

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI 0713143-7 A2**

(22) Data de Depósito: 18/06/2007
(43) Data da Publicação: 20/03/2012
(RPI 2150)



(51) *Int.Cl.:*
A01N 25/26
A01N 25/00

(54) **Título:** COMBINAÇÕES DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO COM UM REVESTIMENTO DE SEMENTE NEMATICIDA

(57) **Resumo:** COMBINAÇÕES DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO COM UM REVESTIMENTO DE SEMENTE NEMATICIDA. Esta invenção proporciona combinações de no mínimo um agente de biocontrole biológico e no mínimo um nematicida para reforçar a proteção da planta contra pragas e patógenos.

(30) **Prioridade Unionista:** 19/06/2006 US 60/815,197

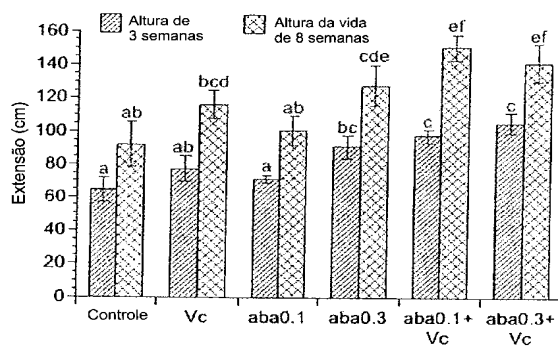
(73) **Titular(es):** The Regents OF The University Of California

(72) **Inventor(es):** Jorn Ole Becker

(74) **Procurador(es):** Dannemann , Siemsen, Bigler & Ipanema Moreira

(86) **Pedido Internacional:** PCT US2007071467 de 18/06/2007

(87) **Publicação Internacional:** WO 2007/149817 de 27/12/2007



Relatório Descritivo da Patente de Invenção para "**COMBINAÇÕES DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO COM UM REVESTIMENTO DE SEMENTE NEMATICIDA**".

5 Este requerimento reivindica benefício do requerimento provisório de patente dos Estados Unidos nº 60/815.197, arquivado em 19 de junho de 2006, cujo requerimento é aqui, a este requerimento de patente, incorporado por meio de referência.

10 Nematódeos fitoparasitas levam a severas restrições de produção de plantas em muitas colheitas agrônomicas e hortícolas. Várias infestações com nematódeos endoparasitários tais como alguns nematódeos do nó da raiz ou de cisto podem resultar em perdas de produção de 10% a 50%. As perdas das safras mundialmente devidas a nematódeos parasitas de plantas têm sido estimadas em 80 bilhões de dólares anualmente.

15 As opções para tratamento de pragas correntes para controlar nematódeos são muito limitadas. Nematicidas de fumigantes e não-fumigantes do solo eficazes, especialmente compostos de carbamato e de organofosfato, estão cada vez mais sob pressão regulatória devido aos potenciais efeitos indesejáveis sobre os usuários, os consumidores, e o ambiente. Outros métodos eficazes para reduzir populações de nematódeos parasitas de plantas, tais como exposição do solo infestado ao calor por
20 tratamento com vapor, são tecnicamente difíceis e caras demais para usos de campo.

25 Alguns tratamentos de sementes têm atividade significativa contra nematódeos parasitas de plantas. Por exemplo, foi demonstrado que tratamento de sementes com abamectina protege de modo eficaz as raízes de mudas jovens contra várias pragas de plantas, inclusive nematódeos parasitas de plantas. Sistemas de raízes não-protegidas apresentam desenvolvimento tolhido, e em caso de nematódeos do nó da raiz (*Meloidogyne spp.*) apresentam formação de cecídios mais severa, em
30 comparação com plantas protegidas com abamectina. Estas diferenças abaixo da terra são refletidas em significativas diferenças da altura e do peso seco dos brotos. No entanto, a proteção por tratamentos de sementes contra

invasão por nematódeos frequentemente dura somente um período de tempo relativamente curto. Portanto é desejável desenvolver um tratamento que seja capaz de prolongar o período de proteção, por exemplo, para uso com safras de estações longas e em climas onde ocorrem múltiplas

5 gerações de pragas, por exemplo, nematódeos.

O controle biológico de nematódeos parasitas de plantas e outras pragas tem sido sugerido como uma alternativa potencial ao tratamento químico (vide, por exemplo, Kerry, 1987 Biological Control. In: Principles e practice of nematode control in crops, R.H. Brown e B.R. Kerry, eds., pp.233-263, Academic Press, Londres., 1987; e Stirling, Biological control of plant parasitic nematodes. CAB International, Wallingford, Reino Unido, 1991). Fungos nematófagos são de particular interesse para esta aplicação. Os fungos nematófagos são geralmente divididos em duas

10 categorias: a) fungos capturando nematódeos que produzem armadilhas mecânicas ou adesivas, e b) fungos endoparasitários os quais infectam nematódeos por penetração hifal ou quando seus conídios (esporos) são ingeridos ou aderem à cutícula dos nematódeos. No passado, tentativas de empregar fungos nematófagos em solo não-estéril foram largamente

15 ineficazes. Os poucos produtos que estão disponíveis comercialmente no mercado internacional têm geralmente registros de performances pobres.

20

Mais recentemente, o foco de estudo passou de fungos de captura para os fungos parasitando fêmeas e ovos. Estes fungos são ou parasitas obrigatório de nematódeos ou predadores facultativos com a capacidade de colonizar superfícies de raízes e tecidos epidérmicos /

25 corticais de raízes, mas não causam dano óbvio à planta. Seus hospedeiros alvo incluem os nematódeos do nó da raiz economicamente mais importantes (*Meloidogyne spp.*), e nematódeos de cisto (*Heterodera spp.*, *Globodera spp.*). Tentativas usando estes fungos como organismos de controle biológico potencial também estão bem documentadas (por exemplo,

30 Kerry, B.R. *Journal of Nematology* 22:621-631, 1990; Stirling, 1991, *supra*; e Jaffee, B.A. *Canadian Journal of Microbiology* 38:359-364, 1992). No entanto, os resultados foram frequentemente decepcionantes, uma vez que

estes fungos tipicamente não tiveram êxito em proteger as raízes de mudas jovens contra a invasão de nematódeos endoparasitários jovens do segundo estágio.

5 Em vista do precedente, existe a necessidade de métodos aprimorados para controlar nematódeos e outras pragas e patógenos de plantas.

Uma modalidade da invenção inclui métodos e tratamentos de combinação relativos a reforçar a proteção de plantas contra pragas / patógenos e melhorar a saúde das plantas. Os métodos podem ser usados em quaisquer plantas, mas em algumas modalidades, os métodos podem ser particularmente úteis para tratar planta de sementeira ou plantas cultivadas em um recipiente, por exemplo, antes da transplantação.

Em um aspecto, a invenção compreende métodos para tratar uma planta com um tratamento de combinação compreendendo um ou mais de um nematicida, tal como uma avermectina, e um ou mais de um agente de biocontrole. Portanto, em uma modalidade, a invenção inclui um método para reforçar resistência a pragas em uma planta, o método compreendendo aplicar uma composição pesticida compreendendo um nematicida, tal como uma avermectina, por exemplo, e não para limitação, abamectina, a um material de propagação vegetal, tal como uma semente; e aplicar no mínimo um agente de biocontrole. O agente de biocontrole pode ser um agente de biocontrole antagonista de nematódeos.

Uma modalidade da presente invenção também se refere a um método que compreende (i) tratar um material de propagação vegetal, tal como uma semente, com um ou mais de um nematicida, (ii) aplicar um ou mais de um agente de biocontrole ao local do material de propagação vegetal, frequentemente antes da etapa (iii), (iii) plantar ou semear o material de propagação tratado, e (iv) obter reforço de resistência a pragas do material de propagação vegetal tratado, partes de planta e/ou planta cultivada a partir do material de propagação tratado.

Em algumas modalidades, a etapa de aplicar o agente de biocontrole compreende inocular o solo ou meio de plantio no qual o material

de propagação vegetal é plantado (ou a ser plantado) com o agente de biocontrole. Esta etapa de inoculação pode ser realizada antes do plantio, ao plantar o material de propagação, ou depois de plantar o material de propagação. A etapa de aplicar o agente de biocontrole pode compreender

5 tratar o solo ou meio de plantio no qual o material de propagação vegetal, tal como uma semente, é semeado com o agente de biocontrole antes do plantio ou ao mesmo tempo que o plantio. Em outras modalidades, a etapa de aplicar o agente de biocontrole ao material de propagação pode compreender, por exemplo, tratar o material de propagação com o agente de

10 biocontrole. Uma semente que tenha sido tratada com agente de biocontrole também pode ter um tratamento compreendendo uma composição pesticida adicional.

Em algumas modalidades, a etapa de aplicar a composição pesticida ao material de propagação vegetal, tal como uma semente,

15 compreende aplicar a composição pesticida ao solo ou meio de plantio no qual o material de propagação vegetal é plantado. Um tratamento semelhante pode ocorrer a qualquer momento no processo de plantio, incluindo antes de plantar o material de propagação, enquanto o material de propagação está sendo plantado, ou depois de plantar o material de propagação; e pode ser aplicada uma ou mais vezes.

20

Em algumas modalidades, a etapa de aplicar a composição pesticida ao material de propagação vegetal compreende tratar o material de propagação vegetal, tal como uma semente, com a composição pesticida, preferencialmente antes do material de propagação vegetal, tal como uma

25 semente, ser semeado ou plantado.

No mínimo um agente de biocontrole pode ser usado na invenção. Em várias modalidades, o agente de biocontrole pode ser selecionado entre um ou mais de um fungo, bactérias, ou outro agente. Frequentemente, são usados agentes de biocontrole de bactérias anti-

30 nematódeos ou fúngicos anti-nematódeos. Em modalidades particulares, os agentes de biocontrole podem ser um fungo endoparasitário, por exemplo, um membro selecionado entre Chytridiomicetos, Oomicetos, Zigomicetos,

Deuteromicetos, e Basidiomicetos.

Em outras modalidades da invenção, o fungo de biocontrole anti-nematódeo pode ser um membro de um gênero selecionado entre *Catenaria*, *Myrothesium*, *Myzocyttium*, *Bacillus*, *Haptoglossa*, *Meristacrum*,
 5 *Dactylella*, *Paecilomyces*, *Cephalosporium*, *Meria*, *Harposporium*, *Nematoctonus*, *Rhopalomyces*, *Verticillium*, *Pochonia*, *Saprolegnia*, *Cylindrocarpon*, *Nematophthora*, *Hirsutella*, e *Monoacrosporium*. Como um exemplo não limitante, o agente de biocontrole pode ser *Pochonia chlamydosporia* (syn. *Verticillium chlamydosporium*), *Myrothesium*
 10 *verrucaria*, *Dactylella oviparasitica*, *Fusarium oxysporum*, *Paecilomyces lilacinus*, *Plectosphaerella cucumerina*, *Hirsutella rhossiliensis*, *Drechmeria coniospora*, *Myzocyttium spp.*, *Lagenidium spp.*, *Catenaria anguillulae*, *Nematophora gynophila* e outros.

A invenção também proporciona modalidades no qual o agente
 15 de biocontrole pode ser uma espécie bacteriana, tal como, mas não limitado a, uma espécie rizobacteriana ou uma espécie associada com nematódeos entomopatogênicos. Em modalidades particulares, o agente de biocontrole pode ser uma espécie selecionado entre *Pasteuria spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Bacillus spp.*, *Corynebacterium*, *Agrobacterium spp.*, e *Paenibacillus spp.*
 20 Como um exemplo não limitante, os agentes de controle biológico bacterianos podem ser bactéria endoparasitária do gênero *Pasteuria*, por exemplo, *Pasteuria penetrans*, *Bacillus firmus*, *Pseudomonas cepacia*, *Corynebacterium paurometabolum*, *P. thornei*, *P. nishizawae*, *Candidatus Pasteuria usgae sp. nov.*, ou *Candidatus Pasteuria sp. cepa HG*.

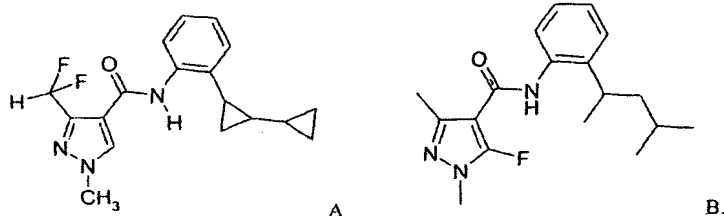
25 Em algumas modalidades da invenção, os métodos podem compreender adicionalmente aplicar um segundo agente de biocontrole. O segundo agente de biocontrole pode ser um tipo diferente de agente de biocontrole. Para exemplo, e não para limitação, se um primeiro agente de biocontrole for um agente bacteriano, o segundo agente de biocontrole pode
 30 ser um fungo; ou pode ser o mesmo tipo de agente de biocontrole, mas de uma classe, gênero, espécie, ou cepa diferente, por exemplo, tanto o primeiro quanto o segundo agente de biocontrole podem ser fungos, mas

podem ser uma espécie diferente. O segundo agente de biocontrole pode ser aplicado ao mesmo tempo que a primeira aplicação de um ou mais nematicida e um ou mais primeiro agente de biocontrole, ou pode ser aplicado antes ou depois do tratamento de combinação.

5 Em alguns métodos da invenção, tais como mas não limitados aos métodos nos quais o primeiro agente de biocontrole pode ser um fungo endoparasitário, um segundo agente de biocontrole também pode ser um fungo endoparasitário que é diferente do primeiro.

10 A invenção também pode compreender um método onde a composição pesticida contém agentes pesticidas adicionais como parceiros de mistura. Por exemplo e não por limitação, no mínimo um inseticida, nematicida, acaricida ou moluscicida adicional pode ser misturado com a composição pesticida. Os agentes pesticidas adicionais referidos podem ser selecionados, por exemplo, entre cianoimina acetamiprid, nitrometileno
15 nitenpiram, clotianidin, dinotefuran, fipronil, lufenuron, piripfoxifen, tiacloprid, fluxofenime; imidacloprid, tiametoxam, beta ciflutrin, fenoxicarb, lamda cialotrin, diafentiuron, pimetozine, diazinon, dissulfoton, profenofos, furatiocarb, ciromazin, cipermetrin, tau-fluvalinato, teflutrin, produtos de *Bacillus thuringiensis*, e clorantraniliprol.

20 Em algumas modalidades, a composição pesticida usada em um método da invenção pode ser misturado adicionalmente com no mínimo um fungicida que é selecionado entre azoxistrobin, difenoconazol, fludioxonil, fluoxastrobin, metalaxil, R-metalaxil, mefenoxam, miclobutanil, captan, orisastrobin, enestrobin, tiabendazol, tiram, acibenzolar s-metil, trifloxistrobin,
25 um composto de fórmula A e um composto de fórmula B ou um tautômero de cada composto representado abaixo.



Um fungicida semelhante pode ser selecionado de modo que quando um agente de biocontrole que é um fungo é incluído no tratamento, o

fungo de biocontrole é resistente ao fungicida.

Parceiros de mistura especialmente preferenciais são metalaxil, metalaxil-M, tiametoxam, difenoconazol, fludioxonil, azoxistrobin, trifloxistrobin, acibenzolor s-metil, siltiofam, teflutrín, imidacloprid, clotianidín, miclobutanil e tiabendazol.

Em outra modalidade, a invenção proporciona composições de combinação para reforçar resistência a pragas em plantas. Portanto, a invenção também proporciona uma composição de combinação compreendendo um agente pesticida compreendendo uma quantidade eficaz de um ou mais de um nematicida, tal como uma avermectina, por exemplo, abamectina, e uma quantidade eficaz de no mínimo um agente de biocontrole, por exemplo, um agente de biocontrole anti-nematódeos.

As composições de combinação da invenção também podem compreender no mínimo um inseticida, nematicida, acaricida ou moluscicida adicional, por exemplo e não por limitação, cianoimina, acetamiprid, nitrometileno nitenpiram, clotianidín, dinotefuran, fipronil, lufenuron, piripfoxifen, tiacloprid, fluxofenime; imidacloprid, tiametoxam, beta ciflutrin, fenoxicarb, lamda cialotrin, diafentiuron, pimetozina, diazinon, dissulfoton; profenofos, furatiocarb, ciromazin, cipermetrin, tau-fluvalinato, clorantraniliprol (Rynaxapyr), teflutrín, e produtos de *Bacillus thuringiensis*.

Em modalidades adicionais, uma composição de combinação da invenção pode compreender adicionalmente no mínimo um fungicida adicional, tal como azoxistrobin, orisastrobin, enestrobin, difenoconazol, fludioxonil, fluoxastrobin, metalaxil, R-metalaxil, mefenoxam, miclobutanil, tiabendazol, trifloxistrobin, um composto de fórmula A ou um composto de fórmula B, conforme proporcionado acima. Um fungicida semelhante é selecionado de tal modo que um agente de biocontrole fúngico que pode estar presente em uma composição da invenção é resistente ao fungicida.

Em modalidades particulares, no mínimo um agente de biocontrole incluído em uma composição pode ser um fungo endoparasitário, ou um membro de um gênero selecionado entre *Catenaria*, *Myzocyttium*, *Haptoglossa*, *Meristacrum*, *Dactylella*, *Paecilomyces*, *Cephalosporium*,

Meria, *Harposporium*, *Nematoctonus*, *Rhopalomyces*, *Verticillium*, *Pochonia*, *Saprolegnia*, *Cylindrocarpon*, *Nematophthora*, *Hirsutella*, *Myrothecium*, e *Monoacrosporium*. Em modalidades particulares, no mínimo um fungo de biocontrole presente em uma composição da invenção é *Pochonia*
5 *chlamydosporia*.

Em outras modalidades, no mínimo um agente de biocontrole pode ser um agente bacteriano, por exemplo e não para limitação, uma rhizobactéria, ou um membro de um gênero selecionado entre *Pasteuria*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, e *Bacillus*.

10 As composições de combinação da invenção também podem compreender um segundo agente de biocontrole, onde o segundo agente de biocontrole pode ser do mesmo tipo de agente que o primeiro, mas pode ser de um gênero, espécie ou cepa diferente. Em outras modalidades, o primeiro e o segundo agentes de biocontrole podem ser diferentes tipos de agentes.
15 Em modalidades particulares, a combinação pode compreender no mínimo dois agentes de biocontrole anti-nematódeos, por exemplo e não para limitação, dois agentes de biocontrole fúngico anti-nematódeos. Como um exemplo não-limitante, os dois agentes de biocontrole fúngico anti-nematódeos podem ser dois fungos endoparasitários.

20 Em outras modalidades, um segundo agente de biocontrole pode ser um agente bacteriano. O segundo agente pode ser usado ou com outro agente de biocontrole bacteriano ou com um tipo diferente de agente de biocontrole, tal como mas não limitado a um fungo.

A invenção também proporciona composições de material de
25 propagação vegetal de nematicida / agente de biocontrole, tal como uma composição de material de propagação vegetal de avermectina / agente de biocontrole, na qual uma composição de combinação de nematicida / agente de biocontrole compreende adicionalmente um material de propagação vegetal, tal como uma semente. Modalidades típicas da invenção incluem
30 composições que compreendem um material de propagação vegetal tratado com abamectina, por exemplo, uma semente, e no mínimo um agente de biocontrole. Em modalidades particulares, um tratamento de sementes pode

compreender tanto abamectina quanto um agente de biocontrole. A este respeito, o material de propagação vegetal tem aderido a este um nematicida e um agente de biocontrole. Por conseguinte, a presente invenção também proporciona um material de propagação vegetal tratado com a composição compreendendo um ou mais de um nematicida e um ou mais de um agente de biocontrole.

Em ainda outras modalidades, as composições de material de propagação vegetal da invenção podem compreender adicionalmente terra ou outro meio de plantio, o qual pode ser inoculado com um ou mais agentes de biocontrole, e um recipiente, por exemplo, que é adequado para cultivar uma planta em uma sementeira ou uma planta que deve ser transplantada. A este respeito, a presente invenção torna disponível um recipiente tendo no mesmo uma quantidade de terra na qual uma planta ou uma parte de uma planta é cultivada a partir de um material de propagação vegetal tratado, em que o material de propagação vegetal da planta, por exemplo, semente, é tratado com uma composição pesticida compreendendo um ou mais de um nematicida e ou (i) a semente também é tratada com um ou mais de um agente biológico ou um ou mais de um agente biológico é aplicado ao solo ou (ii) tanto a semente é tratada quanto a terra é aplicada com o(s) mesmo(s) ou diferentes um ou mais agentes biológicos.

Em outro aspecto, a invenção proporciona um método para melhorar o crescimento de uma planta, compreendendo (i) aplicar uma composição que compreende um ou mais de um nematicida, tal como uma avermectina, por exemplo, abamectina, a um material de propagação vegetal, tal como uma semente, (ii) aplicar um ou mais de um agente de biocontrole ou ao material de propagação vegetal ou ao local do mesmo, (iii) plantar ou semear o material de propagação vegetal tratado, (iv) permitir que o material de propagação vegetal tratado germine e (v) transplantar a planta jovem para outro local, tal como outro recipiente ou leito de solo aberto.

Por conseguinte, a invenção proporciona um método para melhorar a saúde do transplante de uma planta, compreendendo aplicar a uma planta, material de propagação vegetal, por exemplo, uma semente, ou

parte de uma planta que deve ser transplantada em algum estágio depois do plantio inicial, ou a um local do mesmo, uma combinação que compreende um ou mais de um nematicida, tal como uma avermectina, por exemplo, abamectina, e um ou mais de um agente de biocontrole. Os métodos de
5 tratamento referidos podem ser realizados de acordo com as modalidades dos métodos para tratar uma planta para reforçar resistência a pragas, conforme descrito acima.

Descrição do Desenho

A Figura 1 proporciona um resumo de dados típicos de uma
10 experimento mostrando respostas de crescimento vegetal a tratamentos único e de combinação com abamectina e um agente de biocontrole biológico. Legenda: linhas diagonais, altura de 3 semanas; linhas hachuradas, extensão da vinha de 8 semanas.

Descrição Adicional da Invenção

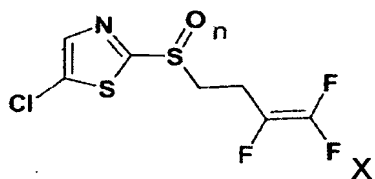
15 O termo "agente de biocontrole" se refere a um organismo que inibe ou reduz infestação de plantas e/ou crescimento de patógenos de plantas, tais como fungos, bactérias, e nematódeos patogênicos, bem como pragas de artrópodes tais como insetos, aracnídeos, quilópodes, diplópodes, ou que inibem infestação de plantas e/ou crescimento de uma combinação
20 de patógenos de plantas.

O termo "agente de biocontrole antagonista de nematódeos" conforme usado aqui, neste requerimento de patente, se refere a um organismo que inibe a atividade, o crescimento ou a reprodução de nematódeos, ou reduz doença por nematódeos em plantas.

25 "Inibição de crescimento de nematódeos" se refere a qualquer aspecto pelo qual doença por nematódeo em uma planta é reduzida, incluindo, mas não limitado a, retardar o crescimento de nematódeos; reduzir a reprodução, incubação, descoberta de macho/fêmea e hospedeiro; e destruição de nematódeos.

30 O termo "nematicida" se refere a um composto tendo um efeito sobre, tal como redução no dano causado por, nematódeos agrícolas relacionados. Exemplos incluem uma avermectina (por exemplo,

abamectina), nematicidas de carbamato (por exemplo, aldicarb, tiadcarb, carbofuran, carbossulfan, oxamil, aldoxicarb, etoprop, metomil, benomil, alanicarb), nematicidas de organofósforo (por exemplo, fenamifos (fenamifos), fensulfotion, terbufos, fostiazato, dimetoato, fosfocarb, diclofention, isamidofos, fostietan, isazofos etoprofos, cadusafos, terbufos, clorpirifos, diclofention, heterofos, isamidofos, mecarfon, forato, tionazin, triazofos, diamidafofos, fostietan, fosfamidon), e alguns fungicidas, tais como captan, tiofanato-metil e tiabendazol. Também é incluído como um nematicida um composto de fórmula X,



em que n é 0, 1 ou 2 e o anel tiazol pode ser opcionalmente substituído. Abamectin, aldicarb, tiadcarb, dimetoato, metomil, um composto de fórmula X e oxamil são nematicidas preferenciais para uso nesta invenção.

O termo "avermectina" se refere a quaisquer dos membros da classe de compostos de avermectina, os quais são descritos como milbemicinas e avermectinas, por exemplo, nas Patentes dos Estados Unidos N^{os} 4.310.519; e 4.427.663. As avermectinas são conhecidas pelas pessoas versadas na técnica. São um grupo de compostos pesticidamente ativos estruturalmente e intimamente relacionados que são obtidas por fermentação de uma cepa do microorganismo *Streptomyces avermitilis*. Derivados de avermectinas podem ser obtidos através de sínteses químicas convencionais. "Abamectina" é uma mistura de avermectina B_{1a} e avermectina B_{1b} e é descrita, por exemplo, no The Pesticide Manual, 10th Ed. (1994), The British Crop Protection Council, Londres, pg. 3. As designações "abamectina" e "avermectina" incluem derivados. Avermectinas aceitáveis úteis na invenção incluem, por exemplo, ivermectina, doramectina, selamectina, emamectina, e abamectina.

O termo "material de propagação vegetal" é entendido como denotando todas as partes produtivas da planta, tais como sementes, as quais podem ser usadas para a multiplicação da planta, e material vegetativo

da planta tal como tanchões e tubérculos (por exemplo, batatas, cana-de-açúcar). Portanto, pode ser feita referência, por exemplo, às sementes (no sentido estrito), raízes, frutos, tubérculos, bulbos, rizomas, ou outras partes de plantas. Plantas germinadas e plantas jovens, por exemplo, as quais
5 devem ser transplantadas depois de germinação ou depois de emergência do solo, também podem ser referidas como material de propagação vegetal. Estas plantas jovens também podem ser protegidas antes de transplantação por um tratamento total ou parcial por imersão do material de propagação vegetal com a composição descrita aqui, neste requerimento de patente.

10 Partes de planta e órgãos de plantas que crescem em um momento posterior são quaisquer seções de uma planta que se desenvolvem a partir de um material de propagação vegetal, tal como uma semente. Partes de planta, órgãos de plantas, e plantas também pode se beneficiar da proteção contra dano patogênico e/ou por pragas obtida pela
15 aplicação do tratamento de combinação da invenção sobre o material de propagação vegetal. Em uma modalidade, algumas partes de planta e alguns órgãos de plantas que crescem em momento posterior também podem ser consideradas como material de propagação vegetal, as quais podem ser as mesmas aplicadas (ou tratadas) com a combinação; e
20 conseqüentemente, a planta, partes adicionais da planta e órgãos de plantas adicionais que se desenvolvem a partir das partes de planta tratadas e dos órgãos de plantas tratados também podem se beneficiar da proteção contra dano patogênico e/ou por pragas obtida pela aplicação do tratamento de combinação sobre as partes de planta determinadas e os órgãos de plantas
25 determinados.

O termo "aplicar uma composição pesticida" se refere a qualquer método para tratar uma planta, uma parte de uma planta, ou terra, ou outro meio de plantio no qual uma planta é plantada (ou deve ser plantada) com um agente que inibe infestação por pragas de uma planta e/ou crescimento
30 de pragas, ou um agente que limita doença em uma planta devido a pragas ou patógenos.

Métodos para aplicar ou tratar pesticidal composições de

ingredientes ativos e misturas dos mesmos sobre material de propagação vegetal, especialmente sementes, são conhecidos na técnica, e incluem métodos de aplicação do material de propagação por cobertura, revestimento, peletização e impregnação.

5 Os ingredientes ativos podem ser aplicados às sementes usando máquinas e técnicas de tratamento convencional, tais como técnicas de leito fluidificado, o método do moinho a cilindros, tratamentos de sementes rotostáticos, e revestidores de tambor. Outros métodos, tais como leitos esguichados também podem ser úteis. As sementes podem ser pré-
10 dimensionadas antes do revestimento. Depois do revestimento, as sementes são tipicamente secadas e em seguida transferidas para uma máquina de dimensionamento para classificação por tamanho. Semelhantes procedimentos de dimensionamento e de tratamento são conhecidos na técnica.

15 Em uma modalidade, a combinação pode ser aplicada ou tratada sobre o material de propagação vegetal por um método tal que a germinação não seja induzida; geralmente impregnação de semente induz germinação porque o teor de umidade da semente resultante é elevado demais. Por conseguinte, exemplos de métodos adequados para aplicar (ou tratar)
20 material de propagação vegetal, tal como uma semente, são coberturas de sementes, revestimento de sementes ou peletização de sementes e semelhantes.

Em uma modalidade típica, o material de propagação vegetal é semente. Embora se acredite que o presente método possa ser aplicado a
25 uma semente em qualquer estado fisiológico, é preferencial que a semente esteja em um estado suficientemente durável que não incorra nenhum dano durante o processo de tratamento. Tipicamente, a semente seria uma semente que tenha sido colhida do campo; removida da planta; e separada de qualquer sabugo, talo, palha de milho externa, e polpa circundante ou
30 outro material vegetal não semente. A semente preferencialmente também seria biologicamente estável na medida que o tratamento não causaria nenhum dano biológico à semente. Acredita-se que o tratamento possa ser

aplicado à semente em qualquer momento entre a colheita da semente e a
semeadura da semente ou durante o processo de semeadura (aplicações
dirigidas às sementes). A semente também pode ser primed de acordo com
técnicas entendidas por aqueles versados na técnica quer antes ou depois
do tratamento.

É desejada distribuição uniforme dos ingredientes ativos e
aderência dos mesmos às sementes durante tratamento do material de
propagação. O tratamento pode variar de um filme delgado (cobertura) da
formulação contendo o um ou mais ingredientes ativos sobre um material de
propagação vegetal, tal como uma semente, onde o tamanho e/ou forma
originais são reconhecíveis para um estado intermediário (tal como um
revestimento) e em seguida a um filme mais espesso (tal como peletização)
com muitas camadas de diferentes materiais (tais como veículos, por
exemplo, argilas; diferentes formulações, tais como de outros ingredientes
ativos; polímeros; e colorantes) onde a forma e/ou tamanho originais da
semente não são mais reconhecíveis.

O tratamento das sementes ocorre para uma semente não
semeada. O termo "semente não semeada " pretende incluir semente em
qualquer período entre a colheita da semente e a semeadura da semente na
terra para fins de germinação e crescimento da planta.

Tratamento para uma semente não semeada não pretende
incluir as práticas nas qual o ingrediente ativo é aplicado ao solo, mas
incluiria qualquer prática de aplicação que teria por alvo a semente durante o
processo de plantio.

Preferencialmente, ocorre tratamento antes da semeadura da
semente de modo que a semente semeada tenha sido pré-tratada com o
tratamento de combinação da invenção. Em particular, o revestimento de
sementes ou peletização de sementes são preferenciais no tratamento das
combinações descritas aqui, neste requerimento de patente. Em
consequência do tratamento, os ingredientes ativos na combinação são
aderidos sobre a superfície da semente e portanto estão disponíveis para
controle de pragas e/ou doença.

As sementes tratadas podem ser armazenadas, manuseadas, semeadas e lavradas na mesma maneira que qualquer outra semente tratada por ingrediente ativo.

Métodos para aplicar composições pesticidas ao solo podem ser
5 através de qualquer método adequado o qual assegura que os agentes penetrem no solo. Por exemplo e não por limitação, aplicação em bandeja de sementeira, em aplicação de sulco, alagamento do solo, injeção no solo, irrigação por gotejamento, aplicação através de dispersores ou pivô central, incorporação no solo (modelo amplo ou em banda) etão incluídas em
10 semelhantes métodos adequados.

O termo "inocular o solo" conforme usado aqui, neste requerimento de patente, se refere a um processo para adicionar esporos ou alguma parte de um organismo de biocontrole ao substrato do plantio. O processo de inocular o solo não implica que o agente de biocontrole já está
15 ativo, mas significa simplesmente que alguma parte do organismo foi colocada no meio de plantio.

O termo "resistente" no contexto da resistência de um agente de biocontrole para um pesticida, por exemplo, um fungicida, se refere à capacidade do agente de biocontrole resistente para crescer e/ou multiplicar
20 ou permanecer metabolicamente ativo na presença do pesticida. Conforme usado aqui, neste requerimento de patente, um agente é "resistente" quando é imune à atividade do pesticida.

O termo "melhorar a saúde do transplante" de uma planta se refere a aumentar a capacidade de uma planta para crescer depois de
25 transplantação em comparação com uma planta que não foi tratada com um tratamento de combinação da invenção. Qualquer número de desfechos reflete uma capacidade aumentada de uma planta para crescer, inclusive melhoras no aspecto de uma planta bem como medições reais do crescimento da planta, tais como altura da planta, e etc. As características
30 de melhora no crescimento (ou desenvolvimento) de uma planta, tal como refletida em melhora da saúde do transplante, é indicada por melhoras em um ou mais traços da planta observada comparados com plantas não

tratadas. Pode, por exemplo, se manifestar em aumento da produção e/ou do vigor da planta ou da qualidade do produto colhido da planta, cuja melhora pode não ser conectada ao controle de doenças e/ou pragas. Exemplos de traços de plantas reforçados incluem, mas não estão limitados a, aumento da circunferência do caule, floração precoce, floração sincronizada, reduzida acomodação, retardar ou eliminar conexão de safras, aumentada resistência a doenças, utilização de água aumentada, incluindo mas não limitado a irrigação reduzida e/ou irrigação menos frequente, maior produção, maior qualidade / aspecto mais saudável da planta, incluindo mas não limitados a melhor cor, maior transportabilidade, dano por insetos reduzido, e menores coberturas das plantas.

"Reforçar a resistência a pragas em uma planta" se refere a melhorar as características de crescimento e/ou produção, e/ou incidência de doença em uma planta que é tratada com um tratamento de combinação da invenção em comparação com uma planta que não é tratada.

Conforme usado aqui, neste requerimento de patente a expressão "aumentar a produção" de uma planta se refere a um aumento na produção de um produto da planta por uma quantidade mensurável em relação à produção do mesmo produto da planta produzida sob as mesmas condições, mas sem a aplicação do método em questão. É preferencial que a produção seja aumentada por no mínimo cerca de 0,5%, mais preferencial que o aumento seja de no mínimo cerca de 1 %, ainda mais preferencial é cerca de 2%, e ainda mais preferencial seja cerca de 4%, ou mais. A produção pode ser expressada em termos de uma quantidade em peso ou volume de um produto da planta em alguma base. A base pode ser expressada em termos de tempo, área de crescimento, peso das plantas produzidas, quantidade de uma matéria-prima usada, ou semelhantes.

Conforme usado aqui, neste requerimento de patente a expressão "melhorar o vigor" de uma planta se refere a um aumento ou aprimoramento da classificação do vigor, ou o padrão (o número de plantas por unidade de área), ou a altura da planta, ou a cobertura da planta, ou o aspecto visual (tal como cor das folhas mais verde), ou a classificação das

raízes, ou emergência, ou teor de proteína, ou aumentada formação de rebentos, ou maior limbo das folhas, ou menos folhas basais mortas, ou rebentos mais fortes, ou menos fertilizador necessário, ou menos sementes necessárias, ou rebentos mais produtivos, ou floração mais precoce, ou maturidade dos grãos precoce, ou menos verso das plantas, ou crescimento dos brotos aumentado, ou germinação mais cedo, ou qualquer combinação destes fatores, ou quaisquer outras vantagens familiares a uma pessoa versada na técnica, por uma quantidade mensurável ou notável em relação ao mesmo fator da planta produzida sob as mesmas condições, mas sem a aplicação do método em questão.

Por conseguinte, a presente invenção também proporciona um método para melhorar as características de crescimento de uma planta pelas etapas do método definido aqui, neste requerimento de patente.

Os termos "meio de plantio" ou "meio" ou "meio de crescimento" conforme usado aqui, neste requerimento de patente se referem a qualquer meio que pode suportar o crescimento da planta. O termo inclui terra, bem como meio tal como rocha, lanugem, vermiculita, e etc. Os termos "solo" ou "ambiente da planta" para plantas na prática do método da presente invenção significam um suporte para uso em cultura de uma planta e especialmente um suporte no qual as raízes devem crescer. Os termos não são limitados em qualquer qualidade de material, mas incluem qualquer material que possa ser usado na medida que uma planta possa ser cultivada no mesmo. Por exemplo, também podem ser usados os vários solos supostos, esteira de muda, fitas, água ou soluções hidropônicas e semelhantes. Exemplos específicos do material constituindo o solo ou veículo de cultivo incluem, sem limitação, areia, musgo de turfa, perlita, vermiculita, algodão, papel, terra diatomácea, agar, materiais gelatinosos, materiais poliméricos, lã mineral, lã de vidro, lascas de madeira, casca de árvore, pedra-pomes e semelhantes.

As composição e métodos das modalidades da presente invenção podem ser úteis sobre sementes preparadas e não preparadas. A preparação é um processo à base de água conhecido na técnica que é

realizado sobre sementes para aumentar a uniformidade de germinação e emergência de um meio de crescimento ou terra, deste modo reforçando o estabelecimento do padrão da planta. Incorporando a composição da presente invenção no processo de preparação, ou incorporando no mínimo

5 um regulador de crescimento vegetal no processo de preparação e aplicando no mínimo um ativador vegetal pós-emergência, são obtidos os benefícios de ótima germinação das sementes, ótimo crescimento e desenvolvimento, tempo para florescer sincronizado, floração uniforme, uniformidade na maturidade da safra, produções aumentadas e qualidade

10 aprimorada da safra colhida (fruto ou outras partes da planta). O espaço de tempo entre a emergência da primeira e a última mudas pode ser reduzido mais do que com preparação somente. Como com preparação, a incorporação das composições e métodos da presente invenção no processo de priming também aumenta a taxa de emergência, de modo que o

15 *stand* da planta se estabelece mais rápido, assegurando máximos cartões de safra por acre na colheita. Amplas faixas na emergência da muda reduzem a quantidade de plantas colhível por acre, uma situação indesejável para o produtor comercial.

Conforme usado aqui, neste requerimento de patente, um

20 "recipiente" se refere a uma estrutura tendo um espaço definido que pode conter uma quantidade de solo ou outro meio no qual uma planta ou uma parte de uma planta, por exemplo, uma semente, é cultivada. Tipicamente, a planta ou parte da planta é cultivada no recipiente, por exemplo, em uma sementeira, antes de transplantação para outro local, tal como outro

25 recipiente ou para um leito de solo aberto.

Uma modalidade da presente invenção proporciona métodos e combinações de tratamento relativos a reduzir doença de plantas e/ou dano por pragas / patógenos a uma planta ou proteger uma planta contra dano por pragas / patógenos, por exemplo, doença por nematódeos. Os métodos

30 portanto compreendem um nematicida, tal como um avermectina, por exemplo, abamectina, tratamento em combinação com tratamento de agente de biocontrole, cuja combinação resulta em aprimorado crescimento da

planta ou saúde em comparação com tratamento com os agentes individuais. Em modalidades típicas, o agente de biocontrole pode inibir nematódeos ou as doenças que causam.

Os tratamentos de combinação da invenção podem ser usados para controlar dano por qualquer tipo de praga incluindo nematódeos, artrópodes e semelhantes. Os tratamentos podem ser realizados tratando uma semente, muda, ou qualquer parte de uma planta, com no mínimo um nematicida, tal como abamectina, e no mínimo um agente de biocontrole. Um tratamento de planta semelhante pode ser realizado aplicando diretamente o no mínimo um nematicida, tal como abamectina, e/ou no mínimo um agente de biocontrole à planta, ou tratando o solo ou outro meio no qual a planta, ou parte da planta, é semeado.

Em algumas modalidades, o no mínimo um nematicida, tal como mas não limitado a abamectina, e/ou no mínimo um agente de biocontrole são usados para controlar doenças causadas por nematódeos. Nematódeos parasitas de plantas que podem ser inibidos usando um regime de tratamento semelhante incluem nematódeos do nó da raiz, de cisto, se entocando, de cruz, lança, alfinete, reniforme, lesão, anel, espiral, pêlo urticante, troncudo, de parada do desenvolvimento, do caule e bulbo, cecídio de semente e foliares. Em particular, nematódeos das seguintes espécies podem ser tratados usando os tratamentos de combinação da invenção: *Heterodera* spp., por exemplo, *H. schachtii*, *H. avenae*, *H. glycines*, *H. carotae*, *H. goettingiana*, *H. zae* e *H. trifolii*; *Globodera* spp., por exemplo, *G. rostochiensis*, *G. pallida*; *Meloidogyne* spp., por exemplo, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. hapla*, *M. arenaria*, *M. chitwoodi*, *M. graminis*, *M. mayaguensis*, *M. fallax*, *M. naasi*; *Radophohts* spp., por exemplo, *Radopholus similis*, *R. citrophilus*; *Pratylenchus* spp., por exemplo, *P. neglectans*, *P. scribneri*, *P. thornei*, *P. brachyurus*, *P. coffeae*, *P. zae*, e *P. penetrans*; *Tylenchulus* *sentipenetrans*; *Paratrichodorus* *minor*, *Longidorus* spp., *Helicotylenchus* *pseudorobustus*, *Hoplolaimus* *galeatus*, *H. columbus*, *H. tylenchiformis*, *Trichodorus* *proximus*, *Xiphinema* *index*, *X americanum*, *Ditylenchus* *dipsaci*, *D. destructor*, *Nacobbus* *aberrans*, *Longidorus* *breviannulatus*, *L. africanus*,

Mesocriconema xenoplax, *Aphelenchoides besseyi*, *A. fragariae*, *Zygotylenchus guevarai*, *Belonolaimus longicaudatus*, *B. gracilis*, *Anguina tritici*, *Rotylenchulus* spp., *Subanguina* spp., *Criconemella* spp., *Criconemoides* spp., *Dolichodorus* spp., *Hemicriconemoides* spp.,
 5 *Hemicycliophora* spp., *Hirschmaniella* spp., *Hypsoperine* spp., *Macroposthonia* spp., *Melinius* spp., *Punctodera* spp., *Quinisulcius* spp., *Scutellonema* spp., e *Tylenchorhynchus* spp.

Avermectinas e derivados de avermectinas para uso na invenção são conhecidos. Formulações de tratamentos de semenates com
 10 abamectina e abamectina para controle de nematódeos que são particularmente úteis na invenção são descritas, por exemplo, na Patente dos Estados Unidos Nº 6.875.727. Sais agroquimicamente compatíveis são, por exemplo, sais de adição de ácido de ácidos inorgânicos e orgânicos, em particular de ácido clorídrico, de ácido bromídrico, de ácido sulfúrico, de
 15 ácido nítrico, de ácido perclórico, de ácido fosfórico, de ácido fórmico, de ácido acético, de ácido trifluoroacético, de ácido oxálico, de ácido malônico, de ácido toluenossulfônico ou de ácido benzóico. Exemplos de formulações de compostos de avermectina que podem ser usados no método de acordo com a invenção, isto é, soluções, grânulos, pós, pós pulverizáveis,
 20 concentrados de emulsões, grânulos revestidos e concentrados de suspensões, foram descritos, por exemplo, no requerimento de patente européia No. EP-A-580 553.

Derivados de avermectina ou abamectina podem ser obtidos através de sínteses químicas convencionais. Por exemplo, em algumas
 25 modalidades pode ser usada emamectina, a qual é 4"-Desoxi-4"-epi-N--metilamino avermectina B_{ib}/B_{ig} conhecida da Patente dos Estados Unidos Nº 4.874.749. Sais de emamectina agroquimicamente úteis são adicionalmente descritos, por exemplo, na Patente dos Estados Unidos Nº 5.288.710.

Abamectina para uso na invenção pode ser aplicada ao solo ou
 30 outro meio de crescimento no qual uma semente ou parte de uma planta a ser propagada pode ser contida, ou em outras modalidades, pode ser formulada como uma composição pesticida para tratamento de semente. As

formulações contendo abamectina são conhecidas na técnica (vide, por exemplo, a Patente dos Estados Unidos Nº 6.875.727).

A quantidade de um nematicida presente na (ou aderido à) semente varia, por exemplo, de acordo com o tipo de colheita, e o tipo de material de propagação vegetal. No entanto, a quantidade é tal que no
5 mínimo um nematicida é uma quantidade eficaz para proporcionar a ação reforçada desejada e pode ser determinada por experimentação de rotina e provas de campo. No evento da nematicida ser abamectina, a quantidade de ingrediente de abamectina ativo presente no revestimento da semente é na
10 faixa de a partir de 0,002 a 1,2 mg/semente, tipicamente no mínimo 0,1 mg/semente, frequentemente no mínimo 0,2 mg/ semente. Frequentemente, a abamectina está presente em um nível de 0,3 mg ou mais por semente.

A aplicação de nematicida, tal como abamectina, a uma planta é descrita em maiores detalhes abaixo. Uma pessoa com conhecimento
15 regular da técnica entende que a determinação da quantidade de nematicida, tal como abamectina, depende de numerosos fatores, incluindo o tamanho do material vegetal a ser tratado, por exemplo, o tamanho da semente. Uma pessoa com conhecimento regular pode prontamente determinar a quantidade de nematicida, tal como abamectina, a empregar
20 com base nos ensinamentos na técnica e provas conhecidas para validar os efeitos de aplicar o nematicida, por exemplo, provas descritas na seção de Exemplos abaixo.

Pode ser usado qualquer número de agentes de biocontrole. Agentes típicos incluem bactérias, fungos, e outros agentes. Espécies
25 bacterianas que podem ser empregadas incluem membros de um gênero incluindo *Pasteuria*, *Pseudomonas*, *Coiynebacterium*, e *Bacillus*, bem como rhizobactérias, mycorrhizae, por exemplo mycorrhizae antagonista de nematódeos, e agentes parasitas bacterianos.

Em algumas modalidades, o agente de biocontrole que pode ser
30 aplicado com o nematicida pode ser um agente de biocontrole anti-nematódeos, por exemplo, um fungo, bactérias, ou outro agente anti-nematódeos. Bactérias antagonistas de nematódeos incluem isolados de

Agrobacterium sp., *Bacillus* sp., *Myrothecium* sp., e *Pseudomonas* sp. Os modos de ação destas bactérias são diferentes, mas incluem efeitos diretos sobre a incubação de ovos, descoberta de macho/fêmea e hospedeiro, e a mobilidade dos nematódeos bem como efeitos indiretos, tais como penetração da raiz reduzida.

Parasitas bacterianos também podem ser usados como agentes de biocontrole antagonistas de nematódeos. Estes incluem, por exemplo, espécies *Pasteuria*, por exemplo, *P. penetrans*, *P. nishizawae*, *P. thornei*, *Candidatus Pasteuria usgae* sp. nov., *Myrothecium verrucaria*, *Candidatus Pasteuria* sp. ceá HG, e outras espécies. Estes parasitas podem se fixar à cutícula de nematódeos.

Em algumas modalidades da invenção, podem ser usados fungos antagonistas de nematódeos. Semelhantes fungos incluem - fungos de captura de nematódeos e fungos parasitas que são parasitas de nematódeos jovens, fêmeas, machos e ovos. Fungos de captura de nematódeos incluem espécies tais como *Arthrobotrys oligospora*, *A. conoides*, *A. musiformis*, *A. superba*, *A. thaumasia*, *A. dactyloides*, *A. haptotyla*, *Monoacrosporium psychrophilum*, *M. gephyropagum*, *M. elipsosporum*, *M. haptotylum*, *M. doedycoides*, *M. eudermatum*, *Duddingtonia flagrans*, *Dactylellina ellipsospora*, *Dactylella oxyspora*, *D. leptospora*, *D. rhopalota*, *Harposporium anguillulae*, *Meristacrum* sp., *Monacrosporium eudermatum*, *Nematoctonus leiosporus*, e *Stylopage* sp.

Endoparasitas exemplares incluem *Drechmeria coniospora*, *Hirsutella rhossiliensis* e *Verticillium balanoides*. Estes fungos produzem esporos que podem se fixar à cutícula dos nematódeos. Parasitas de estágios juvenis sedentários, fêmeas, machos e/ou ovos incluem *Pochonia chlamydospora*, *Paecilomyces lilacinus*, *Dactylella oviparasitica*, *Fusarium oxysporum*, e *Plectosphaerella cucumerina*. Exemplos de fungos para uso na invenção incluem membros dos seguintes gêneros: *Catenaria*, *Myzocyttium*, *Haptoglossa*, *Meristacrum*, *Dactylella*, *Paecilomyces*, *Cephalosporium*, *Meria*, *Harposporium*, *Nematoctonus*, *Rhopalomyces*, *Verticillium*, *Pochonia*, *Saprolegnia*, *Cylindrocarpon*, *Nematophthora*,

Hirsutella, e *Monoacrosporium*.

Métodos e combinações, especialmente composições, da invenção podem incluir componentes pesticidas adicionais que apresentam ou atividade estimulatória ou promotora de crescimento (por exemplo, 5 nutrientes, fertilizantes, doadores de micronutrientes, inoculantes, antibióticos) para o um ou mais agentes de biocontrole biológico, ou atividade inibitória para outras pragas, por exemplo, inseticidas, acaricidas, fungicidas, outros nematocidas, ou molusquicidas. Adições adequadas de ingredientes inseticidamente, acaricidamente, nematocidamente, ou 10 molusquicidamente ativos incluem, por exemplo e não por limitação, os nematocidas estabelecidos acima e representativos das seguintes classes de ingredientes ativos: compostos de organofósforo, nitrofenóis e derivados, formamidas, derivados de triazina, derivados de nitroenamina, derivados de nitro- e cianoguanidina, uréias, benzoiluréias, carbamatos, piretróides, 15 hidrocarbonetos clorados, benzimidazóis, e produtos do *Bacillus thuringiensis*. Componentes em misturas especialmente preferenciais incluem cianoimina, acetamiprid, nitrometileno nitenpiram, clotianidina, dimetoato, dinotefuran, fipronil, lufenuron, piripoxifen, tiacloprid, fluxofenime; imidacloprid, tiametoxam, beta ciflutrin, fenoxicarb, lambda cialotrin, 20 diafenthiuron, pimetozina, diazinon, dissulfoton; profenofos, furatiocarb, cromazina, cipermetrin, tau-fluvalinato, teflutrin, clorantraniliprol ou produtos do *Bacillus thuringiensis*, muito especialmente cianoimina acetamiprid, nitrometileno nitenpiram, clotianidina, dinotefuran, dimetoato, lambda cialotrin, fipronil, tiacloprid, imidacloprid, tiametoxam, beta ciflutrin, clorantraniliprol, e 25 teflutrin.

Adições adequadas de ingredientes fungicidamente ativos incluem, por exemplo e não por limitação, representantes das seguintes classes de ingredientes ativos: estrobilurinas, triazóis, derivados de orto-ciclopropil-carboxanilida, fenilpirróis, e fungicidas sistêmicos. Exemplos de 30 adições adequadas de ingredientes fungicidamente ativos incluem, mas não estão limitadas a, os seguintes compostos: azoxistrobin; acibenzolar S-metil, bitertanol; carboxin; Cu₂O; cimoxanil; ciproconazol; ciprodinil; diclofluamid;

difenoconazol; diniconazol; epoxiconazol; fenpiclonil; fludioxonil; fluoxastrobin, fluquiconazol; flusilazol; flutriafol; furalaxil; guazatin; hexaconazol; himexazol; imazalil; imibenconazol; ipconazol; cresoxim-metil; mancozeb; metalaxil; R metalaxil; metconazol; miclobutanil, oxadixil, 5 pefurazoato; penconazol; pencicuron; picoxistrobin; procloraz; propiconazol; piroquilona; SSF-109; espiroxamin; tebuconazol; teflutrin; tiabendazol; tiram, tolifluamida; triazóxido; triadimefon; triadimenol; trifloxiestrobin, triflumizol; triticonazol e uniconazol. Agentes fungicidamente ativos Particularmente preferenciais incluem azoxistrobin, acibenzolor s-metil, difenoconazol, 10 fludioxonil, metalaxil, R-metalaxil, miclobutanil, tiabendazol, um composto de fórmula A, um composto de fórmula B, e trifloxistrobin.

Pesticidas adicionais adequados para uso na invenção podem ser selecionados de tal modo que o agente de biocontrole seja resistente ao agente pesticida. Por exemplo, quando um fungo de biocontrole é 15 empregado, fungicidas adicionais que podem ser incluídos nos tratamentos podem ser selecionados para usos que não inibem o crescimento do fungo de biocontrole.

Em algumas modalidades nas quais o nematicida tal como abamectina e/ou agente de biocontrole é administrado tratando o solo ou 20 outro meio, o nematicida e/ou agente de biocontrole é aplicado ao sítio onde a planta ou parte da planta tenha sido, ou será semeada. Por exemplo, o nematicida ou agente de biocontrole pode ser aplicado antes da semeadura dentro do sulco para semente ou em uma área em torno do sítio de plantio ou de semeadura do material de propagação, de tal modo que o nematicida 25 ou agente de biocontrole biológico pode inibir de modo eficaz a eclosão, o crescimento, a descoberta de hospedeiros ou macho/fêmea de nematódeos e/ou proteger tecidos das plantas contra alimentação por nematódeos. Os agentes também podem ser administrados durante o plantio ou depois do plantio em um momento que controla de modo eficaz o crescimento de 30 nematódeos.

Conforme observado, em algumas modalidades, uma planta ou parte de uma planta pode ser tratada com o nematicida e/ou agentes de

biocontrole. O tratamento pode ser realizado usando uma variedade de métodos conhecidos, por exemplo, por pulverização, atomização, polvilhamento ou espalhamento das composições sobre o material de propagação ou pincelando ou vertendo ou contactando de modo diverso as composições sobre o material de propagação ou, caso de semente, por revestimento, encapsulação, ou tratando a semente de modo diverso.

Para aplicação da composição pesticida como um tratamento de sementes, no mínimo um nematicida, tal como uma avermectina, com ou sem agentes pesticidas adicionais, é adicionado à semente, tipicamente antes de semear ou ao plantar, e as substâncias ativas são distribuídas sobre a semente. Modalidades particulares de um tratamento de sementes semelhante compreendem, por exemplo, imergir a semente em uma composição líquida, revestir a semente com uma composição sólida ou obter penetração do ingrediente ativo na semente, por exemplo, adicionando a composição a água usada para pré-impregnação sementes. As taxas de aplicação da composição pesticida podem variar, por exemplo, de acordo com o tipo de uso, tipo de safra, os ingredientes ativos específicos na composição pesticida, e tipo de material de propagação vegetal, mas é tal que os ingredientes ativos na combinação são uma quantidade eficaz para proporcionar a ação reforçada desejada e podem ser determinados por provas experimentais de rotina. Taxas de aplicação típicas das sementes das composições podem ser, por exemplo, entre 0,1 e 1000 g de ingrediente ativo por 100 kg de semente; em particular, entre 1 e 600 g/100 kg de semente; preferencial entre 1 e 400 g/100 kg de semente; e especialmente 1 a 200 g/100 kg de semente.

Em outras modalidades, a semente da planta pode ser tratada com o agente nematicida, preferencialmente com um agente pesticida contendo avermectina, por exemplo, contendo abamectina, aplicando o agente nematicida ao solo ou outro meio no qual a semente é plantada, por exemplo, o meio de plantio em um recipiente para uma planta de sementeira. Este pode ser administrado em qualquer método conhecido, por exemplo, por pulverização, espalhamento, derramação e semelhantes. As

taxas de aplicação podem variar dentro de amplas faixas e dependem da constituição do solo, do tipo de aplicação (aplicação foliar; aplicação no sulco de sementes), da planta, da praga / patógeno a ser controlado, das circunstâncias climáticas prevaescentes e, cada caso, e outros fatores determinados pelo tipo de aplicação, momento da aplicação e safra alvo. Com abamectina, as taxas de aplicação por hectare são geralmente 1 a 2000 g de abamectina por hectare; em particular 10 a 1000 g/ha; preferencialmente 10 a 500 g/ha; especialmente preferencialmente 10 a 200 g/ha. Em algumas modalidades, pode ser usado 1 a 100 g/ha, por exemplo, 1 a 50 g/ha, ou 1 a 25 g/ha.

Os métodos da invenção adicionalmente podem compreender aplicar no mínimo um ou mais agentes de biocontrole a plantas, sementes de plantas, solo ou outro meio circundando plantas sob condições onde o agente de biocontrole reduz a suscetibilidade a pragas ou patógenos, por exemplo, nematódeos parasitas de plantas. A aplicação de no mínimo um ou mais agentes de biocontrole em combinação com um nematicida, tal como uma avermectina (por exemplo, abamectina), também proporciona um método para reforçar o crescimento da planta e aumentar o vigor da planta.

A aplicação de no mínimo um agente de biocontrole diretamente a uma planta pode ser realizado usando métodos nos quais toda ou uma parte da planta é diretamente tratada. Tipicamente, semente da planta é tratada, mas outras partes da planta, tais como material de propagação, também podem ser tratados diretamente. Métodos de aplicação adequados incluem pulverização de alta ou baixa pressão, encharcamento, e injeção. Em outras modalidades, o agente de biocontrole pode ser adicionado às semente (ou ao solo ou outro meio de plantio) à medida que as sementes estão sendo plantadas. É entendido que as plantas podem ser adicionalmente tratadas com outros nematicidas, por exemplo, abamectina, aldicarb, e semelhantes, e no mínimo um agente de biocontrole depois das sementes terem sido plantadas. Portanto, a invenção inclui modalidades nas quais plantas podem ser tratadas com uma ou mais aplicações do no mínimo um agente de biocontrole e no mínimo um nematicida para

proporcionar reforçada resistência a pragas a plantas e/ou para reforçar o crescimento das plantas.

Os agentes de biocontrole podem ser aplicados a plantas ou material de propagação vegetal, tal como sementes, de acordo com a presente invenção somente ou em uma mistura com outros compostos, por exemplo, uma composição pesticida compreendendo abamectina. Alternativamente, no mínimo um agente de biocontrole pode ser aplicado separadamente a plantas e outros compostos, por exemplo, a composição contendo abamectina, aplicada em momentos diferentes.

No mínimo um agente de biocontrole pode ser aplicado diretamente ao material de propagação vegetal, tal como semente, antes da semeadura no campo. Em sua forma mais simples, isto pode ser feito por pulverização ou mergulhando o material de propagação vegetal, tal como semente, com uma cultura líquida contendo uma cepa fúngica e/ou cepa bacteriana e/ou outro agente de biocontrole anti-nematódeos.

Uma composição adequada para tratar plantas ou material de propagação vegetal, tal como sementes, de acordo com a presente invenção frequentemente contém um agente de biocontrole em um veículo. Portanto, no mínimo um agente de biocontrole pode ser aplicado a material de propagação vegetal, tal como sementes, com outras formulações de sementes convencionais e tratamentos e materiais de tratamento. Aditivos adequados incluem agentes de tamponamento, agentes umectantes, agentes de revestimento, polissacarídeos, e agentes de abrasão. Veículos típicos incluem água, soluções aquosas, pastas semi-fluidas, sólidos e pós secos (por exemplo, turfa, trigo, farelo de trigo, vermiculita, argila, terra pasteurizada, muitas formas de carbonato de cálcio, dolomita, vários graus de gipso, bentonita e outros minerais de argila, fosfatos de rocha e outros compostos de fósforo, dióxido de titânio, húmus, talco, alginato e carvão ativado. Qualquer veículo agriculturalmente adequado de conhecimento de uma pessoa versada na técnica seria aceitável e é contemplado para uso na presente invenção.

Em algumas modalidades, por exemplo, ao usar agentes de

biocontrole bacterianos ou fúngicos, um adesivo pode ser incluído para encerrar os propágulos contendo bactérias na semente. Semelhantes adesivos são conhecidos na técnica. Agentes típicos incluem colas e gomas, por exemplo, de origem vegetal ou microbiana, gelatina, açúcares, e
5 semelhantes.

Uma pessoa com conhecimento regular da técnica entende que agentes que são incluídos como um veículo são selecionados para não afetarem de modo adverso o crescimento do agente de biocontrole ou da planta.

10 Em uma alternativa de tratar diretamente uma semente antes do plantio, um agente de biocontrole também pode ser introduzido no solo ou outro meio no qual a semente deve ser plantada. Tipicamente, um veículo também é usado nesta modalidade. O veículo pode ser sólido ou líquido, conforme mencionado acima. Em algumas modalidades um método popular
15 é empregar turfa suspendida em água como um veículo do agente de biocontrole, e pulverizar esta mistura no solo ou meio de plantio e/ou sobre a semente à medida que é plantada. Outros exemplos de um inóculo agrícola sólido que pode ser usado para aplicar o agente de biocontrole ao solo (ou semente à medida que é plantada) são grânulos consistindo de hemihidrato
20 de sulfato de cálcio e carboximetilcelulose pulverizados com um caldo bacteriano ou um caldo contendo fungos ou outro caldo de agente de biocontrole similar. Turfa ou solo inoculado com o no mínimo um agente de biocontrole também são exemplos de materiais que podem ser usados para aplicar o no mínimo um agente de biocontrole ao solo ou material de
25 propagação vegetal à medida que é plantado.

Em algumas modalidades, no mínimo um agente de biocontrole pode ser aplicado a uma planta jovem, por exemplo, pode ser adicionado ao solo ou outro meio de crescimento no qual uma muda está crescendo depois do plantio.

30 O tratamento de combinação de no mínimo um nematicida, tal como abamectina, e no mínimo um agente de biocontrole pode ser aplicado em uma densidade suficiente para cobrir a área onde se espera que seja

observado crescimento de nematódeos. Por exemplo, uma formulação contendo no mínimo um agente de biocontrole pode ser aplicado ao solo em quantidades de cerca de 0,9 l/ha (0,1 galões por acre) a cerca de 2839 l/ha (300 galões por acre), em que a formulação está em uma concentração de
5 cerca de 10^4 a cerca de 10^{12} esporos ou cfu por ml como uma formulação líquida, ou em uma concentração de cerca de 10^4 a cerca de 10^{12} esporos ou cfu por grama como uma formulação sólida.

A no mínimo uma composição contendo nematicida e no mínimo um agente de biocontrole pode ser administrada em uma quantidade
10 "pesticidamente eficaz". Uma quantidade pesticidamente eficaz é considerada como sendo uma quantidade na qual o tratamento de combinação reforça a eficácia pesticida e/ou duração e/ou aumenta o crescimento da planta. É entendido que uma quantidade eficaz de agente
15 nematódeo, per se, mas é eficaz para reduzir dano a plantas como um resultado de uma praga / patógeno tal como um nematódeo. Por conseguinte, a eficácia de um tratamento pode ser avaliada através de quaisquer desfechos diretos ou indiretos. Por exemplo, uma quantidade pesticidamente eficaz pode reduzir dano de pragas a sementes, raízes,
20 brotos, ou folhagem das plantas que são tratadas comparadas com as que não são tratadas.

Em modalidades preferenciais, o tratamento de combinação de no mínimo um nematicida e no mínimo um agente de biocontrole pode, com ou sem pesticidas adicionais, usar quantidades dos dois agentes que são
25 suficientes para controlar doença vegetal causada por nematódeos. "Controlar doença vegetal causada por nematódeos" se refere à capacidade de um tratamento de combinação da invenção para influenciar a densidade da população de nematódeos e/ou sua atividade para um grau suficiente para reduzir ou evitar que nematódeos afetem de modo prejudicial o
30 crescimento das plantas circunjacentes. "Controlar" doença vegetal causada por nematódeos não requer necessariamente a erradicação de todos os nematódeos em uma área. A densidade da população de nematódeos e/ou

atividade pode ser inibida de modo eficaz se a planta apresentar sintomas de doença relacionada com nematódeos que são reduzidos em comparação com os de uma planta controle não tratada com a combinação.

Plantas que podem ser tratadas de acordo com as modalidades da invenção incluem tanto espécies de plantas monocotiledôneas e dicotiledôneas incluindo cereais tais como cevada, centeio, sorgo, tritcale, aveia, arroz, trigo, soja, milho,; beterrabas (por exemplo beterraba sacarina e beterraba para forragem); plantas cucurbitáceas incluindo pepino, melão almiscarado, cantalupo, abóbora e melancia; colheitas do gênero *Brassica* incluindo brócolis, repolho, couve-flor, *bok Choi*, e outros legumes verdes folhosos, outros legumes incluindo tomate, pimenta, alface, vagens, ervilha, cebola, alho e amendoim; colheitas de óleo incluindo canola, amendoim, girassol, colza, e soja; plantas solanáceas incluindo tabaco; colheitas de tubérculos e raízes incluindo batata, inhame, rabanete, beterrabas, cenouras e batatas doces; frutos incluindo morango; colheitas de fibras incluindo algodão, linho e cânhamo; outras plantas incluindo café, plantas de palha em que se deita o gado, plantas perenes, ornamentais lenhosas, turfa e flores de corte incluindo cravo e rosas; cana-de-açúcar; colheitas de árvores dentro de recipientes; árvores perenes incluindo abeto e pinho; árvores decíduas incluindo bordo e carvalho; e árvores de frutos e nozes incluindo cereja, maçã, pera, amêndoa, pêssego, noqueira e cítricos. Em geral qualquer planta que é suscetível a doença vegetal e/ou dano por pragas (por exemplo, dano por insetos ou nematódeos) e responde à combinação da invenção pode ser tratada de acordo com a invenção.

Em algumas modalidades, a composição contendo nematicida, preferencialmente avermectina, tal como abamectina, e o no mínimo um agente de biocontrole pode ser aplicada ao material de propagação vegetal, tal como sementes ou outro material vegetal, que devem ser transplantados e/ou que devem ser cultivados em uma sementeira. As plantas referidas são tipicamente cultivadas em recipientes. Portanto, em algumas modalidades, no mínimo um agente de biocontrole biológico pode convenientemente ser adicionado ao solo ou outro meio de plantio no recipiente. Em uma

modalidade, uma composição pesticida compreendendo abamectina pode ser aplicada diretamente a uma planta ou parte da planta, tal como a semente. Alternativamente, a composição contendo abamectina pode ser adicionada ao solo ou outro meio de plantio dentro do recipiente no qual a

5 planta deve ser cultivada. Em algumas modalidades, as plantas podem receber múltiplos tratamentos com abamectina e/ou no mínimo um agente de biocontrole. Além disso, as plantas podem ser tratadas com agentes adicionais, por exemplo, um segundo agente de biocontrole biológico ou outro nematicida, pesticidas, fungicidas, e etc.

10 Tratamento de plantas da sementeira, por exemplo, sementes ou mudas, com um tratamento de combinação da invenção resulta em aprimorado crescimento das plantas devido a reduzido dano por pragas ou patógenos, tais como nematódeos. Depois de crescimento inicial em um recipiente, a planta pode ser transferida para outro recipiente ou leito aberto.

15 Em algumas modalidades, as plantas podem ser submetidas a tratamentos adicionais com abamectina e/ou o agente de biocontrole depois de/ou durante transplantação.

A invenção portanto também se refere a composições compreendendo um recipiente, terra ou outro meio de plantio, uma planta,

20 abamectina, e no mínimo um agente de biocontrole biológico. Uma composição semelhante é tipicamente um recipiente que tem terra ou outro meio de plantio no qual no mínimo um agente de biocontrole biológico tenha sido introduzido e uma ou mais sementes tratadas com abamectina tenham sido plantas. No mínimo um agente de biocontrole biológico em algumas

25 modalidades pode ser introduzido tratando semente com o agente.

A presente invenção portanto visa tratar um material de propagação vegetal com uma composição pesticida compreendendo um ou mais nematicida e aplicar um ou mais agentes de biocontrole no local do material de propagação vegetal; tratar uma material de propagação vegetal

30 com uma composição de combinação pesticida; tratar um material de propagação vegetal com um ou mais agentes de biocontrole e aplicar uma composição pesticida compreendendo um ou mais nematicidas no local do

material de propagação vegetal; ou aplicar uma composição de combinação pesticida ao local do material de propagação vegetal.

Os seguintes exemplos são proporcionados a título de ilustração somente e não a título de limitação. Aquelas de conhecimento regular da técnica reconhecerão prontamente uma variedade de parâmetros não-cruciais que podem ser alterados ou modificados para produzir resultados essencialmente similares.

EXEMPLOS

Estes exemplos avaliam tratamento de sementes com abamectina em combinação com fungos destruidores de nematódeos em provas com pepino e tomate.

Nos Exemplos 1 a 3, foi usada uma cepa do fungo destruidor de nematódeos *Pochonia chlamydosporia*. Esta espécie fúngica, previamente denominada *Verticillium chlamydosporium*, tem sido extensivamente pesquisada para controle biológico de nematódeos endoparasitários (vide, por exemplo, Kerry e Bourne, A manual for research on *Verticillium chlamydosporium*, a potential biological control agent for root-knot nematodes, IOBC/OILB, Druckform GmbH, Darmstadt, Alemanha, 2002).

Exemplo 1. Provas de estufa com pepino

Potes (de 10 cm de diâmetro) foram enchidos com 250 g (peso seco) de areia de fundo de rio pasteurizada com vapor. Dez tratamentos com 6 replicações foram preparados (Tabela 1). O antagonista fúngico *Pochonia chlamydosporia* foi cultivado sobre semente de milho úmido autoclavada por três semanas a 22°C. Milhete colonizado foi secado em um fluxo coberto laminar, e armazenado aseticamente a 4°C até o uso. Para inoculação no solo, milho colonizado com *P. chlamydosporia* foi completamente misturado com a areia. A densidade populacional do fungo foi de aproximadamente 2000 clamidósporos/cc de solo para taxa 1 e 4000 clamidósporos/cc de solo para 2.

Tabela 1. Lista de tratamento da prova de estufa

No. do tratamento	Nematódeos do nó da raiz	<i>P. chlamydosporium</i>	Abamectina
1	Não	Não	Não
2	Sim	Não	Não
3	Sim	taxa 1	Não
4	Sim	taxa 2	não
5	Sim	Não	0,1 mg/ semente
6	Sim	taxa 1	0,1 mg/ semente
7	Sim	taxa 2	0,1 mg/ semente
8	Sim	Não	0,3 mg/ semente
9	Sim	taxa 1	0,3 mg/ semente
10	Sim	taxa 2	0,3 mg/ semente

O inóculo de nematódeo foi cultivado durante os 3 meses prévios sobre plantas de tomate (*Lycopersicum esculentum* cv. Tropic) dentro da estufa. Ovos de nematódeos foram obtidos por branqueamento / extração por peneiramento padrão. Com a exceção do primeiro tratamento, cada pote foi infestado com cerca de 30000 ovos de *M. incognita*. Este é um nível de infestação típico para testes de nematicidas resultando em alta pressão de doença (a classificação de cecídio esperada para controle não tratado em 8 semanas foi aproximadamente 7 em uma escala de 0 a 10 (Zeck, PflanzenschutzNachrichten, Bayer AG, 24:141-144, 1971). Sementes de pepino (*Cucumis sativus* L. cv. Straight Eight, Burpee Seed Co.) foram revestidas ou com 0,1 mg ou com 0,3 mg de abamectina/ semente ou não receberam tratamento posterior. Cada pote recebeu fertilizante de liberação lenta (Osmocote Vegetable and Bedding Plant Food, 14-14-14, The Scotts Company) recomendado para produção de tomate. Os potes foram dispostos em um design de bloco completo randomizado dentro de uma estufa a cerca de $24^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$ e iluminação ambiente. Foi aplicada irrigação diariamente conforme necessário. Três e oito semanas depois da semeadura foi determinada a altura da planta ou a extensão da vinha principal. Oito semanas depois da semeadura o experimento foi terminado e os topos das plantas foram cortados. Foram colocados em um forno de

secagem de um dia para o outro e seu peso foi determinado. As raízes foram colocadas em solução de erioglaucina de um dia para o outro e as massas de ovos coradas dos nematódeos do nó da raiz foram contados. A formação de cecídios das raízes foi classificado em uma escala de 0 a 10 (0 = nenhuma formação de cecídios). O experimento foi repetido uma vez.

Resultados

Prova de revestimento de sementes de pepino 1

O experimento foi de alta qualidade. Não foi observada incidência de outra doença no experimento. Diferenças de crescimento inicial entre os tratamentos foram observadas e documentadas (Tabela 2). A baixa taxa de abamectina não apresentou um benefício para a colheita uma vez que nenhum crescimento vegetal foi aprimorado nem a formação de cecídios da raiz foi significativamente reduzida (Tabela 2). Similarmente, a baixa taxa de *Pochonia* não teve qualquer influência significativa sobre o crescimento da planta e formação de cecídios. A alta taxa de *Pochonia* por si só não foi muito melhor em termos de promoção de crescimento ou redução dos cecídios. Em contraste, a proteção contra ataque por nematódeos pela taxa de 0,3 mg/ semente de abamectina causou significativo aumento no crescimento da planta inicial bem como no peso a seco da planta e na extensão da vinha principal no término do experimento comparadas com as plantas controle não-tratadas. A combinação de qualquer taxa de abamectina com a alta taxa de *Pochonia* superou todos os outros tratamentos em quase todos os parâmetros e foi, em termos de performance da planta, não significativamente diferente do controle livre de nematódeos (Tabela 2). Uma análise dos resultados do tratamento de combinação é mostrada na Figura 1. A população de nematódeos foi expressada em termos de massas de ovos. O controle não-tratado teve a maior parte das massas de ovos e todos os tratamentos resultaram em reduções significativas. No entanto, devido à grande variabilidade no número de massas de ovos, não foram vistas diferenças significativas entre os tratamentos (Tabela 2).

Tabela 2. Determinações do crescimento das planta e da população de nematódeos durante a prova de pepino 1

Tratamentos	Altura da planta (mm) @ 3 semanas ^a	Peso seco da planta (g) @ 8 semanas ^a	Extensão da vinha principal main (cm) @ 8 semanas ^a	Número das massas de ovos/raiz ^a	formação de cecídios das raízes @ 8 semanas ^a
1. nt, n-inf. Controle	101,0 ± 6,1 c	7,4 ± 0,2 d	164,0 ± 6,7 f	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0 a
2. nt, rkn controle	64,2 ± 7,2 a	4,1 ± 0,8 a	92,0 ± 13,6 ab	139,3 ± 46,2 b	6,0 ± 0,4 cde
3. nt + Pcl, rkn	64,3 ± 3,7 a	3,8 ± 0,7 a	89,0 ± 8,4 a	85,4 ± 12,1 ab	6,8 ± 0,6 e
4. nt + Pc2, rkn	77,2 ± 8,0 ab	4,9 ± 0,5 ab	116,2 ± 8,4 bcd	93,2 ± 14,4 ab	5,6 ± 0,4 cde
5. aba0.1, rkn	70,8 ± 2,3 a	4,2 ± 0,4 a	100,7 ± 8,8 ab	108,2 ± 14,0 ab	6,3 ± 0,6 de
6. aba0.1+Pcl, rkn	67,8 ± 5,4 a	4,3 ± 0,4 a	108,2 ± 11,0 abc	76,7 ± 16,2 a	6,5 ± 0,6 e
7. aba0.1 + Pc2, rkn	97,3 ± 4,3 c	6,9 ± 0,2 cd	150,8 ± 7,7 ef	106,2 ± 20,9 ab	4,5 ± 0,3 bc
8. aba0.3, rkn	90,8 ± 7,1 bc	5,7 ± 0,4 bc	127,8 ± 11,9 cde	85,8 ± 12,8 ab	5,8 ± 0,4 cde
9. aba0.3 + Pc1, rkn	94,0 ± 6,0 c	6,0 ± 0,3 bc	138,7 ± 9,0 de	86,5 ± 14,4 ab	5,0 ± 0,5 bcd
10. aba0.3 + Pc2, rkn	105,2 ± 6,1 c	6,3 ± 0,3 cd	141,7 ± 11,2 ef	74,2 ± 17,5 a	4,0 ± 0,7 b

nt = sem tratamento das sementes; n-inf. = sem rkn (nematódeos do nó da raiz, *Meloidogyne incognita* raça 1); Pc 1 = *Pochonia chlamydosporia* taxa 1 (2000 clamidósporos/g de solo); Pc 2 = *P. chlamydosporia* taxa 2 (4000 clamidósporos/g de solo); aba = revestimento das sementes com abamectina a 0,1 ou 0,3 mg/ semente).

5 ^a Médias com erro padrão (P = 0,05). Letras idênticas na mesma coluna indicam que os resultados não diferem significativamente.

Prova de revestimento de sementes de pepino 2

A qualidade do segundo experimento foi boa. Não foi observado incidência de outra doença. Os resultados foram similares ao primeiro experimento. Proteção inicial contra os nematódeos do nó da raiz resultou em óbvias e significativas diferenças no crescimento das plantas comparadas com o controle não tratado (Tabela 3). O peso seco das plantas e a extensão das vinhas foram aumentados por todos os tratamentos comparados com o controle não tratado (Tabela 3). Como no primeiro experimento, o número de massas de ovos não diferiu muito entre os tratamentos. Isto é essencialmente devido ao crescimento vegetal interrompido e ao sistema de raízes pobre nas não tratadas que não ofereceram sítios de alimentação suficientes para os nematódeos (tratamento 2). Consequentemente, um sistema de raízes protegido contra nematódeos e portanto maiores pode ter ao final da estação uma população de nematódeos maior do que o controle. A combinação da alta taxa de abamectina e a alta taxa de *P. chlamydosporia* novamente resultou na menor classificação de cecídios (Tabela 3).

Tabela 3. Determinações do crescimento da planta e da população de nematódeos durante prova de pepino 2

Tratamentos	Altura da plant a (mm) @ 3 semanas	Peso seco da planta (g) @ 8 semanas	Extensão da vinha principal (cm) @ 8 semanas	Número das massas de ovos / sistema de raízes @ 8 semanas	formação de cecidios das raízes @ 8 semanas (escala de 0 a 10)
1. nt, n-inf. controle	108,5 ± 5,5 de	7,5 ± 0,2 d	174,8 ± 2,3 d	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0 a
2. nt, rkn controle	58,0 ± 8,2 a	4,1 ± 0,4 a	104,0 ± 9,6 a	44 ± 8,3 ab	8,2 ± 0,5 d
3. nt + Pc1 , rkn	93,8 ± 3,9 bc	5,1 ± 0,4 b	117,7 ± 6,3 ab	80,8 ± 18,0 b	5,8 ± 0,2 bc
4. nt + Pc2, rkn	82,5 ± 6,6 b	5,6 ± 0,4 bc	133,2 ± 9,6 bc	59,2 ± 14,3 ab	6,7 ± 0,5 c
5. aba0.1, rkn	96,2 ± 6,4 bcd	6,4 ± 0,5 c	146,2 ± 9,8 c	80,8 ± 27,8 b	5,3 ± 0,2 abc
6. aba0.1 + Pcl, rkn	102,5 ± 5,3 cde	5,5 ± 0,3 bc	131,7 ± 4,3 bc	52,2 ± 9,5 ab	5,0 ± 3,0 ab
7. aba0.1 + Pc2, rkn	99,0 ± 6,0 cde	6,0 ± 0,4 bc	149,5 ± 11,0 c	35,3 ± 10,5 a	5,5 ± 0,3 bc
8. aba0.3, rkn	105,8 ± 5,3 cde	6,0 ± 0,3 bc	131,3 ± 6,2 bc	36,7 ± 4,0 a	5,0 ± 0,4 ab
9. aba0.3 + Pcl, rkn	108,0 ± 3,0 cde	6,1 ± 0,4 c	146,7 ± 7,3 c	34,5 ± 9,3 a	5,0 ± 0,7 ab
10. aba0.3 + Pc2, rkn	111,3 ± 4,7 e	6,4 ± 0,4 c	144,0 ± 7,3 c	44,8 ± 10,7 ab	4,0 ± 0,8 a

nt = sem tratamento das sementes; n-inf. = sem rkn (nematódeos do nó da raiz, *Meloidogyne incognita* raça 1); Pc 1 = *Pochonia chlamydosporia* taxa 1 (2000 clamidósporos/g de solo); Pc 2 = *P. chlamydosporia* taxa 2 (4000 clamidósporos/g de solo); aba = revestimento das sementes com abamectina a 0,1 ou 0,3 mg/ semente).

5 ^a Médias com erro padrão (P = 0,05). Letras idênticas na mesma coluna indicam que os resultados não diferem significativamente.

Exemplo 2. Experimentos de estufa de tomate

Os experimentos de estufa foram conduzidos em potes de polpa (10 cm de diâmetro) enchidos com areia pasteurizada com vapor (250 cm³). O organismo controle biológico (BCO) *P. chlamydosporia* foi cultivado conforme descrito acima. Sementes de milho inoculado *P. chlamydosporium* foram lavadas (1:2 peso/ volume das sementes de milho e água destilada estéril, 2 min de agitação em misturador elétrico) e passadas através uma peneira de malha 100 para remover o milho dos clamidósporos fúngicos. Estes serviram como o inóculo e foram contados com uma câmara de contagem (Fuchs-Rosenthal). Os clamidósporos foram completamente misturados com a areia. A densidade populacional de fungo foi de aproximadamente 2000 clamidósporos/g de solo para a taxa 1 e 4000 clamidósporos/g de solo para a taxa 2 (Tabela 1). Sementes de tomate (*Lycopersicum esculentum* cv. Tiny Tim) foram revestidas ou com 0,1 mg ou com 0,3 mg de abamectina/ semente ou não receberam tratamento adicional (Tabela 1). As sementes de tomate foram semeadas em bandejas de semeadura com substrato de muda comercial e depois de 2 semanas as plantas foram transplantadas para dentro de potes de 10 cm de polpa. Com a exceção do primeiro tratamento, cada pote foi infestado com cerca de 30000 ovos de *M. incognita*. A taxa de eclosão de ovos foi de aproximadamente 10% sobre funis de Baerman a 26°C por 5 dias. Cada pote recebeu fertilizador de lenta liberação (Osmocote Vegetable e Bedding Plant food, 14-14-14, The Scotts Company). Os potes foram arranjados em um design de bloco completo randomizado com 6 replicações por tratamento e incubado em estufa a cerca de 24±3°C e iluminação ambiente. As plantas foram regadas diariamente conforme necessário. A altura das plantas foi determinada e os brotos foram cortados ao final do experimento. Os brotos foram colocados em um forno de secagem a 69°C por 72h e o peso de cada planta foi determinado. A extensão da formação de cecídios das raízes foi avaliada sobre uma escala de 0 a 10 (Zeck, 1971, *supra*).

As populações de nematódeos foram determinadas contando as massas de ovos (= número de fêmeas fecundadas), ovos e segundo estágio

juvenil (J2). As raízes foram colocadas em solução de erioglaucina de um dia para o outro para tingir as massas de ovos dos nematódeos do nó da raiz o que possibilitou sua enumeração (Omweaga et al., 1988). Os ovos foram liberados das massas de ovos através de uma técnica de extração de branqueamento / peneiramento modificada (Hussey e Barker, 1973). A cada semana, frutos de tomate maduro (vermelho) foram escolhidos, e o número e peso foram registrados. A seleção foi continuada até ter capturado a produção de frutos. A prova foi repetida uma vez. Todos os dados foram submetidos a análise de variação com SuperANOVA (Abacus Concepts, 1989, Berkeley, CA). Caso adequado, foi usada diferença significativa mínima protegida de Fisher (Fisher's Protected Least Significant Difference (LSD)) para separar médias a $P = 0,05$.

Resultados

As qualidades dos experimentos foram ambas excelentes e os resultados foram similares. Portanto, os dados foram por consequência combinados para análise. Todos os tratamentos aumentaram a altura das plantas e o peso seco comparados com o controle não tratado (Tabela 4). Geralmente, os tratamentos de combinação resultaram nas plantas mais altas e nas plantas com o maior peso seco. Apesar da infestação por nematódeos do nó da raiz muito grave, a alta taxa de revestimento de sementes com abamectina combinada com a alta taxa de BCO resultou em pesos secos similares ao controle não infestado. A formação de cecídios das raízes foi reduzida por abamectina para aproximadamente duas classes de classificação abaixo do controle. Esta eficácia é típica para o revestimento de sementes de abamectina. Enquanto a combinação com o BCO aumentou somente ligeiramente a eficácia da baixa taxa de abamectina, a formação de cecídios foi dramaticamente reduzida em ambos os tratamentos de combinação com qualquer taxa de *P. chlamydosporia*.

Tabela 4. Comparações de crescimento de tomate no término do experimento de estufa de tomate (dados de dois experimentos combinados).

Nº do Tratamento	Altura da planta (cm) ^a	Peso seco da planta (g) ^a	formação de cecídios da raiz ^a
1. nt, n-inf. controle	28,50 ± 1,61 cd	8,16 ± 0,18 e	0,00 ± 0,00 a
2. nt, rkn controle	19,67 ± 1,23 a	3,18 ± 0,38 a	8,33 ± 0,21 g
3. nt + Pc 1, rkn	26,00 ± 0,86 bc	5,23 ± 0,42 b	7,33 ± 0,33 fg
4. nt + Pc 2, rkn	24,00 ± 1,29 b	4,89 ± 0,30 b	6,17 ± 0,40 de
5. aba0.1 rkn	27,33 ± 0,72 cd	5,24 ± 0,35 b	6,67 ± 0,21 ef
6. aba0.1 + Pc 1, rkn	27,83 ± 0,65 cd	6,78 ± 0,48 cd	5,67 ± 0,49 cde
7. aba0.1 + Pc 2, rkn	29,67 ± 0,96 d	7,87 ± 0,55 e	5,50 ± 0,50 cd
8. aba0.3. rkn	26,17 ± 2,14 bc	6,31 ± 0,21 c	5,00 ± 0,52 c
9. aba0.3 + Pc 1, rkn	27,33 ± 0,96 cd	7,74 ± 0,18 de	2,17 ± 0,17 b
10. aba0.3 + Pc 2, rkn	29,50 ± 1,29 d	8,03 ± 0,36 e	3,00 ± 0,63 b

nt = nenhum tratamento das sementes; n-inf. = sem rkn (nematódeos do nó da raiz, *Meloidogyne incognita* raça 1); Pc 1 = *Pochonia chlamydosporia* taxa 1 (2000 clamidósporos/g de solo); Pc 2 = *P. chlamydosporia* taxa 2 (4000 clamidósporos/g de solo); aba = revestimento das sementes com abamectina a 0,1 ou 0,3 mg/ semente). ^a Médias com erro padrão (P = 0,05). Letras idênticas na mesma coluna indicam que os resultados não diferem significativamente.

O número de fêmeas reprodutivas, indicadas pelo número de ovos, não diferem substancialmente, indicando que o BCO não parasitou os nematódeos em desenvolvimento ou adultos (Tabela 5). O número de ovos variou consideravelmente e somente os tratamentos com a taxa elevada de abamectina tiveram menores números de ovos do que o controle. Resultados similares foram obtidos por extração de J2 do solo.

Tabela 5. Populações de nematódeos do nó da raiz no término do experimento de estufa de tomate (dados de dois experimentos combinados).

Tratamento	Massas de ovos/raiz ^a	Contagem de ovos/raiz ^a	J2/50ml de solo ^a
1. nt, n-inf. controle	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a	0,0 ± 0,0 a
2. nt, rkn controle	454,2 ± 85,5 c	35913 ± 92328 d	56,5 ± 33,3 bc
3. nt, + Pc 1, rkn	377,5 ± 53,5 c	276800 ± 27844 cd	84,5 ± 31,7 c
4. nt, + Pc 2, rkn	444,2 ± 80,2 c	261266 ± 32880 cd	22,8 ± 13,1 ab
5. aba0.1, rkn	454,2 ± 62,7 c	346133 ± 39003 d	20,3 ± 4,3 ab
6. aba0.1 + Pc 1, rkn	418,3 ± 69,3 c	293866 ± 33768 cd	54,3 ± 33,2 bc
7. aba0.1 + Pc 2, rkn	475,8 ± 89,1 c	247466 ± 35400 cd	16,3 ± 7,0 ab
8. aba0.3, rkn	381,7 ± 120,3 c	205867 ± 66056 bc	7,2 ± 5,4 ab
9. aba0.3 + Pc 1, rkn	147,5 ± 24,0 ab	100800 ± 23468 ab	3,0 ± 2,9 ab
10. aba0.3 + Pc 2, rkn	315,0 ± 97,9 bc	193600 ± 39476 bc	3,5 ± 1,9 ab

nt = nenhum tratamento das sementes; n-inf. = sem rkn (nematódeos do nó da raiz, *Meloidogyne incognita* raça 1); Pc 1 = *Pochonia chlamydosporia* taxa 1 (2000 clamidósporos/g de solo); Pc 2 = *P. chlamydosporia* taxa 2 (4000 clamidósporos/g de solo); aba = revestimento das sementes com abamectina a 0,1 ou 0,3 mg/ semente). ^a Médias com erro padrão (P = 0,05). Letras idênticas na mesma coluna indicam que os resultados não diferem significativamente.

Todos os tratamentos aumentaram o número de frutos por planta, o peso do fruto total bem como o peso do fruto médio comparado com o controle não-tratado (Tabela 6). A combinação das altas taxas de abamectina e *P. chlamydosporium* teve a maior parte dos frutos e o maior

5 peso de fruto total.

Tabela 6. Produção de tomate em experimento de estufa (dados de dois experimentos combinados).

Tratamento	Número de frutos/ planta	Peso de fruto total / planta (g) ^a	Peso do fruto (g) ^a
1. nt, n-inf. controle	58,2 ± 3,9 f	313,2 ± 23,9 e	5,42 ± 0,38 bc
2. nt. rkn controle	9,5 ± 2,3 a	42,1 ± 10,7 a	3,72 ± 0,80 a
3. nt + Pc 1, rkn	21,5 ± 5,7 ab	106,6 ± 27,3 ab	5,05 ± 0,29 bc
4. nt + Pc 2, rkn	28,0 ± 3,9 bc	142,6 ± 16,8 b	5,16 ± 0,13 bc
5. aba0.1, rkn	31,0 ± 4,6 bcd	160,3 ± 22,8 bc	5,19 ± 0,18 bc
6. aba0.1 + Pc 1, rkn	34,2 ± 5,9 cd	160,7 ± 28,0 bc	4,65 ± 0,17 ab
7. aba0.1 + Pc 2, rkn	41,8 ± 3,7 de	217,7 ± 23,2 cd	5,24 ± 0,38 bc
8. aba0.3, rkn	40,5 ± 1,5 cde	243,3 ± 11,8 d	6,00 ± 0,14 c
9. aba0.3 + Pc 1, rkn	41,2 ± 3,8 de	218,9 ± 33,7 cd	5,19 ± 0,39 bc
10. aba0.3 + Pc 2, rkn	47,8 ± 6,6 ef	259,6 ± 30,2 de	5,59 ± 0,36 bc

nt = nenhum tratamento das sementes; n-inf. = sem rkn (nematódeos do nó da raiz, *Meloidogyne incognita* raça 1); Pc 1 = *Pochonia chlamydosporia* taxa 1 (2000 clamidósporos/g de solo); Pc 2 = *P. chlamydosporia* taxa 2 (4000 clamidósporos/g de solo); aba = revestimento das sementes com abamectina a 0,1 ou 0,3 mg/ semente). ^a Médias com erro padrão (P = 0,05).

5 Letras idênticas na mesma coluna indicam que os resultados não diferem significativamente.

Exemplo 3. Prova de campo de minilote de tomate

Nove minilotes (3 m de diâmetro, 12 cm de profundidade) foram cada preenchidos com aproximadamente 350000 cm³ de terra de campo (terra preta arenosa, pH 7.2) obtido de um campo adjacente sem infestação significativa de nematódeos parasitas de plantas. Mudanças de tomate (*Lycopersicum esculentum* cv. Tiny Tim) foram cultivadas a partir de semente tratada com abamectina (0,3 mg a.i./ semente) ou a partir de semente tratada com Apron/Maxim. Foram semeadas em bandejas de mudas com substrato de transplante comercial (Sunshine mix). O substrato foi ou não-aprimorado ou aprimorado com *P. chlamydosporia* (4000 clamidósporos/cm³ de substrato). Depois de 3 semanas em uma estufa, as mudas foram transplantadas para dentro dos 9 minilotes. Cada lote foi um bloco randomizado com 4 tratamentos e três plantas por tratamento. Cada área de plantio foi infestada distribuindo 10.000 ovos de *M. incognita* raça 1 dentro de três furos de 5 cm de profundidade aproximadamente 5 cm de cada transplante. Os lotes foram irrigados através de irrigação de baixa pressão e fertilizados de acordo com o padrão local. Depois de aproximadamente 10 semanas as plantas frutificaram e foram colhidas três vezes durante as 3 semanas seguintes. Foram tomados o número de frutos e peso. Todos os dados foram submetidos a ANOVA e separação média com Fisher's LSD (P = 0,05).

Resultados

A qualidade do experimento foi excelente. Tanto o revestimento de sementes nematicida quanto o BCO aumentaram a produção significativamente (Tabela 7). Tanto o número médio de frutos por planta quanto o peso do fruto total médio aumentaram em resposta aos tratamentos. Em contraste com experimentos anteriores, o BOC não diferiu do tratamento químico em termos de resposta de produção. NO entanto, ambas as aplicações únicas foram superadas pelo tratamento combinado de *P. chlamydosporia* e abamectina. Em contraste com os experimentos de estufa, a população de ovos na colheita foi a maior no tratamento combinado. Isto pode ser uma indicação para o papel de outros

microorganismos que em solo de campo natural frequentemente reforçam a destruição de raízes parasitadas por nematódeos do nó da raiz. Raízes protegidas tipicamente têm o maior e mais saudável sistema de raízes deste modo proporcionando sítios abundantemente alimentícios para os

5 nematódeos.

Tabela 7. Produção de tomate em prova de campo de minilote

Tratamentos	Número de frutos/ planta ^a	Peso total do fruto/ Planta ^a	Formação de cecídios das raízes na colheita ^a	Ovos de <i>M. incognita</i> / planta ^a
Controle não tratado	55,8 ± 5,5 a	214,7 ± 23,9 a	8,1 ± 0,3 a	134.500 ± 30.300 a
<i>P. chlatnydosporia</i>	70,7 ± 4,1 b	271,5 ± 17,4 b	5,8 ± 0,5 b	216.600 ± 34.700 ab
abamectina 0,3 mg/semente	69,0 ± 3,2 b	290,6 ± 12,6 b	4,5 ± 0,2 c	171.400 ± 37.100 a
<i>P. chlatnydosporia</i> + abamectina 0,3 mg/ semente	81,4 ± 2,9 c	321,8 ± 20,6 c	4,7 ± 0,3 c	306.300 ± 46.000 b

^a Médias com erro padrão (P = 0,05). Letras idênticas na mesma coluna indicam que os resultados não diferem significativamente.

Os resultados apresentados nestes exemplos demonstraram que a combinação de revestimento de sementes de abamectina com um fungo destruidor de nematódeos *P. chlamydosporium* é uma nova estratégia de êxito para utilizar a potência de ambos os sistemas enquanto ajudando a superar suas deficiências individuais.

Exemplo 4: Provas de nematódeos do nó da raiz

Neste projeto nós avaliamos os benefícios potenciais de revestimento de sementes com combinações de abamectina com aplicações no solo de *Pasteuria penetrans* sobre a eficácia contra nematódeos do nó da raiz e os benefícios potenciais para produção da planta.

Semente de tomate revestida com abamectina (0,3 mg a.i./semente) e não tratada (cv. Kirby) foi proporcionada pela Syngenta Crop Protection. Os tratamentos foram semeados em bandejas de semeadura individuais. Depois de 3 semanas de incubação em uma estufa a $25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$, as mudas foram transplantadas para dentro de potes de 1500 cm³ contendo o solo de teste. O solo foi coletado de um campo no UC South Coast Research and Extension Center at Irvine (terra preta arenosa de San Emigdio, 12,5% de areia, 12% de argila, 75,4% de lodo, 0,45 OM, pH 7.4). Para melhorar a aeração do solo e drenagem da água de irrigação, 2/3 do solo foi misturado com 1/3 (v/v) de areia de reboco. O solo foi pasteurizado e infestado com nematódeos do nó da raiz. Inóculo de *Meloidogyne incognita* raça 3 foi cultivado sobre tomate cv. UC 82 por cerca de três meses em culturas de estufa. Ovos de nematódeos foram colhidos dos sistemas de raízes por uma modificação de um método de branqueamento / peneiramento (Hussey e Barker, Plant Disease Reporter, 57:1025-1028 (1973)) e usados para infestadar o solo de teste com 1000 ovos de *M. incognita* raça 3 por 100 cm³. *Pasteuria penetrans* foi obtida da coleção de cultura de Nematologia da University of California Riverside. O inóculo foi cultivado sobre plantas de tomate infestadas com nematódeos do nó da raiz. Nos tratamentos com *Pasteuria*, o solo foi aprimorado com aproximadamente 1×10^5 endosporos/g de solo. O experimento foi arranjado como um bloco randomizado completo com 6 replicações e incubado em

uma estufa a $26^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ com luz ambiente. Todos os potes foram fertilizados com Osmocote 14-14-14 (taxa do rótulo para produção de tomate). Foi aplicada irrigação conforme necessário. Dois meses depois de transplantar, os topos das plantas foram cortados ao nível do solo, secados em forno e pesados. As raízes foram classificadas para formação de cecídios em uma escala de 0 a 10 (Zeck, Bayer AG, Pflanzenschutz-Nachrichten, 24:141-144 (1971)). Todos os dados foram submetidos a ANOVA e, caso apropriado, separação das médias com Fisher's LSD (SuperANOVA, Abacus, Berkeley, CA).

10 Resultados

No nível de infestação testado, a formação de cecídios do nó da raiz no controle não tratado foi grave (Tabela 8). O revestimento das sementes com abamectina reduziram a formação de cecídios por aproximadamente duas classes de classificação o que está dentro da faixa de eficácia tipicamente observada. O agente de biocontrole reduziu a formação de cecídios das raízes somente ligeiramente. A combinação tanto de abamectina quanto do agente de biocontrole *P. penetrans* resultou na menor classificação de cecídios e aumentou significativamente o peso do topo das plantas comparadas com o controle. Além disso, foi o único tratamento que reduziu significativamente o nível da população de nematódeos do nó da raiz ao final do experimento. Os resultados demonstram a ação sinérgica pelo uso combinado da semente de abamectina e as bactérias.

Tabela 8. Formação de cecídios das raízes, peso da planta e nível da população de nematódeos do nó da raiz no solo ao término do experimento.

Tratamentos	Classificação dos cecídios das raízes (0 a 10)	Peso seco do topo da planta (g)	Solo J2/50 cc
controle não tratado	5,8 ± 0,5 c	29,5 ± 2,4 a	155 ± 75 b
abamectina*	3,3 ± 0,3 ab	31,3 ± 1,8 ab	95 ± 15 b
P. penetrans**	5,2 ± 0,4 bc	33,2 ± 1,2 ab	135 ± 32 b
abamectina* + P. penetrans**	2,3 ± 0,5 a	36,9 ± 0,6 b	44 ± 16 a

* semente revestida (0,3 mg a.i. /semente)

** solo incorporado (1x10E5/g solo)

5 means ± erro padrão; mesma letra indicam diferença não-significativa de acordo com Fisher's Protected LSD (0,01)
médias ± erro padrão; mesma letra indicam diferença não-significativa de acordo com Fisher's Protected LSD (0,01) depois de transformação de log (x+1)

Todas as publicações e requerimentos de patente citados nesta especificação são aqui, a este requerimento de patente, incorporados por meio de referência como se cada individual publicação ou requerimento de patente individual fossem especificamente e individualmente indicados para

5 serem incorporados por meio de referência.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para tratar uma planta, o método compreendendo aplicar uma composição pesticida compreendendo um nematicida a um material de propagação vegetal; e aplicar no mínimo um agente de biocontrole.

5 2. Método para melhorar a saúde do transplante de uma planta, compreendendo aplicar uma composição pesticida compreendendo no mínimo um nematicida a um material de propagação vegetal; e aplicar no mínimo um agente de biocontrole antes de transplantar a planta.

10 3. Método de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que a etapa de aplicar a composição pesticida ao material de propagação vegetal compreende tratar o meio de plantio no qual o material de propagação vegetal é plantado com a composição pesticida.

15 4. Método de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que a etapa de aplicar a composição pesticida ao material de propagação vegetal compreende tratar o material de propagação vegetal com a composição pesticida.

5. Método de acordo com a reivindicação 1 ou 2, em que o nematicida é uma avermectina.

20 6. Método de acordo com a reivindicação 3, em que a avermectina é abamectina.

7. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o material de propagação vegetal é uma semente.

25 8. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a etapa de aplicar o no mínimo um agente de biocontrole compreende tratar o material de propagação vegetal com o no mínimo um agente de biocontrole antes do plantio.

30 9. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 7, em que a etapa de aplicar o no mínimo um agente de biocontrole compreende inocular o meio de plantio no qual o material de propagação vegetal é plantado com o no mínimo um agente de biocontrole.

10. Método de acordo com a reivindicação 9, em que a etapa de inocular o meio de plantio com o no mínimo um agente de biocontrole é rea

lizada antes de plantar o material de propagação vegetal.

11. Método de acordo com a reivindicação 9, em que a etapa de inocular o meio de plantio com o agente de biocontrole é realizada ao plantar o material de propagação vegetal.

5 12. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o no mínimo um agente de biocontrole é um agente de biocontrole antagonista de nematódeos.

10 13. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o no mínimo um agente de biocontrole é um fungo endoparasita.

14. Método de acordo com a reivindicação 13, em que o fungo é um membro selecionado entre Chytridiomicetos, Oomicetos, Zigomicetos, Deuteromicetos, e Basidiomicetos.

15 15. Método de acordo com a reivindicação 13, em que o fungo é selecionado entre *Catenaria*, *Myzocytiium*, *Haptoglossa*, *Meristacrum*, *Dactylella*, *Paecilomyces*, *Cephalosporium*, *Meria*, *Harposporium*, *Nematoctonus*, *Rhopalomyces*, *Verticillium*, *Pochonia*, *Saprolegnia*, *Cylindrocarpon*, *Myrothesium*, *Nematophthora*, *Hirsutella*, e *Monoacrosporium*.

20 16. Método de acordo com a reivindicação 13, em que o fungo é selecionado entre *Pochonia chlamydosporia* e *Myrothesium verrucaria*.

17. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, em que o no mínimo um agente de biocontrole é selecionado entre espécies *Pasteuria*, rizobactérias, e micorrizas.

25 18. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 12, em que o no mínimo um agente de biocontrole biológico é uma bactéria.

19. Método de acordo com a reivindicação 18, em que a bactéria é selecionada entre *Pasteuria*, *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, e *Bacillus*.

30 20. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 13 a 16, compreendendo adicionalmente aplicar um segundo agente de biocontrole.

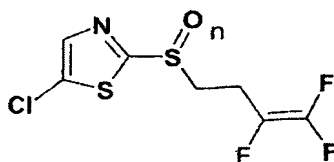
21. Método de acordo com a reivindicação 20, em que o segundo agente de biocontrole é um segundo fungo endoparasita.

22. Método de acordo com a reivindicação 20, compreendendo adicionalmente aplicar um segundo agente de biocontrole que é uma bactéria

23. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a composição pesticida compreende no mínimo um fungicida ao qual o no mínimo um agente de biocontrole é resistente.

24. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que a composição pesticida compreende no mínimo um inseticida, nematicida, acaricida ou molusquicida adicional.

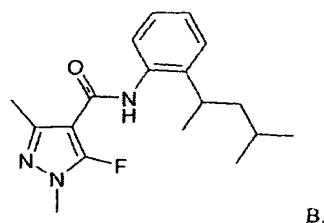
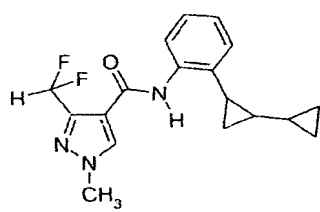
25. Método de acordo com a reivindicação 24, em que o no mínimo um inseticida, nematicida, acaricida ou molusquicida adicional é selecionado entre aldicarb, tiadicarb, oxamil, metomil, cianoimina, acetamiprid, nitrometileno nitempiram, clotianidin, dimetoato, dinotefuran, fipronil, lufenuron, piripfoxifen, tiacloprid, fluxofenime, imidacloprid, tiametoxam, beta ciflutrin, fenoxicarb, lãmda cialotrin, diafenthiuron, pimetrozine, diazinon, dissulfoton, profenofos, furatiocarb, ciromazin, clorantraniliprol (Rynaxapyr), cipermetrin, tau-fluvalinato, teflutrin, produtos de *Bacillus thuringiensis* e um composto de fórmula X:



X, em que n é 0, 1, ou 2.

26. Método de acordo com a reivindicação 24, em que a composição pesticida compreende adicionalmente no mínimo um fungicida adicional.

27. Método de acordo com a reivindicação 26, em que o fungicida adicional é selecionado entre azoxistrobin, difenoconazol, fludioxonil, fluoxastrobin, orisastrobine, enestrobin, metalaxil, R-metalaxil, mefenoxam, miclobutanil, captan, tiabendazol, tiofanato-metil, tiram, acibenzolar s-metil, picoxistrobin, trifloxistrobin, um composto de fórmula A e um composto de fórmula B, ou um tautômero de cada composto representado abaixo:



28. Composição de combinação compreendendo um agente de controle pesticida compreendendo uma quantidade eficaz de no mínimo um nematicida e uma quantidade eficaz de no mínimo um agente de biocontrole.

29. Composição de combinação de acordo com a reivindicação 28, em que o nematicida é uma avermectina.

30. Composição de combinação de acordo com a reivindicação 29, em que a avermectina é abamectina.

31. Composição de combinação de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 30, em que o no mínimo um agente de biocontrole é um agente de biocontrole anti-nematódeo.

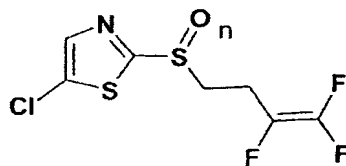
32. Composição de combinação de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 31, compreendendo adicionalmente uma semente ou planta à qual o agente de controle pesticida e agente de biocontrole foram aplicados.

33. Composição de combinação de acordo com a reivindicação 32, compreendendo adicionalmente meio de plantio, em que a composição está contida dentro de um recipiente.

34. Composição de combinação de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 33, em que a composição pesticida compreende no mínimo um inseticida, nematicida, acaricida ou molusquicida adicional.

35. Composição de combinação de acordo com a reivindicação 34, em que o no mínimo um inseticida, nematicida, acaricida e/ou molusquicida adicional é selecionado entre o grupo consistindo de aldicarb, tiadicarb, oxamil, metomil, cianoimina, acetamiprid, nitrometileno nitempiram, clotianidina, dimetoato, dinotefuran, fipronil, lufenuron, piripoxifen, clorantulaniliprol (Rynaxypyr), tiacloprid, fluxofenime, imidacloprid, tiametoxam, beta ciflutrin, fenoxicarb, lãmda cialotrin, diafentiuron, pimetrozina, diazinon, dissulfoton, profenofos, furatiocarb, ciromazin, cipermetrin, tau-fluvalinato, teflutrin, pro-

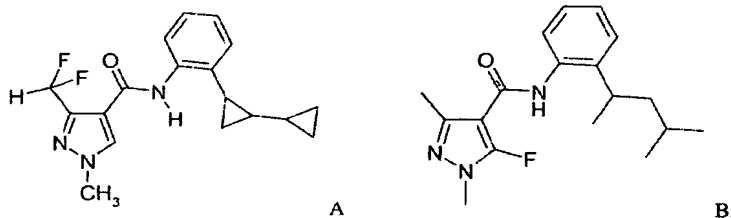
duto de *Bacillus thuringiensis*, clorantraniliprol e um composto de fórmula X:



X, em que n é 0, 1, ou 2.

36. Composição de combinação de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 35, em que a composição pesticida compreende adicionalmente no mínimo um fungicida adicional.

37. Composição de combinação de acordo com a reivindicação 36, em que o fungicida adicional é selecionado entre azoxistrobin, difenocnazol, fludioxonil, fluoxastrobin, orisastrobin, enestrobin, metalaxil, R-metalaxil, mefenoxam, miclobutanil, captan, tiabendazol, tiram, acibenzolar s-metil, picoxistrobin, trifloxistrobin, um composto de fórmula A e um composto de fórmula B, ou um tautômero de cada composto representado abaixo:



38. Composição de combinação de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 37, em que o no mínimo um agente de biocontrole é um fungo endoparasita.

39. Composição de combinação de acordo com a reivindicação 38, em que o fungo é um membro selecionado entre *Catenaria*, *Myzocyttium*, *Haptoglossa*, *Meristacrum*, *Dactylella*, *Paecilomyces*, *Cephalosporium*, *Meri-a*, *Harposporium*, *Nematoctonus*, *Myrothecium*, *Rhopalomyces*, *Verticillium*, *Pochonia*, *Saprolegnia*, *Cylindrocarpon*, *Nematophthora*, *Hirsutella*, e *Mono-acrosporium*.

40. Composição de combinação de acordo com a reivindicação 38, em que o fungo é selecionado entre *Pochonia chlamydosporia* e *Myrothecium verrucaria*.

41. Composição de combinação de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 37, em que no mínimo um agente de biocontrole é uma bactéria.

5 42. Composição de combinação de acordo com a reivindicação 41, em que a bactéria é uma rizobactéria.

43. Composição de combinação de acordo com a reivindicação 41, em que a bactéria é selecionada entre *Pasteuria*, *Pseudomonas*, *Coly-nebacterium*, e *Bacillus*.

10 44. Composição de combinação de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 43, compreendendo adicionalmente no mínimo um agente de biocontrole adicional.

45. Composição de combinação de acordo com qualquer uma das reivindicações 38 a 40, compreendendo adicionalmente no mínimo um agente de biocontrole antagonista de nematódeos adicional.

15 46. Composição de combinação de acordo com a reivindicação 45, em que o no mínimo um agente de biocontrole antagonista de nematódeos adicional é um segundo fungo endoparasita.

47. Composição de combinação de acordo com a reivindicação 45, em que o no mínimo um agente de biocontrole adicional é uma bactéria.

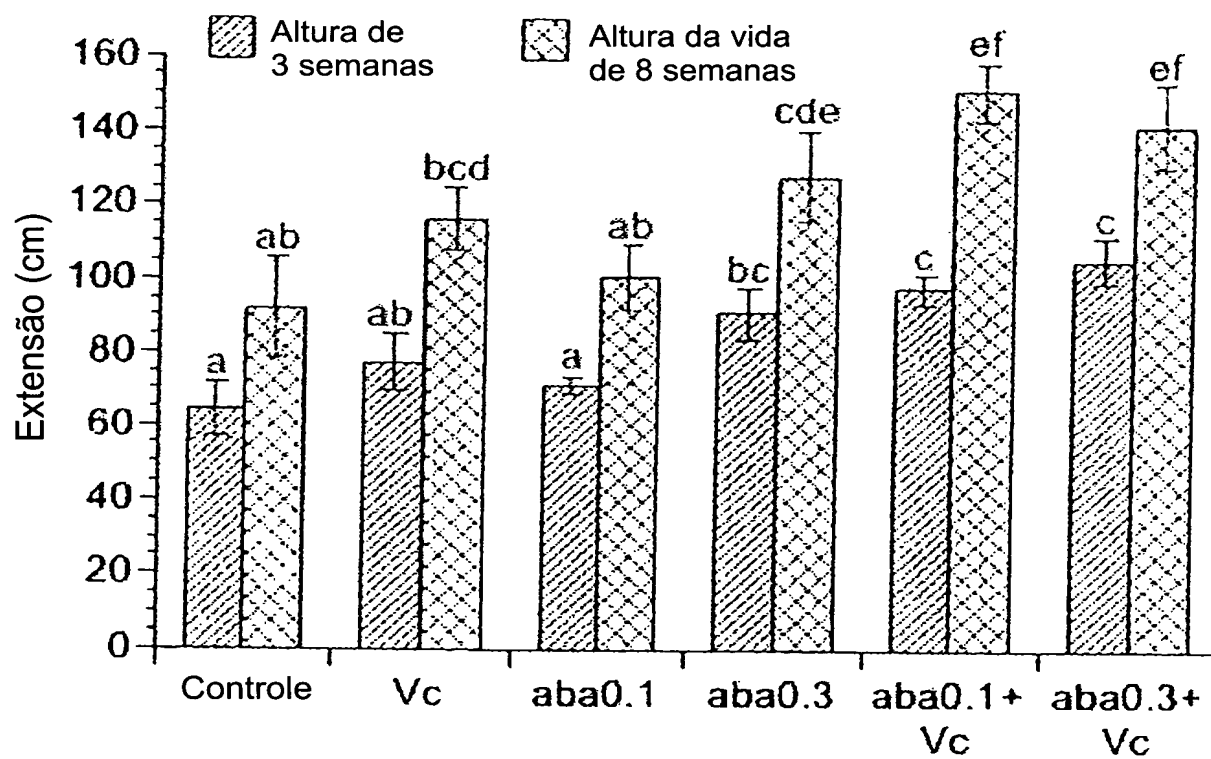
20 48. Composição de combinação de acordo com qualquer uma das reivindicações 28 a 47, em que o agente de controle pesticida compreende adicionalmente um fungicida ao qual o agente de biocontrole é resistente.

25 49. Material de propagação vegetal tratado com a composição de combinação como definido em qualquer uma das reivindicações 28 a 48.

50. Método de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 27, em que a composição pesticida é aplicado ao locus do material de propagação vegetal e o agente de biocontrole respectivamente inocula o locus do material de propagação vegetal.

30 51. Método de acordo com a reivindicação 50, em que uma composição de combinação definido em qualquer uma das reivindicações 28 a 48 é aplicada ao solo.

FIG. 1



RESUMO

Patente de Invenção: **"COMBINAÇÕES DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO COM UM REVESTIMENTO DE SEMENTE NEMATICIDA".**

- Esta invenção proporciona combinações de no mínimo um agente de biocontrole biológico e no mínimo um nematicida para reforçar a proteção da planta contra pragas e patógenos.
- 5