

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 964 689**

51 Int. Cl.:

A01N 63/12 (2010.01)

A01N 25/28 (2006.01)

A01P 7/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.03.2021** **PCT/DE2021/100226**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.09.2021** **WO21180272**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.03.2021** **E 21712951 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.08.2023** **EP 4061135**

54 Título: **Cápsulas de núcleo líquido para el control de plagas**

30 Prioridad:

10.03.2020 DE 102020106533

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

09.04.2024

73 Titular/es:

KATZ BIOTECH AG (100.0%)
An der Birkenpfuhlheide 10
15837 Baruth/Mark, DE

72 Inventor/es:

HELLMUND, MARKUS;
RADEMACHER, JÖRG y
HÄUSSLER, ANDREA

74 Agente/Representante:

RODES CASCALES, Inmaculada

ES 2 964 689 T3

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

DESCRIPCIÓN

Cápsulas de núcleo líquido para el control de plagas

5 **Memoria descriptiva**

La presente invención se refiere a cápsulas de núcleo líquido para el control de plagas, en donde las cápsulas de núcleo líquido tienen un núcleo líquido a base de una emulsión con al menos un aceite vegetal y un líquido acuoso, que comprende nematodos entomopatógenos y una envoltura de hidrogel circundante. Además, la invención se refiere a un método para producir dichas cápsulas de núcleo líquido y un método para controlar plagas, en donde dichas cápsulas de núcleo líquido se aplican a una población de plantas.

Los nematodos (lombrices) son biotas filamentosas del suelo que tienen una longitud de 0,5 mm, por ejemplo. Se encuentran entre las criaturas pluricelulares más ricas en especies de la Tierra y se encuentran de forma natural en todos los hábitats imaginables. Los nematodos entomopatógenos (*entomon*-insecto en griego) (EPN) son aquellos nematodos que actúan como enemigos naturales de los insectos y, en este caso, suelen utilizar a los insectos como organismos huéspedes o, en general, dañan a dichos insectos. En términos de control biológico de plagas, el término nematodos entomopatógenos también incluye a los nematodos parásitos de caracoles, ya que éstos son comparables a los nematodos patógenos de insectos en cuanto a su biología, reproducción, aplicación y efecto. Por lo tanto, el término nematodos entomopatógenos debe ampliarse para incluir no sólo a los nematodos que dañan a los insectos. Además de los nematodos que dañan a los caracoles, también puede tratarse, por ejemplo, de nematodos depredadores que cazan activamente a sus presas, por ejemplo, otros nematodos, y que también se utilizan en el control biológico de plagas, por ejemplo, para combatir nematodos que dañan las raíces.

Algunos nematodos suelen estar muy especializados en determinados insectos o caracoles, de modo que sólo infestan a las especies respectivas y, por tanto, son inofensivos para el ser humano, los animales de sangre caliente y las plantas. Esta propiedad hace que los nematodos entomopatógenos sean particularmente adecuados para el control biológico de plagas.

En la protección biológica de los cultivos, los nematodos se encuentran actualmente entre los adversarios más importantes de los insectos y caracoles que viven en o sobre el sustrato para plantas (por ejemplo, turba, compost, minerales, plásticos). En este contexto, las fases larvarias de muchos escarabajos (larvas) o moscas (gusanos) desempeñan un papel especialmente importante, ya que dichas fases larvarias pueden causar daños considerables en la región radicular de la planta. Los insectos y caracoles que causan daños por encima del suelo también pueden controlarse con ayuda de los nematodos, por ejemplo si los animales se adentran en el suelo para pupar o poner huevos, se mueven por el suelo o son accesibles para los nematodos de otra forma. Por regla general, los nematodos entomopatógenos buscan activamente sus respectivos organismos hospedadores e invaden dichos organismos, de modo que los animales infectados (por ejemplo, las larvas) suelen morir en dos o tres días. A continuación, los nematodos se multiplican en los cuerpos muertos e infestan a otras larvas vivas o a los respectivos organismos hospedadores. Este proceso continúa hasta que los nematodos no encuentran más organismos hospedadores vivos.

En la protección biológica de los cultivos, los nematodos entomopatógenos ya se utilizan, por ejemplo, para controlar las larvas de los escarabajos de hojas de jardín, los escarabajos de junio, los gorgojos de la vid y los gusanos de la raíz del maíz, y para controlar los gusanos de la tábula de los prados y el mosquito del hongo, y para controlar las orugas de la polilla procesionaria del

roble, la polilla del manzano y la polillas deltoides y las polillas nocturnas, y para controlar las larvas y pupas de los trips y para controlar los caracoles de campo y los caracoles de sendero (babosas). Los ámbitos de aplicación son el cuidado de céspedes y zonas verdes públicas, los viveros de árboles, la fruticultura, el cultivo de hortalizas, hierbas y plantas ornamentales y el cultivo de maíz. Las especies de nematodos *Heterorhabditis bacteriophora*, *Heterorhabditis downesi*, *Steinernema feitiæ*, *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema kraussel* y *Phasmarhabditis hermaphrodita* se usan en particular para estos fines.

La producción comercial en masa de nematodos entomopatógenos (EPN) suele llevarse a cabo mediante procesos microbiológicos en biorreactores de cultivo líquido (fermentadores). Tras la propagación, los nematodos suelen introducirse en un polvo mineral arcilloso, por ejemplo, de unos 7.500.000 animales/g. Dicho polvo mineral arcilloso sirve como material portador que puede repartirse en bolsas. Es conveniente almacenar el producto en un lugar fresco a una temperatura de entre 4 °C y 10 °C aproximadamente hasta su utilización. De acuerdo con las recomendaciones actuales, la tasa de aplicación preferida para la abrumadora cantidad de plagas que pueden residir en el sustrato para plantas es de aproximadamente 500.000 EPN/m².

En una aplicación convencional, el producto, es decir, la mezcla de EPN y material arcilloso en polvo, se dispensa en agua y se aplica a la zona a tratar mediante riego o pulverización. La cantidad de agua necesaria oscila entre 100 y 5.000 ml/m², por ejemplo en función del método de aplicación, las condiciones ambientales y el cultivo a tratar. La dispersión debe agitarse o sacudirse regularmente durante su aplicación para evitar que los nematodos se hundan en la dispersión. Sin embargo, en este caso deben evitarse fuerzas de cizallamiento intensas para no dañar los nematodos. Tras el tratamiento, el sustrato para plantas debe mantenerse suficientemente húmedo durante el periodo de control, ya que de lo contrario los nematodos pueden secarse rápidamente. Además, los nematodos no pueden moverse en superficies secas, lo que dificulta la búsqueda de los hospedadores. Sin embargo, efectos como que los nematodos sean expulsados del sustrato del suelo, por ejemplo durante el riego, pueden hacer que el efecto de los nematodos se reduzca aún más.

En general, el tratamiento con nematodos entomopatógenos se lleva a cabo en el momento de la primera aparición de las fases de la plaga a controlar. Si no hay plagas, los nematodos entomopatógenos normalmente sólo pueden sobrevivir en el sustrato durante unos días. En general, el éxito del tratamiento con nematodos entomopatógenos requiere el momento adecuado del tratamiento, un método de aplicación eficaz y suficiente humedad en el sustrato para plantas durante todo el periodo de control. Normalmente, el tratamiento debe repetirse a intervalos regulares.

Ya hay intentos de introducir nematodos entomopatógenos en una población de plantas mediante otras formas de administración. Por ejemplo, la patente de EE. UU. 4.753.799 describe una encapsulación a base de alginato para nematodos. Las cápsulas se pueden recubrir para reducir la pérdida de agua. El documento WO 2016/176764 A1 también tiene como materia objeto las cápsulas de alginato con nematodos. Las cápsulas de alginato se cubren con celulosa y se secan. Esto permite un almacenamiento a largo plazo durante varios meses. Sin embargo, of problema de estos nematodos encapsulados es que el efecto de las cápsulas liberadas en el control de plagas es siempre relativamente corto. El documento WO 2016/176764 A1 describe cápsulas que se descomponen en un plazo de entre un día y una semana. Además, los experimentos de liberación a los que se hace referencia en la patente de EE. UU. 4.753.799 sólo se realizan durante un periodo de 24 a 48 horas.

El documento WO 2017/097282 A1 describe cápsulas de núcleo líquido para el control de plagas, en donde las cápsulas comprenden un núcleo líquido, una envoltura de hidrogel y una envoltura exterior que inhibe la difusión.

5 El documento WO 03/059503 A1 describe cápsulas de núcleo líquido que contienen los nematodos *Steinernema feltiae* en una disolución con sacarosa y dextrano en agua en un núcleo líquido.

10 Patel y Vorlop (Biotechnology Techniques, volumen 8, n.º 8, págs. 569-574) describen cápsulas de núcleo líquido que contienen juveniles infecciosos de *Heterorhabditis* sp. y carboximetilcelulosa en agua, en donde la envoltura consiste en un hidrogel.

15 El documento de Hiltbold et al. (Plant Soil (2012) 358:11-25) describe cápsulas que contienen *Heterorhabditis bacteriophora*, en donde las cápsulas se preparan vertiendo una composición que contiene gluconolactato cálcico, goma xantana, un colorante alimentario y los nematodos en una disolución acuosa de alginato sódico. El documento de Kim et al. (BioControl (2015) 60:527-535) describe cápsulas de alginato comparables con *Heterorhabditis bacteriophora*, en donde las cápsulas se tratan posteriormente con una disolución de cloruro de calcio para endurecer las cápsulas.

20 Al menos en la actualidad no existe en el mercado ningún producto con nematodos encapsulados en forma de partículas.

25 En vista de ello, el objetivo de la invención es mejorar la encapsulación de los nematodos de modo que la aplicación de las cápsulas de nematodos consiga un efecto significativamente prolongado en el control de plagas.

30 Este objetivo se resuelve mediante cápsulas de núcleo líquido con nematodos entomopatógenos, como resultado de la reivindicación 1. Formas de realización preferidas de dichas cápsulas de núcleo líquido son la materia objeto de las reivindicaciones dependientes. Además, este objetivo se resuelve mediante un método para producir dichas cápsulas de núcleo líquido y mediante un método para controlar plagas, tal como se deriva de las otras reivindicaciones independientes y las reivindicaciones dependientes de las mismas.

35 Las cápsulas de núcleo líquido propuestas para el control de plagas tienen un núcleo líquido que comprende nematodos entomopatógenos y una envoltura de hidrogel circundante. Un punto importante de la invención es que el núcleo líquido se forma a base de una emulsión que contiene al menos un aceite vegetal y un líquido acuoso. Sorprendentemente, los autores de la invención pudieron demostrar que, debido a la emulsión en el núcleo de las cápsulas, los nematodos entomopatógenos son mucho más vitales y activos durante un periodo de tiempo más largo en comparación con los productos de nematodos convencionales. Esto hace posible que los nematodos se liberen de las cápsulas de núcleo líquido después de que se hayan aplicado a una población de plantas durante un período de tiempo considerablemente más largo de lo que es posible con los productos de nematodos convencionales. Por ejemplo, las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención permiten que los nematodos se liberen durante un periodo de más de cuatro semanas. En consecuencia, esto amplía la duración del efecto. La necesidad de tratamientos de seguimiento adicionales con la aplicación renovada de las cápsulas durante el periodo de cultivo se reduce significativamente o incluso puede ser posible prescindir de los tratamientos de seguimiento. La emulsión en el núcleo también tiene la ventaja particular de que los nematodos en las cápsulas están mejor protegidos de la sequedad y, por lo tanto, pueden sobrevivir mejor a las fases secas on el sustrato para plantas. Esto da como resultado una mayor eficacia cuando se usan las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención.

En general, el uso de nematodos encapsulados tiene la ventaja particular de que las cápsulas se pueden dosificar con mayor precisión, especialmente en áreas pequeñas y en macetas individuales, que, con una aplicación de riego convencional, por ejemplo. Esto evita la Infradosificación y la sobredosificación lo que, por un lado, aumenta la eficacia. Por otro lado, al evitarse la sobredosificación se obtienen más ventajas económicas. También en comparación con, por ejemplo, una aplicación de riego convencional de nematodos, los nematodos en las cápsulas de núcleo líquido están mejor protegidos contra las fuerzas de cizallamiento. Tampoco se producen cambios en la concentración debido al hundimiento de los nematodos en la formulación. Además, la cantidad de agua utilizada al aplicar las cápsulas de núcleo líquido es significativamente menor que, por ejemplo, en una aplicación de riego. Además, debido a la encapsulación, el agua o la fase líquida permanece en las inmediaciones de los nematodos y no se distribuye en el suelo, como es el caso de una aplicación de riego, por ejemplo. Como resultado, los nematodos están mejor protegidos de la sequedad.

El contenido de aceite en las cápsulas de núcleo líquido o el uso de una emulsión en el núcleo líquido de las cápsulas de acuerdo con la invención tiene la ventaja decisiva adicional de que esto estabiliza significativamente la conformación de las cápsulas durante la producción. En comparación con cápsulas que no tienen contenido de aceite en el núcleo, tienen una conformación mucho más uniforme y redonda. Debido a la menor pérdida de volumen por evaporación de agua asociada a la emulsión, las cápsulas también permanecen dimensionalmente estables a largo plazo. Por un lado, esto es una ventaja cuando se usan las cápsulas de núcleo líquido en la protección de cultivos, pero también cuando se almacenan las cápsulas de núcleo líquido antes de su uso. Los autores de la invención observaron que las cápsulas permanecen dimensionalmente estables durante meses cuando se almacenan en un lugar fresco en recipientes cerrados y preferentemente ventilados. Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención pueden incluso almacenarse en dichos recipientes a temperatura ambiente durante largos periodos sin que aumente la pérdida de agua. El almacenamiento a temperatura ambiente debe realizarse preferentemente con una ventilación especialmente buena. Puede ser útil humedecer la superficie de las cápsulas con agua para almacenarlas durante varios meses. Un almacenamiento especialmente prolongado es posible mediante enfriamiento, por ejemplo entre 4 °C y 10 °C. La necesidad de oxígeno de los nematodos se reduce en estas condiciones, por lo que la vitalidad de los nematodos puede mantenerse durante un periodo muy largo. El enfriamiento también tiene la ventaja de que se ralentiza considerablemente la proliferación de microorganismos perturbadores, por ejemplo el moho.

Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención se pueden usar directamente sin modificaciones adicionales, por ejemplo en agricultura u horticultura, y se pueden aplicar a la población de plantas, por ejemplo usando medios mecánicos. La conformación particularmente estable de las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención ya ofrece ventajas cuando el producto se aplica mecánicamente, ya que la maquinabilidad es muy buena debido a la buena estabilidad y la estandarización resultante del producto, por ejemplo cuando se aplica con esparcidores. Como resultado del efecto sorprendentemente positivo que tiene la emulsión del núcleo de las cápsulas en la vitalidad de los nematodos, los nematodos permanecen aproximadamente igual de activos durante varias semanas después de que las cápsulas de núcleo líquido se hayan aplicado a una población de plantas, en donde los nematodos salen continuamente de las cápsulas de núcleo líquido. El efecto de los nematodos en las plagas se mantiene durante un largo período de tiempo, por ejemplo hasta cuatro semanas, como resultado de esta liberación retardada. Por un lado, la emulsión contribuye a este efecto a largo plazo de las cápsulas de núcleo líquido en uso, ya que esto reduce la evaporación del agua. Por otro lado, la envoltura de hidrogel ofrece protección adicional contra la desecación, por lo que, dependiendo de la aplicación, la protección de la envoltura de hidrogel contra la desecación se puede aumentar

con otras medidas, por ejemplo aumentando el grosor de la pared o usando aditivos en la envoltura.

Los experimentos realizados por los autores de la invención pudieron demostrar que el uso de una emulsión en el núcleo de las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención reduce significativamente la desecación de los nematodos en la cápsula en comparación con una cápsula de núcleo líquido que solo contiene agua en el núcleo (sin emulsión). Mientras que una cápsula de núcleo líquido que tiene un núcleo acuoso se seca completamente en pocas horas, una cápsula de núcleo líquido de acuerdo con la invención que tiene un núcleo a base de una emulsión permanece dimensionalmente estable durante varios días, on cada caso en un sistema abierto a temperatura ambiente. Incluso después de las fases de desecación, que dan como resultado una pérdida casi completa de agua de la cápsula, una película de agua permanece en las inmediaciones de los nematodos. Comparable a una emulsión de agua en aceite, el aceite forma una barrera de difusión para el agua. Los emulsionantes añadidos, por ejemplo, E405, estabilizan esta condición. Una cierta proporción mínima de agua en el núcleo durante la producción de las cápsulas de núcleo líquido, en particular al menos un 30%, es particularmente ventajosa ya que, por un lado, garantiza una película de agua circundante necesaria para la supervivencia de los nematodos y, por otro, es muy conveniente para la formación de la envoltura de hidrogel por razones de tecnología de procesos. Por lo tanto, en general, la cápsula de núcleo líquido de acuerdo con la invención que contiene el núcleo a base de una emulsión ofrece a los nematodos del núcleo suficiente humedad para sobrevivir, de modo que los nematodos puedan salir de las cápsulas de núcleo líquido durante un largo periodo de tiempo durante su uso.

De acuerdo con la invención, el aceite como componente de la emulsión es un aceite vegetal, por ejemplo aceite de semilla de girasol y/o aceite de semilla de colza y/o aceite de oliva. También se permiten combinaciones de diferentes aceites. En principio, por ejemplo, también es posible el uso de aceites perfumados como componente de la emulsión. En general, se pueden usar preferentemente aceites que sean líquidos a temperaturas superiores a aproximadamente 0 °C. Aunque las cápsulas de núcleo líquido se usan generalmente en la protección de las plantas a temperaturas más altas, el uso de aceites que siguen siendo líquidos a temperaturas más bajas es ventajoso para la vitalidad de los nematodos, en particular en lo que respecta al almacenamiento de las cápsulas de núcleo líquido a bajas temperaturas, por ejemplo a temperaturas de frigorífico (4-10 °C). Se usan preferentemente aceites que siguen siendo líquidos a temperaturas de hasta -15 °C o hasta -20 °C.

Preferentemente, in proporción de aceite en la emulsión es de al menos el 10%. Preferentemente, le proporción máxima de aceite en la emulsión es del 70% (p/p). Por ejemplo, la proporción de aceite en la emulsión puede ser un 10% o un 15% o un 20% o un 30% o un 40% o un 50% o un 60% o un 70% (en cada caso p/p). En la producción de las cápsulas de núcleo líquido, una suspensión de los nematodos o el producto de nematodos en agua se mezcla preferentemente con la emulsión para proporcionar la mezcla para el núcleo. Como resultado, la proporción de aceite en el núcleo de las cápsulas de núcleo líquido se reduce ligeramente por lo general. Sin embargo, la proporción de aceite en el núcleo líquido no debe ser, preferiblemente, inferior a un 15%. Por ejemplo, la proporción de aceite en el núcleo puede estar en un intervalo comprendido entre el un 19 y un 68%, en particular entre un 19,4 y un 67,9%.

El componente acuoso (líquido acuoso) de la emulsión puede ser, on particular, agua, por ejemplo agua del grifo o agua tratada, por ejemplo agua desionizada. En principio, las disoluciones salinas isotónicas que corresponden a la osmolaridad fisiológica de los nematodos son más adecuadas. En formas de realización preferidas, el agua para la emulsión se puede enriquecer con oxígeno. Esto puede tener un efecto beneficioso adicional en la vitalidad de los nematodos.

La envoltura de hidrogel circundante es preferentemente una envoltura de alginato, por ejemplo una envoltura de alginato cálcico. Una envoltura de alginato es particularmente adecuada para las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención ya que, por un lado, la producción de dichas cápsulas de núcleo líquido se puede implementar muy bien en términos de tecnología de procesos. Por otro lado, los componentes de la envoltura de alginato se pueden biodegradar muy fácilmente después de aplicarse a un sustrato para plantas y no dejan residuos problemáticos.

En formas de realización particularmente preferidas, las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención comprenden una envoltura de cápsula hecha a partir de un hidrogel a base de alginato, en donde el agua, el aceite vegetal y los nematodos se encuentran en el núcleo de cápsula líquido. Se pueden proporcionar sales y uno o más emulsionantes como agentes auxiliares. Preferentemente, solo se usan sustancias de calidad alimentaria para las cápsulas de modo que las cápsulas sean completamente biodegradables.

En formas de realización preferidas, la envoltura de hidrogel puede contener al menos un aditivo. Las propiedades de la envoltura de hidrogel se pueden adaptar a diferentes aplicaciones por medio de uno o más aditivos, por ejemplo se puede garantizar una mayor protección contra la evaporación de esta manera. Ejemplos de aditivos adecuados son compuestos a base de celulosa, preferentemente metilcelulosa. Otros posibles aditivos son espesantes, tales como goma xantana y/o goma garrofín. Dichos espesantes también se pueden usar ventajosamente para influir en las propiedades de la envoltura de hidrogel de una manera positiva.

Las cápsulas de núcleo líquido individuales comprenden preferentemente un promedio de aproximadamente 1.000 a 15.000 nematodos por cápsula de núcleo líquido. Se prefieren particularmente alrededor de 1.500 a 7.500 nematodos por cápsula de núcleo líquido, por ejemplo, de 2.000 a 7.500 nematodos por cápsula de núcleo líquido. También puede preferirse que haya menos nematodos por cápsula de núcleo líquido, por ejemplo, entre 1.000 y 2.000 nematodos por cápsula de núcleo líquido. Por ejemplo, si los nematodos se van a aplicar a macotas, puede ser ventajoso usar más cápsulas, cada una con menos nematodos, que solo unas pocas cápsulas, cada una con muchos nematodos. El trasfondo de esto es que, por ejemplo, en el caso de la dispensación mecánica, es posible que el número previsto de cápsulas a dispensar no se cumpla con exactitud. Cuantos más nematodos estén contenidos en la cápsula individual y cuantas menos cápsulas se apliquen para la dosis prevista, mayor será la desviación de la dosis si se aplica una cápsula de más o de menos. En este contexto, por ejemplo, se puede preferir particularmente una cantidad de 1.500 a 2.000 nematodos, en particular 1.600 nematodos aproximadamente, por cápsula de núcleo líquido. En general, un recuento y dosificación exactos de nematodos es difícil en la práctica, por lo que estas especificaciones están sujetas a ciertas fluctuaciones y deben entenderse, por ejemplo, como una desviación media de un $\pm 20\%$. Opcionalmente, las desviaciones también pueden ser mayores.

Las cápsulas de núcleo líquido pueden tener un diámetro promedio de, por ejemplo, entre 1 y 30 mm, preferentemente entre 3 y 10 mm o entre 5 y 10 mm. Cuanto más grandes sean las cápsulas, más nematodos pueden estar generalmente contenidos en las cápsulas de núcleo líquido. Como ya se ha explicado en relación con el número de nematodos por cápsula de núcleo líquido, también puede ser ventajoso con respecto al tamaño de las cápsulas de núcleo líquido hacer que las cápsulas sean relativamente pequeñas, de modo que se minimicen los posibles errores de dosificación. En este contexto, un tamaño particularmente preferido de las cápsulas de núcleo líquido es un diámetro de 3 a 6 mm o $4,5 \pm 1,5$ mm. El tamaño de las cápsulas se puede controlar fácilmente en el proceso de producción de las cápsulas de núcleo líquido, como se explica con más detalle a continuación en relación con el proceso de producción de las cápsulas de núcleo líquido.

Preferentemente, el peso por cápsula de núcleo líquido está comprendido, por término medio, entre 10 y 100 mg, preferentemente entre 20 y 80 mg, en particular entre 40 y 80 mg. Se prefiere particularmente un peso en un intervalo de 40 a 60 mg por cápsula de núcleo líquido, en particular, de forma preferente, de aproximadamente 50 mg por cápsula de núcleo líquido. Estas especificaciones se refieren al peso húmedo. El peso de las cápsulas de núcleo líquido también puede variar durante el transcurso del proceso de producción de las cápsulas de núcleo líquido y, por lo tanto, se puede adaptar a diferentes tipos de aplicación de las cápsulas de núcleo líquido. Con el tamaño y el peso, el número de nematodos por cápsula de núcleo líquido o la carga de las cápsulas de núcleo líquido con nematodos también se pueden adaptar a la aplicación específica. Por ejemplo, las cápsulas de núcleo líquido que se colocan en macetas individuales, por ejemplo a mano, pueden hacerse más grandes y contener más nematodos que las cápsulas de núcleo líquido que se distribuyen mecánicamente en un área grande, por ejemplo con un esparcidor. Cápsulas de núcleo líquido más grandes son generalmente adecuadas para dosificar una o unas pocas cápsulas, por ejemplo tres cápsulas por maceta. Cápsulas más pequeñas pueden preferirse a cápsulas más grandes con el fin de reducir los errores de dosificación, en particular cuando las cápsulas se aplican mecánicamente.

En otra forma de realización preferente de las cápsulas de núcleo líquido, las cápsulas de núcleo líquido contienen además al menos un cebo atrayente para las plagas a controlar. Un cebo atrayente garantiza que las plagas, es decir, los insectos objetivo de los nematodos o posiblemente los caracoles, sean atraídos a las cápsulas de núcleo líquido, de modo que los nematodos que salen de las cápsulas de núcleo líquido puedan llegar a los insectos o caracoles con mayor facilidad. Por ejemplo, los aceites esenciales son adecuados como cebos atrayentes. El aceite de menta, que es muy atractivo para las larvas del mosquito del hongo, ha demostrado ser particularmente beneficioso. Por lo general, son suficientes concentraciones muy bajas de un cebo atrayente y, en particular, de un S aceite esencial. Por ejemplo, se puede añadir de 0,1 a 1 ml, preferentemente 0,3 ml, de aceite de menta para la preparación de 1 kg de cápsulas de núcleo líquido, que generalmente es suficiente para un efecto atrayente particularmente ventajoso en las larvas del mosquito del hongo. El cebo atrayente y, en particular, el aceite esencial, se puede añadir, por ejemplo, durante la producción de la emulsión o como componente de la emulsión. El aceite esencial se puede usar como aceite adicional en la emulsión para este propósito.

Varios nematodos son adecuados como nematodos entomopatógenos en las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención. Por ejemplo, las especies *Steinernema carpocapsae* y/o *Steinernema feltiae* y/o *Steinernema kraussel* y/o *Heterorhabditis bacteriophora* y/o *Heterorhabditis downesi* y/o *Phasmarhabditis hermaphrodita* son particularmente adecuadas. Dichos nematodos ya han demostrado su éxito en el control biológico de plagas y se pueden usar con gran eficacia para controlar diversas plagas. La siguiente tabla resume las diferentes áreas de aplicación y las plagas asociadas, en lo que respecta a las especies de nematodos adecuadas para su control.

Área de aplicación	Plaga	Especies de nematodo
Césped	Escarabajos de hojas de jardín, escarabajos de junio, escarabajos de mayo (larvas) Típula (gusano)	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> <i>Heterorhabditis downesi</i>
Zonas verdes públicas	Polilla procesionaria del roble	<i>Steinernema feltiae</i>
Viveros	Gorjo de la vid, escarabajo de hojas de jardín (Larvas)	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> <i>Heterorhabditis downesi</i> <i>Steinernema Kraussei</i>
Fruticultura	Polilla de manzano (oruga)	<i>Steinernema feltiae</i>
Cultivo de hortalizas, hierbas y plantas ornamentales	Polillas deltoides y polillas nocturnas (Oruga)	<i>Steinernema feltiae</i> <i>Steinernema carpocapsae</i>
	Mosquito del hongo (gusano) Trips (larva, pupa)	
	Caracoles de campo y caracoles de sendero (babosas)	<i>Phasmarhabditis hermaphrodita</i>
Cultivo de maíz	de la raíz del Gusano maíz(larva)	<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>

Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención se pueden usar, por ejemplo, con particular ventaja para la encapsulación de *Steinernema feltiae*, que se usan para combatir el mosquito del hongo y, en particular, las larvas del mosquito del hongo.

5

La Invención comprende además un sustrato para plantas que ya contiene las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención. Un sustrato para plantas de este tipo se puede usar de forma ventajosa, por ejemplo, para la plantación y el trasplante en macetas de plantas hortícolas, hierbas o plantas ornamentales, on las que se controla Inmediatamente una infestación de plagas emergente. Esto es particularmente ventajoso si las plantas han tenido contacto con plagas antes de ser plantadas o trasplantadas en macetas. Las cápsulas de núcleo líquido que contienen una densidad de nematodos relativamente alta son particularmente adecuadas para mezclar las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención en un sustrato para plantas. Por ejemplo, se pueden usar cápsulas de núcleo líquido que contienen aproximadamente 7.200 animales por cápsula de núcleo líquido para este propósito. Esto corresponde a cápsulas de aproximadamente 50 millones de EPN/kg. Para la producción del sustrato para plantas, los diferentes componentes habituales per se del sustrato (por ejemplo, turba blanca, turba negra, agua, carbonato de cal, fertilizante, agente humectante) se pueden mezclar, y mezclar proporcionalmente, con, por ejemplo, aproximadamente 100 g de cápsulas por m³ de sustrato.

20

La invención comprende además un método para producir cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la descripción anterior, en donde las cápsulas de núcleo líquido a producir tienen un núcleo líquido que comprende nematodos entomopatógenos y una envoltura de hidrogel circundante y el núcleo líquido se forman a base de una emulsión que comprende al menos un aceite vegetal y un líquido acuoso. Para la producción de dichas cápsulas de núcleo líquido, la emulsión que comprende los nematodos se vierte en una disolución de hidrocoloide en presencia de iones divalentes. Este método, conocido en principio como microencapsulación inversa, permite la producción de cápsulas de núcleo líquido que comprenden nematodos en el núcleo líquido, caracterizándose los nematodos por una vitalidad y actividad particularmente a largo plazo durante varias semanas durante el uso de dichas cápsulas de núcleo líquido en el control de

25

30

plagas. Este proceso de producción permite controlar el tamaño y el peso de las cápsulas y ajustar la carga de nematodos de las cápsulas para que las cápsulas de núcleo líquido se puedan adaptar a diferentes aplicaciones.

- 5 En general, las cápsulas de núcleo líquido que se pueden producir mediante este proceso ofrecen un suministro continuo de nematodos en el sustrato para plantas para el control biológico de plagas y, por lo tanto, una protección eficaz de la población de plantas durante varias semanas. Dado que los nematodos pueden salir continuamente de las cápsulas de núcleo líquido durante un periodo de tiempo más largo, el uso de dichas cápsulas de núcleo líquido tiene un efecto a largo plazo. La estructura de las cápsulas y, en particular, la emulsión comprendida en el núcleo líquido hacen que se retarde la desecación de los nematodos, de modo que los nematodos vivos y activos pueden salir de las cápsulas durante semanas, liberándose así de forma continua. Además, las cápsulas de núcleo líquido producidas de acuerdo con la invención ofrecen una buena estabilidad mecánica, lo que permite una fácil manipulación y una buena conservación sin crecimiento de moho. El método también ofrece la ventaja de que las cápsulas se pueden adaptar a diferentes requisitos, en particular adaptando la envoltura de hidrogel. Por ejemplo, el grosor de la pared de la envoltura y su resistencia pueden modificarse mediante aditivos. El uso de las cápsulas de núcleo líquido en la población de plantas permite una concentración en gran medida constante de nematodos en el sustrato para plantas debido a las condiciones constantes para los nematodos debido a la emulsión comprendida en las cápsulas de núcleo líquido y la liberación a largo plazo o retardada de los nematodos, incluso con efectos tales como la eliminación de los nematodos que ya han abandonado el sustrato del suelo, por ejemplo, en sistemas de flujo/reflujo en el cultivo de plantas.
- 25 Para la producción de las cápsulas de núcleo líquido, el material para la envoltura se proporciona como una disolución de hidrocoloide. El líquido para el núcleo se vierte en dicha disolución de hidrocoloide. La disolución de hidrocoloide comprende preferentemente alginato, en particular alginato sódico (E401) y, opcionalmente, otros aditivos. El líquido para el núcleo comprende preferentemente iones divalentes, en particular iones de calcio, por ejemplo en forma de cloruro de calcio o lactato de calcio. Se puede añadir cloruro de calcio o lactato de calcio, por ejemplo, en una concentración de al menos un 1% en peso y como máximo un 5% en peso. Los buenos resultados de encapsulación generalmente se logran, por ejemplo, con un 1% en peso de cloruro de calcio. Cuando dicho líquido para el núcleo se vierte en la disolución de alginato, se forma espontáneamente una envoltura alrededor de las gotas en la disolución de hidrocoloide. La disolución de alginato puede comprender, por ejemplo, entre un 0.5 y 5% en peso de E401, preferentemente un 1% en peso de E401 en agua. Se puede añadir metilcelulosa y/o goma xantana y/o goma garrofín, por ejemplo, como aditivos o estabilizantes, incluso en concentraciones muy bajas, dichos aditivos tienen muy buenos efectos en la estabilización, por ejemplo, los aditivos se pueden añadir en concentraciones de entre un 0,125% en peso y un 1% en peso, en donde la goma xantana y la goma garrofín logran buenos efectos incluso en concentraciones muy bajas y la metilcelulosa en concentraciones algo más altas.

- El líquido para el núcleo se basa en la emulsión (aceite vegetal y líquido acuoso, por ejemplo agua) y los nematodos se añaden. Por ejemplo, los nematodos pueden quedar suspendidos en agua y añadirse a la emulsión. La emulsión se prepara preferentemente con una proporción de aceite de entre un 20% y un 70% y agua. El agua puede ser agua del grifo pero también, por ejemplo, agua tratada, tal como agua ultrapura o agua totalmente desionizada. Por ejemplo, también se pueden usar disoluciones salinas isotónicas en lugar de agua. Se pueden usar varios aceites o grasas comestibles líquidas como aceites vegetales, en particular aceite de semilla de girasol, aceite de semilla de colza, aceite de oliva u otros. También se puede usar aceites especiales, tales como aceites perfumados, como componente de la fracción de aceite. Es ventajoso añadir emulsionantes, tales como lecitina de girasol, lecitina de soja, alginato de propilenglicol (E405), sol de sílice, u otros, para estabilizar la emulsión. La emulsión en sí se

puede preparar agitándose rápidamente. Es particularmente ventajoso usar un dispositivo de dispersión, por ejemplo un dispositivo ULTRA-TURRAX® (IKA-Werke GmbH & Co. KG, Alemania) o dispositivos similares.

- 5 En principio, los productos de nematodos disponibles comercialmente se pueden usar para la producción de las cápsulas de núcleo líquido, ofreciéndose dichos productos, por ejemplo, con polvo mineral arcilloso como portador u otros materiales portadores. Los productos de nematodos a base de aceite también se pueden usar para las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención. Para este propósito, el producto de nematodos respectivo puede, por ejemplo, quedar suspendido en agua y mezclarse con la emulsión previamente preparada de aceite vegetal y agua hasta que se forme una mezcla homogénea. Se pueden añadir iones divalentes a dicha mezcla, por ejemplo añadiendo cloruro de calcio o lactato de calcio, y, a continuación, dicha mezcla se añade gota a gota a la disolución de hidrocoloide proporcionada. Después de que el líquido de núcleo se haya vertido en la disolución de hidrocoloide y después de que las envolturas de hidrogel se hayan formado alrededor de las gotas, las cápsulas de núcleo líquido resultantes se pueden tamizar y enjuagar con agua.

Las cápsulas de núcleo líquido producidas se pueden almacenar durante un largo periodo de tiempo, por ejemplo, al menos hasta 2 meses, prefiriéndose un almacenamiento refrigerado. Los nematodos permanecen vitales durante un periodo de tiempo muy largo, especialmente si se almacenan en un lugar fresco. Por supuesto, las cápsulas de núcleo líquido producidas también se pueden usar de una manera más o menos inmediata para el control biológico de plagas. También se pueden almacenar a temperatura ambiente durante un periodo de tiempo más largo, por ejemplo, hasta 6 semanas.

La invención también comprende un método para controlar plagas, en el que las cápsulas de núcleo líquido descritas anteriormente se aplican a una población de plantas. Además, la invención comprende el uso de las cápsulas de núcleo líquido descritas para el control de plagas. Las propiedades particularmente ventajosas de las cápsulas de núcleo líquido descritas son evidentes en este método de control de plagas, ya que la emulsión comprendida en el núcleo de estas cápsulas permite que las cápsulas tengan un efecto a muy largo plazo en el control de plagas. La emulsión en el núcleo hace que las cápsulas permanezcan estables durante un largo periodo de tiempo debido a la menor evaporación, y la emulsión también tiene un efecto muy positivo en la vitalidad de los nematodos, por lo que también se garantiza la liberación y la actividad a largo plazo de los nematodos. En general, esto da lugar a que los nematodos activos salgan de las cápsulas durante un periodo de varias semanas, por ejemplo de hasta cuatro semanas, y puedan tener un efecto dañino en sus respectivos insectos objetivo o posiblemente en los caracoles.

Las cápsulas de núcleo líquido se introducen convenientemente sobre o en el sustrato para plantas para su uso en el control de plagas. La introducción se puede realizar de diferentes maneras. En el caso más simple, las cápsulas de núcleo líquido se esparcen manualmente y, opcionalmente, se incorporan al sustrato o se cubren con una capa adicional de sustrato que se extiende sobre las mismas. Por ejemplo, las cápsulas de núcleo líquido se pueden incorporar en los diez centímetros superiores de la capa de sustrato. En general, es ventajoso que las cápsulas de núcleo líquido se distribuyan de manera uniforme en la capa de sustrato. También se pueden usar medios técnicos para colocar o aplicar las cápsulas de núcleo líquido, por ejemplo tecnología de siembra o fertilización de uso común, por ejemplo sembradoras, esparcadoras de fertilizantes, lanzas fertilizantes, máquinas de enmacetado o mezcladoras de sustrato. En una forma de realización particularmente ventajosa del método para controlar plagas, las cápsulas de núcleo líquido también se pueden mezclar en el sustrato para plantas en un tratamiento inicial antes de la plantación o siembra del cultivo. Esta forma de realización se puede usar con gran ventaja, por ejemplo, en el cultivo de hierbas. En este caso, los nematodos se depositan en forma

de cápsulas de núcleo líquido en el sustrato para plantas. Cuando las plantas han crecido transcurridas una o dos semanas y aparecen las primeras plagas, los nematodos entomopatógenos ya están presentes. Esto también es una ventaja particular de las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención, ya que la liberación retardada y a largo plazo de las cápsulas de núcleo líquido durante varias semanas hace posible dicho tratamiento profiláctico en primer lugar.

En general, las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención permiten un método para controlar plagas que ofrece ventajas considerables. En concreto, se reduce el número de tratamientos necesarios, con lo que se reduce la cantidad de trabajo. Con las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención se consigue un mayor grado de eficacia y una mayor seguridad de los efectos. Las áreas de aplicación particularmente preferidas se encuentran, en particular, en el cultivo comercial de hierbas y plantas ornamentales, por ejemplo orquídeas o las flores de pascua. Las cápsulas de núcleo líquido también se pueden usar con particular ventaja en el sector de los aficionados, en particular con plantas en maceta. En este caso, las cápsulas de núcleo líquido solo se pueden aplicar después de que se haya producido una infestación o ya de forma profiláctica, por ejemplo, cuando las respectivas plantas se siembran o plantan, mezclando dichas cápsulas en el sustrato para plantas. Un sustrato para plantas en el que ya se han mezclado las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención también se puede usar preferentemente para este propósito.

Preferentemente, se usan entre 1 y 1.000 cápsulas de núcleo líquido/m² de área de sustrato cuando se aplican las cápsulas de núcleo líquido a la población de plantas. Preferentemente, se pueden usar entre 10 y 500 cápsulas de núcleo líquido/m² de área de sustrato. En general, la dosificación de las cápsulas de núcleo líquido depende de su tamaño y su carga de nematodos que, como se explicó anteriormente, se puede ajustar en consecuencia mediante adaptaciones en el proceso de producción. Por ejemplo, las cápsulas se pueden producir de modo que haya aproximadamente 50 millones de EPN en 1 kg de cápsulas. Aritméticamente, el promedio de cápsulas, dependiendo de la carga de las cápsulas individuales con EPN, es, en este caso, de aproximadamente 6.900 unidades/kg. Por término medio, hay aproximadamente 7.200 EPN en cada cápsula. Con una tasa de aplicación preferida de 500.000 EPN/m², se aplican 10g/ m² o, de manera correspondiente, 69 unidades/m² de cápsulas.

De una manera particularmente preferida, las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención se proporcionan en una unidad de envasado con aproximadamente 50 millones de EPN. Los 50 millones de EPN se pueden encapsular en aproximadamente 32.000 cápsulas individuales y se proporcionan como una unidad de envasado con un peso húmedo de aproximadamente 1,6 kg. En este caso, cada cápsula contiene aproximadamente entre 1.500 y 1.600 EPN. Una unidad de envasado de este tipo es generalmente suficiente para el tratamiento de un área de cultivo de aproximadamente 100 m² o para aproximadamente 2.5 m³ de sustrato para plantas o para el tratamiento de aproximadamente 5.000 macetas con un volumen máximo de llenado de 1L. Esta especificación de dosificación es particularmente adecuada para una ligera infestación inicial o un tratamiento preventivo. Dependiendo de la infestación de la plaga y la gestión del cultivo, una dosificación diferente, en particular una mayor dosificación, puede ser ventajosa.

Una distribución uniforme de las cápsulas de núcleo líquido es ventajosa cuando se mezclan las cápsulas de núcleo líquido en un sustrato para plantas. Si las cápsulas de núcleo líquido se colocan directamente sobre el sustrato para plantas, es ventajoso cubrir las cápsulas de núcleo líquido con sustrato para plantas, por ejemplo con un espesor de capa de al menos 2 cm.

Si las cápsulas de núcleo líquido se van a introducir directamente en una maceta, se puede usar un promedio de 6 o 7 cápsulas (correspondientes a aproximadamente 10.000 nematodos) para una maceta con un volumen máximo de llenado de 1L. La dosificación se puede realizar, por ejemplo, usando una cuchara dosificadora con un volumen de aproximadamente 1 ml.

5

Dado que la producción de las cápsulas de núcleo líquido permite adaptar la carga de los nematodos por cápsula, la carga de las cápsulas de núcleo líquido con nematodos se puede ajustar al número deseado de cápsulas a liberar. Si, por ejemplo, se van a introducir 3 cápsulas de núcleo líquido en una maceta (por ejemplo, 12x12x12cm), de las cuales hay aproximadamente 70 por metro cuadrado, se requieren aproximadamente 210 cápsulas/m². Si no se modifica el peso de las cápsulas y la cantidad de aplicación preferida, la concentración en las cápsulas es de 16,5 millones de EPN/kg o 2.400 EPN/unidad.

10

La temperatura del suelo cuando se aplican las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención no debe estar convenientemente por debajo de 4 °C. Por ejemplo, las cápsulas de la invención se pueden aplicar con buenos resultados cuando la temperatura del suelo es de al menos 8-12 °C. Por otro lado, la temperatura del suelo no debe ser superior a 34 °C.

15

Otras características y ventajas de la invención resultan de la siguiente descripción de formas de realización en relación con los dibujos. En el presente documento, las características Individuales se pueden implementar de manera individual o en combinación entre sí.

20

En los dibujos se muestra:

25

Fig. 1 Diagrama de la pérdida de peso de las cápsulas de núcleo líquido (cápsulas de emulsión) de acuerdo con la invención en comparación con las cápsulas de núcleo líquido que contienen un núcleo acuoso (cápsulas de agua) a 22°C y un 40% de humedad relativa:

30

Fig. 2 Diagrama de la pérdida de peso de las cápsulas de núcleo líquido (cápsulas de emulsión) de acuerdo con la invención en comparación con las cápsulas de núcleo líquido que contienen un núcleo acuoso (cápsulas de agua) a 25°C y un 70% de humedad relativa:

35

Fig. 3 de agua) Diagrama de la pérdida de peso de las cápsulas de núcleo líquido (cápsulas de emulsión) de acuerdo con la invención en comparación con las cápsulas de núcleo líquido que contienen un núcleo acuoso (cápsulas de agua) a 4°C y un 40% de humedad relativa:

Fig. 4 Perfil de vitalidad de los nematodos encapsulados de acuerdo con la invención después de su aplicación en un sustrato para plantas;

40

Fig. 5 Comparación de la vitalidad de los nematodos en cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención (cápsulas de emulsión) y en cápsulas de núcleo líquido que contienen un núcleo acuoso (cápsulas de agua) a lo largo del tiempo al 100% de humedad relativa:

45

Fig. 6 Electro de los nematodos (*Steinemema carpocapsae*) encapsulados de acuerdo con la invención en gusanos de la harina como organismo de referencia en comparación con una aplicación de riego de los nematodos; y

50

Fig. 7 Efecto de los nematodos (*Steinernema feltiae*) encapsulados de acuerdo con la invención en gusanos de la harina como organismo de referencia en comparación con una aplicación de riego de los nematodos.

Formas de realización ejemplares**Ejemplo 1: Producción de las cápsulas de núcleo líquido**

5 Un proceso de producción preferido para las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención se describe en el siguiente ejemplo. Para el empapado y el aclarado de las cápsulas se proporciona una bomba peristáltica multicanal Rotarus® con ocho mangueras (Hirschmann, Alemania), dos agitadores magnéticos, soportes, un dispositivo de dispersión (ULTRA-TURRAX®, IKA-Werke GmbH & Co.KG, Alemania), un agitador mecánico, vasos de precipitación
10 y un tamiz. De manera alternativa, la formación de gotas por medio de boquillas también es adecuada para la producción de las cápsulas de núcleo líquido, en particular para la producción de las cápsulas de núcleo líquido a mayor escala.

15 En una forma de realización preferida, se pesan 250 g de aceite de semilla de girasol y 500 g de agua para la producción de aproximadamente 1 kg de cápsulas de núcleo líquido y se produce una emulsión por medio de un dispositivo ULTRA-TURRAX®. Se añade un emulsionante (1.2% en peso de E405) para estabilizar la emulsión. Además, también se añade un 3% en peso de cloruro de calcio. Un producto de nematodos disponible comercialmente que contiene 50 millones de animales se pone en suspensión en 20 ml de agua en un vaso de precipitación
20 aparte. El recipiente de suministro de nematodos se enjuaga con 10 ml de agua y se combinan ambas suspensiones. Los 30 ml del líquido que contiene los nematodos se añaden a la emulsión y se agitan suavemente hasta que se forme una mezcla homogénea. El recipiente que contiene el líquido resultante para el núcleo se fija a un soporte y las ocho mangueras de la bomba multicanal se sumergen en el líquido de este recipiente.

25 El agua usada para producir el líquido para el núcleo se puede enriquecer con oxígeno. Esto puede tener un efecto beneficioso adicional en la vitalidad de los nematodos. El agua enriquecida con oxígeno se puede producir para realizar la emulsión y/o la suspensión de los nematodos.

30 Un 1% en peso de alginato sódico (E401) se disuelve en agua para preparar la disolución de hidrocoloide para la envoltura. Opcionalmente, se añaden aditivos o estabilizantes, por ejemplo metilcelulosa. El líquido para el núcleo (emulsión que contiene nematodos) se bombea por medio de la bomba peristáltica para el proceso de goteo. Las aberturas de salida o su diámetro se pueden ajustar dependiendo del tamaño de gota deseado, en donde se pueden usar diferentes
35 variantes de manguera y/o elementos adicionales, tales como puntas de pipeta. La altura de las mangueras por encima de la disolución proporcionada puede variar dependiendo del peso de las gotas para obtener cápsulas redondas que sean lo más homogéneas posible. El peso de las gotas puede estar comprendido entre 10 y 90 mg, por ejemplo. El diámetro de las cápsulas puede variar desde unos pocos milímetros hasta unos pocos centímetros. La envoltura de cápsula se
40 forma inmediatamente cuando el líquido para el núcleo se vierte en la disolución de hidrocoloide proporcionada. El calcio en el líquido del núcleo reacciona inmediatamente con el alginato en la disolución proporcionada. Esto forma la envoltura y la conformación de la gota se estabiliza directamente. El grosor de la envoltura se puede ajustar dependiendo de la relación de calcio a alginato, opcionalmente más aditivos. El tiempo de permanencia de las cápsulas en la disolución
45 proporcionada después de verterlas también se puede usar para influir en el grosor de la envoltura. La reacción termina cuando se consumen todos los iones de calcio libres, o la reacción termina tamizando las cápsulas y, a continuación, enjuagándolas con agua. A continuación, la envoltura de cápsula se puede, opcionalmente, solidificar aún más. Para la solidificación, las cápsulas se pueden sumergir en un baño de CaCl_2 , por ejemplo, de modo que la envoltura de
50 hidrogel se sature con iones de calcio y, por lo tanto, se endurezca. Las cápsulas de núcleo líquido están listas para su uso o se pueden almacenar. Las cápsulas de núcleo líquido se dividen, empaquetan y etiquetan convenientemente para su transporte.

Las cápsulas de núcleo líquido producidas de esta manera se examinaron con respecto a la pérdida de agua o a la desecación en comparación con las cápsulas de núcleo líquido que contienen un núcleo acuoso. En este caso, el núcleo acuoso significa que, aparte de los nematodos, solo contiene agua. La pérdida de agua se determinó a partir de la pérdida de peso medida de las cápsulas. Para estos experimentos, las cápsulas se colocaron en placas de Petri y se expusieron a condiciones respectivas de temperatura y humedad. **La Fig. 1** muestra la pérdida de agua de las cápsulas de núcleo líquido a 22 °C y un 40% de humedad relativa, **la Fig. 2** muestra la pérdida de agua de las cápsulas de núcleo líquido a 25 °C y un 70% de humedad relativa y **la Fig. 3** muestra la pérdida de agua de las cápsulas de núcleo líquido a 4 °C y un 40% de humedad relativa. En cada caso, se muestra la evolución de la pérdida de agua para las cápsulas de núcleo líquido (cápsula de emulsión) de acuerdo con la invención y las cápsulas de núcleo líquido que contienen agua en el núcleo (cápsula de agua). En todas las condiciones probadas, se puede observar claramente que la desecación de las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención es menor que la de las cápsulas de núcleo líquido que contienen agua en el núcleo. Por ejemplo, en las cápsulas de agua a 22 °C y un 40% de humedad (Fig. 1), ya se ha alcanzado una pérdida de peso del 80% tras 4 horas. En las cápsulas de emulsión, solo se puede observar una pérdida de peso ligeramente inferior a un 80% tras 24 horas. La pérdida de peso se debe a la evaporación del agua de la envoltura y el núcleo. En las cápsulas de agua se puede observar una pérdida de agua o de peso de casi el 100% tras 24 horas. Entonces, en este aspecto, las cápsulas de agua, en cierto sentido, se han secado y encogido en gran medida adoptando una conformación similar a una pasa.

Incluso tras 48 horas, las cápsulas de emulsión solo muestran una pérdida de peso ligeramente inferior a un 80% y tienen una conformación entre redonda y ovalada. Esto significa que todavía hay una porción líquida en las cápsulas de emulsión en este momento, que está formada en gran parte por la porción de aceite de la emulsión. El factor decisivo aquí es que la vitalidad de los nematodos todavía está presente en este momento, como se observa microscópicamente. La vitalidad de los nematodos se puede atribuir al agua que todavía está presente, ya que dichos nematodos deben estar rodeados por al menos una película delgada para poder sobrevivir. Sin embargo, los nematodos de las cápsulas de agua secas ya no eran vitales en este momento. Se observó una evolución muy similar en las condiciones de 25 °C y un 70 % de humedad (Fig., 2) en donde la evaporación máxima fue algo menor tanto en las cápsulas de agua como en las cápsulas de emulsión. A 4°C (Fig.3), la evaporación general se retrasó significativamente para ambos tipos de cápsulas.

Al evaluar los resultados de estas pruebas, cabe destacar que la disposición experimental no refleja las condiciones para usar las cápsulas de núcleo líquido en una población de plantas. En una población de plantas, se garantiza o debería garantizarse un cierto grado de humectación de las cápsulas de núcleo líquido de modo que no se produzca la evaporación completa de la porción acuosa. Como los autores de la invención pudieron demostrar en experimentos de aplicación en cultivos de plantas, las cápsulas de emulsión muestran su efecto durante varias semanas, en las que los nematodos salen continuamente. Sin embargo, incluso en condiciones secas, habría una clara ventaja de las cápsulas de emulsión sobre las cápsulas de agua, ya que los nematodos todavía están rodeados por una película de agua debido a la emulsión de agua en aceite y retienen un cierto nivel de vitalidad cuando las cápsulas se deshidratan por completo.

Ejemplo 2: Estudio de la evolución de la vitalidad de los nematodos encapsulados de acuerdo con la invención después de su aplicación en un sustrato para plantas

Las cápsulas de emulsión se produjeron con *Steinernema carpocapsae* de acuerdo con el Ejemplo 1 y se mezclaron con un sustrato para plantas disponible comercialmente (Floradur B® Seed, Floragard Vertriebs-GmbH, Alemania). Tras esta aplicación, el sustrato para plantas se

mantuvo permanentemente húmedo a 25 °C y se observó la vitalidad de los nematodos durante 35 días. Para cada momento examinado, 4 placas de Petri, a las que se habían añadido 3 cápsulas en cada caso, se prepararon con sustrato. La evaluación se llevó a cabo microscópicamente examinando el sustrato, en donde se determinó globalmente la proporción entre los nematodos vitales y los nematodos reconocibles. Los puntos de medición de la Fig. 4 representan los valores medios de las 4 envolturas consideradas en cada caso. La línea representa una línea de regresión. Por término medio, la investigación muestra una cierta disminución en la vitalidad de los nematodos durante un período de 35 días, cayendo la vitalidad desde aproximadamente un 85% al principio hasta aproximadamente un 60% transcurridos 35 días. Sin embargo, incluso después de 35 días, una proporción significativa de nematodos vitales siguen presentes en las cápsulas de emulsión.

Ejemplo 3: Estudio comparativo de la vitalidad de los nematodos en cápsulas de núcleo líquido (cápsulas de emulsión) de acuerdo con la invención y en cápsulas de núcleo líquido que contienen un núcleo acuoso (cápsulas de agua) a lo largo del tiempo al 100% de humedad relativa

Nematodos (*Steinernema carpocapsae*) (cápsulas de emulsión) encapsulados de acuerdo con la invención según el Ejemplo 1 y cápsulas con un núcleo exclusivamente acuoso (cápsulas de agua) producidas de manera comparable se observaron en placas de Petri (d = 90mm) a 25 °C y aproximadamente el 100% de humedad relativa durante un periodo de 22 días. La proporción de nematodos vitales en comparación con la proporción total de nematodos se determinó microscópicamente transcurridos 7 días, 14 días y 22 días. Los resultados se muestran en la Fig. 5. En las condiciones aquí establecidas (100% de humedad relativa), las cápsulas no se secan significativamente. Sin embargo, se puede determinar una clara diferencia en la vitalidad de los nematodos después de solo 7 días. Si bien se puede observar una vitalidad de aproximadamente un 90% en las cápsulas de emulsión, solo un 70% de los nematodos son vitales en las cápsulas de agua. Transcurridos 14 días, la vitalidad de los nematodos en las cápsulas de agua se redujo al 0%. La vitalidad de los nematodos en las cápsulas de emulsión sigue siendo de un 80% en este momento, pero posteriormente se reduce hasta un 10% en el día 22. Estos resultados muestran que el propio contenido de aceite en las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención ejerce un efecto positivo en la vitalidad de los nematodos, independientemente de su influencia positiva en la desecación.

Ejemplo 4: Estudio del efecto de los nematodos encapsulados de acuerdo con la invención (*Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis bacteriophora*) en los gusanos de la harina como organismo de referencia en comparación con una aplicación de riego de los nematodos

Se llevó a cabo un experimento para investigar el efecto de los nematodos encapsulados de acuerdo con la Invención (*Steinernema carpocapsae*) en comparación con una aplicación de riego de los nematodos. Se examinó el efecto en los gusanos de la harina para este propósito. Los gusanos de la harina (larvas del escarabajo de la harina *Tenebrio molitor*) son un organismo de referencia establecido para analizar los efectos de los nematodos entomopatógenos (EPN). Para la disposición experimental, 1 l de sustrato para plantas (Floradur®B Seed, Floragard Vertriebs-GmbH, Alemania) se vierte esparcido sobre bandejas rectangulares de 170x130 x120mm (LxWxH) Se vertieron 55.000 EPN en líquido sobre el sustrato para la aplicación líquida (control positivo). El líquido usado para esta prueba fue la emulsión que representó la disolución de núcleo en la producción de las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención. Como control negativo, el sustrato no se trató más. Para la aplicación de los nematodos encapsulados de acuerdo con la invención, se mezclaron en el sustrato un promedio de 12 cápsulas con un total de 55.000 EPN que se habían producido de acuerdo con el Ejemplo 1. A continuación, se colocaron 40 gusanos de la harina sobre el sustrato. Debido a que la disolución de núcleo no

encapsulada, por así decirlo, se usó para la suspensión de los nematodos en el control positivo, el enfoque que usa la aplicación de riego y el enfoque que usa las cápsulas de nematodos de acuerdo con la invención difiere únicamente en la forma de cápsula de la preparación de los nematodos. La disposición experimental se observó durante un periodo de 6 semanas, donde todos los gusanos de la harina se retiraron semanalmente y se reemplazaron por nuevos gusanos de la harina (40 gusanos de la harina por lote). Los nematodos se aplicaron solo una vez en el momento cero.

La **Fig. 6** muestra los resultados experimentales, en los que los puntos de medición Individuales representan la mortalidad promedio de los gusanos de la harina en porcentaje (grado de eficacia). Las líneas representan regresiones polinómicas. El tamaño de la muestra para el control negativo fue $n = 53$ para el control positivo $n = 33$ y para el enfoque que usa los nematodos encapsulados de acuerdo con la invención $n = 39$. Esto significa que se evaluaron un total de 53 lotes experimentales para el control negativo, un total de 33 lotes experimentales para el control positivo y un total de 39 lotes experimentales para el enfoque que usa los nematodos encapsulados de acuerdo con la invención. En las semanas 1 y 2 (W1 y W2) después de la aplicación de los EPN, todavía no había diferencia entre la aplicación de riego (control positivo) y la aplicación de las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención. Sin embargo, en la semana 3 (W 3), solo se puede observar una mortalidad de un 60% de los gusanos de la harina en la aplicación de riego, mientras que la mortalidad de los gusanos de la harina con las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención seguía estando en el intervalo del 90%. En las semanas siguientes, el efecto de los nematodos de la aplicación de riego en los gusanos de la harina disminuyó significativamente y en la semana 6 (W 6), se redujo a solo el 10%, lo que corresponde al control negativo sin ninguna aplicación de nematodos. Por otro lado, el efecto de las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención en el tiempo W 6 seguía presente con una mortalidad de aproximadamente un 55%. Por lo tanto, en general, la aplicación de los EPN en forma de cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención es claramente superior a una aplicación de riego.

Las cápsulas de emulsión con *Steinernema feltiae* y *Heterorhabditis bacteriophora* se produjeron de manera correspondiente de acuerdo con el Ejemplo 1 y el efecto de las cápsulas de emulsión en la mortalidad de los gusanos de la harina como organismo de referencia se examinó de acuerdo con el enfoque experimental descrito anteriormente.

La **Fig. 7** muestra los resultados experimentales con *Steinernema feltiae*, donde los puntos de medición individuales representan la mortalidad promedio de los gusanos de la harina en porcentaje (grado de eficacia). Se examinaron las cápsulas de núcleo líquido que tenían *Steinernema feltiae* en comparación con una variante no tratada (control negativo) y una variante aplicada como formulación de riego (control positivo). Condiciones de la prueba: 40 gusanos de la harina, 1 litro de sustrato, área de 200cm², recipiente de 2 litros, 25 °C. Se muestra un resumen de 47 series de pruebas en tres repeticiones. Los círculos rellenos representan la mortalidad promedio tras la aplicación de 20 cápsulas con un total de aproximadamente 31.000 EPN. Los rectángulos rellenos representan la mortalidad promedio tras la aplicación de aproximadamente 31.000 EPN en líquido (formulación de riego). Los triángulos rellenos representan la mortalidad promedio sin aplicación de EPN. Las líneas muestran las regresiones polinómicas de los respectivos puntos de medición.

También se demostró en este caso (en comparación con la Fig. 6) que la aplicación de los EPN en forma de cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención es claramente superior a una aplicación de riego.

Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención también se produjeron de acuerdo con el Ejemplo 1 usando *Heterorhabditis bacteriophora* y se examinaron con respecto a su efecto en los gusanos de la harina (datos no mostrados). En los primeros experimentos, el efecto de las cápsulas de núcleo líquido fue al menos comparable a la aplicación de riego de los nematodos, de modo que los resultados muestran que también se puede aplicar *Heterorhabditis bacteriophora* de manera eficaz en forma de cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención y las ventajas especiales de las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la invención se pueden usar, por ejemplo, con respecto a la vida útil y con respecto a las ventajas especiales durante la aplicación en comparación con la aplicación de riego convencional.

Ejemplo 5: Aplicación de cápsulas de núcleo líquido en cultivo de plantas

En los siguientes ejemplos de aplicación, las cápsulas se proporcionan con una densidad promedio de nematodos de aproximadamente 2.400 animales (*Steinernema carpocapsae* o *Steinernema feltiae*) por cápsula de núcleo líquido. Esto corresponde a cápsulas de aproximadamente 16,5 millones de EPN/kg.

Para la primera aplicación, macotas que miden 12 x12 x 12 cm (por ejemplo, el recipiente cuadrado de Göttinger) se llenan con sustrato para plantas (por ejemplo, "Floradur®B Seed de Floragard) hasta una altura de aproximadamente 8 cm. En ellas se colocan plántulas (por ejemplo, plantas de pepino jóvenes) o, de forma alternativa, se esparcen semillas de las plantas que se van a cultivar (por ejemplo, perejil). Tres cápsulas de núcleo líquido se esparcen sobre la superficie de sustrato y, a continuación, las macetas se cubren con una capa de sustrato adicional de aproximadamente 2 cm. En principio, se pueden usar todos los métodos imaginables mediante los cuales las cápsulas de núcleo líquido se pueden introducir en el sustrato de forma manual o mecánica de una manera comparable. En la producción de plantas comerciales, las cápsulas de núcleo líquido se incorporan de manera particularmente preferible al sustrato mediante una máquina. Por ejemplo, las cápsulas se pueden inyectar en el sustrato usando lanzas fertilizantes. Este método es preferentemente adecuado para su aplicación en recipientes individuales. Las cápsulas se pueden esparcir sobre el sustrato y, a continuación, cubrir con una capa adicional de sustrato por medio de las denominadas máquinas de enmacetado o dispositivos de siembra.

Tras su aplicación, el sustrato se riega con suficiente agua para que se humedezca uniformemente. El cultivo adicional de las plantas se lleva a cabo de la manera habitual, de acuerdo con las condiciones específicas de la planta requeridas. En particular, deben evitarse fases secas prolongadas en el sustrato durante todo el período de cultivo

Durante un periodo de cultivo de más de 4 semanas y una infestación persistente de plagas, el tratamiento de seguimiento se lleva a cabo preferentemente a intervalos de cuatro semanas. Aproximadamente tres cápsulas se esparcen en una maceta y se introducen suavemente en el sustrato con una varilla pequeña o una cuchara, por ejemplo, de modo que las cápsulas estén cubiertas por aproximadamente 1 a 2 cm de sustrato. De forma alternativa, un palo de plantación puede hacer un agujero en el sustrato, por ejemplo. A continuación, las cápsulas de núcleo líquido se insertan y los orificios se cierran nuevamente con un poco de sustrato.

Las cápsulas de núcleo líquido también se pueden usar de la misma manera con todos los sustratos para plantas orgánicos o artificiales conocidos, sustitutos (por ejemplo, arcilla expandida, vermiculita, perlita, lana de roca, materiales espumosos) o cualquier mezcla habitual de diferentes sustratos y sustitutos.

Ejemplo 6: Aplicación de las cápsulas de núcleo líquido en elementos espumosos para el cultivo de plantas

En estos ejemplos de aplicación se proporcionan cápsulas con una densidad promedio de nematodos (*Steinernema carpocapsae* o *Steinernema feltiae*) de aproximadamente 2.400 animales por cápsula de núcleo líquido. Esto corresponde a cápsulas de aproximadamente 16,5 millones de EPN/kg.

Cuando se cultivan plantas (por ejemplo, orquídeas) en elementos espumosos cilíndricos (por ejemplo, de 7 cm de diámetro), los elementos espumosos se cortan verticalmente hasta aproximadamente el eje central. Un esqueje se inserta en la muesca resultante junto con 1 o 2 cápsulas. A continuación, el elemento espumoso se comprime ligeramente y se coloca en un recipiente adecuado (por ejemplo, macetas redondas de 6 cm de diámetro), lo que evita que se expanda de nuevo y, por lo tanto, proporciona al esqueje un soporte suficiente.

Tras su aplicación, el elemento espumoso se riega con suficiente agua para que se humedezca uniformemente. El cultivo adicional de las plantas se lleva a cabo de la manera habitual, de acuerdo con las condiciones específicas de la planta requeridas. En particular, deben evitarse fases secas prolongadas en el sustrato durante todo el período de cultivo.

Durante un período de cultivo de más de 4 semanas y una infestación persistente de plagas, el tratamiento de seguimiento se lleva a cabo preferentemente a intervalos de cuatro semanas. Para ello, se retiran los elementos espumosos de la maceta, se insertan dos cápsulas de núcleo líquido en la muesca, se presionan ligeramente y se vuelven a colocar en la maceta.

Ejemplo 7: Aplicación de las cápsulas de núcleo líquido en la producción de sustrato para el cultivo de plantas

En este ejemplo de aplicación se proporcionan cápsulas con una densidad promedio de nematodos (*Steinernema carpocapsae* o *Steinernema feltiae*) de aproximadamente 7.200 animales por cápsula de núcleo líquido. Esto corresponde a cápsulas de aproximadamente 50 millones de EPN/kg.

Durante la producción del sustrato (por ejemplo, "Floradur® Pot Cyclamen/Poinsettia do Floragard"), en el que se mezclan diferentes componentes (turba blanca, turba negra, agua, cal carbonatada, fertilizante, agente humectante), se introducen aproximadamente 100 g de cápsulas por m³ de sustrato en el proceso de mezcla. La mezcla final se entrega preferentemente del fabricante de sustrato al usuario en el plazo de una semana. Los usuarios son, por ejemplo, empresas que producen plantas ornamentales. El tipo de entrega se realiza de forma convencional como mercancía en bolsas o como mercancía suelta. El usuario procesa el sustrato de la manera habitual, preferentemente en un plazo de 2 semanas, por ejemplo, para trasplantar ciclamen, rosas en macetas, flores de Pascua u hortensias en macetas de 12 x 12 x 12 cm. Después del procesamiento, hay un promedio de 7.200 EPN en una maceta, presentes parcialmente en la cápsula y ya distribuidos parcialmente en el sustrato.

Ejemplo 8: Aplicación de las cápsulas de núcleo líquido para controlar los caracoles

Se proporcionan cápsulas que contienen nematodos de la especie *Phasmarhabditis hermaphrodita* con una densidad, preferentemente, de aproximadamente 1.000 animales por cápsula de núcleo líquido. Esto corresponde a cápsulas de aproximadamente 7 millones de EPN/kg. La cantidad es suficiente para tratar aproximadamente 100 m² de superficie cultivada.

Lo ideal es que la aplicación se realice en un momento en el que los caracoles sean más comunes, por ejemplo en climas cálidos y húmedos y con poca luz solar. Para su aplicación, las cápsulas de núcleo líquido se esparcen sobre el suelo del área de cultivo a tratar. Esto se puede hacer a mano en el caso más simple y para áreas pequeñas. Se pueden usar medios técnicos adecuados, por ejemplo, fertilizantes o esparcidores de semillas disponibles comercialmente, para áreas más grandes. Las cápsulas de núcleo líquido se aplican preferentemente donde se espera un mayor movimiento de los caracoles, por lo tanto, por ejemplo, alrededor de los cultivos (por ejemplo, lechuga), entre las filas de plantas, en los bordes del área de cultivo y en los bordes de las áreas vecinas que son atractivas para los caracoles, en donde los caracoles a menudo se retiran durante el día y cuando el clima es seco. El área de cultivo se mantiene húmeda después de la aplicación.

Durante un período de cultivo de más de 3 semanas y una infestación persistente de caracoles, el tratamiento de seguimiento se lleva a cabo preferentemente a intervalos de tres semanas. El tratamiento de seguimiento se lleva a cabo de la misma manera que se describió anteriormente.

Ejemplo 9: Uso de *Steinernema feltiae* en forma de cápsulas de núcleo líquido para controlar las larvas de los mosquitos del hongo en hogares y Jardines o en la horticultura comercial

Cápsulas de núcleo líquido que contienen los nematodos *Steinernema feltiae* se produjeron, en principio, de acuerdo con el Ejemplo 1, una vez establecida la composición de material de las cápsulas de núcleo líquido que se muestra en la tabla siguiente:

Designación	Número E	Porcentaje en peso de la masa total [%]
Agua del grifo desalinizada	-	72,8
Aceite de girasol	-	22,1
Nematodos (producto nemaplust®, e-nema GmbH, Alemania)	-	3,7
Cloruro de calcio	E509	<1
Alginato de propilenglicol (disuelto)	E405	<1
Alginato de sodio (sustancia natural)	E401	<1

Se proporcionaron unidades de envasado que contenían 50 millones de nematodos para su uso en horticultura comercial, por ejemplo. Cada unidad de envasado comprendía aproximadamente 32.000 cápsulas individuales con un peso total (peso húmedo) de aproximadamente 1,6 kg, estando sujeto dicho peso a ciertas fluctuaciones debido a diferentes cantidades de agua adherida. El tamaño de cápsula tenía un diámetro promedio de 4 - 5 mm y las propiedades de vertido de las cápsulas mostraron una buena fluidez.

El envasado principal se realizó en bolsas de papel de aluminio o recipientes de plástico que estaban provistos de pequeños orificios en uno de los lados para el suministro de oxígeno a los nematodos. El nivel de llenado de las cápsulas de núcleo líquido fue de entre 5 y 10 cm.

Las condiciones de almacenamiento adecuadas fueron la oscuridad y la refrigeración (4 – 10°C). La vida útil fue de al menos 2 meses. Durante el almacenamiento, se recomienda mezclar regularmente las cápsulas, por ejemplo girando los recipientes o bolsas varias veces, para optimizar el suministro de oxígeno a los nematodos. Se recomienda no cubrir las zonas perforadas del envase durante períodos prolongados y dejar escurrir el agua que salga del envase.

Las cápsulas se introdujeron en el sustrato para plantas o en el orificio para semillas cuando se sembraron las semillas o se plantaron las plántulas. Con mezclas de sustrato, se usaron aproximadamente 50 millones de nematodos para 2.5m³ de sustrato y se distribuyeron de manera uniforme en el sustrato. De forma alternativa, las cápsulas se colocaron directamente en la maceta, por ejemplo, en el orificio para semillas, en donde se usó un promedio de 6 o 7 cápsulas, es decir, aproximadamente 10.000 nematodos, por maceta con un volumen máximo de llenado de 1L. De forma alternativa, las cápsulas se aplicaron al sustrato para plantas y se cubrieron con al menos 2 cm de sustrato. El sustrato para plantas se mantuvo húmedo durante su uso.

Estas cantidades se usaron para una ligera infestación inicial o un tratamiento preventivo.

Después de introducir las cápsulas en el sustrato para plantas, la envoltura de las cápsulas se volvió permeable tras aproximadamente 1 semana y los nematodos migraron gradualmente. Durante un período de varias semanas, cada vez más nematodos nuevos entraron en el sustrato y pudieron controlar eficazmente los mosquitos del hongo la primera vez que aparecieron. En comparación con la aplicación de nematodos mediante riego, la acción del tratamiento con las cápsulas duró casi el doble, por lo que también podría tener un efecto preventivo contra las larvas del mosquito del hongo. La acción duró aproximadamente 6 semanas, donde la mayor eficacia se observó entre la 2ª y la 4ª semana después de la aplicación.

REIVINDICACIONES

1. Cápsulas de núcleo líquido para el control de plagas, en donde las cápsulas de núcleo líquido tienen un núcleo líquido que comprende nematodos entomopatógenos y una envoltura de hidrogel circundante, caracterizadas por que el núcleo líquido se forma a base de una emulsión que comprende al menos un aceite vegetal y un líquido acuoso.
2. Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizadas por que el al menos un aceite vegetal es aceite de semilla de girasol y/o aceite de semilla de colza y/o aceite de oliva.
3. Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, caracterizadas por que la proporción de aceite en la emulsión es de al menos un 10% y como máximo un 70% (p/p).
4. Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizadas por que la envoltura de hidrogel circundante es una envoltura de alginato, en particular una envoltura de alginato cálcico.
5. Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizadas por que la envoltura de hidrogel comprende al menos un aditivo, en particular un compuesto a base de celulosa, preferentemente metilcelulosa, y/o al menos un espesante, preferentemente goma xantana y/o goma garrofín.
6. Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizadas por que las cápsulas de núcleo líquido comprenden un promedio de 1.000 a 15.000 nematodos por cápsula de núcleo líquido, preferentemente de 1.500 a 7.500 nematodos por cápsula de núcleo líquido, preferentemente, en particular, de 1.500 a 2.000 nematodos por cápsula de núcleo líquido.
7. Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizadas por que las cápsulas de núcleo líquido tienen un diámetro promedio de entre 1 y 30 mm, preferentemente entre 3 y 10 mm, preferentemente, en particular, de 3 a 6 mm.
8. Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizadas por que las cápsulas de núcleo líquido tienen un peso promedio por cápsula de núcleo líquido de entre 10 y 100 mg, preferentemente entre 40 y 80 mg, preferentemente, en particular, de 40 a 60 mg.
9. Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizadas por que las cápsulas de núcleo líquido comprenden además al menos un cebo atrayente para las plagas a controlar, preferentemente al menos un aceite esencial.
10. Las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizadas por que los nematodos representan las especies *Steinernema carpocapsae* y/o *Steinernema feltiae* y/o *Steinernema kraussel* y/o *Heterorhabditis bacteriophora* y/o *Heterorhabditis downesi* y/o *Phasmarhabditis hermaphrodita*.
11. Un sustrato para plantas, caracterizado por que se le han añadido cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.

12. Un método para la producción de cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizado por que la emulsión que comprende los nematodos se vierte en una disolución de hidrocoloide en presencia de iones divalentes.

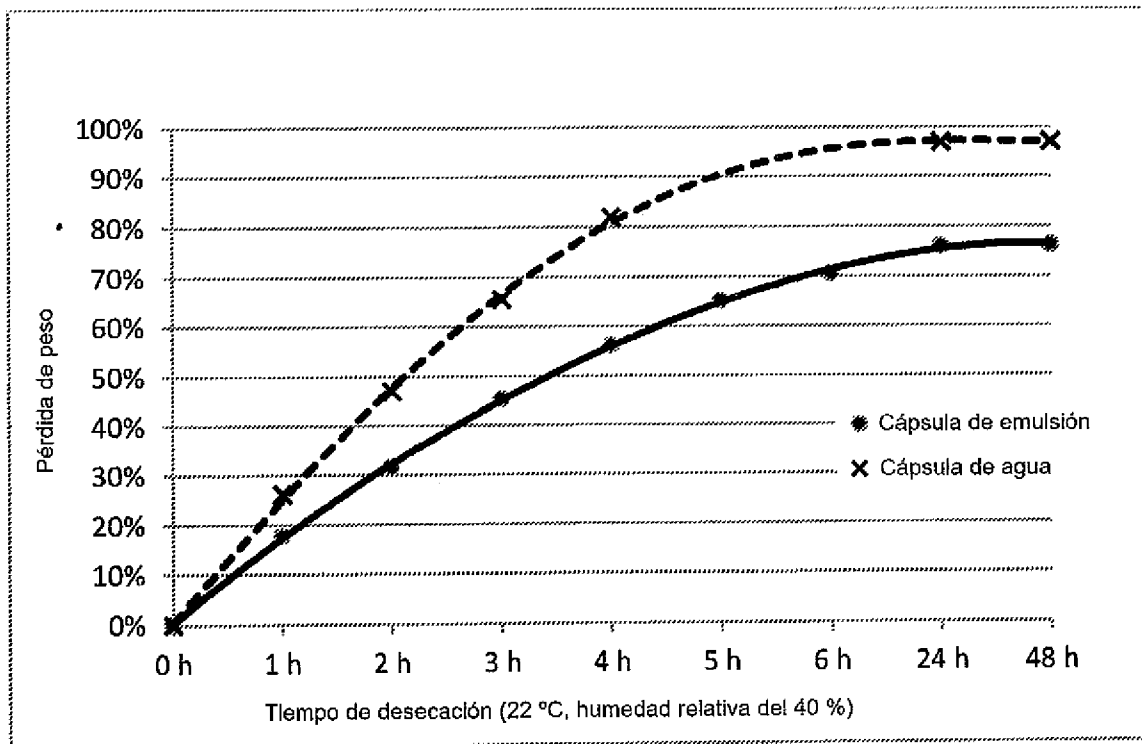
5

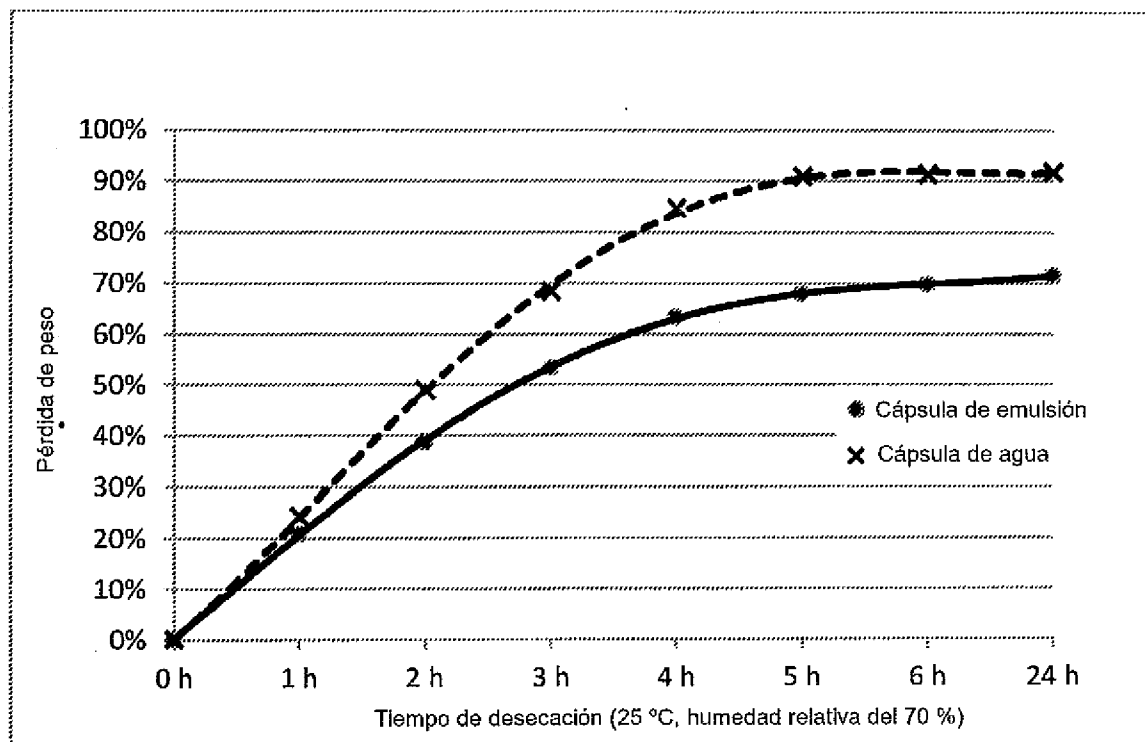
13. El método de acuerdo con la reivindicación 12, caracterizado por que la emulsión se estabiliza al menos durante el período del proceso de goteo mediante el uso de emulsionantes.

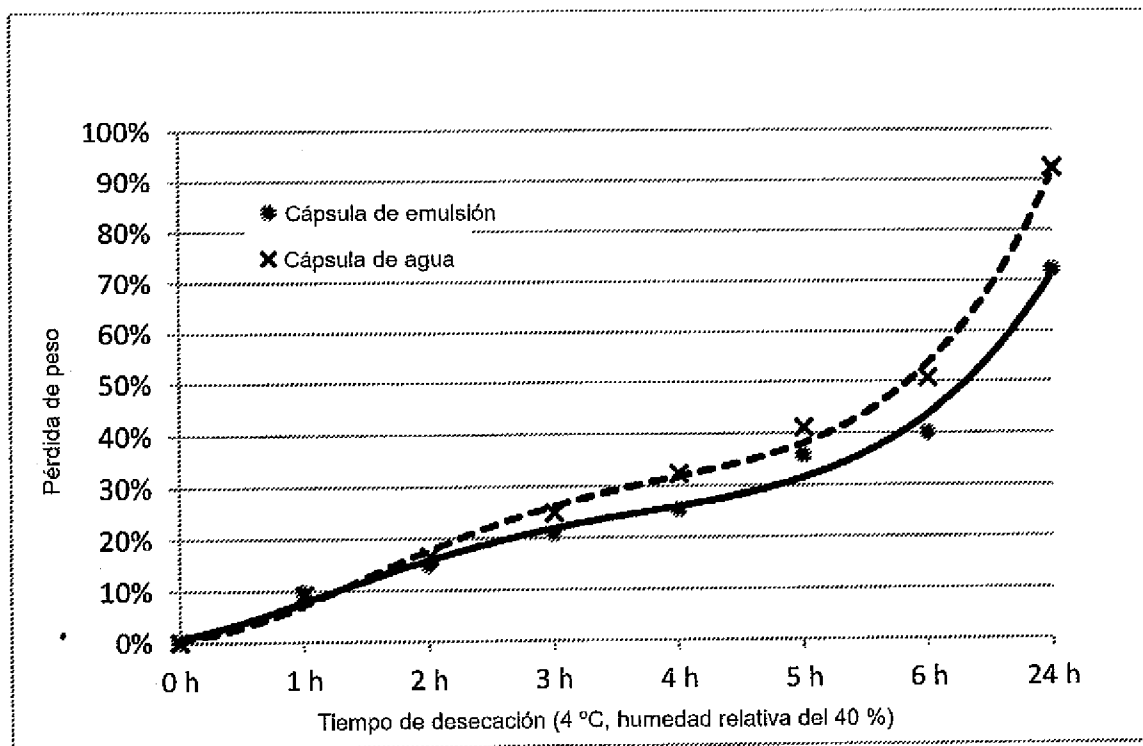
10

14. Un método para controlar plagas, caracterizado por que las cápsulas de núcleo líquido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 se aplican a una población de plantas.

15. El método de acuerdo con la reivindicación 14, caracterizado por que las cápsulas de núcleo líquido se usan en una dosificación de entre 1 y 1.000 cápsulas de núcleo líquido, preferentemente entre 10 y 500 cápsulas de núcleo líquido, por m² área de sustrato.

**Fig. 1**

**Fig. 2**

**Fig. 3**

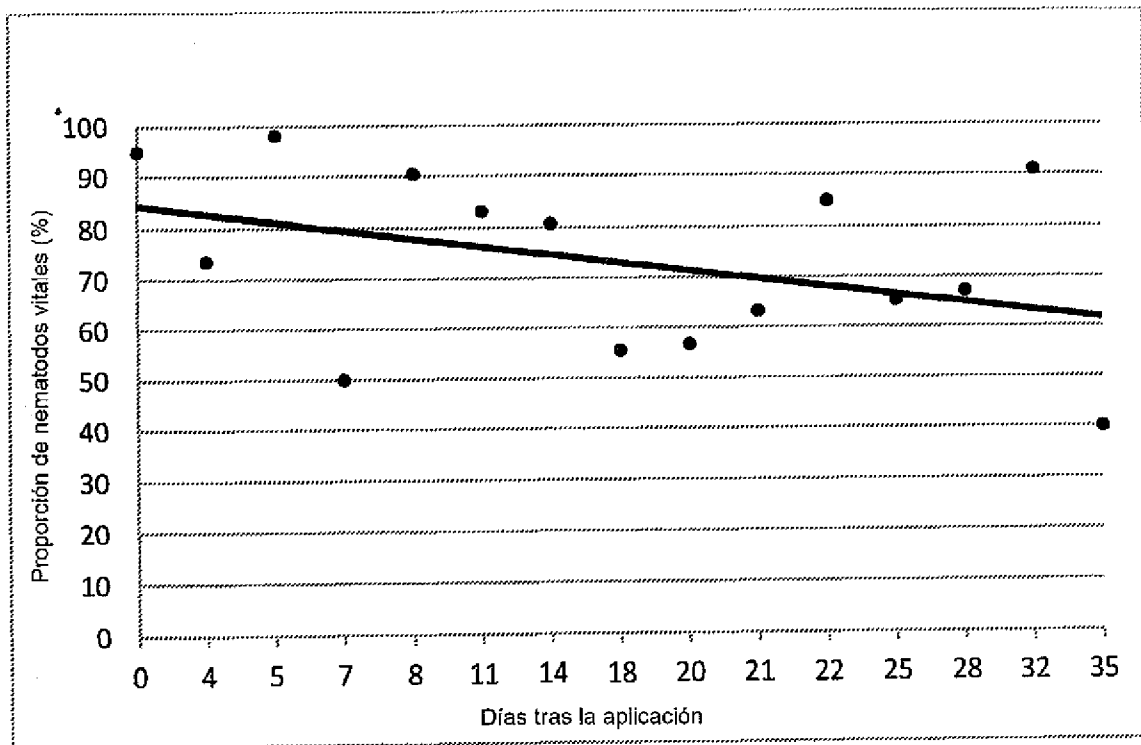
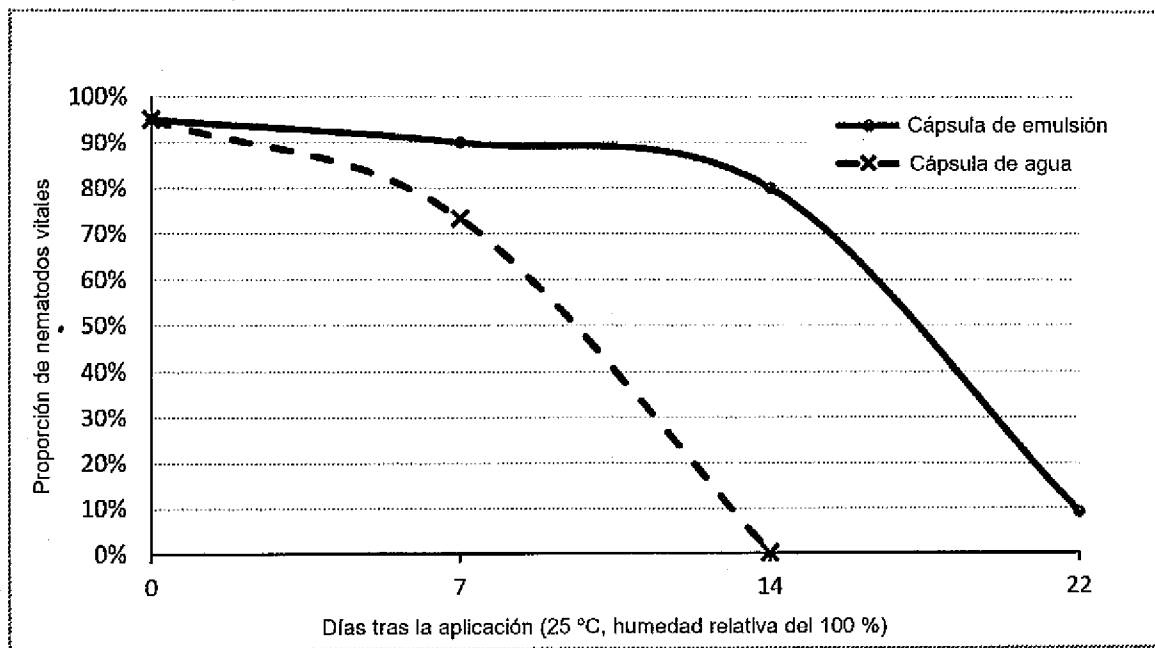


Fig. 4

**Fig. 5**

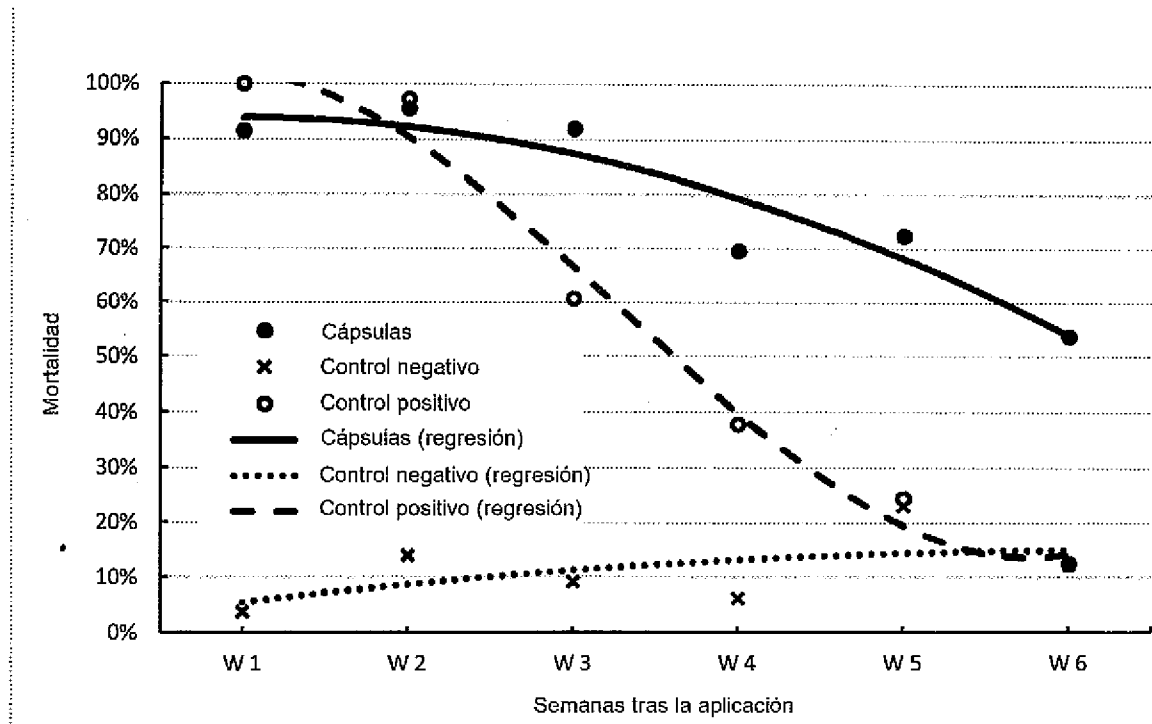
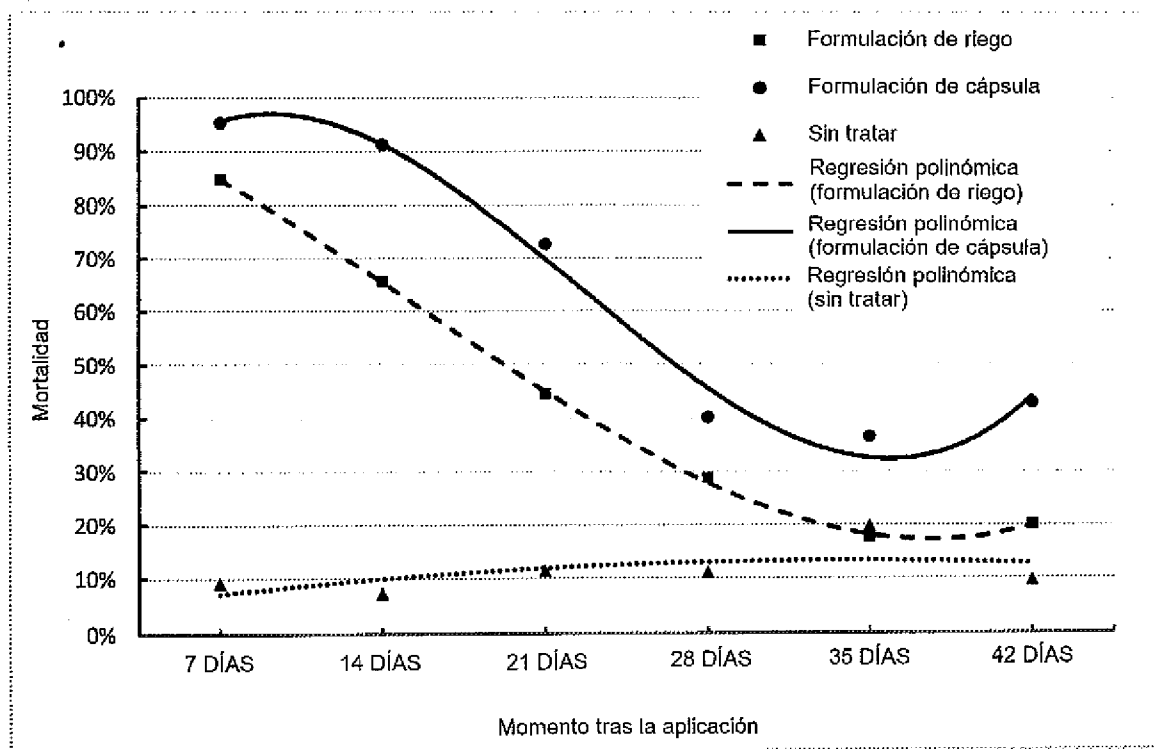


Fig. 6

**Fig. 7**