de la plantación usada - entre otras cosas- se puede llevar a cabo como sigue una conversión aproximada para las semillas de maíz. Suponiendo una tasa de aplicación de lambda-cihalotrina a las semillas de, por ejemplo, 125 g/100 kg de semillas, y una densidad de plantación de 15 libras de semillas por acre (1,68 g/m²), se pueden plantar aproximadamente 14,7 acres (5,67 ha) con los 100 kg de semillas. Esto da como resultado una tasa de aplicación efectiva de 8,5 g de lambda-cihalotrina por acre (por 0,40 ha). A 2,47 ac/ha, el nivel de tratamiento de las semillas de 125 g/100 kg es aproximadamente equivalente a una superficie de tratamiento de surco de aproximadamente 21 g/ha. A los doce días tras la plantación

ES 2 287 165 T3

(DAP) pero antes de la infestación, se puntuó la salud general de cada planta en función de la emergencia, altura y apariencia. Esta puntuación de vigor proporciona una indicación acerca de la existencia de cualquier fitotoxicidad procedente de la semilla o el suelo. Una puntuación de 1 indica un vigor extremadamente bajo, mientras que 10 es la máxima puntuación de vigor.

Se infestaron las plantas de maíz a 12 DAP, lo que corresponde con un estado V1 de crecimiento tardío colocando dos larvas de gusano cortador negro en su fase $\frac{3}{4}$ cerca de la base de la planta. Se tararon las plantas a 3, 7 y 10 días tras la infestación (DAI) respecto del número de plantas cortadas, así como respecto del daño producido por la alimentación foliar. Se calculó el porcentaje de reducción en la posición vertical correspondiente al corte plantar dividiendo el número de plantas cortadas por el número de plantas presentes en la infestación. Se evaluó el daño producido por la alimentación foliar usando una escala de puntuación de 1 = sin daño hasta 10 = defoliación completa. Se presenta en la Tabla 2 siguiente el resultado promedio de tres cubetas para cada régimen de tratamiento.

(Tabla pasa a página siguiente)

Tabla 2. Eficacia del tratamiento de semillas con lambda-cihalotrina frente al daño sobre el maíz producido por la alimentación del gusano cortador negro.

Régimen de tratamiento	Vigor a 12 DAP	% de reducción en la posición vertical		Defoliación plantar		% de reducción en la posición vertical		Defoliación plantar	
		3 DAI	3 DAI	3 DAI	3 DAI	3 DAI	3 DAI	3 DAI	3 DAI
Nada	8,0	72,8	94,4	9,0	9,3	100,0	100,0	10,0	10,0
λ-cihalotrina semilla 125 g/100 kg	9,0	13,9	16,7	4,3	5,0	19,4	19,4	3,3	3,3
λ-cihalotrina semilla 250 g/100 kg	8,3	3,0	3,0	3,7	2,7	3,0	3,0	1,7	1,7
λ-cihalotrina semilla 500 g/100 kg	8,3	0,0	0,0	2,0	2,3	0,0	0,0	1,0	1,0
Teflutrina en surco 30 g/ha	3,0	33,9	48,0	5,0	6,0	48,0	48,0	5,3	5,3
Teflutrina en franjas 30 g/ha	8,7	0,0	0,0	1,7	1,7	0,0	0,0	0,3	0,3

ES 2 287 165 T3

Estos resultados demuestran que el tratamiento de la semilla con lambda-cihalotrina antes de la plantación proporciona una protección significativa de las plantas de maíz frente al daño brote/foliar producido por la alimentación del gusano cortador negro. Por ejemplo en el 7 DAI con la menor tasa ensayada (125 g/100 kg) se observó una reducción significativa tanto para el corte de plantas (16,7% para el tratamiento de la semilla frente al 94% para el control no tratado) y el daño foliar por alimentación (5,0 para el tratamiento de la semilla frente a la tasa de 9,3, para el control no tratado). Además, las cubetas plantadas con semillas tratadas con lambda-cihalotrina en tasas de 250 y 500 g/100 kg de semillas mostraron esencialmente nada de reducción en la posición vertical debido al corte de plantas (3% y 0% para 250 y 500 g, respectivamente), y únicamente bajos niveles de daño foliar (puntuación de 2,7 y 2,3 para 250 y 500 g, respectivamente). Este nivel de protección fue igual al tratamiento de franjas del suelo mediante teflutrina y superior al tratamiento con teflutrina en surco. Cuando se evaluaron las cubetas en el 10 DAI, no se observó aumento en el corte de plantas, y únicamente niveles ligeramente superiores de daño foliar por alimentación con postratamiento de semilla mediante lambda-cihalotrina, en comparación con las evaluaciones en el 7DAI. Por el contrario, las cubetas de control sin tratamiento mostraron 100% de plantas cortadas y defoliación completa en el 10 DAI.

Ejemplo 2

Este ejemplo ilustra la eficiencia del tratamiento de las semillas de maíz con una combinación de teflutrina y tiametoxam contra el daño en plantas producido por el gusano cortador negro.

Se prepararon las formulaciones para el tratamiento de semillas a partir de teflutrina (disponible bajo el nombre comercial de RAZE® 2.5 FS, comercializado por Wilbur Ellis Co.) y tiametoxam (3-[(2-cloro-5-tiazolil)metil]tetrahydro-5-metil-N-nitro-4H-1,3,5-oxadiazina-4-imina; Registro CAS N° 153719-23-4). Además, se prepararon formulaciones para el tratamiento de semillas a partir de cada uno de los insecticidas en solitario. Se aplicaron estas formulaciones durante un minuto a temperatura ambiente a veinticinco gramos de semillas de maíz Pioneer (Cultivar PN3394) en un tratador de semillas rotoestático en las tasas mostradas en la Tabla 3. Se dejó asentarse las semillas tratadas sin tapar de cuatro a veinticuatro horas antes de la plantación.

Las semillas, tratadas y sin tratar (Pioneer, híbrido PN3394), se plantaron en una mezcla de suelo constituida por arcilla calcárea Dupon, Perlite al 30%, arena gruesa al 20% (calidad WB-10) en seis grupos de cubetas (20 in de largo x 15 in de ancho x 8 in de profundidad (50,8 cm x 38,1 cm x 20,32 cm). Se plantaron doce semillas por cubeta, y se plantaron tres cubetas para cada régimen de tratamiento.

Se infestaron las plantas de maíz 12 días después de la plantación (DAP), lo que corresponde con un estado V1 de crecimiento tardío colocando dos larvas de gusano cortador negro en su fase $\frac{3}{4}$ cerca de la base de la planta. Se tararon las plantas 10 días tras la infestación (DAI) respecto del número de plantas cortadas, así como respecto del daño producido por la alimentación foliar. Se calculó el porcentaje de reducción correspondiente al corte plantar dividiendo el número de plantas cortadas por el número de plantas presentes en la infestación. Se evaluó el daño producido por la alimentación foliar usando una escala de puntuación de 1 = sin daño hasta 10 = defoliación completa. Se presenta en la Tabla 3 siguiente el resultado promedio de tres cubetas para cada régimen de tratamiento.

Cuando una combinación de insecticidas proporcionó sinergia en la protección frente al daño producido por el gusano cortador negro, ésta se calculó tal como describe Colby, Robert S. en *Weeds*, 15(1): 20-22 (1967). El valor umbral (definido como el % de control) para la sinergia de una combinación se calculó como = (% de control para el tratamiento A) * (% de control para el tratamiento B)/100(n-1); donde n = número de ingredientes activos en combinación. Un valor del % de control medido inferior al valor umbral indica la sinergia de la combinación.

Se calcularon los valores umbral de sinergia para cada combinación mostrada en la Tabla 3 mediante el procedimiento descrito más arriba. Se muestran en la Tabla 4 los valores umbral de sinergia.

TABLA 3

Protección de las plantas de maíz frente al daño producido por el gusano cortador negro mediante el tratamiento de semillas con teflutrina, tiametoxam y combinaciones de los dos.

TRATAMIENTO	Teflutrina (g/100 kg de semillas)	Tiametoxam (g/100 kg de semillas)	Reducción en la posición vertical (% a los diez días)	Porcentaje de control	Sinergia
RAZE	100		57,6	57,6	
RAZE	200		58,9	58,9	
RAZE	300		90,6	90,6	
ADAGE		200	96,6	96,6	
ADAGE		300	100	100	
RAZE/AD	100	200	58,9	58,9	NO
RAZE/AD	200	200	56,3	56,3	NO
RAZE/AD	300	200	60,3	60,3	NO
RAZE/AD	100	300	51,3	51,3	SÍ
RAZE/AD	200	300	37,5	37,7	SÍ
RAZE/AD	300	300	28,1	28,1	SÍ
CONTROL NO TRATADO	0	0	100		SÍ

TABLA 4

Matriz de valores umbral para la sinergia de la combinación (% de control)

	RAZE @ 100	RAZE @ 200	RAZE @ 300
ADAGE @ 200	52,2	55,8	57,6
ADAGE @ 300	53,4	57,1	58,9

Los resultados de este ensayo demuestran que las combinaciones de tiametoxam y teflutrina resultaron efectivas y que, de hecho, resultaron sinérgicas frente al daño en las plantas producido por el gusano cortador negro para todos los niveles de teflutrina cuando los niveles de tiametoxam fueron de 300 g/100 kg de semillas) (o aproximadamente 0,3% en peso de la semilla).

En vista de lo anterior, puede verse que se consiguen las diversas ventajas de la invención, y que se obtienen otros resultados ventajosos.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para reducir el daño por plagas en una semilla y/o los brotes y el follaje de una planta crecida a partir de la semilla, el procedimiento comprende tratar la semilla no sembrada con una combinación que comprende tiametoxam y teflutrina, en el que el tiametoxam se aplica a una tasa superior a 200 g/100 kg de semillas.
2. El procedimiento definido en la reivindicación 1, en el que la combinación que comprende tiametoxam y teflutrina se incluye en un recubrimiento de semilla.
3. Una semilla tratada mediante el procedimiento definida en la reivindicación 1.
4. La semilla definida en la reivindicación 3, en la que la semilla se selecciona entre el grupo que consiste de maíz, soja, algodón, arroz, sorgo, remolacha azucarera, trigo, cebada, centeno, girasol, tomate, caña de azúcar, tabaco, colza, y avena.
5. La semilla definida en la reivindicación 3, en la que la semilla se selecciona entre el grupo que consiste de semillas de maíz, soja y algodón.
6. La semilla definida en la reivindicación 3, en la que la semilla es semilla de maíz.
7. La semilla definida en la reivindicación 3, en la que la semilla es una semilla transgénica.
8. Una composición de tratamiento de semillas para el tratamiento de una semilla no sembrada que comprende tiametoxam y al menos una piretrina o piretroide sintético que se selecciona entre el grupo que consiste de flumetrina, kadetrina, tetrametrina, fenotrina, empentrina, cifenotrina, praletrina, imiprotrina, aletrina y bioaletrina.
9. Una semilla que se protege contra múltiples plagas que comprende una semilla que tiene al menos un gen heterólogo que codifica la expresión de una proteína que es activa contra una primera plaga y que, además, tiene adherida sobre la misma una combinación que comprende tiametoxam y teflutrina, en la que el tiametoxam está presente en una cantidad superior a 200 g/100 kg de semillas.
10. La semilla definida en la reivindicación 9, en la que al menos un gen heterólogo codifica la expresión de una proteína que es activa como insecticida.
11. La semilla definida en la reivindicación 10, en la que el gen es un gen derivado originalmente a partir de un microorganismo seleccionado entre el grupo constituido por *Bacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Trichoderma*, *Glomus*, *Gliocladium*, hongos micorrízicos.
12. La semilla definida en la reivindicación 11, en la que la proteína es activa frente al gusano de la raíz del maíz.
13. La semilla definida en la reivindicación 11, en la que la proteína es activa frente al barrenador europeo del maíz.
14. La semilla definida en la reivindicación 13, en la que el gen es un gen derivado originalmente a partir de un microorganismo de *Bacillus sp.*
15. La semilla definida en la reivindicación 14, en la que el gen es un gen derivado originalmente a partir de un microorganismo de *Bacillus thuringiensis*.
16. La semilla definida en la reivindicación 15, en la que el gen es un gen que codifica la producción de una delta endotoxina Cry3Bb modificada.
17. La semilla definida en la reivindicación 9, en la que la semilla se selecciona entre el grupo que consiste de maíz, soja, algodón, arroz, sorgo, remolacha azucarera, trigo, cebada, centeno, girasol, tomate, caña de azúcar, tabaco, colza, y avena.
18. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la tasa a la que el tiametoxam actúa de manera sinérgica con la teflutrina para reducir el daño por plagas es al menos de 300 g/100 kg de semillas.
19. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 9, en el que dicha semilla tiene adherida sobre la misma teflutrina y tiametoxam, y el tiametoxam está presente en una cantidad de al menos de 300 g/100 kg de semillas.