

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL
DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD DE PAT
INVENCION

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-013958- -00000-0000

Fecha: 2012-01-30 16:28:10 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 82

TITULO: COMBINACIONES DE INHIBIDOR DE PATÓGENOS DE PLANTA Y
MÉTODOS DE USO.

SOLICITANTE: MARRONE BIO INNOVATIONS, INC.

DIRECCIÓN: 2121 Second Street Suite 107b, Davis, CA 95618, Estados
Unidos de América.

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 30 de Enero de 2012

P2012/000015

OLARTEMOURE

OLARTE MOURE & ASOC.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO


Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



No. 12-013958-00000-0000

Fecha: 2012-01-30 16:28:10 Dep. 2020 DIR.NUEVASOR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 82

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD

PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2012/000015

SOLICITUD DE:

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.

☐

Capítulo II.



SOLICITANTE
(71)

Nombre: MARRONE BIO INNOVATIONS, INC.

Dirección: 2121 Second Street Suite 107b,
Davis, CA 95618, Estados Unidos de América.

Nacionalidad o Domicilio: Estadounidense
Lugar de Constitución: Estados Unidos

Teléfono: _____ Fax: _____
E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799
E-mail: office@olartemoure.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐

C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 79.782.747Bta
TP 74.295

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA.

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA.

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA.



PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2010/043612

Fecha Julio 29, 2010

Publicación Internacional No. WO 2011/014596

Fecha Febrero 03, 2011



Título (54) COMBINACIONES DE INHIBIDOR DE PATÓGENOS DE PLANTA Y
MÉTODOS DE USO.

Clasificación Internacional (51) A01N 65/30; A01N 35/06; A01N 43/48; A01N 43/64;
A01N 25/30.

Prioridad

SI

☒

NO

☐

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Julio 30, 2009

(31) Número de Solicitud

61/230,102



Comprobante de pago No. 12-

Fecha Enero de 2012



ANEXOS



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple ver expediente No.



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.



Declaraciones. Declaración bajo la regla 4.17 (ii) del PCT.



Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.



Arte final 12 x 12.



De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.



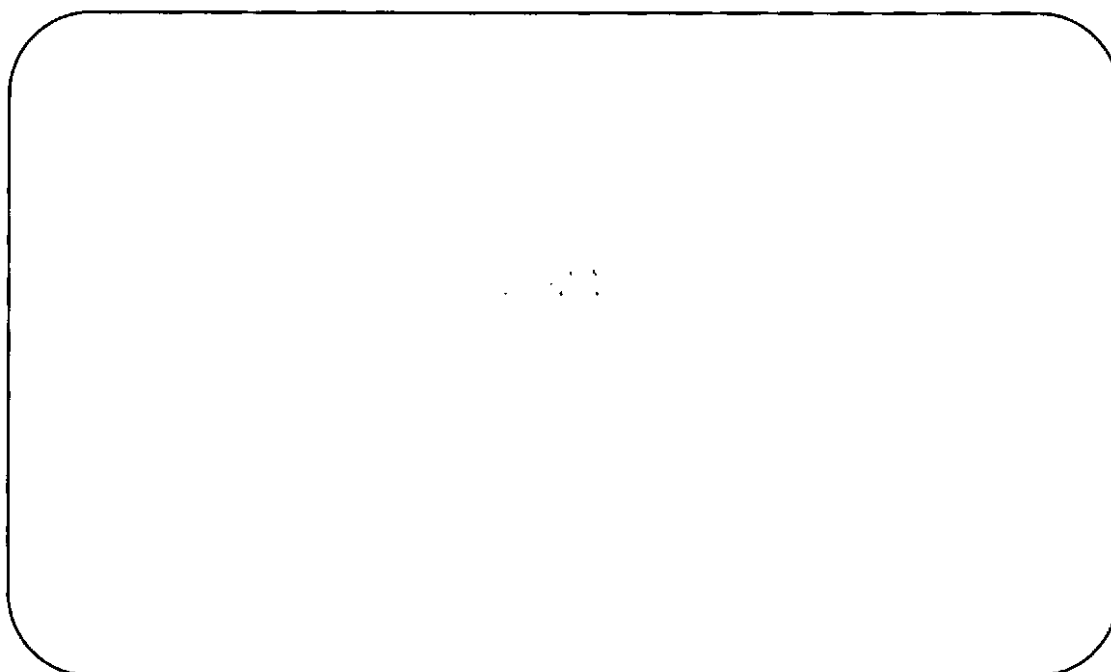
De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.



Otros. Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA:

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

2

LISTA DE INVENTORES

PCT/US2010/014596

Hai SU

1017 Greene Terrace

Davis CA 95618

Estados Unidos de América

Nacionalidad: Canadiense

Pamela G. MARRONE

333 Victoria Place

Davis CA 95616,

Estados Unidos de América

Nacionalidad: Estadounidense

Marja KOIVUNEN

1236 Evans Ct.

Davis CA 95618,

Estados Unidos de América

Nacionalidad: Finlandesa

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 11 - 88,250
FECHA : SEPTIEMBRE 8 DE 2011

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
OLARTE RAISBEK	RECIBO DE CAJA			28752	14/04/2010	114,000.00
OLARTE RAISBEK	RECIBO DE CAJA			32498	07/04/2011	432,000.00
OLARTE RAISBEK	RECIBO DE CAJA			38094	11/05/2010	114,000.00
OLARTE RAISBEK	RECIBO DE CAJA			38097	11/05/2010	114,000.00
OLARTE RAISBEK	RECIBO DE CAJA			38900	13/05/2010	52,000.00
...MAS INFORMACION NO IMP			TOTAL			2,920,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	21 CERTIFICACIONES
			14,000.00
		TOTAL :	\$ 14,000.00

SON: CATORCE MIL PESOS



RESPONSABLE : _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 12-013958- -00000-0000

Fecha: 2012-01-30 16:28:10 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 82

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

4

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 11 - 88,251
FECHA : SEPTIEMBRE 8 DE 2011

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
OLARTE RAISBEK	RECIBO DE CAJA			28752	14/04/2010	114,000.00
OLARTE RAISBEK	RECIBO DE CAJA			32498	07/04/2011	432,000.00
OLARTE RAISBEK	RECIBO DE CAJA			38094	11/05/2010	114,000.00
OLARTE RAISBEK	RECIBO DE CAJA			38097	11/05/2010	114,000.00
OLARTE RAISBEK	RECIBO DE CAJA			32900	13/05/2010	52,000.00
...MAS INFORMACION NO IMP			TOTAL			2,920.000.00

***** C O N C E P T O *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	21 CERTIFICACIONES	14,000.00
TOTAL :		\$ 14,000.00

SON: CATORCE MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
No. 12-013958- -00000-0000
Fecha: 2012-01-30 16:28:10 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 82

5

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

CERTIFICACION DE EXCEDENTE : 11 - 22,888
FECHA : MARZO 14 DE 2011

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
FREDERICK TORRES	DEVOLUCION TASA			84519	28/10/2004	658,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT. RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1 50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD I	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	422,000.00
	TOTAL :	\$ 422,000.00

SON: CUATROCIENTOS VEINTIDOS MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ESTA CERTIFICACION DE EXCEDENTE DE PAGO SOLO PODRA SER UTILIZADA
COMO PARTE DE LA CANCELACION DE UNA TARIFA VIGENTE Y NO PODRA SER
SUSTITUIDA POR NINGUN RECIBO.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 12-013858- -00000-0000
Fecha: 2012-01-30 16:28:10 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 82

6

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 12 - 002643
		Bogotá D.C., Enero 11 de 2012 - 16:34:36

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS NI 830.122.870

*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR. PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	409132846	11/01/2012	25.031.000.00

*** Conceptos Pagados ***			
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO Vr.CONCEPTO
1 50005-01-09	OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	90.000.00 90.000.00
			\$90.000.00
			=====

SON: **NOVENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: _____
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 12-013958- -00000-0000
Fecha: 2012-01-30 16:28:10 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 82

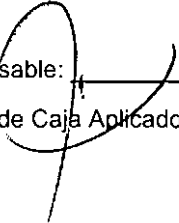
2

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
NIT : 800.176.089-2
- / -

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA	RECIBO DE CAJA	No. 12 - 002630
		Bogotá D.C., Enero 11 de 2012 - 16:34:36

RECIBIDO DE : OLARTE MOURE & ASOCIADOS				NI 830.122.870	
*** Soporte del Pago ***					
TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	VR PAGO
CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	409132846	11/01/2012	25.031.000.00
*** Conceptos Pagados ***					
CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	Vr.UNDITARIO		Vr.CONCEPTO
1	50005-01-09 OTROS SERVICIOS DE PROPIEDAD INDUSTRIAL	99 OTROS SERVICIOS ADMINISTRATIVOS	60.000.00		60.000.00
					\$60.000.00
					=====

SON: **SESENTA MIL PESOS MONEDA CORRIENTE**

Responsable: 
Recibo de Caja Aplicado al Expediente No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

No. 12-013958- -00000-0000
Fecha: 2012-01-30 16:28:10 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 82

8

Campo Nº VIII (ii) DECLARACIÓN: AUTORIZACIÓN PARA SOLICITAR Y OBTENER UNA PATENTE <i>La declaración debe corresponder al texto prescripto en la sección 212; ver observaciones a los campos VIII, VIII (i) a (v) (en general) y, en particular, las observaciones al campo VIII(i). En caso de no utilizar este campo, esta hoja no debe acompañar a la solicitud.</i> Declaración acerca del derecho del solicitante, en el momento de la fecha de presentación, a solicitar y a obtener una patente (Reglas 4.17 cifra ii y 51bis .1, párrafo a, cifra ii), para el caso en que no corresponda una declaración según la Regla 4.17 cifra iv: <i>Con respecto a esta Solicitud Internacional,</i> <i>Marrone Bio Innovations, Inc. está autorizada a solicitar y a obtener una patente en virtud de las siguientes menciones:</i> <i>Marrone Bio Innovations, Inc. está autorizada por ser empleadora de los inventores Hai Su, Marja Koivunen y Pamela G. Marrone</i> <i>Esta declaración se emite a los propósitos de todas las designaciones excepto la designación de los Estados Unidos de América</i> ☐ Esta declaración es continuada en la siguiente hoja: "Hoja continuación de campo Nº VIII (i)".
--

a

Box No. VIII (B) DECLARATION: ENTITLEMENT TO APPLY FOR AND BE GRANTED A PATENT

The declaration must conform to the standardized wording provided for in Section 21.2; see Notes to Rules Nos. VIII, VIII(p); to (v) (in general) and the specific Notes to Box No. VIII (B). If this Box is not used, this sheet should not be included in the request.

Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(v) and 51bis 1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:

In relation to this international application, Marrone Bio Innovations, Inc. is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:

Marrone Bio Innovations, Inc. is entitled as employer of the inventors, Hai Su, Marja Koivunen, and Pamela G. Marrone.

This declaration is made for the purposes of all designations except the designation of the United States of America.

☐ This declaration is continued on the following sheet, "Continuation of Box No. VIII (B)".

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
3 February 2011 (03.02.2011)

(10) International Publication Number
WO 2011/014596 A2

(51) International Patent Classification:

A01N 65/30 (2009.01) A01N 43/64 (2006.01)
A01N 35/06 (2006.01) A01N 25/30 (2006.01)
A01N 43/48 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2010/043612

(22) International Filing Date:

29 July 2010 (29.07.2010)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/230,102 30 July 2009 (30.07.2009) US

(71) Applicant (for all designated States except US): MAR-
RONE BIO INNOVATIONS, INC. [US/US]; 2121 Sec-
ond Street Suite 107b, Davis, CA 95618 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): SU, Hal [CA/US];
1017 Greene Terrace, Davis, CA 95618 (US). MAR-
RONE, Pamela, G. [US/US]; 3333 Victoria Place,
Davis, CA 95616 (US). KOIVUNEN, Marja [FI/US];
1236 Evans Ct., Davis, CA 95618 (US).

(74) Agent: AGRIS, Chery, H.; PO Box 8495, Pelham, NY
10803 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,

AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted
a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of
the earlier application (Rule 4.17(iii))

Published:

- without international search report and to be republished
upon receipt of that report (Rule 48.2(g))

(54) Title: PLANT PATHOGEN INHIBITOR COMBINATIONS AND METHODS OF USE

(57) Abstract: Combinations, compositions and methods of use for modulating plant pathogen infection using plant extracts con-
taining anthraquinone derivatives which induce resistance to plant phytopathogens and an antimicrobial agent, a biological control
agent and/or a surfactant having fungicidal activity

WO 2011/014596 A2

11

MOI-42014-PCT

PLANT PATHOGEN INHIBITOR COMBINATIONS AND METHODS OF USE**5 TECHNICAL FIELD**

Disclosed herein are combinations, compositions and methods of use for modulating plant pathogen infection using plant extracts containing anthraquinone derivatives which induce resistance to plant phytopathogens and an antimicrobial agent, a biological control agent and/or a surfactant having fungicidal activity.

10

BACKGROUND**Plant resistance to plant pathogens**

Plants have evolved highly effective mechanisms for resistance to disease caused by infectious agents, such as bacteria, fungi and viruses. This resistance can be caused by several mechanisms, the best known of which are the systemic acquired resistance (SAR; Ross, 1961; Durrant and Dong, 2004) and induced systemic resistance (ISR; van Loon et al., 1998). In the most simple case, the inducer is the plant pathogen itself, in other cases, the inducer can be either a chemical compound (salicylic acid, benzo(1,2,3)thiadiazole-7-carbothioic acid S-methyl ester also known as BTH) or physical impact such as water or heat stress (Walters et al., 2005). It appears that induced systemic resistance depends upon a gradual expression and persistence of a low level of metabolic perturbation. Unlike elicitors of phytoalexin accumulation, which elicit at the site of application and may be responsible for localized protection, inducers of systemic resistance sensitize the plant as a whole to respond rapidly after infections. These responses include phytoalexin accumulation, lignification and enhanced activities of chitinase and glucanase.

Extract from giant knotweed (*Reynoutria sachalinensis*) sold as MILSANA® and REGALIA® by Marrone Bio Innovations, Inc.) provides control of powdery mildew and other plant diseases on cucurbits and other crops mainly by inducing an accumulation of fungitoxic phenolic compounds in the plant (Daayf et al., 1995; Wurms et al. 1999; Schmitt, 2002). Recently, formulated giant knotweed extract has also shown great efficiency in inducing resistance in various crops and plant pathogens including wheat powdery mildew (Vechet et al., 2009). Besides the ISR mode of action, the formulated *R. sachalinensis* extract has recently also been shown to have a direct fungistatic effect against wheat powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*; Randoux et al., 2008).

Fungicide resistance

Fungicide resistance is a common phenomenon in pests including plant pathogens. When a fungicide, especially those with single-site mode of action, is frequently used, the targeted pathogen can adapt to the fungicide due to high selection pressure. It is estimated that pests can develop resistance to pesticides within 5-50 generations (May, 1985). Most plant pathogens fit in this range in one growth season and thus can develop fungicide resistance quickly. For example, it only took one year for benomyl lost efficacy for control of cucurbit powdery mildew after its first registration for commercial use (McGrath, 2001).

Quinone outside inhibitors (also known as QoI fungicides or strobilurins) has been widely used to control agriculturally important fungal pathogens since their introduction in 1996. Strobilurins block the respiration pathway by inhibiting the cytochrome bc1 complex in mitochondria, thereby blocking the electron transfer process in the respiration chain and causing an energy deficiency due to lack of adenosine triphosphate (ATP) (Bartlett et al., 2002).

Strobilurins and other fungicides with a single-site mode of action such as demethylation inhibitors (DMI) are prone to resistance development among plant pathogens. To date, several plant pathogenic fungi have developed field resistance to strobilurins (Tuttle McGrath, 2003; Fraaije et al., 2003) and DMI fungicides (Schnabel et al., 2004), and considerable effort has been made worldwide to develop appropriate resistance management strategies with detailed recommendations of how to combine fungicides and other antifungal compounds in programs and rotations to minimize the risk of resistance development (Tuttle McGrath, 2006; Wyenandt et al., 2009).

Methods to control fungicide resistance

The most common strategy to manage fungicide resistance is to use site-specific fungicides that are prone to resistance development in a combination (pre-mix or tank mix). Besides resistance management, tank mixes also offer a compensatory mechanism in case of a failure of one fungicide as well as a way to reduce the dose to reduce selection pressure on pathogens (van den Bosch and Gilligan, 2008). In some cases, the combination of single and multisite fungicides in a tank mix or in rotation can provide additive or even synergistic interactions (Gisi, 1996). Holb and Schnabel (2008) were able to show improved control of brown rot (*Monilinia fructicola*) in a field study with a tank mix of a DMI fungicide and elemental sulfur, and Reuveni (2001) demonstrated the benefits of using strobilurins and polyoxin B fungicides in combination with sulfur to control powdery mildew in nectarines.

Plant defense inducers such as the extract of *R. sachalinensis* have been tested in tank mixes and rotations with other SAR/ISR products as well as with biocontrol agents (BCA) (Hafez et al., 1999; Belanger and Benyagoub, 1997; Schmitt et al., 2002; Schmitt and Seddon, 2005; Bardin et al., 2008). The purpose of these studies has mainly been to demonstrate the compatibility of different types of plant extracts with biocontrol agents. Konstatinidou-Doltsinis et al. (2007) tested the *R. sachalinensis* product in a rotation with *Pseudozyma flocculosa* product against powdery mildew on grapes, and found that alternated application of both products improved the efficacy of *R. sachalinensis*. In the same study, alternation of sulfur and *R. sachalinensis* in a rotation did not have a beneficial effect. Belanger and Benyagoub (1997) found that a yeast-like fungus, *Pseudozyma flocculosa*, was compatible with *R. sachalinensis* when used against cucumber powdery mildew in a greenhouse. Similarly, Bokshi et al. (2008) evaluated the combined effect of an acquired systemic resistance activator benzothiadiazole and MILSANA[®] against cucumber powdery mildew, and found that MILSANA[®] used in a rotation with benzothiadiazole provided an effective control measure against powdery mildew in the field. However, based on the disease severity and yield data collected, it was not possible to determine whether the positive effect was additive or synergistic.

Pesticide synergism has been defined as “the simultaneous action of two or more compounds in which the total response of an organism to the pesticide combination is greater than the sum of the individual components” (Nash, 1981). Hence, when fungicides interact synergistically, a high level of disease control is achieved with less than label rates of each individual fungicide. Usually, the best effect is achieved with combinations of fungicides with different modes of action (MOA), but synergy has also been demonstrated in combined use of products with similar mode of action (De Waard, 1996). Fungicide synergism has been demonstrated mostly in laboratory studies (Samoucha and Cohen, 1984; Gisi, 1996) but in some cases (Karaogladinis and Karadimos, 2006; Burpee and Latin, 2008) synergism has also been found in the field studies. Additionally, synergism of antifungal compounds other than fungicides (bicarbonates and refined petroleum distillate) has been demonstrated against rose powdery mildew and black spot (Horst et al., 1992).

SUMMARY

Disclosed and claimed is a combination comprising: (a) an extract derived from a plant, wherein said extract contains one or more anthraquinone derivatives which induce plant resistance to phytopathogens (also referred to as “plant pathogens”) and (b) one or more anti-phytopathogenic agents selected from the group consisting of: (i) a non-benzothiadiazole, non-Vitamin E, non-organophosphorus anti-microbial agent, which lacks or in other words does not

contain non-elemental, non-wettable sulfur, (ii) a surfactant having fungicidal activity and (iii) a non-*Bacillus*, non-*Pseudomonas*, non-*Brevibacillus*, non-*Lecanicillium*, non-*Ampelomyces*, non-*Phoma*, non-*Pseudozyma* biological control agent (e.g., an agent derived from *Streptomyces* sp., *Burkholderia* sp., *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. or a natural oil or oil-product having fungicidal and/or insecticidal activity).

In a specific embodiment, the combination comprises: (a) an extract derived from the family *Polygonaceae* and (b) a non-benzodiathiazole, non-Vitamin E, non-organophosphorus anti-fungal and/or antibacterial agent, which lacks or does not contain non-elemental or non-wettable sulfur.

In one specific embodiment, the combination comprises (a) an extract derived from the family *Polygonaceae* (e.g. *Reynoutria sachalinensis*) and (b) a single site fungicide and/or multi-site fungicide which may include but is not limited to myclobutanil, quinoxifen, azoxystrobin, acibenzolar-*S*-methyl, mefenoxam, triflumizole, fludioxonil, propiconazole.

In another specific embodiment, the combination comprises (a) an extract derived from the family *Polygonaceae* (e.g. *Reynoutria sachalinensis*) and (b) a natural oil or oil-product having fungicidal and/or insecticidal activity.

In yet another particular embodiment, the combinations are compositions, particularly compositions for use in modulating phytopathogenic or fungal infection. The invention is further directed to the use of the extract and anti-phytopathogenic agents in formulating these compositions.

The invention is additionally directed to a synergistic combination for use in modulating phytopathogenic infection comprising (a) an extract derived from a plant, wherein said plant contains anthraquinone derivatives that induce plant resistance to phytopathogens and (b) a non-Vitamin E, non-organophosphorus antimicrobial agent (e.g., anti-fungal and/or antibacterial agent), which lacks or does not contain non-elemental or non-wettable sulfur. In a particular embodiment, the antimicrobial agent is a benzodiathiazole (e.g., acibenzolar-*S*-methyl), a triazole (e.g., propiconazole) or a strobilurin (e.g., azoxystrobin).

The above mentioned combinations may also be formulated into compositions.

The invention is further directed to a method for modulating phytopathogenic infection in a plant comprising applying to the plant and/or seeds thereof and/or substrate used for growing said plant an amount of the combinations of the present invention set forth above effective to modulate said phytopathogenic infection.

In a particular embodiment, the invention is directed to a method for modulating fungal and/or bacterial infection in a plant comprising applying to the plant and/or seeds thereof and/or

substrate used for growing said plant an amount of the combinations of the present invention effective to modulate said fungal and/or bacterial infection.

The extract and said anti-phytopathogenic agents (e.g., anti-fungal and/or antibacterial agents) may be administered sequentially, concurrently or in combination intermittently. As
5 defined herein "phytopathogenic infection" means infection of a plant by plant pathogenic bacteria, fungi, insects, nematodes and/or mollusks.

The invention is further directed to a method for decreasing the resistance of a phytopathogen (e.g, fungus and/or bacteria) to (i) a non-Vitamin E, non-organophosphorus anti-microbial agent, which lacked or in other words did not contain non-elemental or non-wettable
10 sulfur, (ii) a surfactant having fungicidal activity and/or (iii) a non-*Bacillus*, non-*Pseudomonas*, non-*Brevabacillus*, non-*Lecanicillium*, non-*Ampelomyces*, non-*Phoma*, non-*Pseudozyma* biological control agent (e.g., an agent derived from *Streptomyces* sp., *Burkholderia* sp., *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. or a natural oil or oil-based product having fungicidal and/or insecticidal activity) comprising applying to a plant in need thereof an amount of the
15 combinations of the present invention effective to decrease the emergence of said resistance. In a particular embodiment, the invention is directed to a method for decreasing the resistance of a fungus and/or bacteria to a non-elemental or non-wettable, sulfur, non-benzodiathiazole, non-Vitamin E, non-organophosphorus anti-fungal and/or antibacterial agent. In yet another particular embodiment, the invention is directed to a method for decreasing resistance of a
20 fungus and/or bacteria to a natural oil or oil-based product having fungicidal and/or insecticidal activity using the combination of the present invention. This may be accomplished by decreasing the frequency or rate of emergence. The resistance of a phytopathogen to the above-mentioned anti-pathogenic agents may be reduced by at least 50%.

The invention is further directed to the use of (a) an extract derived from a plant,
25 wherein said extract contains anthraquinone derivatives which induce plant resistance to phytopathogens, and (b) one or more anti-phytopathogenic agents selected from the group consisting of: (i) a non-benzodiathiazole, non-Vitamin E, non-organophosphorus anti-microbial agent which lacks nonelemental, non-wettable sulfur, (ii) a surfactant having fungicidal activity and (iv) a non-*Bacillus*, non-*Pseudomonas*, non-*Brevabacillus*, non-*Lecanicillium*, non-*Ampelomyces*, non-*Phoma*, non-*Pseudozyma* biological control agent for the manufacture of a
30 composition for modulating phytopathogenic infection as well as the use of (a) an extract derived from a plant, wherein said plant contains anthraquinone derivatives that induce plant resistance to phytopathogens and (b) a benzodiathiazole anti-microbial agent for the manufacture of a synergistic composition for modulating phytopathogenic infection.

16

The invention is further directed to a kit comprising (a) an extract derived from the family *Polygonaceae* and (b) one or more anti-phytopathogenic agents selected from the group consisting of: (i) a non-benzodiathiazole, non-Vitamin E, non-organophosphorus, anti-microbial agent, which lacks a non-elemental or non-wettable sulfur, (ii) a surfactant having fungicidal activity and (iii) a non-*Bacillus*, non-*Pseudomonas*, non-*Brevabacillus*, non-*Lecanicillium*, non-*Ampelomyces*, non-*Phoma*, non-*Pseudozyma* biological control agent. This kit may further comprise packaging instructions.

DETAILED DESCRIPTION OF SPECIFIC EMBODIMENTS

Where a range of values is provided, it is understood that each intervening value, to the tenth of the unit of the lower limit unless the context clearly dictates otherwise, between the upper and lower limit of that range and any other stated or intervening value in that stated range is encompassed within the invention. The upper and lower limits of these smaller ranges may independently be included in the smaller ranges is also encompassed within the invention, subject to any specifically excluded limit in the stated range. Where the stated range includes one or both of the limits, ranges excluding either both of those included limits are also included in the invention.

Unless defined otherwise, all technical and scientific terms used herein have the same meaning as commonly understood by one of ordinary skill in the art to which this invention belongs. Although any methods and materials similar or equivalent to those described herein can also be used in the practice or testing of the present invention, the preferred methods and materials are now described. Further, although this invention has been described with reference to specific embodiments, the details thereof are not to be construed as limiting, as it is obvious that one can use various equivalents, changes and modifications and still are within the scope of the present invention.

Various references are cited throughout this specification, each of which is incorporated herein by reference in its entirety.

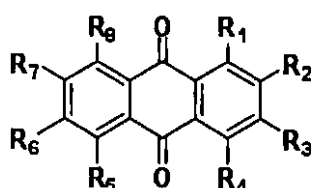
It must be noted that as used herein and in the appended claims, the singular forms "a," "and" and "the" include plural references unless the context clearly dictates otherwise. For example, "a fungus" also encompasses "fungi".

As defined herein, the term "modulate" is used to mean to alter the amount of phytopathogenic infection or rate of spread of phytopathogenic infection.

Extracts

The plant extracts used in the combinations, compositions and methods of the present invention contain anthraquinone derivatives as biochemical agricultural products for use against plant pests, particularly plant phytopathogens such as plant pathogenic bacteria, fungi, insects, nematodes and/or as a molluscicide. "Contain" also encompasses extracts that produce said anthraquinone derivatives. In a particular embodiment, the anthraquinone derivative(s) of the present invention which is used in compositions and methods of the present invention is (are) the major active ingredients or one of the major active ingredients.

Anthraquinone derivatives include but are not limited to physcion, emodin, chrysophanol, ventiloquinone, emodin glycoside, chrysophanol glycoside, physcion glycoside, 3, 4-dihydroxy-1-methoxy anthraquinone-2-carboxaldehyde, damnacanthal. These derivatives share a similar structure as follows:



Where R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7 and R8 are hydrogen, hydroxyl, hydroxylalkyl, halogen, carboxyl, alkyl, alkyoxyl, alkenyl, alkenyloxyl, alkynyl, alkynyloxyl, heterocyclyl, aromatic, or aryl group, sugars such as glucose.

In a particular embodiment, the invention is directed to anthraquinone derivatives that are contained in extracts derived from plant families including but not limited to Polygonaceae, Rhamnaceae, Fabaceae, Asphodelaceae, and Rubiaceae so on. These compounds can be from any part of plants such as leaf, stem, bark, root and fruits. Plant materials can be wet and dry, but preferably dry plant materials. To meet the biochemical agricultural products, solvents and processes that are used in the extraction and purification must meet the requirements of National Organic Program (NOP) [<http://www.ams.usda.gov/AMSV1.0/nop>].

In a more particular embodiment, the plant extract is derived from a member of the *Polygonaceae* family. As defined herein, "derived from" means directly isolated or obtained from a particular source or alternatively having identifying characteristics of a substance or organism isolated or obtained from a particular source. In a particular embodiment, extract in said combination contains at anthraquinone derivatives physcion and optionally emodin.

Members of the *Polygonaceae* family include but are not limited to *Acetosella*, *Antigonon*, *Aristocapsa*, *Bilderdykia*, *Brunnichia*, *Centrostegia*, *Chorizanthe*, *Coccoloba*, *Coccolobis*, *Coccolobo*, *Corculum*, *Dedeckera*, *Delopyrum*, *Dentoceras*, *Dodecahema*, *Emex*, *Eriogonum*, *Fafopyrum*, *Fagopyrum*, *Fallopia*, *Gilmania*, *Goodmania*, *Harfordia*, *Hollisteria*, *Koenigia*, *Lastarriaea*, *Mucronea*, *Muehlenbeckia*, *Nemacaulis*, *Oxyria*, *Oxytheca*, *Perscarioa*,

17

Persicaria, *Pleuropterus*, *Podopterus*, *Polygonella*, *Polygonum*, *Pterostegia*, *Rheum*, *Rumex*, *Ruprechtia*, *Stenogonum*, *Systenotheca*, *Thysanella*, *Tovara*, *Tracaulon*, *Triplaris* and even more particular embodiment, the extract may be derived from a *Reynoutria* (alternately referred to as *Fallopia*) sp. or *Rheum* species. In a most particular embodiment, the extract is derived from *Reynoutria sachalinensis*.

Anti-Phytopathogenic agents

The formulated extract (such as products marketed under trade names REGALIA® and MILSANA®) can then be used in combination with other anti-phytopathogenic agents plant extracts, biopesticides, inorganic crop protectants (such as copper), surfactants (such as rhamnolipids; Gandhi et al., 2007) or natural oils such as paraffinic oil and tea tree oil possessing pesticidal properties or chemical fungicides or bactericides with either single site, multisite or unknown mode of action. As defined herein, an “anti-phytopathogenic agent” is an agent which modulates the growth of a plant pathogen on a plant or alternatively prevents infection of a plant by a plant pathogen. A plant pathogen includes but is not limited to a fungus, bacteria, virus, insects, nematodes and/or mollusca.

In a particular embodiment, the anti-phytopathogenic agent is a biopesticide alternatively referred to as a biocontrol agent. This biocontrol agent is in a more particular embodiment a non-*Bacillus*, non-*Pseudomonas*, non-*Brevabacillus*, non-*Lecanicillium*, non-*Ampelomyces*, non-*Phoma*, non-*Pseudozyma* biological control agent is an agent derived from *Streptomyces* sp., *Burkholderia* sp., *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. Alternatively, the agent is a natural oil or oil-product having fungicidal and/or insecticidal activity (e.g., paraffinic oil, tea tree oil, lemongrass oil, clove oil, cinnamon oil, citrus oil, rosemary oil).

As noted above, the anti-phytopathogenic agent may be a single site anti-fungal agent which may include but is not limited to benzimidazole, a demethylation inhibitor (DMI) (e.g., imidazole, piperazine, pyrimidine, triazole), morpholine, hydroxypyrimidine, anilinopyrimidine, phosphorothiolate, quinone outside inhibitor, quinoline, dicarboximide, carboximide, phenylamide, anilinopyrimidine, phenylpyrrole, aromatic hydrocarbon, cinnamic acid, hydroxyanilide, antibiotic, polyoxin, acylamine, phthalimide, benzenoid (xylylalanine). In a more particular embodiment, the antifungal agent is a demethylation inhibitor selected from the group consisting of imidazole (e.g., triflumizole), piperazine, pyrimidine and triazole (e.g., bitertanol, myclobutanil, penconazole, propiconazole, triadimefon, bromuconazole, cyproconazole, diniconazole, fenbuconazole, hexaconazole, tebuconazole, tetraconazole, propiconazole). In a most particular embodiment, the antifungal agent is myclobutanil. In yet another particular embodiment, the antifungal agent is a quinone outside inhibitor (e.g.,

strobilurin). The strobilurin may include but is not limited to azoxystrobin, kresoxim-methoyl or trifloxystrobin. In yet another particular embodiment, the anti-fungal agent is a quinone, e.g., quinoxifen (5,7-dichloro-4-quinolyl 4-fluorophenyl ether).

In yet a further embodiment, the antimicrobial agent is a multi-site non-inorganic,
5 chemical fungicide selected from the group consisting of a nitrile (e.g., chloronitrile or fludioxonil), quinoxaline, sulphamide, phosphonate, phosphite, dithiocarbamate, chloralkythios, phenylpyridin-amine, cyano-acetamide oxime.

In yet another embodiment, the anti-phytopathogenic agent is an anti-bacterial agent. This anti-bacterial agent includes but is not limited to carbamates, organophosphates,
10 cyclodiene organochlorides, phenylpyrazoles, pyrethroids, pyrethrins, neonicotinoids, nitroguanadines, nicotine, Spinosyn, glycosides, juvenile hormone analogues and other insect growth regulators, pyridine azomethine, pyridine carboxamide, tetrazine, thiazolidinone, 2,4-diphenyloxzoline derivatives, organotin, pyrrole, buprofezin, hydramethylnon, naphthoquinon derivatives, pyridazinone, phenoxypyrazole, tetroneic acid, carbazate, rotenone, organochlorine-
15 diphenylaliphatics.

Uses

The said plant extract or formulated product can be used simultaneously with the other component or components in a tank mix or in a program (sequential application called rotation)
20 with predetermined order and application interval during the growing season. When used in a combination with the above-mentioned pesticidal products, at concentration lower than recommended in the product label, the combined efficacy of the two or more products (one of which is the said plant extract) is in a preferred embodiment, higher than each individual component's effect added together. Hence, the pesticidal effect is enhanced by synergism
25 between these two (or more) products, and the risk for the development of pesticide resistance among the plant pathogenic strains is reduced.

Target plants to be protected within the scope of the present invention comprise, for example, the following species of plants: cereals (wheat, barley, rye, oats, rice, sorghum and related crops), beet (sugar beet and fodder beet), pomes and soft fruit (apples, pears, plum,
30 peaches, almonds, cherries, strawberries, raspberries and blackberries), leguminous plants (beans, lentils, peas and soybeans), oil plants (rape, mustard, poppy, olives, sunflowers, coconuts, castor oil plants, cocoa beans and ground nuts), cucurbits (cucumber, melons, pumpkins, eggplant), fiber plants (cotton, flax, hemp and jute), citrus fruit (oranges, lemon, grapefruits and mandarins), vegetables (spinach, lettuce, asparagus, cabbages, carrots, onions,
35 tomatoes, potatoes and paprika), lauraceae (avocados, cinnamon and camphor) or plants such

as maze, tobacco, nuts, coffee, sugar cane, tea, vines, hops, bananas and natural rubber plants, as well as ornamentals (composites), areas of grass or general low cover crops which counteract erosion or desiccation of the soil and are useful in cultures of trees and perennials (fruit plantations, hop plantations, maze fields, vineyards, etc.).

5 The preferred method of applying combinations of products in the present invention is a foliar application (spraying, atomizing, dusting, scattering or pouring) with or without a carrier. The number of applications and the rate of application depend on the risk of infestation by a pathogen. For example, the foliar pesticidal treatments with combinations and mixtures covered in this patent can be made once in every 7 to 14 days at 25 to 10,000-fold lower rates than
10 recommended in the product label. Product mixtures and combinations targeted in the present invention may also be applied to seeds by impregnating the seeds either with a liquid formulation containing the active ingredient or coating them with a solid formulation. In special cases, further types of application are also possible. These include soil drench or selective treatment of plant stems or buds.

15 The mixtures of the present invention and, where appropriate, a solid or liquid adjuvant are prepared in known manner. For example, the mixtures may be prepared by homogeneously mixing and/or grinding the active ingredients with extenders such as solvents, solid carriers and, where appropriate, surface-active compounds (surfactants). The compositions may also contain further ingredients such as stabilizers, viscosity regulators, binders, adjuvants as well as
20 fertilizers or other active ingredients in order to obtain special effects.

EXAMPLES

As will be set forth below, in satisfaction of the foregoing objects and advantages, examples of methods for increasing the efficacy of two or more products by using them at rates
25 that produce synergistic or additive effects. The compositions and methods described here have been proven effective in reducing the disease incidence and severity in greenhouse-grown cucumbers (*Cucumis sativus*) but the concept can be used effectively for other plant varieties and species. The compositions and methods are particularly effective against cucumber powdery mildew but they can be applied to other fungal, bacterial, and viral plant diseases as
30 well such as grey mold, leaf spots, bacterial wilt, scab, anthracnose, tobacco mosaic virus etc.

Materials and Methods

Powdery Mildew (Examples I-V and X-XI)

The studies were conducted in a green house. Experimental design of the studies for synergism followed the Burpee and Latin (2008). Powdery mildew, caused by *Sphaerotheca fuliginea*, was used for investigating the efficacy of the treatments.

5 Cucumber seeds cv. "SMR 58" (Irwin & Sons Ag Supply, Inc. Cheshire, OR) were grown in plastic 4-inch pots with potting soil mix (Rod McLellan Company, Marysville, OH). The plants were treated at 2-true leaf stage. The compounds at various rates were sprayed with a 2-oz mist sprayer at 2 ml per plant at upper side and 1 ml at lower side of the leaves. The treated plants were left for 3-4 hours under florescent light to dry before inoculation.

10 A conidia suspension of *Sphaerotheca fuliginea*, the causal agent of powdery mildew disease on cucumber, was prepared by cutting diseases leaves of the cucumber plants that are served for conservation of inoculum. The suspension were adjusted to 2.0×10^5 conidia per ml and applied with a 2-oz mist sprayer at 2 ml per plant on the upper side of the leaves. The inoculated plants were placed in a greenhouse and the treatments were arranged in randomized complete blocks with 4 to 6 replicates at 25°C to 30°C.

15 The disease severity (percentage area covered with colonies) of the first leaves were rated according to James (1971). Disease severity and percentage control were analyzed with analysis of variance (ANOVA) and means of the treatments were compared with Fisher's Protected Least Difference (LSD) at $p=0.05$ level. Synergetic effect was calculated and analyzed with Limpel's formula (Limpel et al., 1962; Richer, 1987).

20

Lettuce downy mildew (Examples VI-VII)

Synergy between MBI-106 and acibenzolar-*S*-methyl or mefenoxam which control a specific class of pathogens *Oomycetes* was tested with lettuce downy mildew following Su et al. (2004).

25 To prepare inoculum of downy mildew, lettuce seeds were placed on 5-mm petri-dishes with about 20-30 seeds in each and watered with sterile water, then supplied with ½ strength of Hoagland's solution after germination. The petri dishes were placed at 20°C growth chamber for 7-10 days. The spores of *Bremia lactucae* was inoculated on lettuce cotyledons and cultured for 7-10 days at 15°C for sporulation to occur. Cotyledons with sporulation were cut off and
30 placed in a falcon tube with sterile water. The cotyledons were vortexed for 15 seconds three times and filtered through a 100-µm mesh to collect sporangia. The solution was adjusted to 0.5 to 1.0×10^5 spores/ml for inoculation.

Four test plants were seeded in each 2-in pots and then placed at 20°C for 7-10 days to grow cotyledons. Plants were ready for test when the first true leaf was emerging.

The lettuce plants were treated with the materials and left to dry or overnight. Then the plants were inoculated with sporangial solution. The treatments were arranged in a randomized complete block design with four replicates. The inoculated plants were placed in darkness in growth chamber for 48 hours and then incubated under 12-h light period at 15°C. Eight to ten days after inoculation, the cotyledons were rated for disease severity (percentage area covered with sporangiophores).

Seed treatment (Examples VIII-IX)

The experiments described below were conducted with soybean but similar procedures are used with other crops such as cereals, corn, cotton, and potatoes.

The experiments were conducted in a greenhouse following the procedure developed by Hwang et al. (2006). The isolate of *Rhizoctonia solani* was grown on potato dextrose agar plates and cultured for 5 days for inoculating oat or wheat grain. One liter of grain was soaked overnight at room temperature (25°C) and rinsed three times with tap water. The 8×12-in autoclave bags were filled with the grain up to 1/3 full were autoclaved at 121°C for 15 min. The autoclaved grain then was then inoculated with 5 pieces of 1×1 cm plug of the 5-day culture of *R. solani* per bag and cultured for 5 days at room temperature (25°C). The bags were left open in laminar flow hood to let the grain completely dry.

The blank seed sample of 10 g to be coated was placed in a flask. Coating agent SEPIRET® 1171-O (Becker Underwood Ltd., Ames, IA) was put into the flasks together with the compound of interest, and the flask was shaken vigorously so that the seed picked up the compound. The procedure was repeated with fresh seed sample of cvs. "White Lion" (Kitazawa Seed Co., Oakland, CA) or "Viking 2265" (Johnny's Selected Seeds, Winslow, ME) in the same flask for the treatments. After the seeds were coated, they were left to air dry before planting.

To prepare the soil, five hundred milliliters of the dried grains with inoculum were blended for 15 seconds three times and the powder was mixed with sterile sand at 1:1 (v/v) to dilute the inoculum. The sand mix was further used to prepare soil mix at various proportions 1:350 to 1:800 (inoculum: soil) for soybean to generate various disease levels in repeated tests.

The coated seeds were planted in the pots with infested soil. There were three replicates of each treatment which were arranged in a complete randomized block design and placed at 25 to 30°C in a greenhouse.

After 10 to 20 days, depending on disease pressure and temperature, emergence of each treatment was rated and compared. Biomass was measured by weighing the above-ground portion which was measured for each replicate of the plant material.

Example I. Synergistic effect between formulated *R. sachalinensis* extract and myclobutanil (test I).

MBI-106 (formulated *R. sachalinensis* extract marketed as REGALIA® SC by Marrone
5 Bio Innovations, Inc., Davis, CA) diluted at 10-fold lower than label rates of 1500× and 2000×
and myclobutanil (formulated as RALLY® 40W, Dow AgroSciences LLC, Indianapolis, IN) at
concentrations of 0.25 ug/ml, 0.1 ug/ml, and 0.05 ug/ml (450 to 2,250-fold lower than
recommended label rates) were applied alone or in tank mix.

Disease severity was significantly reduced in MBI-106 at 1500× and 2000× in
10 combination with myclobutanil at 0.25 ug/ml than that when they were used alone (Table 1).
Significant increase in control efficacy was found with the combination of MBI-106 2000× tank
mixed with myclobutanil at rates of 0.25 ug/ml and 0.05 ug/ml (Table 2).

Example II. Synergistic effect between *R. sachalinensis* extract and myclobutanil (test II).

15 In a second test using MBI-106 (formulated as REGALIA® SC) and myclobutanil
(formulated as RALLY® 40W), higher efficacy was found when MBI-106 at 2000× (10-fold
lower than label rate) dilution in combination with myclobutanil at rates of 0.25, 0.1, and 0.05
ug/ml, and when MBI-106 at 1500× was tanked mixed with myclobutanil at 0.05 ug/ml (Table
3). Significant synergistic effect was displayed when MBI-106 diluted at 1500× and 2000× was
20 combined with myclobutanil at the lowest rate of 0.05 ug/ml (Table 4).

Example III. Synergistic effect between formulated *R. sachalinensis* extract and quinoxifen

MBI-106 diluted at 1500× or 2000× was applied alone or in combination with
25 quinoxifen (formulated as QUINTEC®, Dow AgroSciences LLC, Indianapolis, IN) at 0.05 and
0.01 ug/ml (2,000 to 10,000-fold lower than label rates) either alone or in a tank mix. The
results are shown in Tables 5 and 6. The most significant synergistic effect and enhanced
disease control was found at *R. sachalinensis* product dilution of 2000× with quinoxifen at 0.01
ug/mL. Quinoxifen has a new multi-site mode of action affecting G-proteins in early cell
30 signaling.

Example IV. Synergistic effect between formulated *R. sachalinensis* extract and azoxystrobin

MBI-106 diluted at 1500× or 2000× was applied alone or in combination with
35 azoxystrobin (formulated as QUADRIS®, Syngenta Corporation, Wilmington, DE) at a rate

0.25, 0.5, 1.0, 5.0, and 10 ug/mL (25 to 1020-fold lower than recommended label rates) either alone or in a tank mix. The results are shown in Tables 7 and 8. Of all tested combinations, mixes with *R. sachalinensis* extract at 2000× dilution and azoxystrobin at either 5.0 or 0.5 ug/mL provided the greatest synergy, and the fungicidal efficacy was significantly greater than expected compared to the single-compound use data.

Example V. Synergistic effect between formulated *R. sachalinensis* extract and triflumizole.

MBI-106 (formulated *R. sachalinensis* extract marketed as REGALIA® SC by Marrone Bio Innovations, Inc., Davis, CA) at 2500× dilution (10-fold lower than label rate) and triflumizole (formulated as PROCURE® 480SC, Chemtura Corporation, Middlebury, CT) at concentrations of 1.0 ug/ml, 0.5 ug/ml, and 0.25 ug/ml (150 to 600-fold lower than recommended label rates) were applied alone or in tank mix to.

Disease severity was significantly reduced ($P < 0.0001$) in treatments sprayed with MBI-106 at 2500× dilution in combination with triflumizole compared with a treatment where MBI-106 was used alone (Table 9). Synergistic effect in efficacy was found at the combination of MBI-106 2500× tank mixed with triflumizole at rates of 1.0 ug/ml, 0.5 ug/ml, and 0.25 ug/ml (Table 10).

Example VI. Synergistic effect between *R. sachalinensis* extract and acibenzolar-*S*-methyl in controlling lettuce downy mildew.

MBI-106 (formulated *R. sachalinensis* extract marketed as REGALIA® SC by Marrone Bio Innovations, Inc., Davis, CA) was used alone at 200× dilution or in combination with acibenzolar-*S*-methyl (formulated as ACTIGARD®, Syngenta Crop Protection, Inc., Greensboro, NC) at concentrations of 25 ug/ml to control lettuce downy mildew.

Disease severity was significantly reduced ($p = 0.0004$) in MBI-106 at 200× dilution in combination with acibenzolar-*S*-methyl compared to treatments in which they were used alone (Table 11). There is a synergistic effect in efficacy in the tank mix of MBI-106 200× and acibenzolar-*S*-methyl (Table 12).

Example VII. Synergistic effect between *R. sachalinensis* extract and mefenoxam in controlling lettuce downy mildew.

To investigate the synergistic effect of Reynoutria and MBI-106, formulated product REGALIA® ME by Marrone Bio Innovations, Inc., Davis, CA was used at 400× dilution rate in

combination with mefenoxam (formulated as RIDOMIL GOLD[®], Syngenta Crop Protection, Inc., Greensboro, NC) at concentrations of 37.5µg/ml, 75.0µg/ml, and 150µg/ml to control lettuce downy mildew.

5 Disease severity was significantly reduced ($p < 0.0001$) in MBI-106 at 400× dilution in combination with mefenoxam compared to treatments in which they were used alone at each concentration (Table 13). Synergistic effect in efficacy of the tank mix of MBI-106 200× and mefenoxam was found in combinations of MBI-106 and each concentration of mefenoxam (Table 14).

10 **Example VIII. *R. sachalinensis* extract as a seed treatment agent and its synergy with azoxystrobin in controlling *Rhizoctonia solani*.**

Reynoutria sachalinensis was extracted with ethanol at 5% (w/w) and used for seed coating at 0.2117g/kg seed, either alone or in combination with azoxystrobin (QUADRIS[®], Syngenta Crop Protection, Inc., Greensboro, NC) at 0.0298g/kg seed to control *Rhizoctonia solani* on soybean.

15 The emergence rate was higher in the inoculated seeds treated with MBI-106 compared to the inoculated untreated control, and when used in combination with azoxystrobin, the emergence rate was higher than when either product was used alone (Table 15). A synergistic effect was found when both materials were used in combination (Table 16).

20 **Example IX. *R. sachalinensis* extract as a seed treatment agent and synergy with fludioxonil in controlling *Rhizoctonia solani*.**

The ethanol extract of *R. sachalinensis* was also used at the rates of 0.03175g/kg seed and 0.635g/kg seed for seed coating, either alone or in combination with fludioxonil (formulated as Scholar[®] by Syngenta Crop Protection, Inc., Greensboro, NC) to control *Rhizoctonia solani* on soybean. The emergence rates and biomass were higher in the MBI-106 treated seeds compared to the inoculated untreated control and also higher when used in combination with fludioxonil at the rate of 0.0596g/kg seed (Table 17). Synergistic effect was found in the two rates of MBI-106 when used in combination with fludioxonil (Table 18).

30 **Example X. Synergistic effect between formulated *R. sachalinensis* extract and propiconazole in controlling cucumber powdery mildew.**

MBI-106 (formulated *R. sachalinensis* extract marketed as REGALIA[®] ME by Marrone Bio Innovations, Inc., Davis, CA) at 2500× dilution and propiconazole (formulated

as PROPIMAX[®] EC, Dow AgroSciences LLC, Indianapolis, IN) at concentrations of 1.0 ug/ml were applied alone or in tank mix.

5 Disease severity was significantly reduced ($P < 0.0001$) in treatments sprayed with MBI-106 at 2500× dilution in combination with propiconazole (Table 19). There is a synergistic effect in control efficacy in the combination of MBI-106 2500× tank mixed with propiconazole (Table 20).

Example XI. Synergistic effect between *R. sachalinensis* extract and quinoxifen (Test II) in controlling cucumber powdery mildew.

10 MBI-106 (formulated *R. sachalinensis* extract marketed as REGALIA[®] SC by Marrone Bio Innovations, Inc., Davis, CA) was used alone at 2000× dilution or in combination with azoxystrobin at three concentration 0.5, 0.25, and 0.1ug/ml to control cucumber powdery mildew.

15 The control efficacy in MBI-106 at 2000× dilution in combination with azoxystrobin treatments are higher than they are used alone (Table 21). Synergistic effect in control efficacy of the tank mix of MBI-106 2000× exists in combinations of MBI-106 and each concentration of azoxystrobin (Table 22).

Tables

Table 1. Disease severity and percentage control of MBI-106 and myclobutanil (RALLY® 40W) when used alone or in tank mix.¹

Treatment	Dilution/Rate	Severity (%) ²	Control (%)
Untreated control	N/A	98.3 a	0.0 e
myclobutanil	0.25 ug/ml	16.7 cd	83.1 bc
myclobutanil	0.1 ug/ml	95.0 a	3.2 e
myclobutanil	0.05 ug/ml	95.8 a	2.5 e
Reynoutria extract	1500×	15.8 cd	84.0 bc
Reynoutria extract	2000×	35.8 b	63.5 d
Reynoutria extract + myclobutanil	1500×	1.2 e	98.8 a
Reynoutria extract + myclobutanil	2000×	0.2 e	99.8 a
Reynoutria extract + myclobutanil	1500×	11.8 de	87.9 ab
Reynoutria extract + myclobutanil	2000×	27.5 bc	72.2 dc
Reynoutria extract + myclobutanil	1500×	17.5 cd	82.4 bc
Reynoutria extract + myclobutanil	2000×	20.8 cd	79.0 bc
		P<0.0001	P<0.0001

¹ Data in Column 3 (Severity (%)) are means of six replicates. Means with the same letter in a column are not significantly different according to Fisher's Protected Least Significant Difference (LSD) at P=0.05 level.

Table 2. Expected efficacy (E_e)² of each product combination, and the statistical significance of detected synergism between MBI-106 (REGALIA®SC) and myclobutanil (RALLY® 40W)

Treatment	Dilution/Rate	Control (%)	E_e ³	T-test
Reynoutria extract + myclobutanil	1500× 0.25 ug/ml	98.8	97.3	n.s.
Reynoutria extract + myclobutanil	2000× 0.25 ug/ml	99.8	93.8	***
Reynoutria extract + myclobutanil	1500× 0.1 ug/ml	87.9	84.5	n.s.
Reynoutria extract + myclobutanil	2000× 0.1 ug/ml	72.2	64.7	n.s. ⁴
Reynoutria extract + myclobutanil	1500× 0.05 ug/ml	82.4	84.4	n.s.
Reynoutria extract + myclobutanil	2000× 0.05 ug/ml	79.0	64.4	* ⁵

5

10

15

² E_e is the Expected efficacy and is determined with the Limpel's formula $E_e = X + Y - (XY)/100$ (Limpel et al., 1962; Richer, 1987).

³ Data are means of six replicates. Means with the same letter in a column are not significantly different according to Fisher's Protected Least Significant Difference (LSD) at $P=0.05$ level.

⁴ n.s.: Not significant

⁵ * and ***: Significant at $P<0.05$ and 0.001 respectively.

29

Table 3. Disease severity and percentage control of MBI-106 (REGALIA® SC) and myclobutanil (RALLY® 40W) when used alone or in tank mix in a repeated test.

Treatment	Dilution/Rate	Severity (%) ^{z6}	Control (%)
Untreated control	N/A	91.3 a	0.0 e
myclobutanil	0.25 ug/ml	53.8 bcd	41.3 dc
myclobutanil	0.1 ug/ml	80.0 ab	12.2 de
myclobutanil	0.05 ug/ml	93.8 a	-2.8 e
Reynoutria extract	1500x	20.0 ef	77.9 ab
Reynoutria extract	2000x	63.8 abc	29.8 cde
Reynoutria extract + myclobutanil	1500x 0.25 ug/ml	46.3 cde	48.8 bc
Reynoutria extract + myclobutanil	2000x 0.25 ug/ml	33.8 cdef	62.7 bc
Reynoutria extract + myclobutanil	1500x 0.1 ug/ml	33.8 cdef	62.6 bc
Reynoutria extract + myclobutanil	2000x 0.1 ug/ml	38.8 cde	57.3 bc
Reynoutria extract + myclobutanil	1500x 0.05 ug/ml	1.8 f	98.1 a
Reynoutria extract + myclobutanil	2000x 0.05 ug/ml	21.3 def	77.0 ab
		P<0.0001	P<0.0001

5

⁶ Data are means of four replicates. Means with the same letter in a column are not significantly different according to Fisher's Protected Least Significant Difference (LSD) at P=0.05 level.

Table 4. Synergistic effect between MBI-106 (REGALIA® SC) and myclobutanil (RALLY® 40W) in a repeated test.

5

10

15

Treatment	Dilution/Rate	Control (%)	E _e ²	T test
Reynoutria extract + myclobutanil	1500× 0.25 ug/ml	48.8	87.0	n.s.
Reynoutria extract + myclobutanil	2000× 0.25 ug/ml	62.7	58.8	n.s.
Reynoutria extract + myclobutanil	1500× 0.1 ug/ml	62.6	80.6	n.s.
Reynoutria extract + myclobutanil	2000× 0.1 ug/ml	57.3	38.3	n.s.
Reynoutria extract + myclobutanil	1500× 0.05 ug/ml	98.1	77.3	***
Reynoutria extract + myclobutanil	2000× 0.05 ug/ml	77.0	27.8	**

²E_e is the Expected efficacy and is determined with the Limpel's formula $E_e = X + Y - (XY)/100$ (Limpel et al., 1962; Richer, 1987).

** and ***: Significant at P<0.01 and 0.001 respectively.

20 n.s.: Not significant

31

Table 5. Disease severity and percentage control of MBI-106 (formulated *R. sachalinensis* extract) and quinoxifen (QUINTEC®) when used alone or in tank mix.

5

Treatment	Dilution/Rate	Severity (%)	Control (%)
Untreated control	N/A	91.3 a	0
Reynoutria extract	1500×	20.0 c	77.93
Reynoutria extract	2000×	63.8 b	29.75
quinoxifen	0.05 ug/ml	30.0 c	66.95
quinoxifen	0.01 ug/ml	90.0 a	1.33
Reynoutria extract + quinoxifen	1500×	25.0 c	72.65
	0.05 ug/ml		
Reynoutria extract + quinoxifen	2000×	12.5 c	86.25
	0.05 ug/ml		
Reynoutria extract + quinoxifen	1500×	22.5 c	75.28
	0.01 ug/ml		
Reynoutria extract + quinoxifen	2000×	13.8 c	85.1
	0.0 1 ug/ml		
n=4, LSD		P<0.0001	P<0.0001

10

Data are means of four replicates. Means with the same letter in a column are not significantly different according to Fisher's Protected Least Significant Difference (LSD) at P=0.05 level.

15

Table 6. Synergistic effect between MBI-106 (Reynoutria extract, REGALIA® SC) and quinoxifen (QUINTEC®)

Treatment	Dilution/Rate	Control (%)	E _e	T-test
Reynoutria extract + quinoxifen	1500×	72.65	92.7	*
	0.05 ug/ml			
Reynoutria extract + quinoxifen	2000×	86.25	76.8	n.s.
	0.05 ug/ml			
Reynoutria extract+ quinoxifen	1500×	75.28	78.2	n.s.
	0.01 ug/ml			
Reynoutria extract + quinoxifen	2000×	85.1	30.7	**
	0.0 1 ug/ml			

^z E_e is the Expected efficacy and is determined with the Limpel's formula E_e=X + Y – (XY)/100 (Limpel et al., 1962; Richer, 1987).

* and **: Significant at P<0.05 and 0.01 respectively.

n.s.: Not significant.

32

Table 7. Disease severity and percentage control of powdery mildew using MBI-106 (R. sachalinensis extract, REGALIA® SC) and azoxystrobin (QUADRIS®).

Treatment	Dilution/Rate	Severity (%)		Control (%)	
Untreated control	N/A	92.5	a	0.0	h
azoxystrobin	10.0 ug/ml	11.3	efg	87.6	abc
azoxystrobin	5.0 ug/ml	5.3	fg	94.3	ab
azoxystrobin	1.0 ug/ml	30.0	*cdef	68.1	bcdef
azoxystrobin	0.5 ug/ml	48.8	bc	48.0	fg
azoxystrobin	0.25 ug/ml	45.0	bcd	51.8	efg
Reynoutria extract	1500×	11.3	efg	88.0	abc
Reynoutria extract	2000×	61.3	b	34.3	g
Reynoutria extract	2500×	48.8	bc	47.0	fg
Reynoutria extract + azoxystrobin	1500×	3.0	fg	96.8	ab
	10.0 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000×	4.0	fg	95.6	ab
	10.0 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	2500×	1.8	fg	98.1	ab
	10.0 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	1500×	1.0	g	98.9	ab
	5.0 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000×	0.8	g	99.2	a
	5.0 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	2500×	2.0	fg	97.9	ab
	5.0 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	1500×	11.3	efg	87.6	abc
	1.0 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000×	12.5	efg	86.3	abcd
	1.0 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	2500×	25.0	cdefg	73.4	abcdef
	1.0 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	1500×	16.3	defg	82.2	abcde
	0.5 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000×	11.3	efg	87.7	abc
	0.5 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	2500×	43.8	bcd	52.1	efg
	0.5 ug/ml				
Reynoutria extract +azoxystrobin	1500×	40.0	bcde	56.4	defg
	0.25 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000×	25.0	cdefg	73.0	abcdef
	0.25 ug/ml				
Reynoutria extract + azoxystrobin	2500×	36.3	bcde	60.5	cdefg
	0.25 ug/ml				
N=4		P<0.0001		P<0.0001	

Table 8. Synergistic effect between MBI-106 and azoxystrobin. Only treatments with statistically significant synergistic effect are included.

Treatment	Rate/Dilution	Control (%)	E _e	T-test
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000× 10.0 ug/ml	95.6	91.9	*
Reynoutria extract + azoxystrobin	2500× 10.0 ug/ml	98.1	93.4	*
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000× 5.0 ug/ml	99.2	96.3	**
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000× 0.5 ug/ml	87.7	65.8	**

5

10

23

Table 9. Disease severity and percentage control of *R. sachalinensis* and triflumizole (PROCURE® 480SC) when used alone or in tank mix.

5

10

Treatment	Dilution/Rate	Severity (%)		Control (%)
Untreated control	N/A	97.5	a	0.0
Reynoutria extract	2500×	23.8	b	75.6
triflumizole	1.0 ug/ml	77.5	a	20.5
triflumizole	0.5 ug/ml	86.3	a	11.5
triflumizole	0.25 ug/ml	95.0	a	2.6
Reynoutria extract + triflumizole	2500×	6.3	b	93.6
	1.0 ug/ml			
Reynoutria extract + triflumizole	2500×	15.0	b	84.6
	0.5 ug/ml			
Reynoutria extract + triflumizole	2500×	11.5	b	88.2
	0.25 ug/ml			

15

Data in Column 3 (Severity (%)) are means of four replicates. Means with the same letter in a column are not significantly different according to Fisher's Protected Least Significant Difference (LSD) at P=0.05 level.

20

Table 10. The expected efficacy (E_e) of each product combination, control efficacy (E), and the synergistic effect ($E/E_e > 1.0$) between MBI-106 (REGALIA® SC) and triflumizole (PROCURE® 480SC).

Tank mix	Dilution/Rate	Control (%)	E_e	E/E_e
Reynoutria extract + triflumizole	2500×	93.6	80.6	1.2
	1.0 ug/ml			
Reynoutria extract + triflumizole	2500×	84.6	78.4	1.1
	0.5 ug/ml			
Reynoutria extract + triflumizole	2500×	88.2	76.2	1.2
	0.25ug/ml			

E_e is the Expected efficacy and is determined with the Limpel's formula $E_e = X + Y - (XY)/100$ (Limpel et al., 1962; Richer, 1987).

35

Table 11. Disease severity and percentage control of MBI-106 (REGALIA® SC) and

Treatment	Dilution/Rate	Severity (%)	Control (%)
Untreated control	N/A	90.0 a	0.0
acibenzolar- <i>S</i> -methyl	25 ug/ml	68.9 ab	23.4
Reynoutria extract	200×	57.0 b	36.6
Reynoutria extract + acibenzolar- <i>S</i> -methyl	200×	14.2 c	84.2
	25 ug/ml		

acibenzolar-*S*-methyl (ACTIGARD®) when used alone or in tank mix.

5 Table 12. The expected efficacy (E_e) of each product combination, control efficacy (E), and the synergistic effect ($E/E_e > 1.0$) between MBI-106 (REGALIA® SC) and acibenzolar-*S*-methyl (ACTIGARD®).

Tank mix	Control (%)	E_e	E/E_e
Reynoutria extract + acibenzolar- <i>S</i> -methyl	84.2	51.5	1.6

10 Table 13. Disease severity and percentage control of MBI-106 (REGALIA® ME) and mefenoxam(RIDOMIL GOLD® SL)

Treatment	Dilution/Rate	Severity (%)	Control (%)
Untreated control	N/A	87.0ab	0.0
mefenoxam	150 ug/ml	44.8de	48.5
mefenoxam	75 ug/ml	54.2cd	37.7
mefenoxam	37.5 ug/ml	89.3a	-2.6
Reynoutria extract	400×	68.0bc	21.8
Reynoutria extract + mefenoxam	400×	14.5f	83.3
	150 ug/ml		
Reynoutria extract + mefenoxam	400×	28.6ef	67.1
	75 ug/ml		
Reynoutria extract + mefenoxam	400×	59.2cd	32.0
	37.5 ug/ml		

Table 14. The expected efficacy (E_e) of each product combination, actual control efficacy (E), and detected synergism ($E/E_e > 1.0$) between MBI-106 (REGALIA[®] ME) and mefenoxam (RIDOMIL GOLD[®] SL).

Tank mix	Dilution/Rate	Control (%)	E_e	E/E_e
Reynoutria extract + mefenoxam	400× 150 ug/ml	83.3	59.7	1.4
Reynoutria extract + mefenoxam	400× 75 ug/ml	67.1	51.3	1.3
Reynoutria extract + mefenoxam	400× 37.5 ug/ml	32.0	19.7	1.6

5

Table 15. Emergence of soybean seedling and control of damping off by MBI-106 (ethanol extract) and azoxystrobin (QUADRIS[®]).

Treatment	Rate	Emergence (%)		Control (%)
Non-inoculated control	N/A	90.1	a	N/A
Inoculated control	N/A	4.9	c	0.0
Inoculated Reynoutria extract	0.02117g/kg	11.1	c	6.2
Inoculated Reynoutria extract + azoxystrobin	0.02117g/kg 0.0298g/kg	92.6	a	87.7
Inoculated azoxystrobin	0.0298g/kg	86.4	a	81.5

10 Table 16. The expected efficacy (E_e) of each product combination, actual control efficacy (E), and detected synergism ($E/E_e > 1.0$) between MBI-106 (ethanol extract) and azoxystrobin (QUADRIS[®]).

Tank mix	Rate	Control (%)	E_e	E/E_e
Reynoutria extract + azoxystrobin	0.02117g/kg 0.0298g/kg	87.7	82.6	1.1

Table 17. Emergence of soybean seedlings and control of damping off by MBI-106 (*Reynoutria* ethanol extract) and fludioxonil (SCHOLAR[®]).

Treatment	Rate	Emergence (%)		Bio mass (g)		Control (%)
Inoculated control	N/A	7.4	c	0.8	c	0.0
Inoculated Reynoutria extract	0.635g/kg	9.9	c	1.4	c	2.5
Inoculated Reynoutria extract	0.03175g/kg	16.0	c	2.9	c	8.6
Inoculated Reynoutria extract + fludioxonil	0.635g/kg 0.0596g ai/kg	61.8	a	17.0	a	54.4
Inoculated Reynoutria extract + fludioxonil	0.03175g/kg 0.0596g ai/kg	50.6	a	12.5	b	43.2
Inoculated fludioxonil	0.0596g ai/kg	35.8	b	8.7	b	28.4

Table 18. The expected efficacy (E_e) of each product combination, actual control efficacy (E), and detected synergism ($E/E_e > 1.0$) between MBI-106 (ethanol extract) and fludioxonil (SCHOLAR®).

Tank mix	Rate	Control (%)	E_e	E/E_e
Inoculated Reynoutria extract + fludioxonil	0.635g/kg 0.0596g ai/kg	54.4	30.2	1.8
Inoculated Reynoutria extract + fludioxonil	0.03175g/kg 0.0596g ai/kg	43.2	34.6	1.2

5 Table 19. Disease severity and percentage control of *R. sachalinensis* and propiconazole (PROPIMAX®) when used alone or in tank mix in controlling cucumber powdery mildew.

Treatment	Dilution/Rate	Severity (%)	Control (%)
Untreated control	N/A	98.8 a	0.0
propiconazole	1.0 ug/ml	97.5 a	1.3
Reynoutria extract	2500x	61.3 b	38.0
Reynoutria + propiconazole	2500x 1.0 ug/ml	51.3 c	48.1

15 Table 20. The expected efficacy (E_e) of each product combination, control efficacy (E), and the synergistic effect ($E/E_e > 1.0$) between MBI-106 (REGALIA® ME) and propiconazole (PROPIMAX®).

Tank mix	Dilution/Rate	control (%)	E^e	E/e_e
Reynoutria extract + propiconazole	2500x 1.0 ug/ml	48.1	38.8	1.2

Table 21. Disease severity and percentage control of *R. sachalinensis* and azoxystrobin (QUADRIS®) when used alone or in tank mix in controlling cucumber powdery mildew (

Treatment	Dilution/Rate	Severity%	Control (%)
Untreated control	N/A	80.0 a	13.5
azoxystrobin	0.5 ug/ml	35.0 cd	62.2
azoxystrobin	0.25 ug/ml	80.0 a	13.5
azoxystrobin	0.1 ug/ml	72.5 abc	21.6
Reynoutria extract	2000×	75.0 ab	18.9
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000× 0.5 ug/ml	11.3 d	87.8
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000× 0.25 ug/ml	41.3 abcd	55.4
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000× 0.1 ug/ml	36.5 bcd	60.5

5 Table 22. The expected efficacy (E_e) of each product combination, control efficacy (E), and the synergistic effect ($E/E_e > 1.0$) between MBI-106 (Regalia® SC) and azoxystrobin (Quadris®) (Test II).

10

Tank mix	Dilution/Rate	Control (%)	E_e	E/E_e
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000× 0.5 ug/ml	87.8	69.3	1.3
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000× 0.25ug/ml	55.4	29.9	1.9
Reynoutria extract + azoxystrobin	2000× 0.1 ug/ml	60.5	36.4	1.7

Literature cited:

- Bardin, M., J. Fargues, et al. (2008). "Compatibility between biopesticides used to control grey mold, powdery mildew and whitefly on tomato." Biological Control **46**: 476-483.
- 5 Bartlett, D. W., J. M. Clough, et al. (2002). "649-662." Pest Management Science **58**: 649-662.
- Belanger, R. R. and M. Benyagoub (1997). "Challenges and prospects for integrated control of powdery mildews in the greenhouse." Canadian Journal of Plant Pathology **19**: 310-314.
- 10 Bokshi, A. I., J. Jobling, et al. (2008). "A single application of Milsana followed by Bion assists in the control of powdery mildew in cucumber and helps overcome yield losses." Journal of Horticultural Science and Biotechnology **83**: 701-706.
- Braun, U., T. A. Cook, et al. (2002). The taxonomy of the powdery mildew fungi. The powdery mildews: a comprehensive treatise. R. R. Belanger, W. R. Bushnell, A. J. Dik and T. L. W. Carver. St. Paul, MN, APS Press: 13-55.
- 15 Braun, U., T. A. Cook, et al. (2002). The taxonomy of the powdery mildew fungi. The powdery mildews: a comprehensive treatise. R. R. Belanger, W. R. Bushnell, A. J. Dik and T. L. W. Carver. St. Paul, MN, APS Press: 13-55.
- Burpee, L. and R. Latin (2008). "Reassessment of fungicide synergism for control of dollar spot." Plant Disease **92**: 601-606.
- 20 Daayf, F., A. Schmitt, et al. (1995). "The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber." Plant Disease **79**: 577-580.
- 25 De Waard, M. A. (1996). "Synergism and antagonism in fungicide mixtures containing sterol demethylation inhibitors." Phytopathology **86**: 1280-1283.
- Durrant, W. E. and X. Dong (2004). "Systemic acquired resistance." Annual Review in Phytopathology **42**: 185-209.
- 30 Fraaije, B., J. A. Lucas, et al. (2003). QoI resistance development in populations of cereal pathogens in the UK. BCPC International Congress - Crop Science and Technology, Alton, Hants, UK, pp. 689-694.

Gandhi, N. R., V. P. Skebba, et al. (2007). Antimycotic rhamnolipid compositions and related methods of use, US patent application number 20070191292. USPTO. USA: 27 p.

5 Gisi, U. (1996). "Synergistic interactions of fungicides in mixtures " Phytopathology **86**: 1273-1279.

10 Hafez, M. B., A. Schmitt, et al. (1999). "The side-effects of plant extracts and metabolites of *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai and conventional fungicides on the beneficial organism *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., *Trichogrammatidae*)." Journal of Applied Entomology **123**: 363-368.

15 Holb, I. J. and G. Schnabel (2008). "The benefits of combining elemental sulfur with a DMI fungicide to control *Monilinia fructicola* isolates resistant to propiconazole." Pest Management Science **64**: 156-164.

Horst, R. K., S. O. Kawamoto, et al. (1992). "Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot on roses." Plant Disease **76**: 247-251.

20 Hwang, S.F., H. Wang, et al. (2006). "Effect of seed treatment and root pathogens on seedling establishment and yield of alfalfa, birdfoot trefoil and sweetclover." Plant Pathology Journal **5**:322-328.

25 James, W. C. (1971). A manual assessment keys for plant diseases. St. Paul, MN, American Phytopathological Society.

Karaoglanidis, G. S. and D. A. Karadimos (2006). "Efficacy of strobilurins and mixtures with DM fungicides in controlling powdery mildew in field-grown sugar beet." Crop Protection **25**: 977-983.

30 Konstantinidou-Doltsinis, S., E. Markellou, et al. (2007). "Control of powdery mildew of grape in Greece using Sporodex L and Milsana." Journal of Plant Diseases and Protection **114**: 256-262.

Limpel, L. E., P. H. Schuldt, et al. (1962). N.E. Weed Control Conference.

41

May, R. M. (1985). "Evolution of pesticide resistance." Nature **315**: 12-13.

5 McGrath, M. T. (2001). "Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: Experiences and challenges." Plant Disease **85**: 236-245.

10 Reuveni, M. (2001). "Improved control of powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa*) of nectarines in Israel using strobilurin and polyoxin B fungicides; mixtures with sulfur; and early bloom applications." Crop Protection **20**: 663-668.

15 Richer, D. (1987). "Synergism - a patent view." Pesticide Science **19**: 309-315.

Ross, A. F. (1961). "Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants" Virology **14**: 340-358.

15 Samoucha, Y. and Y. Cohen (1984). "Synergy between metalaxyl and macozeb in controlling downy mildew in cucumbers." Phytopathology **74**: 1434-1437.

20 Schmitt, A. (2002). "Induced responses by plant extracts from *Reynoutria sachalinensis*: a case study." Bull. IOBC/WPRS **25**: 83-89.

Schmitt, A., S. Kunz, et al. (2002). Use of *Reynoutria sachalinensis* plant extracts, clay preparations and *Brevibacillus brevis* against fungal diseases of grape berries.

25 Fordergemeinschaft Okologischer Obstbau e.V.(FOKO) and der Staatlichen Lehr- und Versuchsanstalt für Wein- und Obstbau (LvWO) Weinsberg. 10th International conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing and viticulture; presentations at the meeting from 04-07.02.2002
Weinsberg, Germany, pp. 146-151.

30 Schmitt, A. and B. Seddon (2005). Biocontrol of plant pathogens with microbial BCAs and plant extracts - advantages and disadvantages of single and combined use. Modern fungicides and antifungal compounds IV. Proceedings of the 14th International Reinhardtbrunn Symposium 2004, BCPC, Atton, UK, pp. 205-225.

22

Schnabel, G., B. K. Bryson, et al. (2004). "Reduced sensitivity in *Monilinia fructicola* to propiconazole in Georgia and implications for disease management " Plant Disease **88**: 1000-1004.

- 5 Su, H., A. H. C. van Bruggen, et al. (2004). "Sporulation of *Bremia lactucae* affected by temperature, relative humidity, and wind in controlled conditions". Phytopathology **94**:396-401

Tuttle McGrath, M. (2003). "Occurrence of strobilurin resistance and impact on managing powdery mildew on cucurbits." Cornell University: Vegetable MD Online Retrieved July 19, 10 2009, 2009, from http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Cuc_Strob.htm.

Tuttle McGrath, M. (2006). "Guidelines for managing cucurbit powdery mildew in 2006." Cornell University: Vegetable MD Online Retrieved July 19, 2009, 2009, from http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Cuc_PM_2006.html.

15 Van den Bosch, F. and C. A. Gilligan (2008). "Models of fungicide resistance dynamics." Annual Review in Phytopathology **46**: 123-147.

20 Vechet, L., L. Burketova, et al. (2009). "A comparative study of the efficiency of several sources of induced resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) in wheat under field conditions." Crop Protection **28**: 151-154.

25 Walters, D., D. Walsh, et al. (2005). "Induced resistance for plant disease control: maximizing the efficacy of resistance elicitors." Phytopathology **85**: 1368-1373.

Wurms, K., C. Labbe, et al. (1999). "Effects of Milsana and Benzothiadiazole on the ultrastructure of powdery mildew haustoria in cucumber." Phytopathology **89**: 728-736.

30 Wyenandt, C. A., M. T. McGrath, et al. (2009). "Fungicide resistance management guidelines for cucurbit downy and powdery mildew control in the mid-Atlantic and Northeast regions of the US." Phytopathology **99** (2009 APS Annual Meeting Abstracts of Presentations): S144-S144.

35

WHAT IS CLAIMED IS:

1. A combination comprising: (a) an extract containing one or more anthraquinone
5 derivatives which induce plant resistance to phytopathogens and derived from a plant and (b)
one or more anti-phytopathogenic agents selected from the group consisting of: (i) a non-
benzodiathiazole, non-Vitamin E, non-organophosphorus anti-microbial agent, which lacks
non-elemental or non-wettable, sulfur, (ii) a surfactant having fungicidal activity, and/or (iii) a
10 non-*Bacillus*, non-*Pseudomonas*, non-*Brevabacillus*, non-*Lecanicillium*, non-*Ampelomyces*,
non-*Phoma*, non- *Pseudozyma* biological control agent.
2. The combination according to claim 1 wherein said anti-microbial agent is a chemical
fungicide, bactericide, insecticide or nematocide.
- 15 3. The combination according to claim 1-2, wherein said non-*Bacillus*, non-*Pseudomonas*,
non-*Brevabacillus*, non-*Lecanicillium*, non-*Ampelomyces*, non-*Phoma*, non-*Pseudozyma*
biological control agent is selected from the group consisting of an agent derived from
Streptomyces sp., *Burkholderia* sp., *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. and a natural oil or oil-
product having fungicidal and/or insecticidal activity.
- 20 4. The combination according to claim 1-3, wherein said extract is at least one of: (a) derived
from the family *Polygonaceae* (b) contains an anthraquinone derivative containing at least
physcion, (c) derived from a *Reynoutria* or *Rheum* species.
- 25 5. The combination according to claims 1-4 wherein said anti-microbial agent, is selected
from the group consisting of (a) a single site anti-fungal agent, wherein said single-site anti-
fungal agent is selected from the group consisting of benzimidazole, morpholine,
hydroxypyrimidine, anilinopyrimidine, phosphorothiolate, quinone outside inhibitor, quinoline,
dicarboximide, carboximide, phenylamide, anilinopyrimidine, phenylpyrrole, aromatic
30 hydrocarbon, cinnamic acid, hydroxyanilide, antibiotic, polyoxin, acylamine, phthalimide,
benzenoid (xylylalanine); (b) a demethylation inhibitor selected from the group consisting of
imidazole, piperazine, pyrimidine, and triazole, (c) a natural oil or oil-product having fungicidal
and/or insecticidal activity and (c) a multi-site non-inorganic, chemical fungicide selected from
the group consisting of a nitrile, copper, quinoxaline, sulphamide, phosphonate, phosphite,

dithiocarbamate, chloralkythios, phenylpyridin-amine, cyano-acetamide oxime, fludioxonil and mefenoxam.

6. The combination according to claim 1-5, wherein said antimicrobial agent is a (a) triazole,
5 wherein said triazole is selected from the group consisting of bitertanol, myclobutanil, penconazole, propiconazole, triadimefon, bromuconazole, cyproconazole, diniconazole, fenbuconazole, hexaconazole, tebuconazole, tetraconazole, (b) an imidazole, wherein said imidazole is fenamidone, fenapanil, iprodione, triflumizole (c) a nitrile, wherein said nitrile is chloronitrile and fludioxonil; (c) a strobilurin; (d) quinone, wherein said quinone is quinoxifen
10 (5,7-dichloro-4-quinolyl 4-fluorophenyl ether).
7. The combination according to claim 1-6, wherein said antimicrobial agent is strobilurin, wherein said strobilurin is azoxystrobin, kresoxim-methoyle or trifloxystrobin.
- 15 8. A synergistic combination for use in modulating phytopathogenic infection comprising (a) an extract derived from a plant, wherein said plant contains anthraquinone derivatives that induce plant resistance to phytopathogens and (b) a non-Vitamin E, non-organophosphorus anti-microbial agent, which lacks non-elemental or non-wettable, sulfur.
- 20 9. The combination according to claim 1-8, wherein said combination is a composition.
10. A method for modulating phytopathogenic infection in a plant comprising applying to the plant and/or seeds thereof and/or substrate used for growing said plant an amount of the combination of claim 1-9 effective to modulate said phytopathogenic infection.
- 25 11. A method for decreasing the emergence of resistance of a phytopathogen to an anti-phytopathogenic agent selected from the group consisting of: (i) a non-Vitamin E, non-organophosphorus anti-microbial agent, which lacks non-elemental or non-wettable sulfur (ii) a surfactant having fungicidal activity and (iii) a non-*Bacillus*, non-*Pseudomonas*, non-*Brevibacillus*, non-*Lecanicillium*, non-*Ampelomyces*, non-*Phoma*, non-*Pseudozyma* biological
30 control agent comprising applying to a plant in need thereof an amount of the combination of claim 1-9 effective for decreasing said resistance of said phytopathogen to an antiphytopathogenic agent.

12. Use of (a) an extract derived from a plant, wherein said extract contains anthroquinone derivatives which induce plant resistance to phytopathogens, and (b) one or more anti-phytopathogenic agents selected from the group consisting of: (i) a non-benzodiathiazole, non-Vitamin E, non-organophosphorus anti-microbial agent which lacks nonclemental, non-wettable sulfur, (ii) a surfactant having fungicidal activity and (iv) a non-*Bacillus*, non-*Pseudomonas*, non-*Brevabacillus*, non-*Lecanicillium*, non- *Ampelomyces*, non-*Phoma*, non-*Pseudozyma* biological control agent for the manufacture of a composition for modulating phytopathogenic infection.

13. A composition for use in modulating phytopathogenic infection comprising (a) an extract derived from a plant, wherein said plant contains anthraquinone derivatives that induce plant resistance to phytopathogens and (b) one or more anti-phytopathogenic agents selected from the group consisting of: (i) a non-benzodiathiazole, non-Vitamin E, non-organophosphorus anti-microbial agent which lacks non-elemental, non-wettable sulfur, (ii) a surfactant having fungicidal activity and (iii a non-*Bacillus*, non-*Pseudomonas*, non-*Brevabacillus*, non-*Lecanicillium*, non- *Ampelomyces*, non-*Phoma*, non-*Pseudozyma* biological control agent.

14. Use of (a) an extract derived from a plant, wherein said plant contains anthraquinone derivatives that induce plant resistance to phytopathogens and (b) a benzodiathiazole anti-microbial agent for the manufacture of a synergistic composition for modulating phytopathogenic infection.

15. A kit comprising (a) an extract derived from the family *Polygonaceae* and (b) one or more anti-phytopathogenic agents selected from the group consisting of: (i) non-elemental or non-wettable, sulfur, non-benzodiathiazole, non-Vitamin E, non-organophosphorus, anti-microbial agent, (ii) a surfactant having fungicidal activity and (iii) a non-*Bacillus*, non-*Pseudomonas*, non-*Brevabacillus*, non-*Lecanicillium*, non- *Ampelomyces*, non-*Phoma*, non-*Pseudozyma* biological control agent.

(12) PUBLICACIÓN DE LA SOLICITUD INTERNACIONAL BAJO PCT

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina internacional

(43) Fecha de publicación internacional
3 de febrero de 2011 (03.02.2011)



(10) Número de publicación internacional
WO 2011/014596 A2

(51) Clasificación internacional de Patentes:

A01N 65/30 (2009.01) A01N 43/64 (2006.01)
A01N 35/06 (2006.01) A01N 25/30 (2006.01)
A01N 43/48 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:

PCT/US2010/043612

(22) Fecha de la presentación internacional

29 de julio de 2010 (29.07.2010)

(25) Idioma de la presentación:

inglés

(26) Idioma de la publicación:

inglés

(30) Datos de la prioridad

61/230,102 20 de julio de 2009 (30.07.2009) US

(71) Solicitante (para todos los países excepto US)
MARRONE BIO INNOVATIONS, INC. [US/US]; 2121
Second Street Suite 107b, Davis, CA 95618 (US).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes: (únicamente para US) SU, Hai
[CA/US]; 1017 Greene Terrace, Davis, CA 95618 (US).
MARRONE, Pamela, G. [US/US]; 3333 Victoria Place,
Davis, CA 95616 (US). KOIVUNEN, Marja [FI/US]; 1236
Evans Ct., Davis, CA 95618 (US).

(74) Representante: AGRIS, Cheryl, H.; P. O. Box 8495,
Pelham, NY 10803 (US).

(81) Estados designados (en la medida en que no se

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

(84) Estados designados: (en la medida en que no se

indique lo contrario para cada tipo de protección
regional disponible): Patente ARIPO (BW, GH, GM,
KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW) Patente euroasiática (AM, AZ, BY, KG,
KZ, MD, RU, TJ, TM), Patente europea (AL, AT, BE,
BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR,
HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL,
NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF,
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,
NE, SN, TD, TG).

Declaración bajo Regla 4.17

. en cuanto a la capacidad de la solicitante de solicitar y
obtener la concesión de una patente (Regla 4.17 (ii))
. en cuanto a la capacidad de la solicitante de reivindicar
la prioridad de una solicitud anterior (Regla 4.17 (iii)).

Publicado:

. sin el informe de búsqueda internacional y a ser publicada
nuevamente luego de recibido el informe (Regla 48.2(g))

(54) Título: COMBINACIONES DE INHIBIDOR DE PATÓGENOS DE PLANTA Y MÉTODOS DE USO

(57) Resumen: Combinaciones, composiciones y métodos de uso para modular una infección con patógenos de planta usando extractos vegetales que contienen derivados de antraquinona que inducen a los fitopatógenos de planta y un agente antimicrobiano, un agente de control biológico y/o un tensioactivo que tiene actividad fungicida

17

COMBINACIONES DE INHIBIDOR DE PATÓGENOS DE PLANTA Y MÉTODOS DE USO

CAMPO TÉCNICO

5 En la presente se describen combinaciones, composiciones
y métodos de uso para modular la infección con patógenos de
planta usando extractos vegetales que contienen derivados de
antraquinona que induce resistencia a los fitopatógenos de
planta y un agente antimicrobiano, un agente de control
10 biológico y/o un tensioactivo que tiene actividad fungicida.

ANTECEDENTES

Resistencia de planta a los patógenos vegetales

15 Las plantas han desarrollado mecanismos muy efectivos
para la resistencia a la enfermedad causada por agentes
infecciosos, tales como bacterias, hongos y virus. Esta
resistencia puede ser originada por varios mecanismos, el
mejor conocido de los cuales es la resistencia adquirida
20 sistémicas (SAR; Ross, 1961; Durrant y Dong, 2004) y la
resistencia sistémica inducida (ISR; van Loon et al., 1998).
En el caso más simple, el inductor es el patógeno de planta
mismo, en otros casos, el inductor puede ser un compuesto
químico (ácido salicílico, S-metil éster del ácido
25 benzo(1,2,3)tiadiazol-7-carbotioico también conocido como
BTH) o impacto físico tal como estrés por aguar o calor
(Walters et al., 2005). Parece que la resistencia sistémica
inducida depende de una expresión y persistencia gradual de
un nivel bajo de perturbación metabólica. A diferencia de los
30 inductores de la acumulación de fitoalexina, que induce en el
sitio de aplicación y puede ser responsable de la protección
localizada, los inductores de la resistencia sistémica
sensibilizan la planta como un todo para responder
rápidamente después de las infecciones. Estas respuestas

incluyen la acumulación de fitoalexina, lignificación y aumento de las actividades de quitinasa y glucanasa.

El extracto de sanguinaria gigante (*Reynoutria sachalinensis*) comercializado como MILSANA® y REGALIA® por Marrone Bio Innovations, Inc.) proporciona control del mildiú y otras enfermedades de plantas en cucurbitáceas y otros cultivos principalmente por la inducción de una acumulación de compuestos fenólicos fungitóxicos en la planta (Daayf et al., 1995; Wurms et al. 1999; Schmitt, 2002). Recientemente, el extracto de sanguinaria gigante formulado también ha mostrado gran eficiencia en la inducción de la resistencia de varios cultivos y patógenos de plantas que incluyen el mildiú del trigo (Vechet et al., 2009). Además del modo ISR de acción, el extracto de *R. sachalinensis* formulado también demostrado recientemente tener un efecto fungistático directo contra el mildiú del trigo (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*; Randoux et al., 2008).

Resistencia a fungicidas

La resistencia a los fungicidas es un fenómeno común en las plagas que incluyen los patógenos de planta. Cuando un fungicida se usa con frecuencia, especialmente los que tiene un modo de acción de sitio único, el patógeno blanco se puede adaptar al fungicida debido a la presión de selección alta. Se estima que las plagas pueden desarrollar resistencia a los plaguicidas en 5-50 generaciones (Mayo, 1985). La mayor parte de los patógenos de planta se ajustan a este rango en una estación de crecimiento y de este modo se desarrolla rápidamente la resistencia a los fungicidas. Por ejemplo, solo le llevó un año al benomilo perder eficacia en el control del mildiú de cucurbitáceas después de su primer registro para uso comercial (McGrath, 2001).

Los inhibidores externos de quinonas (también conocidos como fungicidas QoI o estrobilurinas) se han usado

ampliamente para controlar patógenos de importancia agrícola desde su introducción en 1996. Las estrobilurinas bloquean la vía respiratoria por la inhibición del complejo bcl citocrómico en la mitocondria, de este modo bloquea el
5 proceso de transferencia de electrones en la cadena respiratoria y causa una deficiencia de energía debida a la carencia de adenosina trifosfato (ATP) (Bartlett et al., 2002). Las estrobilurinas y otros fungicidas con un modo de acción de sitio único tales como los inhibidores de
10 desmetilación (DMI) están propensos al desarrollo de la resistencia detre los patógenos de plantas. Hasta la fecha, varios hongos patogénicos de planta han desarrollado la resistencia de el campo a las estrobilurinas (Tuttle McGrath, 2003; Fraaije et al., 2003) y fungicidas DMI (Schnabel et
15 al., 2004), y se ha realizado un considerable esfuerzo en el mundo para desarrollar estrategias apropiadas del manejo de la resistencia con recomendaciones detalladas respecto de cómo combinar fungicidas y otros compuestos antifúngicos y las rotaciones para minimizar el riesgo del desarrollo de
20 resistencia (Tuttle McGrath, 2006; Wyenandt et al., 2009).

Métodos para controlar la resistencia a fungicidas

La estrategia más común para manejar la resistencia a fungicidas es usar fungicidas específicos del sitio que están
25 predispuestos al desarrollo de la resistencia de una combinación (premezcla o mezcla en tanque). Además del tratamiento de la resistencia, las mezclas en tanque también ofrecen un mecanismo compensatorio en casa de fracaso de un fungicida así como una manera de disminuir la dosis para
30 reducir la presión de selección en los patógenos (van den Bosch y Gilligan, 2008). En algunos casos, la combinación de fungicidas de sitio único y multisitio en una mezcla en tanque o en rotación puede proporcionar interacciones aditivas o incluso sinérgicas (Gisi, 1996). Holb y Schnabel

29

(2008) pudieron mostrar mejor control de la podredumbre morena (*Monilinia fructicola*) en estudio de campo con una mezcla en tanque de un fungicida DMI y azufre elemental, y Reuveni (2001) demostró los beneficios de usar fungicidas de estrobilurinas y polioxina B en combinación con azufre para controlar el mildiú en las nectarinas.

Los inductores de defensa en las plantas tales como el extracto de *R. sachalinensis* se han ensayado en mezclas en tanque y rotaciones con otros productos SAR/ISR así como con agentes de biocontrol (BCA) (Hafez et al., 1999; Belanger y Benyagoub, 1997; Schmitt et al., 2002; Schmitt y Seddon, 2005; Bardin et al., 2008). El fin de estos estudios ha sido principalmente demostrar la compatibilidad de diferentes tipos de extractos de planta con agentes de biocontrol. Konstatinidou-Doltsinis et al. (2007) ensayó el producto de *R. sachalinensis* en una rotación con el producto de *Pseudozyma flocculosa* contra el mildiú de las uvas, y se halló que la aplicación alternativa de ambos productos mejoró la eficacia de *R. sachalinensis*. En el mismo estudio, la alternancia de azufre y *R. sachalinensis* en una rotación no tuvo un efecto beneficioso. Belanger y Benyagoub (1997) hallaron que un hongo tipo levadura, *Pseudozyma flocculosa*, fue compatible con *R. sachalinensis* cuando se usó contra el mildiú del pepino en un invernadero. De modo similar, Bokshi et al. (2008) evaluó el efecto combinado de un activador de resistencia sistémica adquirida benzotiadiazol y MILSANA® contra el mildiú del pepino, y se halló que el MILSANA® usado en una rotación con benzotiadiazol proporcionó una medida de control efectiva contra el mildiú en el campo. Sin embargo, sobre la base de la gravedad de la enfermedad y los datos de rendimiento recolectados, no fue posible determinar si efecto positivo fue aditivo o sinérgico.

El sinergismo de plaguicidas se ha definido como "la acción simultánea de dos o más compuestos en los que la

respuesta total de un organismo a la combinación de plaguicidas es mayor que la suma de los componentes individuales" (Nash, 1981). En consecuencia, cuando los fungicidas interactúan en forma sinérgica, se obtiene un alto nivel de control de la enfermedad con menos de las tasas de aplicación de cada fungicida individual. Usualmente, el mejor efecto se obtiene con las combinaciones de fungicidas con diferentes modos de acción (MOA), pero también se ha demostrado sinergia en el uso combinado de productos con modo de acción similar (De Waard, 1996). El sinergismo fungicida se ha demostrado en mayor parte en los estudios de laboratorio (Samoucha y Cohen, 1984; Gisi, 1996) pero en algunos casos (Karaogladinis y Karadimos, 2006; Burpee y Latin, 2008) también se ha hallado sinergismo en los estudios en el campo. Adicionalmente, el sinergismo de los compuestos antifúngicos diferentes de fungicidas (bicarbonatos y destilado de petróleo refinado) se ha demostrado contra el mildiú de la rosa y mancha negra (Horst et al., 1992).

20 **SÍNTESIS**

Se describe y reivindica una combinación que comprende: (a) un extracto derivado de una planta, en donde dicho extracto contiene uno o más derivados de antraquinona que induce la resistencia a las plantas a los fitopatógenos (también denominado como "patógenos de planta") y (b) uno o más agentes anti-fitopatógenicos seleccionados del grupo que consiste en: (i) un no benzotiazol, no vitamina E, agente antimicrobiano no organofosforado, que carece o en otras palabras no contiene azufre no elemental, no humectable, (ii) un tensioactivo que tiene actividad fungicida y (iii) un agente de control biológico no *Bacillus*, no *Pseudomonas*, no *Brevabacillus*, no *Lecanicillium*, no *Ampelomyces*, no *Phoma*, no *Pseudozyma* (por ejemplo, un agente derivado de *Streptomyces* sp., *Burkholderia* sp., *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. o un

aceite o producto oleoso natural que tiene actividad fungicida y/o insecticida).

En una forma de realización específica, la combinación comprende: (a) un extracto derivado de la familia
5 *Poligonaceae* y (b) a no benzotiazol, no vitamina E, agente antifúngico y/o antibacteriano no organofosforado, que carece o no contiene azufre no elemental, no humectable.

En una forma de realización específica, la combinación comprende (a) un extracto derivado de la familia *Poligonaceae*
10 (por ejemplo *Reynoutria sachalinensis*) y (b) un fungicida de sitio único y/o fungicida de multisitio que pueden incluir pero sin limitación a miclobutanilo, quinoxifeno, azoxistrobina, acibenzolar-S-metilo, mefenoxam, triflumizol, fludioxonilo, propiconazol.

15 En otra forma de realización específica, la combinación comprende (a) un extracto derivado de la familia *Poligonaceae* (por ejemplo *Reynoutria sachalinensis*) y (b) un aceite o producto oleoso natural que tiene actividad fungicida y/o insecticida.

20 En aún otra forma de realización particular, las combinaciones son composiciones, en particular composiciones para usar en la modulación de la infección fitopatogénica o fúngica. La invención se refiere también al uso del extracto y agentes anti-fitopatogénicos en la formulación de estas
25 composiciones.

La invención se dirige adicionalmente a una combinación sinérgica para uso en la modulación de la infección fitopatogénica que comprende (a) un extracto derivado de una planta, en donde dicha planta contiene derivados de
30 antraquinona que inducen la resistencia de las plantas a los fitopatógenos y (b) a no vitamina E, agente antimicrobiano no organofosforado (por ejemplo, agente antifúngico y/o antibacteriano), que carece o no contiene azufre no elemental, no humectable. En una forma de realización

particular, el agente antimicrobiano es un benzodiatiazol (por ejemplo, acibenzolar-S-metilo), un triazol (por ejemplo, propiconazol) o una estrobilurina (por ejemplo, azoxistrobina).

5 Las anteriores combinaciones mencionadas también se pueden formular en las composiciones.

La invención también se refiere a un método para modular la infección fitopatogénica en una planta que comprende aplicar a la planta y/o sus semillas y/o sustrato usado para
10 cultivar dicha planta una cantidad de las combinaciones de la presente invención expuesta anteriormente efectiva para modular dicha infección fitopatogénica.

En una forma de realización particular, la invención se refiere a un método para modular la infección fúngica y/o
15 bacteriana en una planta que comprende aplicar a la planta y/o semillas de esta y/o sustrato usado para cultivar dicha planta una cantidad de las combinaciones de la presente invención efectivas para modular dicha infección fúngica y/o bacteriana.

20 El extracto y dichos agentes anti-fitopatogénicos (por ejemplo, agentes antifúngico y/o antibacteriano) se pueden administrar en forma sucesiva, concurrente o en combinación intermitente. Como se define en la presente "infección fitopatogénica" significa infección de una planta por
25 bacterias, hongos, insectos, nematodos y/o moluscos patogénicos de planta.

La invención también se refiere a un método para disminuir la resistencia de un fitopatógeno (por ejemplo, hongo y/o bacteria) a (i) una no vitamina E, agente
30 antimicrobiano no organofosforado, que carece o en otras palabras no contiene azufre no elemental, no humectable, (ii) un tensioactivo que tiene actividad fungicida y/o (iii) un agente de control biológico no *Bacillus*, no *Pseudomonas*, no *Brevabacillus*, no *Lecanicillium*, no *Ampelomyces*, no *Phoma*, no



Pseudozyma (por ejemplo, un agente derivado de *Streptomyces* sp., *Burkholderia* sp., *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. o un aceite natural o producto basado en aceite que tiene actividad fungicida y/o insecticida) que comprende aplicar a
5 una planta que lo necesita una cantidad de las combinaciones de la presente invención efectiva para disminuir la aparición de dicha resistencia. En una forma de realización particular, la invención se refiere a un método para reducir la resistencia de un hongo y/o bacteria a un azufre no elemental
10 o no humectable, no benzotiazol, no vitamina E, agente antifúngico y/o antibacteriano no organofosforado. En aún otra forma de realización particular, la invención se refiere a un método para reducir la resistencia de un hongo y/o bacteria a un aceite natural o producto basado en aceite que
15 tiene actividad fungicida y/o insecticida usando la combinación de la presente invención. Esto se puede obtener por la disminución de la frecuencia o velocidad de aparición. La resistencia de un fitopatógeno a los agentes antipatogénicos anteriormente mencionados se pueden reducir
20 en al menos 50%.

La invención también se refiere al uso de un (a) un extracto derivado de una planta, en donde dicho extracto contiene derivados de antraquinona que inducen resistencia de la planta a los fitopatógenos, y (b) uno o más agentes anti-
25 fitopatogénicos seleccionados del grupo que consiste en: (i) a no benzotiazol, no vitamina E, agente antimicrobiano no organofosforado que carece de azufre no elemental o no humectable, (ii) un tensioactivo que tiene actividad fungicida y (iv) un agente de control biológico no *Bacillus*,
30 no *Pseudomonas*, no *Brevabacillus*, no *Lecanicillium*, no *Ampelomyces*, no *Phoma*, no *Pseudozyma* para la fabricación de una composición para modular la infección fitopatogénica así como el uso de (a) un extracto derivado de una planta, en donde dicha planta contiene derivados de antraquinona que

inducen resistencia de la planta a los fitopatógenos y (b) un agente antimicrobiano de benzodiatiazol para la fabricación de una composición sinérgica para modular la infección fitopatogénica.

- 5 La invención también se refiere a un kit que comprende (a) un extracto derivado de la familia *Poligonaceae* y (b) uno o más agentes anti-fitopatogénicos seleccionados del grupo que consiste en: (i) un agente antimicrobiano no benzotiazol, no vitamina E, no organofosforado, que carece de un azufre no
10 elemental, no humectable, (ii) un tensioactivo que tiene actividad fungicida y (iii) un agente de control biológico no *Bacillus*, no *Pseudomonas*, no *Brevabacillus*, no *Lecanicillium*, no *Ampelomyces*, on-*Phoma*, no *Pseudozyma*. Este kit también puede comprender instrucciones de envase.

15

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS FORMAS DE REALIZACIÓN ESPECÍFICAS

- Cuando se proporciona un intervalo de valores, se entiende que cada valor interviniente, al décimo de la unidad
20 del límite inferior, a menos que el contexto establezca claramente lo contrario, entre el límite superior e inferior de este rango y cualquier otro valor indicado o interviniente en el intervalo está abarcado en la invención. Los límites superior e inferior de estos intervalos que se pueden incluir
25 independientemente en los intervalos menores también están abarcados en la invención, sujeto a cualquier límite excluido específicamente en el intervalo indicado. Cuando el intervalo indicado incluye uno o ambos límites, los intervalos que excluyen a cualquiera de los límites incluidos también están
30 incluidos en la invención.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado comúnmente entendido por los expertos en la técnica a la que esta invención pertenece. Si bien algunos

50

métodos y materiales similares o equivalentes a los que se describen en la presente también se pueden usar en la práctica o ensayo de la presente invención, a continuación se describen los métodos y materiales preferidos. Por otra
5 parte, si bien la invención se ha descrito con referencia a las formas de realización específicas, los detalles de estos no se interpretan como limitación, es obvio que se pueden usar varios equivalentes, cambios y modificaciones y aún están dentro del ámbito de la presente invención.

10 Se mencionan varias referencias a lo largo de esta memoria descriptiva, cada una de las cuales se incorpora en la presente por referencia en su totalidad.

Cabe mencionar que como se usa en la presente y en las reivindicaciones anexas, las formas singulares "un" "una" y
15 "el/la" incluyen las referencias plurales a menos que el contexto establezca claramente lo contrario. Por ejemplo, "un hongo" también abarca "hongos".

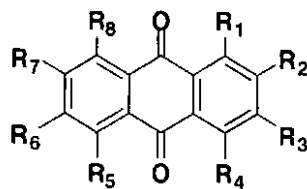
Como se define en la presente, el término "modular" se usa para significar alterar la cantidad de la infección
20 fitopatogénica o velocidad de propagación de la infección fitopatogénica.

Extractos

Los extractos vegetales usados en las combinaciones, las
25 composiciones y los métodos de la presente invención contiene derivados de antraquinona como productos agrícolas bioquímicos para usar contra las plagas de plantas, en particular fitopatógenos de plantas tales como bacterias, hongos, insectos, nematodos patogénicos de plantas y/o como
30 un molusquicida. "Contener" también abarca extractos que producen dichos derivados de antraquinona. En una forma de realización particular, el derivado de antraquinona(s) de la presente invención que se usa en las composiciones y los métodos de la presente invención es (son) los principales

ingredientes activos o uno de los principales ingredientes activos.

Los derivados de antraquinona incluyen pero sin limitación physcion, emodina, crisofanol, ventiloquinona, glicósido de emodina, glicósido de crisofanol, glicósido de physcion, 3,4-dihidroxi-1-metoxiantraquinona-2-carboxaldehído, damnacantal. Estos derivados comparten una estructura similar a la siguiente:



Donde R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7 y R8 son hidrógeno, grupo hidroxilo, hidroxilalquilo, halógeno, carboxilo, alquilo, alquiloxilo, alquenilo, alqueniloxilo, alquinilo, alquiniloxilo, heterociclilo, aromático, o arilo, azúcares tales como glucosa.

En una forma de realización particular, la invención se refiere a los derivados de antraquinona que están contenidos en los extractos derivados de las familias de planta que incluyen pero sin limitación Poligonaceae, Rhamnaceae, Fabaceae, Asphodelaceae, y Rubiaceae so on. Estos compuestos pueden ser de cualquier parte de las plantas tales como hoja, tallo, corteza, raíz y frutos. Los materiales de planta pueden ser húmedos y secos, pero con preferencia materiales de planta secos. Para hallar los productos agrícolas bioquímicos, los solventes y procesos que se usar en la extracción y purificación deben satisfacer los requerimientos de National Organic Program (NOP) [<http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/nop>].

En una forma de realización más particular, el extracto de planta deriva de un miembro de la familia *Poligonaceae*. Como se define en la presente, "derivado de" significa aislado u obtenido directamente de una fuente particular o

alternativamente que tiene características identificatorias de una sustancia u organismo aislado u obtenido de una fuente particular. En una forma de realización particular, el extracto de dicha combinación contiene derivados de antraquinona physcion y opcionalmente emodina. Los miembros de la familia Polygonaceae incluyen pero sin limitación *Acetosella*, *Antigonon*, *Aristocapsa*, *Bilderdykia*, *Brunnichia*, *Centrostegia*, *Chorizanthus*, *Coccoloba*, *Coccolobis*, *Coccolobo*, *Corculum*, *Dedeckera*, *Delopirum*, *Dentoceras*, *Dodecahema*, *Emex*, *Eriogonum*, *Fafopirum*, *Fagopirum*, *Fallopia*, *Gilmania*, *Goodmania*, *Harfordia*, *Hollisteria*, *Koenigia*, *Lastarriaea*, *Mucronea*, *Muehlenbeckia*, *Nemacaulis*, *Oxiria*, *Oxitheca*, *Perscarioa*, *Persicaria*, *Pleuropterus*, *Podopterus*, *Polygonella*, *Polygonum*, *Pterostegia*, *Rheum*, *Rumex*, *Ruprechtia*, *Stenogonum*, *Systemotheca*, *Thysanella*, *Tovara*, *Tracaulon*, *Triplaris* y en una forma de realización aun más particular, el extracto puede derivar de una especie *Reynoutria* (alternativamente denominada como *Fallopia*) sp. o *Rheum*. En una forma de realización aún más particular, el extracto deriva de *Reynoutria sachalinensis*.

Agentes anti-fitopatogénicos

El extracto formulado (tal como productos comercializados con las marcas comerciales REGALIA® y MILSANA®) luego se puede usar en combinación con otros extractos de plantas de agentes anti-fitopatogénicos, bioplaguicidas, protectores de cultivo inorgánicos (tales como cobre), tensioactivos (tales como ramnolípidos; Gandhi et al., 2007) o aceites naturales tales como aceite parafínico y aceite de la planta de té que posee propiedades plaguicidas o fungicidas químicos o bactericidas con modo de acción de sitio único, multisitio o desconocido. Como se define en la presente, un "agente anti-fitopatogénico" es un agente que modula el crecimiento de un patógeno de planta

sobre una planta o alternativamente impide la infección de una planta con un patógeno de planta. Un patógeno de planta incluye pero sin limitación un hongo, bacteria, virus, insectos, nematodos y/o moluscos.

5 En una forma de realización particular, el agente anti-fitopatogénico es un bioplaguicida alternativamente denominado como un agente de biocontrol. Este agente biocontrol es en una forma de realización más particular, un agente de control no *Bacillus*, no *Pseudomonas*, no
10 *Brevibacillus*, no *Lecanicillium*, no *Ampelomyces*, no *Phoma*, no *Pseudozyma* derivado de *Streptomyces* sp., *Burkholderia* sp., *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. En forma alternativa, el agente es un aceite o producto oleoso natural que tiene actividad fungicida y/o insecticida (por ejemplo, aceite
15 parafínico, aceite de la planta de té, aceite de hierba limón, aceite de clavo, aceite de canela, aceite de citrus, aceite de romero).

 Como se indicó antes, el agente anti-fitopatogénico puede ser un agente antifúngico de sitio único que puede
20 incluir pero sin limitación bencimidazol, un inhibidor de desmetilación (DMI) (por ejemplo, imidazol, piperazina, pirimidina, triazol), morfolina, hidroxipirimidina, anilino pirimidina, fosforotiolato, inhibidor externo de quinona, quinolina, dicarboximida, carboximida, fenilamida,
25 anilino pirimidina, fenilpirrol, hidrocarburo aromático, ácido cinámico, hidroxianilida, antibiótico, polioxina, acilamina, ftalimida, bencenoide (xililalanina). En una forma de realización más particular, el agente antifúngico es un inhibidor de desmetilación seleccionado del grupo que
30 consiste en imidazol (por ejemplo, triflumizol), piperazina, pirimidina y triazol (por ejemplo, bitertanol, miclobutanilo, penconazol, propiconazol, triadimefona, bromuconazol, ciproconazol, diniconazol, fenbuconazol, hexaconazol, tebuconazol, tetraconazol, propiconazol). En una forma de

50

realización más particular, el agente antifúngico es miclobutanilo. En aún otra forma de realización particular, el agente antifúngico es un inhibidor externo de quinona (por ejemplo, estrobilurina). La estrobilurina puede incluir pero
5 sin limitación azoxistrobina, kresoxim-metilo o trifloxistrobina. En aún otra forma de realización particular, el agente antifúngico es una quinona, por ejemplo, quinoxifeno (éter 5,7-dicloro-4-quinolil-4-fluorofenílico).

En otra forma de realización más, el agente
10 antimicrobiano es un fungicida químico multisitio, no inorgánico seleccionado del grupo que consiste en un nitrilo (por ejemplo, cloronitrilo o fludioxonilo), quinoxalina, sulfamida, fosfonato, fosfito, ditiocarbamato, cloralquiltios, fenilpiridin-amina, ciano-acetamida oxima.

15 En aún otra forma de realización, el agente anti-fitopatogénico es un agente antibacteriano. Este agente antibacteriano incluye pero sin limitación carbamatos, organofosfatos, ciclodieno organocloruros, fenilpirazoles, piretroides, piretrinas, neonicotinoides, nitroguanadinas,
20 nicotina, espinosina, glicósidos, análogos de hormona juvenil y otros reguladores del crecimiento de insectos, piridina azometina, piridincarboxamida, tetrazina, tiazolidinona, derivados de 2,4-difeniloxizolina, organoestaño, pirrol, buprofezina, hidrametilnon, derivados de naftoquinona,
25 piridazinona, fenoxipirazol, ácido terónico, carbazato, rotenona, organocloro-difenilalifáticos.

Usos

Dicho extracto de planta o producto formulado se puede
30 usar simultáneamente con el otro componente o componentes en una mezcla en tanque o en un programa (aplicación sucesiva llamada rotación) con orden predeterminado e intervalo de aplicación durante la estación de crecimiento. Cuando se usa en una combinación con los productos plaguicidas

anteriormente mencionados, a una concentración menor que la recomendada en el rótulo del producto, la eficacia combinada de dos o más productos (uno de los cuales es dicho extracto de planta) en una forma de realización preferida es mayor que
5 efecto de cada componente individual adicionado en conjunto. En consecuencia, el efecto plaguicida aumenta por sinergismo entre estos dos productos (o más), y se reduce el riesgo de desarrollo de resistencia de los plaguicidas entre las cepas patogénicas de la planta.

10 Las plantas específicas protegidas dentro del alcance de la presente invención comprenden, por ejemplo, las siguientes especies de plantas: cereales (trigo, cebada, centeno, avenas, arroz, sorgo y cultivos relacionados), remolacha (remolacha azucarera y remolacha forrajera), frutas en pomo y
15 blandas (manzanas, peras, ciruela, duraznos, almendras, cerezas, frutillas, frambuesas y moras), plantas leguminosas (porotos, lentejas, arvejas y soja), plantas oleaginosas (colza, mostaza, amapola, olivas, girasol, coco, plantas de aceite de ricino, porotos de cacao y maní), cucurbitáceas
20 (pepino, melones, zapallos, berenjena), plantas de fibra (algodón, lino, cáñamo u yute), frutas cítricas (naranjas, limón, pomelos y mandarinas), verduras (espinaca, lechuga, espárrago, repollos, zanahorias, cebollas, tomates, papas y pimiento), lauráceas (paltas, canela y alcanfor) o plantas
25 tales como plantas de maíz, tabaco, nueces, café, caña de azúcar, té, vides, lúpulo, bananas y caucho natural, así como ornamentales (compuestos), áreas de pasto o cultivos de baja cobertura general que contrarrestan la erosión o desecación del suelo y son útiles en los cultivos de árboles y plantas
30 perennes (plantaciones de frutas, plantaciones de lúpulo, maizales, viñedos, etc.).

El método preferido de aplicar combinaciones de productos de la presente invención es una aplicación foliar (rociado, atomizado, espolvoreo, dispersión o vertido) con o

57

sin portador. La cantidad de aplicaciones y la tasa de aplicación dependen del riesgo de infestación con un patógeno. Por ejemplo, los tratamientos foliares con plaguicidas con combinaciones y mezclas cubiertas en esta patente se pueden realizar una vez cada 7 a 14 días a tasas 25 a 10.000 veces menor que las recomendadas en el rótulo del producto. Las mezclas y combinaciones de producto seleccionadas específicamente en la presente invención también se pueden aplicar a las semillas por impregnación de las semillas con una formulación líquida que contiene el ingrediente activo o recubrirlos con una formulación sólida. En casos especiales, otros tipos de aplicación también son posibles. Estos incluyen remojo del suelo o tratamiento selectivo de los tallos o brotes de las plantas.

Las mezclas de la presente invención y, según sea necesario, un adyuvante sólido o líquido se preparan de manera conocida. Por ejemplo, las mezclas se pueden preparar por mezclado homogéneo y/o molienda de los ingredientes activos con expansores tales como solventes, portadores sólidos y, cuando sea apropiado, compuestos activos en superficie (tensioactivos). Las composiciones también pueden contener otros ingredientes tales como estabilizantes, reguladores de la viscosidad, aglutinantes, adyuvantes así como fertilizantes u otros ingredientes activos a fin de obtener efectos especiales.

EJEMPLOS

A continuación se expondrán, a satisfacción de los objetivos y ventajas precedentes, ejemplos de métodos para aumentar la eficacia de dos o más productos usándolos a tasas que producen efectos sinérgicos o aditivos. Se ha comprobado que las composiciones y métodos descriptos en la presente son efectivos para reducir la incidencia y gravedad de la enfermedad en los pepinos cultivados en invernadero (*Cucumis*

sativus) pero el concepto se puede usar efectivamente para otras variedades y especies de plantas. Las composiciones y los métodos son particularmente efectivos contra el mildiú del pepino pero se pueden aplicar a otras enfermedades de plantas fúngicas, bacterianas y virales así como moho gris, manchas de la hoja, marchitamiento bacteriano, sarna, antracnosis, virus del mosaico de tabaco, etc.

Materiales y Métodos

10 Mildiú (Ejemplos I-V y X-XI)

Los estudios se realizaron en un invernadero. El diseño experimental de los estudios para el sinergismo fue el seguido por Burpee y Latin (2008). Se usó el mildiú, causado por *Sphaerotheca fuliginea*, para investigar la eficacia de los tratamientos.

Las semillas de pepino cv. "SMR 58" (Irwin & Sons Ag Supply, Inc. Cheshire, O) se cultivaron en macetas de plástico de 4 pulgadas con mezcla de tierra para maceta (Rod McLellan Company, Marysville, OH). Las plantas se trataron en la etapa de hoja verdadera 2. Se rociaron los compuestos a varias tasas con un rociador fino de 2-oz a razón de 2 ml por planta en la parte superior y 1 ml en la parte inferior de las hojas. Las plantas tratadas se dejaron durante 3-4 horas bajo luz fluorescente para secar antes de la inoculación.

Una suspensión de conidios de *Sphaerotheca fuliginea*, el agente causal de la enfermedad de mildiú en pepino, se preparó por el corte de hojas enfermas de las plantas de pepino que sirvió para la conservación del inóculo. La suspensión se ajustó a razón de $2,0 \times 10^5$ conidios por ml y se aplicó con un rociador fino de 2-oz a 2 ml por planta en la parte superior de las hojas. Las plantas inoculadas se colocaron en un invernadero y los tratamientos se dispusieron en bloques completos aleatorizados con 4 a 6 replicados a 25°C a 30°C.

Sp

La gravedad de la enfermedad (porcentaje del área cubierta con colonias) de las primeras hojas se calificó de acuerdo con James (1971). La gravedad de la enfermedad y el porcentaje de control se analizaron con el análisis de
5 varianza (ANOVA) y los medios de tratamiento se compararon con la diferencia menos significativa de Fisher (LSD) al nivel de $p=0,05$. El efecto sinérgico se calculó y analizó con la fórmula de Limpel (Limpel et al., 1962; Richer, 1987).

10 *Mildió de la lechuga (Ejemplos VI-VII)*

Se analizó la sinergia entre MBI-106 y acibenzolar-S-metilo o mefenoxam que controla una clase específica de patógenos **Oomycetes** con mildió de lechuga siguiendo Su et al. (2004).

15 Para preparar el inóculo del mildió, se colocaron semillas de lechuga en placas de petri de 5 mm con aproximadamente 20-30 semillas cada una y se regaron con agua estéril, luego se suministró $\frac{1}{2}$ concentración de solución de Hoagland después de la germinación. Las placas de petri se
20 colocaron en una cámara de crecimiento a 20 °C durante 7-10 días. Las esporas de *Bremia lactucae* se inocularon en los cotiledones de lechuga y se cultivaron durante 7-10 días a 15 °C para que se produzca la esporulación. Los cotiledones con esporulación se cortaron y colocaron en un tubo falcon con
25 agua estéril. Los cotiledones se agitaron en vórtex durante 15 segundos tres veces y se filtraron a través de una malla de 100- μ m para recolectar los esporangios. La solución se ajustó a 0,5 a $1,0 \times 10^5$ esporas/ml para la inoculación.

Se sembraron cuatro plantas de ensayo en macetas de 2
30 pulgadas y luego se colocaron a 20 °C durante 7-10 días para que crezcan los cotiledones. Las plantas estuvieron listas para el ensayo cuando apareció la primera hoja verdadera.

Las plantas de lechuga se trataron con los materiales y se dejaron secar durante la noche. Luego las plantas se

inocularon con solución de esporangios. Los tratamientos se dispusieron en un diseño de bloques completo aleatorizado con cuatro replicados. Las plantas inoculadas se colocaron en la oscuridad en una cámara de crecimiento durante 48 horas y luego se incubaron bajo un período de luz de 12 horas a 15 °C. Ocho a diez días después de la inoculación, los cotiledones se calificaron por la gravedad de la enfermedad (porcentaje de área cubierta con esporangioforos).

10 *Tratamiento de semilla (Ejemplos VIII-IX)*

Los experimentos que se describen a continuación se realizaron con soja pero se usan procedimientos similares con otros cultivos tales como cereales, maíz, algodón y papas.

Los experimentos se realizaron en un invernadero siguiendo el procedimiento desarrollado por Hwang et al. (2006). La cepa de *Rhizoctonia solani* se cultivó en placas de agar dextrosa para papa y se cultivó durante 5 días para inocular granos de avena o trigo. Un litro de grano se sumergió toda la noche a temperatura ambiente (25 °C) y se lavó tres veces con agua corriente. Las bolsas de autoclave de 8×12 pulgadas cargadas con grano hasta 1/3 completo se autoclavaron a 121 °C durante 15 min. El grano autoclavado luego se inoculó con 5 trozos de tapón 1×1 cm de cultivo de 5 días de *R. solani* por bolsa y se cultivó durante 5 días a temperatura ambiente (25 °C). Las bolsas se dejaron abiertas en una campana de flujo laminar para permitir que los granos se sequen por completo.

La muestra de semilla blanco de 10 g para recubrir se colocó en un matraz. Se colocó agente de recubrimiento SEPIRET® 1171-O (Becker Underwood Ltd., Ames, IA) en los matraces junto con el compuesto de interés y el matraz se agitó energicamente de modo que la semilla se ligó con el compuesto. El procedimiento se repitió con muestra de semilla fresca de cvs. "White Lion" (Kitazawa Seed Co., Oakland, CA)

57

o "Viking 2265" (Johnny's Selected Seeds, Winslow, ME) en el mismo matraz para los tratamientos. Después de recubrir las semillas, estas se dejaron secar al aire antes de la plantación.

5 Para preparar la tierra, se mezclaron quinientos mililitros de los granos seco con el inóculo durante 15 segundos tres veces y el polvo se mezcló con arena estéril a razón de 1:1 (v/v) para diluir el inóculo. La mezcla de arena se usó posteriormente para preparar mezcla de tierra en
10 varias proporciones 1:350 a 1:800 (inóculo:tierra) para soja para generar varios niveles de enfermedad en pruebas repetidas.

 Las semillas recubiertas se plantaron en las macetas con tierra infestada. Hubo tres replicados de cada tratamiento
15 que se dispusieron en un diseño de bloque aleatorizado completo o se colocaron a 25 a 30 °C en un invernadero.

 Después de 10 a 20 días, de acuerdo con la presión y temperatura de la enfermedad, se calificó la emergencia de cada tratamiento y se comparó. Se midió la biomasa por el
20 pesado de porción aérea para cada replicado del material de planta.

Ejemplo I. Efecto sinérgico entre el extracto formulado de *R. sachalinensis* y miclobutanilo (prueba I).

25 MBI-106 (extracto formulado de *R. sachalinensis* comercializado como REGALIA[®] SC por Marrone Bio Innovations, Inc., Davis, CA) diluido a 10 veces menos que las tasas de aplicación del rótulo de 1500× y 2000× y miclobutanilo (formulado como RALLY[®] 40W, Dow AgroSciences LLC,
30 Indianapolis, IN) a concentraciones de 0,25 ug/ml, 0,1 ug/ml, y 0,05 ug/ml (450 a 2.250 veces menos que las tasas recomendadas en el rótulo) se aplicaron solos o en mezcla de tanque.

La gravedad de la enfermedad se redujo significativamente en MBI-106 a 1500× y 2000× en combinación con miclobutanilo a 0,25 ug/ml que cuando ellos se usaron solos (Tabla 1). Se haló un aumento significativo de la
5 eficacia del control con la combinación de MBI-106 2000× mezclado en tanque con miclobutanilo a tasas de 0,25 ug/ml y 0,05 ug/ml (Tabla 2).

Ejemplo II. Efecto sinérgico entre el extracto de *R. sachalinensis* y miclobutanilo (prueba II).

En una segunda prueba usando MBI-106 (formulado como REGALIA® SC) y miclobutanilo (formulado como RALLY® 40W), se halló mayor eficacia cuando MBI-106 a una dilución de 2000× (10 veces menos que la tasa del rótulo) en combinación con
15 miclobutanilo a tasas de 0,25, 0,1, y 0,05 ug/ml, y cuando MBI-106 at 1500× se mezcló en tanque con miclobutanilo a 0,05 ug/ml (Tabla 3). Se exhibió efecto sinérgico significativo cuando MBI-106 diluido a 1500× y 2000× se combinó con miclobutanilo a tasa más baja de 0,05 ug/ml (Tabla 4).

20

Ejemplo III. Efecto sinérgico entre el extracto formulado de *R. sachalinensis* y quinoxifeno

MBI-106 diluido a 1500× o 2000× se aplicó solo o en combinación con quinoxifeno (formulado como QUINTEC®, Dow
25 AgroSciences LLC, Indianapolis, IN) at 0,05 y 0,01 ug/ml (2.000 a 10.000 veces menos que que las tasas del rótulo) sea solo o en una mezcla en tanque. Los resultados se muestran en las Tablas 5 y 6. El efecto sinérgico más significativo y el mejor control de la enfermedad se halló con la dilución del
30 producto de *R. sachalinensis* de 2000× con quinoxifeno a 0,01 ug/mL. El quinoxifeno tiene un nuevo modo de acción multisitio que afecta las proteínas G en la señalización celular temprana.

58

Ejemplo IV. Efecto sinérgico entre el extracto formulado de *R. sachalinensis* y azoxistrobina

MBI-106 diluido a 1500× o 2000× se aplicó solo o en combinación con azoxistrobina (formulado como QUADRIS®,
5 Syngenta Corporation, Wilmington, DE) a una tasa de 0,25, 0,5, 1,0, 5,0, y 10 ug/mL (25 a 1020 veces menos que las tasas recomendadas en el rótulo) sea solo o en una mezcla en tanque. Los resultados se muestran en las Tablas 7 y 8. De todas las combinaciones analizadas, las mezclas con el
10 extracto de *R. sachalinensis* a una dilución 2000× y azoxistrobina a 5,0 o 0,5 ug/ml proporcionó la mayor sinergia, y la eficacia fungicida fue significativamente mayor que la esperada en comparación con los datos de uso del compuesto solo.

15

Ejemplo V. Efecto sinérgico entre el extracto formulado de *R. sachalinensis* y triflumizol.

MBI-106 (extracto de *R. sachalinensis* formulado comercializado como REGALIA® SC por Marrone Bio Innovations,
20 Inc., Davis, CA) a una dilución de 2500× (10 veces menos que la tasa del rótulo) y triflumizol (formulado como PROCURE® 480SC, Chemtura Corporation, Middlebury, CT) a concentraciones de 1,0 ug/ml, 0,5 ug/ml, y 0,25 ug/ml (150 a 600 veces menos que las tasas recomendadas en el rótulo) se
25 aplicaron solos o en mezcla de tanque.

La gravedad de la enfermedad se redujo significativamente ($P < 0.0001$) en tratamientos de rociado con MBI-106 a una dilución de 2500× en combinación con triflumizol en comparación con un tratamiento donde MBI-106
30 se usó solo (Tabla 9). Se halló un efecto sinérgico en la eficacia en la combinación de MBI-106 2500× mezclada en tanque con triflumizol a tasas de 1,0 ug/ml, 0,5 ug/ml, y 0,25 ug/ml (Tabla 10).

Ejemplo VI. Efecto sinérgico entre el extracto de *R. sachalinensis* y acibenzolar-S-metilo para controlar el mildiú de la lechuga.

5 MBI-106 (extracto de *R. sachalinensis* formulado, comercializado como REGALIA® SC por Marrone Bio Innovations, Inc., Davis, CA) se usó solo en una dilución 200× o en combinación con acibenzolar-S-metilo (formulado como ACTIGARD®, Syngenta Crop Protection, Inc., Greensboro, NC) a concentraciones de 25 ug/ml para controlar el mildiú de la lechuga.

10 La gravedad de la enfermedad se redujo significativamente ($p=0.0004$) con MBI-106 en una dilución 200× en combinación con acibenzolar-S-metilo en comparación con tratamientos en que se usaron solos (Tabla 11). Existe un efecto sinérgico en la eficacia de la mezcla en tanque de MBI-106 200× y acibenzolar-S-metilo (Tabla 12).

Ejemplo VII. Efecto sinérgico entre el extracto de *R. sachalinensis* y mefenoxam para controlar el mildiú de la lechuga.

20 Para investigar el efecto sinérgico de Reynoutria y MBI-106, producto formulado REGALIA® ME por Marrone Bio Innovations, Inc., Davis, CA se usó en una tasa de dilución de 400× en combinación con mefenoxam (formulado como RIDOMIL GOLD®, Syngenta Crop Protection, Inc., Greensboro, NC) a concentraciones de 37,5 µg/ml, 75,0 µg/ml, y 150 µg/ml para controlar el mildiú de la lechuga.

25 La gravedad de la enfermedad se redujo significativamente ($p<0,0001$) con MBI-106 en una dilución de 400× en combinación con mefenoxam en comparación con tratamientos en que se usaron solos en cada concentración (Tabla 13). El efecto sinérgico en la eficacia de la mezcla en tanque de MBI-106 200× y mefenoxam se halló en las

59

combinaciones de MBI-106 y cada concentración de mefenoxam (Tabla 14).

**Ejemplo VIII. Extracto de *R. sachalinensis* como agente de
5 tratamiento de semilla y su sinergia con azoxistrobina para
controlar *Rhizoctonia solani*.**

Reynoutria sachalinensis se extrajo con etanol al 5% (p/p) y se usó para el recubrimiento de semilla a razón de 0,2117 g/kg de semilla, sea solo o en combinación con
10 azoxistrobina (QUADRIS[®], Syngenta Crop Protection, Inc., Greensboro, NC) a razón de 0,0298 g/kg de semilla para controlar *Rhizoctonia solani* en soja.

La tasa de emergencia fue mayor en las semillas inoculadas tratadas con MBI-106 en comparación con el control
15 no tratado inoculado, y cuando se usó en combinación con azoxistrobina, la tasa de emergencia fue superior que cuando se usó el producto solo (Tabla 15). Se halló un efecto sinérgico cuando se usaron ambos materiales en combinación (Tabla 16).

**20 Ejemplo IX. Extracto de *R. sachalinensis* como agente de
tratamiento de semilla y sinergia con fludioxonilo para
controlar *Rhizoctonia solani*.**

El extracto de etanol de *R. sachalinensis* se usó también a las tasas de 0,03175 g/kg de semilla y 0,635 g/kg de
25 semilla para el recubrimiento de semilla, solo o en combinación con fludioxonilo (formulado como Scholar[®] por Syngenta Crop Protection, Inc., Greensboro, NC) para controlar *Rhizoctonia solani* en la soja. Las tasas de emergencia y las biomásas fueron superiores en las semillas
30 tratadas con MBI-106 en comparación con el control no tratado inoculado y también superior cuando se usa en combinación con fludioxonilo a la tasa de 0,0596 g/kg de semilla (Tabla 17). El efecto sinérgico se halló en las dos tasas de MBI-106 cuando se usó en combinación con fludioxonilo (Tabla 18).

Ejemplo X. Efecto sinérgico entre el extracto de *R. sachalinensis* formulado y propiconazol para controlar el mildiú del pepino.

5 MBI-106 (extracto de *R. sachalinensis* formulado comercializado como REGALIA® ME por Marrone Bio Innovations, Inc., Davis, CA) a una dilución de 2500× y propiconazol (formulado como PROPIMAX® EC, Dow AgroSciences LLC, Indianapolis, IN) en concentraciones de 1,0 ug/ml se
10 aplicaron solo o en mezcla de tanque.

La gravedad de la enfermedad se redujo significativamente ($P < 0,0001$) en tratamientos rociados con MBI-106 en una dilución 2500× en combinación con propiconazol (Tabla 19). Existe un efecto sinérgico la eficacia del
15 control con la combinación de MBI-106 2500× mezclada en tanque con propiconazol (Tabla 20).

**Ejemplo XI. Efecto sinérgico entre el extracto de *R. sachalinensis* formulado y quinoxifeno (Prueba II) para
20 controlar el mildiú del pepino.**

MBI-106 (extracto de *R. sachalinensis* formulado comercializado como REGALIA® SC by Marrone Bio Innovations, Inc., Davis, CA) se usó solo en una dilución de 2000× o en combinación con azoxistrobina en tres concentraciones de 0,5,
25 0,25, y 0,1 ug/ml para controlar el mildiú del pepino.

La eficacia del control con MBI-106 en la dilución 2000× en combinación con los tratamientos de azoxistrobina fue superior que cuando estos se usaron solos (Tabla 21). El efecto sinérgico en la eficacia del control la mezcla en
30 tanque de MBI-106 2000× existe en combinaciones de MBI-106 y cada concentración de azoxistrobina (Tabla 22).

60

Tablas

Tabla 1. La gravedad de la enfermedad y porcentaje de control de MBI-106 y miclobutanilo (RALLY[®] 40W) cuando se usa solo o

Tratamiento	Dilución/Tasa	Gravedad (%) ^z	Control (%) ⁵
Control no tratado	N/A	98,3 a	0,0 e
miclobutanilo	0,25 ug/ml	16,7 cd	83,1 bc
miclobutanilo	0,1 ug/ml	95,0 a	3,2 e
miclobutanilo	0,05 ug/ml	95,8 a	2,5 e
extracto de Reynoutria	1500×	15,8 cd	84,0 ¹⁰ bc
extracto de Reynoutria	2000×	35,8 b	63,5 d
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	1500× 0,25 ug/ml	1,2 e	98,8 A
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	2000× 0,25 ug/ml	0,2 e	99,8 A ¹⁵
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	1500× 0,1 ug/ml	11,8 de	87,9 ab
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	2000× 0,1 ug/ml	27,5 bc	72,2 dc ²⁰
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	1500× 0,05 ug/ml	17,5 cd	82,4 bc
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	2000× 0,05 ug/ml	20,8 cd	79,0 ²⁵ bc
		P<0,0001	P<0,0001

lumna 3 (Severidad (%)) son los promedios de seis replicados. Los promedios con la misma letra en una columna no son significativamente diferentes de acuerdo con la mínima diferencia significativa de Fisher (LSD) a un nivel de P=0,05.

Tabla 2. La eficacia esperada (E_e)² de cada combinación de producto, y la significancia estadística del sinergismo detectado entre MBI-106 (REGALIA® SC) y miclobutanilo

Tratamiento	Dilución/Tasa	Control (%)	E_e ³	Prueba T
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	1500× 0,25 ug/ml	98,8	97,3	n.s.
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	2000× 0,25 ug/ml	99,8	93,8	***
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	1500× 0,1 ug/ml	87,9	84,5	n.s.
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	2000× 0,1 ug/ml	72,2	64,7	n.s. ⁴
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	1500× 0,05 ug/ml	82,4	84,4	n.s.
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	2000× 0,05 ug/ml	79,0	64,4	* ⁵

5

10

² E_e es la Eficacia esperada y se determina con la fórmula de Limpela $E_e = X + Y - (XY)/100$ (Limpel et al., 1962; Richer, 1987).

³ Los datos son los promedios de seis replicados. Los promedios con la misma letra en una columna no son significativamente diferentes de acuerdo con la mínima diferencia significativa de Fisher (LSD) a un nivel de $P=0,05$.

⁴ n.s.: No significativo

⁵ * y ***: Significativo a $P<0,05$ y $0,001$ respectivamente.

61

Tabla 3. Gravedad de la enfermedad y porcentaje de control de MBI-106 (REGALIA® SC) y miclobutanilo (RALLY® 40W) cuando se usa solo o en una mezcla en tanque en una prueba repetida.

Tratamiento	Dilución/Tasa	Gravedad (%) ^{z6}	Control (%)
Control no tratado	N/A	91,3 a	0.0 a
miclobutanilo	0,25 ug/ml	53,8 bcd	41.3 dc
miclobutanilo	0,1 ug/ml	80,0 ab	12.2 de
miclobutanilo	0,05 ug/ml	93,8 a	-2.8 e
extracto de Reynoutria	1500×	20,0 ef	77.9 ab
extracto de Reynoutria	2000×	63,8 abc	29.8 cde
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	1500× 0,25 ug/ml	46,3 cde	48.8 bc
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	2000× 0,25 ug/ml	33,8 cdef	62.7 bc
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	1500× 0,1 ug/ml	33,8 cdef	62.6 bc
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	2000× 0,1 ug/ml	38,8 cde	57.3 bc
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	1500× 0,05 ug/ml	1,8 f	98.1 a
extracto de Reynoutria + miclobutanilo	2000× 0,05 ug/ml	21,3 def	77.0 ab
		P<0,0001	P<0,0001

Tabla 4. Efecto sinérgico entre MBI-106 (REGALIA® SC) y miclobutanilo (RALLY® 40W) en una prueba repetida.

⁶ Los datos son los promedios de seis replicados. Los promedios con la misma letra en una columna no son significativamente diferentes de acuerdo con la mínima diferencia significativa de Fisher (LSD) a un nivel de P=0,05.

² E _e	Tratamiento	Dilución/Tasa	Control (%)	E _e ²	T test
la	extracto de Reynoutria + miclobutanilo	1500× 0,25 ug/ml			
	Tratamiento	Dilución/Tasa	Gravedad (%)	Control (%)	n.s.
	extracto de Reynoutria + miclobutanilo	2000× 0,25 ug/ml	48,8 91,3 a	87,0	0
	Control no tratado		62,7	58,8	n.s.
	extracto de Reynoutria + miclobutanilo	1500× 0,1 ug/ml	62,6	80,6	n.s.
	extracto de Reynoutria + miclobutanilo	2000× 0,1 ug/ml	57,3	38,3	n.s.
	extracto de Reynoutria + miclobutanilo	1500× 0,05 ug/ml	98,1	77,3	***
	extracto de Reynoutria + miclobutanilo	2000× 0,05 ug/ml	77,0	27,8	**

5 eficacia esperada y se determina con la fórmula de Limpel $E_e = X + Y - (XY)/100$ (Limpel et al., 1962; Richer, 1987).

** y ***: Significativo at $P < 0,01$ y $0,001$ respectivamente.

n.s.: No significativo

10 Tabla 5. Gravedad de la enfermedad y porcentaje de control de MBI-106 (extracto formulado de *R. sachalinensis*) y quinoxifeno (QUINTEC®) cuando se usa solo o en una mezcla en tanque.

Los	extracto de Reynoutria	1500×	20,0 c	77,93
	extracto de Reynoutria	2000×	63,8 b	29,75
	quinoxifeno	0,05 ug/ml	30,0 c	66,95
	quinoxifeno	0,01 ug/ml	90,0 a	1,33
	extracto de Reynoutria + quinoxifeno	1500× 0,05 ug/ml	25,0 c	72,65
	extracto de Reynoutria + quinoxifeno	2000× 0,05 ug/ml	12,5 c	86,25
	extracto de Reynoutria + quinoxifeno	1500× 0,01 ug/ml	22,5 c	75,28
	extracto de Reynoutria + quinoxifeno	2000× 0,0 1 ug/ml	13,8 c	85,1
	n=4, LSD		P<0,0001	P<0,0001

datos son los promedios de cuatro replicados. Los promedios con la misma letra en una columna no son significativamente diferentes de acuerdo con la minima diferencia significativa de Fisher (LSD) a un nivel de P=0,05.

Tabla 6. Efecto sinérgico entre MBI-106 (extracto de Reynoutria, REGALIA` SC) y quinoxifeno (QUINTEC®)

Tratamiento	Dilución/Tasa	Control (%)	E.	Prueba T
extracto de Reynoutria + quinoxifeno	1500× 0,05 ug/ml	72,65	92,7	*
extracto de Reynoutria + quinoxifeno	2000× 0,05 ug/ml	86,25	76,8	n.s.
extracto de	1500×	75,28	78,2	n.s.

Reynoutria+ quinoxifeno	0,01 ug/ml			
extracto de Reynoutria + quinoxifeno	2000x 0,0 1 ug/ml	85,1	30,7	**

² E_e es la eficacia esperada y se determina con la fórmula de Limpel $E_e = X + Y - (XY)/100$ (Limpel et al., 1962; Richer, 1987).

* y **: Significativo a P<0,05 y 0,01 respectivamente.

5 n.s.: No significativo.

63

Tabla 7. Gravedad de la enfermedad y porcentaje de control del mildiú usando MBI-106 (Extracto de *R. sachalinensis*, REGALIA® SC) y azoxistrobina (QUADRIS®).

Tratamiento	Dilución/Tasa	Gravedad (%)		Control (%)	
Control no tratado	N/A	92,5	a	0,0	h
azoxistrobina	10,0 ug/ml	11,3	efg	87,6	abc
azoxistrobina	5,0 ug/ml	5,3	fg	94,3	ab
azoxistrobina	1,0 ug/ml	30,0	cdef	68,1	bcdef
azoxistrobina	0,5 ug/ml	48,8	bc	48,0	fg
azoxistrobina	0,25 ug/ml	45,0	bcd	51,8	efg
extracto de Reynoutria	1500×	11,3	efg	88,0	abc
extracto de Reynoutria	2000×	61,3	b	34,3	g
extracto de Reynoutria	2500×	48,8	bc	47,0	fg
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	1500× 10,0 ug/ml	3,0	fg	96,8	ab
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 10,0 ug/ml	4,0	fg	95,6	ab
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2500× 10,0 ug/ml	1,8	fg	98,1	ab
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	1500× 5,0 ug/ml	1,0	g	98,9	ab
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 5,0 ug/ml	0,8	g	99,2	a
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2500× 5,0 ug/ml	2,0	fg	97,9	ab
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	1500× 1,0 ug/ml	11,3	efg	87,6	abc
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 1,0 ug/ml	12,5	efg	86,3	abcd
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2500× 1,0 ug/ml	25,0	cdefg	73,4	abcdef
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	1500× 0,5 ug/ml	16,3	defg	82,2	abcde
extracto de	2000×	11,3	efg	87,7	abc

Reynoutria + azoxistrobina	0,5 ug/ml				
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2500× 0,5 ug/ml	43,8	bcd	52,1	efg
extracto de Reynoutria +azoxistrobina	1500× 0,25 ug/ml	40,0	bcde	56,4	defg
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 0,25 ug/ml	25,0	cdefg	73,0	abcdef
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2500× 0,25 ug/ml	36,3	bcde	60,5	cdefg
N=4		P<0,0001	P<0,0001		

69

Tabla 8. Efecto sinérgico entre MBI-106 y azoxistrobina. Solo se incluyen los tratamientos con efecto sinérgico

Tratamiento	Tasa/Dilución	Control (%)	E _o	Prueba T
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 10,0 ug/ml	95,6	91,9	*
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2500× 10,0 ug/ml	98,1	93,4	*
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 5,0 ug/ml	99,2	96,3	**
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 0,5 ug/ml	87,7	65,8	**

estadísticamente significativo.

Tabla 9. Gravedad de la enfermedad y porcentaje de control de *R. sachalinensis* y triflumizol (PROCURE® 480SC) cuando se usa solo o en una mezcla en tanque.⁷

Tratamiento	Tasa/Dilución	Gravedad (%)	Control (%)
Control no tratado	N/A	97,5 a	0,0
extracto de Reynoutria	2500×	23,8 b	75,6
triflumizol	1,0 ug/ml	77,5 a	20,5
triflumizol	0,5 ug/ml	86,3 a	11,5
triflumizol	0,25 ug/ml	95,0 a	2,6
extracto de Reynoutria + triflumizol	2500× 1,0 ug/ml	6,3 b	93,6
Reynoutria extract + triflumizol	2500× 0,5 ug/ml	15,0 b	84,6
extracto de Reynoutria + triflumizol	2500× 0,25 ug/ml	11,5 b	88,2

5

⁷ Los datos de la Columna 3 (Gravedad (%)) son los promedios de seis replicados. Los promedios con la misma letra en una columna no son significativamente diferentes de acuerdo con la mínima diferencia significativa de Fisher (LSD) a un nivel de P=0,05.

65

Tabla 10. La eficacia esperada (E_e) de cada combinación de producto, eficacia de control (E), y el efecto sinérgico ($E/E_e > 1,0$) between MBI-106 (REGALIA[®] SC) y triflumizol (PROCURE[®] 480SC).

5

Mezcla en tanque	Dilución/Tasa	Control (%)	E_e	E/E_e
extracto de Reynoutria + triflumizol	2500× 1,0 ug/ml	93,6	80,6	1,2
extracto de Reynoutria + triflumizol	2500× 0,5 ug/ml	84,6	78,4	1,1
extracto de Reynoutria + triflumizol	2500× 0,25ug/ml	88,2	76,2	1,2

E_e es la eficacia esperada y se determina con la fórmula de Limpel $E_e = X + Y - (XY)/100$ (Limpel et al., 1962; Richer, 1987).

- 10 Tabla 11. Gravedad de la enfermedad y porcentaje de control de MBI-106 (REGALIA[®] SC) y acibenzolar-S-metilo (ACTIGARD[®]) cuando se usa solo o en una mezcla en tanque.

Tratamiento	Dilución/Tasa	Gravedad (%)	Control (%)
Control no tratado	N/A	90,0 a	0.0
acibenzolar-S-metilo	25 ug/ml	68,9 ab	23.4
extracto de Reynoutria	200×	57,0 b	36.6
extracto de Reynoutria + acibenzolar-S-metilo	200× 25 ug/ml	14,2 c	84.2

15

Tabla 12. La eficacia esperada (E_e) de cada combinación de producto, eficacia de control (E), y el efecto sinérgico ($E/E_e > 1,0$) entre MBI-106 (REGALIA[®] SC) y acibenzolar-S-metilo (ACTIGARD[®]).

5

Mezcla en tanque	Control (%)	E _e	E/E _e
extracto de Reynoutria + acibenzolar-S-metilo	84,2	51,5	1,6

6/6

Tabla 13. Gravedad de la enfermedad y porcentaje de control de MBI-106 (REGALIA[®] ME) y mefenoxam(RIDOMIL GOLD[®] SL)

Tratamiento	Dilución/Tasa	Gravedad (%)	Control (%)
Control no tratado	N/A	87,0ab	0,0
mefenoxam	150 ug/ml	44,8de	48,5
mefenoxam	75 ug/ml	54,2cd	37,7
mefenoxam	37,5 ug/ml	89,3a	-2,6
extracto de Reynoutria	400×	68,0bc	21,8
extracto de Reynoutria + mefenoxam	400× 150 ug/ml	14,5f	83,3
extracto de Reynoutria + mefenoxam	400× 75 ug/ml	28,6ef	67,1
extracto de Reynoutria + mefenoxam	400× 37,5 ug/ml	59,2cd	32,0

5

Tabla 14. La eficacia esperada (E_e) de cada combinación de producto, actual eficacia de control (E), y sinergismo detectado (E/E_e>1,0) entre MBI-106 (REGALIA[®] ME) y mefenoxam (RIDOMIL GOLD[®] SL).

10

Mezcla en tanque	Dilución/Tasa	Control (%)	E _e	E/E _e
extracto de Reynoutria + mefenoxam	400× 150 ug/ml	83,3	59,7	1,4
extracto de Reynoutria + mefenoxam	400× 75 ug/ml	67,1	51,3	1,3
extracto de Reynoutria + mefenoxam	400× 37,5 ug/ml	32,0	19,7	1,6

Tabla 15. Emergencia de plántulas de soja y control de la caída de plántulas por MBI-106 (extracto de etanol) y azoxistrobina (QUADRIS®).

Tratamiento	Tasa	Emergencia (%)		Control (%)
Control no inoculado	N/A	90,1	a	N/A
Control inoculado	N/A	4,9	c	0,0
Extracto de Reynoutria inoculado	0,02117 g/kg	11,1	c	6,2
Extracto de Reynoutria inoculado + azoxistrobina	0,02117 g/kg 0,0298 g/kg	92,6	a	87,7
Azoxistrobina inoculada	0,0298 g/kg	86,4	a	81,5

5

Tabla 16. La eficacia esperada (E_e) de cada combinación de producto, actual eficacia de control (E), y el sinergismo detectado ($E/E_e > 1,0$) entre MBI-106 (extracto de etanol) y azoxistrobina (QUADRIS®).

10

Mezcla en tanque	Tasa	Control (%)	E_e	E/E_e
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	0,02117 g/kg 0,0298 g/kg	87,7	82,6	1,1

67

Tabla 17. Emergencia de plántulas de soja y control de la caída de plántulas por MBI-106 (extracto de etanol de *Reynoutria*) y fludioxonilo (SCHOLAR[®]).

Tratamiento	Tasa	Emergencia (%)		Biomasa (g)		Control (%)
Control inoculado	N/A	7,4	c	0,8	c	0,0
Extracto de Reynoutria inoculado	0,635 g/kg	9,9	c	1,4	c	2,5
Extracto de Reynoutria inoculado	0,03175 g/kg	16,0	c	2,9	c	8,6
Extracto de Reynoutria inoculado + fludioxonilo	0,635 g/kg 0,0596 g ai/kg	61,8	a	17,0	a	54,4
Extracto de Reynoutria inoculado + fludioxonilo	0,03175 g/kg 0,0596 g ai/kg	50,6	a	12,5	b	43,2
Fludioxonilo inoculado	0,0596 g ai/kg	35,8	b	8,7	b	28,4

5

10

15

Tabla 18. La eficacia esperada (E_e) de cada combinación de producto, actual eficacia de control (E), y sinergismo

20

detectado ($E/E_e > 1,0$) entre MBI-106 (extracto de etanol) y fludioxonilo (SCHOLAR®).

Mezcla en tanque	Tasa	Control (%)	E _e	E/E _e
Extracto de Reynoutria inoculado + fludioxonilo	0,635 g/kg 0,0596 g ai/kg	54,4	30,2	1,8
Extracto de Reynoutria inoculado +fludioxonilo	0,03175 g/kg 0,0596 g ai/kg	43,2	34,6	1,2

5 Tabla 19. Gravedad de la enfermedad y porcentaje de control de *R. sachalinensis* y propiconazol (PROPIMAX®) cuando se usa solo o en una mezcla en tanque para controlar el mildiú del pepino.

10

Tratamiento	Dilución/Tasa	Gravedad (%)	Control (%)
Control no tratado	N/A	98,8 a	0,0
propiconazol	1,0 ug/ml	97,5 a	1,3
extracto de Reynoutria	2500×	61,3 b	38,0
Reynoutria + propiconazol	2500× 1,0 ug/ml	51,3 c	48,1

15

20

25 Tabla 20. La eficacia esperada (E_e) de cada combinación de producto, eficacia de control (E), y el efecto sinérgico ($E/E_e > 1,0$) entre MBI-106 (REGALIA® ME) y propiconazol (PROPIMAX®).

Mezcla en tanque	Dilución/Tasa	control (%)	E ^e	E/e _e
extracto de Reynoutria + propiconazol	2500× 1,0 ug/ml	48,1	38,8	1,2

5 Tabla 21 . Gravedad de la enfermedad y porcentaje de control de *R. sachalinensis* y azoxistrobina(QUADRIS®) cuando se usa solo o en una mezcla en tanque para controlar el mildiú .

Tratamiento	Dilución/Tasa	Gravedad (%)	Control (%)
Control tratado	N/A	80,0	13,5
azoxistrobina	0,5 ug/ml	35,0	62,2
azoxistrobina	0,25 ug/ml	80,0	13,5
azoxistrobina	0,1 ug/ml	72,5	21,6
Extracto de Reynoutria	2000×	75,0	18,9
Extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 0,5 ug/ml	11,3	87,8
Extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 0,25 ug/ml	41,3	55,4
Extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 0,1 ug/ml	36,5	60,5

10 Tabla 22 . La eficacia esperada (E_e) de cada combinación de producto, eficacia de control (E), y el efecto sinérgico (E/E_e > 1,0) entre MBI-106 (Regalia® SC) y azoxistrobina(Quadris®) (Test II).

15

Mezcla en tanque	Dilución/Tasa	Control (%)	E _e	E/E _e
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 0,5 ug/ml	87,8	69,3	1,3
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 0,25 ug/ml	55,4	29,9	1,9
extracto de Reynoutria + azoxistrobina	2000× 0,1 ug/ml	60,5	36,4	1,7

20

Bibliografía citada:

Bardin, M., J. Fargues, et al. (2008). "Compatibility between biopesticides used to control grey mold, powdery mildew and whitefly on tomato." Biological Control **46**: 476-483.

5

Bartlett, D. W., J. M. Clough, et al. (2002). "649-662." Pest Management Science **58**: 649-662.

10 Belanger, R. R. and M. Benyagoub (1997). "Challenges and prospects for integrated control of powdery mildews in the greenhouse." Canadian Journal of Plant Pathology **19**: 310-314.

15 Bokshi, A. I., J. Jobling, et al. (2008). "A single application of Milsana followed by Bion assists in the control of powdery mildew in cucumber and helps overcome yield losses." Journal of Horticultural Science and Biotechnology **83**: 701-706.

20 Braun, U., T. A. Cook, et al. (2002). The taxonomy of the powdery mildew fungi. The powdery mildews: a comprehensive treatise. R. R. Belanger, W. R. Bushnell, A. J. Dik and T. L. W. Carver. St. Paul, MN, APS Press: 13-55.

25 Burpee, L. and R. Latin (2008). "Reassessment of fungicide synergism for control of dollar spot." Plant Disease **92**: 601-606.

30 Daayf, F., A. Schmitt, et al. (1995). "The effects of plant extracts of Reynoutria sachalinensis on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber." Plant Disease **79**: 577-580.

35 De Waard, M. A. (1996). "Synergism and antagonism in fungicide mixtures containing sterol demethylation inhibitors." Phytopathology **86**: 1280-1283.

69

Durrant, W. E. and X. Dong (2004). "Systemic acquired resistance." Annual Review in Phytopathology **42**: 185-209.

5 Fraaije, B., J. A. Lucas, et al. (2003). QoI resistance development in populations of cereal pathogens in the UK. BCPC Internatrional Congress - Crop Science and Technology, Alton, Hants, UK, pp. 689-694.

10 Gandhi, N. R., V. P. Skebba, et al. (2007). Antimycotic rhamnolipid compositions and related methods of use, US patent application number 20070191292. USPTO. USA: 27 p.

15 Gisi, U. (1996). "Synergistic interactions of fungicides in mixtures " Phytopathology **86**: 1273-1279.

Hafez, M. B., A. Schmitt, et al. (1999). "The side-effects of plant extracts and metabolites of *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai and conventional fungicides on the beneficial organism *Trichogramma cacoeciae* Marchal (Hym., Trichogrammatidae)." Journal of Applied Entomology **123**: 363-368.

25 Holb, I. J. and G. Schnabel (2008). "The benefits of combining elemental sulfur with a DMI fungicide to control *Monilinia fructicola* isolates resistant to propiconazole." Pest Management Science **64**: 156-164.

30 Horst, R. K., S. O. Kawamoto, et al. (1992). "Effect of sodium bicarbonate and oils on the control of powdery mildew and black spot on roses." Plant Disease **76**: 247-251.

35 Hwang, S.F., H. Wang, et al. (2006). "Effect of seed treatment and root pathogens on seedling establishment and yield of alfalfa, birdfoot trefoil and sweetclover." Plant Pathology Journal **5**:322-328.

James, W. C. (1971). A manual assessment keys for plant diseases. St. Paul, MN, American Phytopathological Society.

- 5 Karaoglanidis, G. S. and D. A. Karadimos (2006). "Efficacy of strobilurins and mixtures with DM fungicides in controlling powdery mildew in field-grown sugar beet." Crop Protection **25**: 977-983.
- 10 Konstantinidou-Doltsinis, S., E. Markellou, et al. (2007). "Control of powdery mildew of grape in Greece using Sporodex L and Milsana." Journal of Plant Diseases and Protection **114**: 256-262.
- 15 Limpel, L. E., P. H. Schuldt, et al. (1962). N.E. Weed Control Conference.
- May, R. M. (1985). "Evolution of pesticide resistance." Nature **315**: 12-13.
- 20 McGrath, M. T. (2001). "Fungicide resistance in cucurbit powdery mildew: Experiences and challenges." Plant Disease **85**: 236-245.
- 25 Reuveni, M. (2001). "Improved control of powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa*) of nectarines in Israel using strobilurin and polyoxin B fungicides; mixtures with sulfur; and early bloom applications." Crop Protection **20**: 663-668.
- 30 Richer, D. (1987). "Synergism - a patent view." Pesticide Science **19**: 309-315.

Ross, A. F. (1961). "Systemic acquired resistance induced by localized virus infections in plants " Virology **14**: 340-358.

Samoucha, Y. and Y. Cohen (1984). "Synergy between metalaxyl and macozeb in controlling downy mildew in cucumbers." Phytopathology **74**: 1434-1437.

- 5 Schmitt, A. (2002). "Induced responses by plant extracts from *Reynoutria sachalinensis*: a case study." Bull. IOBC/WPRS **25**: 83-89.

- 10 Schmitt, A., S. Kunz, et al. (2002). Use of *Reynoutria sachalinensis* plant extracts, clay preparations and *Brevibacillus brevis* against fungal diseases of grape berries. Fordergemeinschaft Okologischer Obstbau e.V.(FOKO) and der Staatlichen Lehr- und Versuchsanstalt fur Wein- und Obstbau (LvWO) Weinsberg. 10th International conference on cultivation
15 technique and phytopathological problems in organic fruit-growing and viticulture; presentations at the meeting from 04-07.02.2002
Weinsberg, Germany, pp. 146-151.

- 20 Schmitt, A. and B. Seddon (2005). Biocontrol of plant pathogens with microbial BCAs and plant extracts - advantages and disadvantages of single and combined use. Modern fungicides and antifungal compounds IV. Proceedings of the 14th International Reinhardtbrunn Symposium 2004, BCPC, Atton, UK, pp. 205-225.

- 25 Schnabel, G., B. K. Bryson, et al. (2004). "Reduced sensitivity in *Monilinia fructicola* to propiconazole in Georgia and implications for disease management " Plant Disease **88**: 1000-1004.

- 30 Su, H., A. H. C. van Bruggen, et al. (2004). "Sporulation of *Bremia lactucae* affected by temperature, relative humidity, and wind in controlled conditions". Phytopathology **94**:396-401

- Tuttle McGrath, M. (2003). "Occurrence of strobilurin resistance and impact on managing powdery mildew on cucurbits." Cornell University; Vegetable MD Online Retrieved July 19, 2009, 2009, from
5 [http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Cuc Str ob.htm](http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Cuc_Str_ob.htm).
- Tuttle McGrath, M. (2006). "Guidelines for managing cucurbit powdery mildew in 2006." Cornell University, Vegetable MD Online Retrieved July 19, 2009, 2009, from
10 [http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Cuc PM 2006.html](http://vegetablemdonline.ppath.cornell.edu/NewsArticles/Cuc_PM_2006.html).
- Van den Bosch, F. and C. A. Gilligan (2008). "Models of
15 fungicide resistance dynamics." Annual Review in Phytopathology **46**: 123-147.
- Vechet, L., L. Burketova, et al. (2009). "A comparative study of the efficiency of several sources of induced resistance to
20 powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) in wheat under field conditions." Crop Protection **28**: 151-154.
- Walters, D., D. Walsh, et al. (2005). "Induced resistance for plant disease control: maximizing the efficacy of resistance
25 elicitors." Phytopathology **85**: 1368-1373.
- Wurms, K., C. Labbe, et al. (1999). "Effects of Milsana and Benzothiadiazole on the ultrastructure of powdery mildew haustoria in cucumber." Phytopathology **89**: 728-736.
30
- Wyenandt, C. A., M. T. McGrath, et al. (2009). "Fungicide resistance management guidelines for cucurbit downy and powdery mildew control in the mid-Atlantic and Northeast regions of the US." Phytopathology **99** (2009 APS Annual Meeting Abstracts of
35 Presentations): S144-S144.

16

REIVINDICACIONES:

1. Una combinación que comprende: (a) un extracto que
5 contiene uno o más derivados de antraquinona que inducen la
resistencia de las plantas a los fitopatógenos y derivados de
una planta y (b) uno o más agentes anti-fitopatogénicos
seleccionados del grupo que consiste en: (i) un no
10 benzotiazol, no vitamina E, agente antimicrobiano no
organofosforado, que carece de azufre no elemental o no
humectable (ii) un tensioactivo que tiene actividad
fungicida, y/o (iii) un agente de control biológico no
Bacillus, no *Pseudomonas*, no *Brevabacillus*, no *Lecanicillium*,
no *Ampelomyces*, no *Phoma*, no *Pseudozyma*.
15
2. La combinación de acuerdo con la reivindicación 1 donde
dicho agente antimicrobiano es un fungicida, bactericida,
insecticida o nematocida químico.
- 20 3. La combinación de acuerdo con la reivindicación 1-2, en
donde dicho no agente de control biológico no *Bacillus*, no
Pseudomonas, no *Brevabacillus*, no *Lecanicillium*, no
Ampelomyces, no *Phoma*, no *Pseudozyma* se selecciona del grupo
que consiste en un agente derivado de *Streptomyces* sp.,
25 *Burkholderia* sp., *Trichoderma* sp., *Gliocladium* sp. y un
aceite o producto oleoso natural que tiene actividad
fungicida y/o insecticida.
4. La combinación de acuerdo con la reivindicación 1-3, en
30 donde dicho extracto es al menos uno de: (a) derivado de la
familia *Poligonaceae* (b) contiene un derivado de antraquinona
que contiene al menos physcion, (c) derivado de una especie
de *Reynoutria* o *Rheum*.

92.

5. La combinación de acuerdo con la reivindicaciones 1-4 en donde dicho agente antimicrobiano, se selecciona del grupo que consiste en (a) un agente antifúngico de sitio único, en donde dicho agente antifúngico de sitio único se selecciona del grupo que consiste en benzimidazol, morfolina, hidroxipirimidina, anilinopirimidina, fosforotiolato, inhibidor externo de quinona, quinolina, dicarboximida, carboximida, fenilamida, anilinopirimidina, fenilpirrol, hidrocarburo aromático, ácido cinámico, hidroxianilida, antibiótico, polioxina, acilamina, ftalimida, bencenoide (xililalanina); (b) un inhibidor de desmetilación seleccionado del grupo que consiste en imidazol, piperazina, pirimidina, y triazol, (c) un aceite o producto oleoso natural que tiene actividad fungicida y/o insecticida y (c) un fungicida químico no inorgánico multisitio, fungicida químico seleccionado del grupo que consiste en un nitrilo, cobre, quinoxalina, sulfamida, fosfonato, fosfito, ditiocarbamato, cloralquiltios, fenilpiridin-amina, cianoacetamida oxima, fludioxoniloo y mefenoxam.

20

6. La combinación de acuerdo con la reivindicación 1-5, en donde dicho agente antimicrobiano es un (a) triazol, en donde dicho triazol se selecciona del grupo que consiste en bitertanol, miclobutanilo, penconazol, propiconazol, triadimefon, bromuconazol, ciproconazol, diniconazol, fenbuconazol, hexaconazol, tebuconazol, tetraconazol, (b) un imidazol, en donde dicho imidazol es fenamidona, fenapanilo, iprodiona, triflumizol (c) un nitrilo, en donde dicho nitrilo es cloronitrilo y fludioxoniloo; (c) una eestrobilurinaa; (d) quinona, en donde en donde dicha quinona es quinoxifeno (éter 5,7-dicloro-4-quinolil-4-fluorofenílico).

30

7. La combinación de acuerdo con la reivindicación 1-6, en donde dicho agente antimicrobiano es eestrobilurinaa, en

donde dicha eestrobilurinaa es azoxistrobina, kresoxim-metilo o trifloxistrobina.

8. Una combinación sinérgica para usar en la modulación de una infección fitopatogénica que comprende (a) un extracto derivado de una planta, en donde dicha planta contiene derivados de antraquinona que inducen la resistencia de las plantas a los fitopatógenos y (b) una no vitamina E, agente antimicrobiano no organofosforado, que carece de azufre no elemental o no humectable.

9. La combinación de acuerdo con la reivindicación 1-8, en donde dicha combinación es una composición.

10. Un método para modular la infección fitopatogénica en una planta que comprende aplicar a la planta y/o semillas de esta y/o sustrato usado para cultivar dicha planta una cantidad de la combinación de acuerdo con las reivindicaciones 1-9, efectiva para modular dicha infección fitopatogénica.

11. Un método para reducir la emergencia de la resistencia de un fitopatógeno a un agente anti-fitopatogénico seleccionado del grupo que consiste en: (i) una no vitamina E, un agente antimicrobiano no organofosforados, que carece de azufre no elemental o no humectable (ii) un tensioactivo que tiene actividad fungicida y (iii) un agente de control biológico no *Bacillus*, no *Pseudomonas*, no *Brevabacillus*, no *Lecanicillium*, no *Ampelomyces*, no *Phoma*, no *Pseudozyma* que comprende aplicar a una planta que lo necesita una cantidad de la combinación de acuerdo con las reivindicaciones 1-9 efectiva para disminuir dicha resistencia de dicho fitopatógeno a un agente anti-fitopatogénico.

12. Uso de (a) un extracto derivado de una planta, en donde dicho extracto contiene derivados de antraquinona que inducen la resistencia de las plantas a los fitopatógenos, y (b) uno o más agentes anti-fitopatogénicos seleccionados del grupo que consiste en: (i) un no benzotiazol, no vitamina E, agente antimicrobiano no organofosforado que carece de azufre no elemental o no humectable, (ii) un tensioactivo que tiene actividad fungicida y (iv) un no *Bacillus*, no *Pseudomonas*, no *Brevabacillus*, no *Lecanicillium*, no *Ampelomyces*, no *Phoma*, no *Pseudozyma* agente de control biológico para la fabricación de una composición para la modulación de una infección fitopatogénica.

13. Una composición para usar en la modulación de la infección fitopatogénica que comprende (a) un extracto derivado de una planta, en donde dicha planta contiene derivados de antraquinona que inducen la resistencia de las plantas a los fitopatógenos y (b) uno o más agentes anti-fitopatogénicos seleccionados del grupo que consiste en: (i) un no benzotiazol, no vitamina E, agente antimicrobiano no organofosforado que carece de azufre no elemental, no humectable, (ii) un tensioactivo que tiene actividad fungicida y (iii) un agente de control biológico no *Bacillus*, no *Pseudomonas*, no *Brevabacillus*, no *Lecanicillium*, no *Ampelomyces*, no *Phoma*, no *Pseudozyma*.

14. Uso de (a) un extracto derivado de una planta, en donde dicha planta contiene derivados de antraquinona que inducen la resistencia de las plantas a los fitopatógenos y (b) un agente antimicrobiano de benzodiatiazol para la fabricación de una composición sinérgica para modular la infección fitopatogénica.

15. Un kit que comprende (a) un extracto derivado de la familia *Poligonaceae* y (b) uno o más agentes anti-fitopatogénicos seleccionados del grupo que consiste en: (i) agente antimicrobiano de azufre no elemental o no humectable, no benzotiazol, no vitamina E, no organofosforado, (ii) un tensioactivo que tiene actividad fungicida y (iii) un agente de control biológico no *Bacillus*, no *Pseudomonas*, no *Brevabacillus*, no *Lecanicillium*, no *Ampelomyces*, no *Phoma*, no *Pseudozyma*.

RESUMEN

Combinaciones, composiciones y métodos de uso para modular una infección con patógenos de planta usando extractos vegetales que contienen derivados de antraquinona
5 que inducen a los fitopatógenos de planta y un agente antimicrobiano, un agente de control biológico y/o un tensioactivo que tiene actividad fungicida

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Referencia Internacional

PCT/US 2010/043612

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD IPC. A01N65/30 (2009.01), A01N 35/06 (2006.01), A01N 43/48 (2006.01), A01N 43/64 (2006.01), A01N 25/30 (2006.01) Según la clasificación internacional de patentes (IPC) o las clasificaciones nacional e IPC		
B. ÁMBITOS INVESTIGADOS Documentación mínima investigada (Sistema de clasificación y símbolos de clasificación) A01N; C02F Publicaciones investigadas pero no pertenecientes al material mínimo investigado, en tanto pertenezcan al ámbito investigado <i>Modelos de utilidad coreanos y solicitudes para modelos de utilidad</i> <i>Modelos de utilidad japoneses y solicitudes para modelos de utilidad</i> Banco electrónico de datos consultado durante la búsqueda internacional (nombre del banco de datos y, cuando es posible, expresiones de búsqueda eventualmente empleadas) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: phytopatogen, anthraquinone, anti-microbial, Polygonaceae, sachalinensis		
C. ANTECEDENTES CONSIDERADOS RELEVANTES		
Categoría	Denominación de la publicación, así como, de ser apropiado, indicación de los pasajes relevantes	Relevante para reivindicación N°
A	US 2007-0264363 A1 (for Delme Bowen et al.) 15 de noviembre de 2007 ver todo el documento	1-15
A	US 2005-0163815 A1 (IVOR BOWEN et al.) 28 de julio de 2005 ver todo el documento	1-15
A	JP 2000-033383 (KAWASAKI KASEI CHEM. LTD.) 02 de febrero de 2000 ver todo el documento	1-15
A	JP 08-099813 A (ARUMU:KK) 16 de abril de 1996 ver todo el documento	1-15
A	WO 2006-037632 A1 (SYNGENTA PARTICIPATIONS AG et al.) 13 de abril de 2006 ver todo el documento	1-15
-----//-----		
☒ Otras publicaciones están listadas en la continuación del campo C		☒ Ver familia de patentes en el anexo
Categorías particulares indicadas en publicaciones "A" publicación que define el estado general de la técnica pero no considerada como particularmente importante "B" documento anterior pero publicado recién o después de la de la fecha de presentación internacional "L" publicación adecuada para hacer aparecer como dudosa una reivindicación de prioridad, o mediante la cual debe ser considerada la fecha de divulgación de otra publicación mencionada en el informe de búsqueda o que es indicada por otra razón particular (como realizada) "O" publicación que se refiere a una revelación oral, a una utilización, a una exposición o a otras disposiciones "P" publicación realizada antes de la fecha de presentación internacional pero luego de la fecha de prioridad reivindicada		"T" publicaciones posteriores a las difundidas en la fecha de presentación internacional o de la fecha de prioridad y que no colisionan con la solicitud, sino que solo están indicadas para mayor entendimiento del principio fundamental de la invención o de la teoría sobre la cual se basa "X" publicación de particular importancia: la invención reivindicada no puede ser considerada, solo como consecuencia de esta publicación, como novedosa o apoyarse en una actividad inventiva "Y" publicación de particular importancia: la invención reivindicada no puede ser considerada como apoyada en una actividad inventiva cuando puede ser relacionada con una o varias otras publicaciones de esta categoría y tal relación es notoria para un especialista "&" publicación que es miembro de la misma familia
Fecha de finalización de la búsqueda internacional 29 de julio de 2011 (29.07.2011)		Fecha de envío del Informe de Búsqueda Internacional 02 de agosto de 2011 (02.08.2011)
Nombre y Dirección Postal del ISA/KR Oficina de Propiedad Intelectual Coreana Government Complex-Daejeon, 189 Cheongsu-ro. Fax N° 82+42-472-7140		Funcionario Apoderado CHO Han Sol Telephone N°: 82-42-481-5580

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional N°:

PCT /US 2010/043612

Campo II: Observaciones acerca de porque determinadas reivindicaciones no eran investigables (continuación del ítem 2 de la hoja 1)

Este Informe de Búsqueda Internacional no fue realizado con respecto a algunas reivindicaciones, según el artículo 17(2)(a), por las siguientes razones:

- ☐ Reivindicaciones N°:

porque se refieren a objetos que no requieren ser investigados por este Organismo, a saber:
- ☐ Reivindicaciones N°:

porque se refieren a partes de la Solicitud Internacional que no cumplen con los requisitos prescritos en una extensión que no permite llevar a cabo una búsqueda internacional, específicamente:
- ☐ Reivindicaciones N°:

porque son reivindicaciones dependientes y no están desarrolladas en conformidad con la segunda y la tercera frase de la regla 6.4(a).

Campo III: Observaciones por falta de uniformidad de la invención (continuación del ítem 3 de la hoja 1)

Este Organismo de Búsqueda Internacional encontró invenciones múltiples en esta solicitud internacional, a saber:

Grupo I: la reivindicación independiente 1 y sus reivindicaciones dependientes, y las reivindicaciones independientes 12 y 13 están dirigidas a combinaciones, uso o una combinación que comprende (a) un extracto que contiene derivados de antraquinona que inducen una resistencia de las plantas a fitopatógenos y (b) uno o más agentes fitopatógenos seleccionados del grupo de (i) agentes antimicrobianos específicos, (ii) un tensoactivo que posee actividad antifúngica y/o un agente de control biológico específico

Grupo II: la reivindicación independiente 8 está dirigida a una combinación sinérgica para ser usada en la modulación de una infección fitopatógena que comprende (a) el mismo extracto vegetal que el grupo I y (b) un agente antimicrobiano, donde no está excluido un benzodiatiazol.

ver hoja adicional

- ☒ Como todas las tasas adicionales requeridas fueron abonadas en término por el solicitante, este Informe de Búsqueda Internacional cubre todas las reivindicaciones investigables.
- ☐ Como todas las reivindicaciones investigables pueden ser investigadas sin un esfuerzo que justifique una tasa adicional, este Organismo no solicita ningún pago o tasa adicional.
- ☐ Como solo algunas de las tasas adicionales fueron abonadas en término por el solicitante, este Informe de Búsqueda Internacional cubre solo aquellas reivindicaciones para las cuales fueron abonadas las tasas, específicamente, las reivindicaciones N°:
- ☐ Ninguna de las tasas adicionales requeridas fue abonada en término por el solicitante. En consecuencia, este Informe de Búsqueda Internacional está restringido a la invención mencionada inicialmente en las reivindicaciones; estando la misma cubierta por las reivindicaciones N°:

Observaciones sobre protestas

- ☒ Las tasas de búsqueda adicionales fueron acompañadas por la protesta del solicitante y, cuando correspondía, el pago de la tasa de protesta
- ☐ Las tasas de búsqueda adicionales fueron acompañadas por la protesta del solicitante pero la tasa de protesta solicitada no fue pagada en el plazo especificado en la intimación
- ☐ El pago de las tasas de búsquedas adicionales no fue acompañado por ninguna protesta.

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Referencia Internacional
PCT/US 2010/043612

Categoría	Denominación de la publicación, así como, de ser requerido, indicación de los pasajes relevantes	Con referencia a/ reivindicación N°
A	WO 2006-015865 A1 (SYNGENTA PARTICIPATIONS AG et al.) 16 de febrero de 2006 ver todo el documento	1-15
A	WO 2006-037633 A1 (SYNGENTA PARTICIPATIONS AG et al.) 13 de abril de 2006 ver todo el documento	1-15
A	WO 2006-037634 A1 (SYNGENTA PARTICIPATIONS AG et al.) 13 de abril de 2006 ver todo el documento	1-15
A	US 5300421 A (EBERLE; MARTIN et al.) 05 de abril de 1994 ver todo el documento	1-15
A	US 7344730 B1 (Reinhold Stadler et al.) 18 de marzo de 2008 ver todo el documento	1-15

26

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL
Información de miembros de la familia de patentes

Referencia Internacional
PCT/US 2010/043612

Documentos de Patente citados en el Informe de Búsqueda	Fecha de la publicación	Miembros de la familia de patentes	Fecha de la publicación
US 07-0264363 A1	15.11.2007	CN 1882247 A	20.12.2006
		EP 1681933 A2	26.07.2006
		GB 0326520 00	17.12.2003
		JP 2007-512247 A	17.05.2007
		KR 2010-07-0007764 A	16.01.2007
		NO 20062696 A	14.08
		WO 2005-051083 A2	2006
		WO 2005-051093 A3	09.06.2005
		ZA 200604405 A	09.06.2005
			31.10.2007
US 05-0163815 A1	28.07.2005	AU 2003-229989 A1	17.11.2003
		AU 229989 B2	23.10.2008
		CA 2483652 A1	13.11.2003
		DE 60304461 D1	18.05.2006
		DE 60304461 T2	19.04.2007
		DE 60304461 T8	13-09-2007
		EP 1499192 A1	26.01.32005
		EP 1499192 B1	05.04.2006
		GB 0210152 00	12.06.2002
		NZ 536489 A	27.01.2006
		WO 03-092385 A1	13.11.2003
JP 00-033383 A	02.02.2000	NINGUNO	
JP 08-099813 A	16.04.1996	NINGUNO	
WO 06-037632 A1	13.04.2006	AR 052313 A1	14.03.2007
		AU 2005-291423 A1	13.04.2006
		AU 2005-291423 B2	24.04.2011
		BR PI0516575 A	16.09.2008
		CA 2580245 A1	13.04.2006
		CN 100539843 C	16.09.2009
		CN 101035432 A0	12.29.2007
		CN 101611711 A	30.12.2009
		CN 101611712 A	30.12.2009
		CN 101611713 A	30.12.2009
		CN 101611714 A	30.12.2009
		CN 101611715 A	30.12.2009
		CN 101622993 A	13.01.2010
		CN 101622994 A	13.01.2010
		EA 013074 B1	26.02.2010
		EA 200700769 A1	26.10.2007
		AP 1802198 A1	04.07.2007
		AP 1802198 B1	30.03.2011
		GB 0422401 00	10.11.2004
		IL 181961 00	04.07.2007
		JP 2008-515834 A	15.05.2008
		KR 10-2007-0102471 A	18.10.2007
		MX 2007003636 A	16.02.2009

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información de miembros de la familia de patentes

Referencia Internacional

PCT/US 2010/043612

Documentos de Patente citados en el Informe de Búsqueda	Fecha de la publicación	Miembros de la familia de patentes	Fecha de la publicación
		NO 20071611 A	
		NZ 553940 A	
		PA 8649101 A1	
		PE 08862006 A1	
		US 2007-0244121 A1	
		US 2007-0265267 A1	
		UY 29152 A1	
		ZA 200702278 A	
WO 2008-015865 A1	16.02.2006	AR 050122 A1	27.09.2006
		AU 2005-270319 A1	16.02.2006
		AU 2005-270319 B2	07.04.2011
		BR PI0513464 A	06.05.2008
		CA 2573661 A1	16.02.2006
		CN 100548122 C	14.10.2009
		CN 101001527 A	18.07.2007
		EA 010842 B1	30.12.2008
		EA 200700382 A1	31.08.2007
		EP 1778013 A1	02.05.2007
		EP 1778013 B1	26.01.2011
		EP 2332411 A1	15.06.2011
		GB 0418047 00	15.09.2004
		GT 200500213 A	29.03.2006
		IL 181239 00	04.07.2007
		JP 2008-509189 A	27.03.2008
		KR 10-2007-0041744 A	19.04.2007
		MX 2007000785 A	27.03.2007
		NZ 552859 A	25.08.2010
		US 2008-0070785 A1	20.03.2008
		ZA 200700353 A	28.05.2008
WO 2006-037633 A1	13.04.2006	GB 0422399 00	10.11.2004
WO 2006-037634 A1	13.04.2006	AU 2005-291425 A1	13.05.2006
		AU 2005-291425 B2	10.03.2011
		CA 2579925 A1	13.04.2006
		CN 101060781 A	24.10.2007
		CN 101060781 A0	24.10.2007
		EP 1796464 A1	20.08.2007
		GB 0422400 00	10.11.2004
		IL 182364 00	24.07.2007
		JP 2008-515835 A	15.05.2008
		KR 10-2007-0101225 A	16.10.2007
		MX 2007003638 A	11.06.2007
		PA 8649201 A1	16.05.2006
		PE 08852006 A1	06.10.2006
		PI 0516449 A	02.09.2008
		RU 2007-116872 A	20.11.2008
		RU 2387133 C2	27.04.2010
		SP 077370 A	30.05.2007

27

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información de miembros de la familia de patentes

Referencia Internacional

PCT/US 2010/043612

Documentos de Patente citados en el Informe de Búsqueda	Fecha de la publicación	Miembros de la familia de patentes	Fecha de la publicación
		US 2008-0076664 A1	27.03.2008
		UY 29153 A1	31.05.2008
		ZA 200702277 A	25.06.2008
US 5300521 A	05.04.1994	EP 0571326 A1	24.11.1993
		JP 06-032781 A	08.02.1994
		KR 10-1993-0023350 A	18.12.1993
US 7344730 B1	18.03.2008	AU 1999-53720 A1	28.02.2000
		U 1999-53720 B2	22.05.2003
		U 5372099 A	28.02.2000
		BR 9912764 A	15.05.2001
		CA 2339241 A1	17.02.2000
		CA 2339241 C	21.07.2009
		CZ 20010415 A3	12.12.2001
		DK 1102533 T3	05.04.2004
		EP 1102533 A1	30.05.2001
		EP 1102533 B1	26.11.2003
		ES 2212601 T3	16.07.2004
		HU 0103682 A2	28.02.2002
		HU 0103682 A3	28.02.2003
		IL 141128 A	18.12.2005
		IL 141128 00	10.02.2002
		JP 2002-521497 A	16.07.2002
		KR 10-0680098 B1	09.02.2007
		NZ 509979 A	31.10.2003
		PL 199755 B1	31.10.2008
		PL 346021 A1	14.01.2002
		PT 1102533 E	30.04.2004
		PT 1102533 T	30.04.2004
		TR 200100386 T2	23.07.2001
		TW 589139 A	01.06.2004
		TW 589139 B	01.06.2004
		WO 2000-007443 A1	17.02.2000

(continuación del campo Nº III)

Grupo III: la reivindicación independiente 14 está dirigida al uso de (a) el mismo extracto vegetal del grupo I y (b) un agente antimicrobiano de benzodiatiazol.

Grupo IV: la reivindicación independiente 15 está dirigida a un conjunto que comprende (a) el extracto vegetal de la familia de polygonaceae y (b) los mismos agentes anti-fitopatogénicos del grupo I.

*El único atributo técnico común entre los dos grupos de invenciones mencionados es:
una combinación de (a) un extracto vegetal y (b) uno o más agentes anti-fitopatogénicos.*

No obstante, este atributo carece de novedad o de actividad inventiva con respecto a los siguientes documentos mencionados en este anexo:

(a) US 2007/0264363 A1, (b) US 2005/0163815 A1, (c) JP 2000/033383 A, (d) JP 08/099813 A

Por lo tanto, no existe una relación técnica sobre el estado de la técnica entre la invenciones reivindicadas, dejando a las reivindicaciones sin un concepto inventivo general individual.

En consecuencia, existe una carencia de unidad "a posteriori" (reglas PCT 13.1 y 13.2)

27

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
3 February 2011 (03.02.2011)

(10) International Publication Number
WO 2011/014596 A3

(51) International Patent Classification:

A01N 65/30 (2009.01) A01N 43/64 (2006.01)
A01N 35/06 (2006.01) A01N 25/30 (2006.01)
A01N 43/48 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2010/043612

(22) International Filing Date:

29 July 2010 (29.07.2010)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

61/230,102 30 July 2009 (30.07.2009) US

(71) Applicant (for all designated States except US): **MAR-
RONE BIO INNOVATIONS, INC.** [US/US]; 2121 Sec-
ond Street Suite 107b, Davis, CA 95618 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **SU, Hai** [CA/US];
1017 Greene Terrace, Davis, CA 95618 (US). **MAR-
RONE, Pamela, G.** [US/US]; 3333 Victoria Place,
Davis, CA 95616 (US). **KOIVUNEN, Marja** [FI/US];
1236 Evans Ct., Davis, CA 95618 (US).

(74) Agent: **AGRIS, Chery, H.**; PO Box 8495, Pelham, NY
10803 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ,
CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO,
DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,

HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD,
ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI,
NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD,
SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR,
TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

- as to applicant's entitlement to apply for and be granted
a patent (Rule 4.17(ii))
- as to the applicant's entitlement to claim the priority of
the earlier application (Rule 4.17(iii))

Published:

- with international search report (Art. 21(3))
- before the expiration of the time limit for amending the
claims and to be republished in the event of receipt of
amendments (Rule 48.2(h))

(88) Date of publication of the international search report:
29 September 2011

WO 2011/014596 A3

(54) Title: PLANT PATHOGEN INHIBITOR COMBINATIONS AND METHODS OF USE

(57) Abstract: Combinations, compositions and methods of use for modulating plant pathogen infection using plant extracts con-
taining anthraquinone derivatives which induce resistance to plant phytopathogens and an antimicrobial agent, a biological control
agent and/or a surfactant having fungicidal activity

29

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2010/043612

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
A01N 65/30(2009.01)i, A01N 35/06(2006.01)i, A01N 43/48(2006.01)i, A01N 43/64(2006.01)i, A01N 25/30(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A01N, C02F		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Korean utility models and applications for utility models Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) eKOMPASS(KIPO internal) & Keywords: phytopathogen, anthraquinone, anti-microbial, Polygonaceae, sachalinensis.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2007-0264363 A1 (Lior Delme Bowen et al.) 15 November 2007 See the whole document.	1-15
A	US 2005-0163815 A1 (IVOR BOWEN et al.) 28 July 2005 See the whole document.	1-15
A	JP 2000-033383 A (KAWASAKI KASEI CHEM., LTD.) 02 February 2000 See the whole document.	1-15
A	JP 08-099813 A (ARIMU KEI) 16 April 1996 See the whole document.	1-15
A	WO 2006-037632 A1 (SYNGENTA PARTICIPATIONS AG et al.) 13 April 2006 See the whole document.	1-15
A	WO 2006-015865 A1 (SYNGENTA PARTICIPATIONS AG et al.) 16 February 2006 See the whole document.	1-15
A	WO 2006-037633 A1 (SYNGENTA PARTICIPATIONS AG et al.) 13 April 2006 See the whole document.	1-15
☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.		
* Special categories of cited documents. "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 29 JULY 2011 (29.07.2011)		Date of mailing of the international search report 02 AUGUST 2011 (02.08.2011)
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 189 Cheongsu-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140		Authorized officer CHO Han Sol Telephone No. 82-42-481-5580 

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2010/043612

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

- ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
- ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
- ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

Group I: Independent claim 1 and its dependent claims, and independent claims 12 and 13 are directed to a combination, use or a composition comprising (a) an extract containing anthraquinone derivatives which induce plant resistance to phytopathogens and (b) one or more anti-phytopathogenic agents selected from the group of (i) specific anti-microbial agent, (ii) a surfactant having fungicidal activity, and/or (iii) specific biological control agent.

Group II: Independent claim 8 is directed to a synergistic combination for use in modulating phytopathogenic infection comprising (a) the same plant extract of group I and (b) anti-microbial agent from which a benzodithiazole substance are not excluded.

(See Extra Sheet)

- ☒ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
- ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
- ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
- ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☒ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

AP

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2010/043612

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WC 2006-037634 A1 (SYNGENTA PARTICIPATIONS AG et al.) 13 April 2006 See the whole document.	1-15
A	US 5300521A A (EBERLE; MARTIN et al.) 05 April 1994 See the whole document.	1-15
A	LS 734473C B1 (Reinhold Staehler et al.) 18 March 2008 See the whole document.	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2010/043612

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 2007-0264363 A1	15.11.2007	CN 1882247 A	20.12.2006
		EP 1681933 A2	26.07.2006
		GB 0326520 00	17.12.2003
		JP 2007-512247 A	17.05.2007
		KR 10-2007-0007764 A	16.01.2007
		NO 20062696 A	14.08.2006
		WO 2005-051083 A2	09.06.2005
		WO 2005-051083 A3	09.06.2005
		ZA 200604405 A	31.10.2007
US 2005-0163815 A1	28.07.2005	AU 2003-229989 A1	17.11.2003
		AU 2003-229989 B2	23.10.2008
		CA 2483652 A1	13.11.2003
		DE 60304461 D1	18.05.2006
		DE 60304461 T2	19.04.2007
		DE 60304461 T8	13.09.2007
		EP 1499192 A1	26.01.2005
		EP 1499192 B1	05.04.2006
		GB 0210152 D0	12.06.2002
		NZ 536489 A	27.01.2006
		WO 03-092385 A1	13.11.2003
JP 2000-033383 A	02.02.2000	None	
JP 08-099813 A	16.04.1996	None	
WO 2006-037632 A1	13.04.2006	AR 052313 A1	14.03.2007
		AU 2005-291423 A1	13.04.2006
		AU 2005-291423 B2	21.04.2011
		BR P10516575 A	16.09.2008
		CA 2580245 A1	13.04.2006
		CN 100539043 C	16.09.2009
		CN 101035432 A0	12.09.2007
		CN 101611711 A	30.12.2009
		CN 101611712 A	30.12.2009
		CN 101611713 A	30.12.2009
		CN 101611714 A	30.12.2009
		CN 101611715 A	30.12.2009
		CN 101622993 A	13.01.2010
		CN 101622994 A	13.01.2010
		EA 013074 B1	26.02.2010
		EA 200700769 A1	26.10.2007
		EP 1802198 A1	04.07.2007
		EP 1802198 B1	30.03.2011
		GB 0422401 D0	10.11.2004
		IL 181961 D0	04.07.2007
		JP 2008-515634 A	15.05.2008
		KR 10-2007-0102478 A	18.10.2007
		MX 200/003636 A	16.02.2009

81

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2010/043612

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2006-015865 A1	16.02.2006	NO 2007/1611 A	02.07.2007
		NZ 553940 A	26.02.2010
		PA 8649101A1	16.05.2006
		PE 08862006 A1	06.10.2006
		US 2007-0244121 A1	18.10.2007
		US 2007-0265267 A1	15.11.2007
		UY 29152 A1	31.05.2006
		ZA 200702278 A	25.09.2008
WO 2006-015865 A1	16.02.2006	AR 050122 A1	27.09.2006
		AU 2005-270319 A1	16.02.2006
		AU 2005-270319 B2	07.04.2011
		BR P10513464 A	06.05.2008
		CA 2573661 A1	16.02.2006
		CN 100548122 C	14.10.2009
		CN 101001527 A	18.07.2007
		EA 010842 B1	30.12.2008
		EA 200700362 A1	31.08.2007
		EP 1778013 A1	02.05.2007
		EP 1778013 B1	26.01.2011
		EP 2332411 A1	15.06.2011
		GB 0418047 D0	15.09.2004
		GT 200500213 A	29.03.2006
		IL 181239 D0	04.07.2007
		JP 2008-509189 A	27.03.2008
		KR 10 2007 0041744 A	19.04.2007
		MX 2007000785 A	27.03.2007
		NZ 552659 A	25.06.2010
		US 2008-0070785 A1	20.03.2008
		ZA 200700353 A	28.05.2008
WO 2006-037633 A1	13.04.2006	GB 0422399 D0	10.11.2004
WO 2006-037634 A1	13.04.2006	AU 2005-291425 A1	13.04.2006
		AU 2005-291425 B2	10.03.2011
		CA 2579925 A1	13.04.2006
		CN 101060761 A	24.10.2007
		CN 101060761 A0	24.10.2007
		EP 1796464 A1	20.06.2007
		GB 0422400 D0	10.11.2004
		IL 182364 D0	24.07.2007
		JP 2008-515835 A	15.05.2008
		KR 10-2007-0101225 A	16.10.2007
		MX 2007003638 A	11.06.2007
		PA 8649201 A1	16.05.2006
		PF 08852006 A1	06.10.2006
		PI 0516449 A	02.09.2008
		RU 2007-116872 A	20.11.2008
		RU 2387133 C2	27.04.2010
		SP 077370 A	30.05.2007

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2010/043612

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5300521A A	05.04.1994	US 2008-0076664 A1	27.03.2008
		UY 29153 A1	31.05.2006
		ZA 200702277 A	25.06.2008
US 5300521A A	05.04.1994	EP 0571326 A1	24.11.1993
		JP 06-032781 A	08.02.1994
		KR 10-1993-0023350 A	18.12.1993
US 7344730 B1	18.03.2008	AU 1999-53720 A1	28.02.2000
		AU 1999-53720 B2	22.05.2003
		AU 5372099 A	28.02.2000
		BR 9912764 A	15.05.2001
		CA 2339241 A1	17.02.2000
		CA 2339241 C	21.07.2009
		CZ 20010415 A3	12.12.2001
		DK 1102533 T3	05.04.2004
		EP 1102533 A1	30.05.2001
		EP 1102533 B1	26.11.2003
		ES 2212601 T3	16.07.2004
		HU 0103682 A2	28.02.2002
		HU 0103682 A3	28.02.2003
		IL 141128 A	18.12.2005
		IL 141128 D0	10.02.2002
		JP 2002-521497 A	16.07.2002
		KR 10-0680098 B1	09.02.2007
		NZ 509979 A	31.10.2003
		PL 199755 B1	31.10.2008
		PL 346021 A1	14.01.2002
		PT 1102533 E	30.04.2004
		PT 1102533 T	30.04.2004
		TR 200100366 T2	23.07.2001
		TW 589139 A	01.06.2004
		TW 589139 B	01.06.2004
		WO 2000-007443 A1	17.02.2000

AV

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2010/043612

(Continuation of Box No. III)

Group III: Independent claim 14 is directed to use of (a) the same plant extract of group I and (b) a benzodithiazole anti-microbial agent.

Group IV: Independent claim 15 is directed to a kit comprising (a) the plant extract from the family of Polygonaceae and (b) the same anti-phytopathogenic agents of group I.

The only common technical feature between the said two groups of inventions is:
A combination of (a) a plant extract and (b) one or more anti-phytopathogenic agents.

However, this feature lacks novelty and/or inventive step with respect to the following documents cited in this Annex:

(a) US 2007/0264363 A1. (b) US 2005/0163815 A1. (c) JP 2000-033383 A. (d) JP 08-099813 A.

Thus there is no technical relationship left over the prior art among the claimed inventions, leaving the claims without a single general inventive concept.

Hence there is lack of unity "a posteriori" (PCT Rule 13.1 and 13.2).



No. 12-013958- -00000-0000

Fecha: 2012-01-30 16:28:10 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 82

PATENTE DE INVENCION ☐ MODELO DE UTILIDAD ☐

☐	Indicación que se solicita una patente.
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Descripción de la invención
☐	Dibujos de ser estos pertinentes
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas (De ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

PATENTE DE INVENCION PCT ☒ MODELO DE UTILIDAD PCT ☐ Art.33 Decisión 486/00, Circular Única

☒	Indicación que se solicita una PCT
☒	Copia de la solicitud en español, tal como fue presentada inicialmente (capítulo descriptivo, reivindicatorio, resumen)
☒	Dibujos de ser estos pertinentes
☒	Comprobante de pago de las tasas establecidas (de ser el caso formato de descuento)
Completa ☐	Incompleta ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

(Art. 119 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita Diseño industrial
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica y fotográfica del Diseño industrial o muestra del material que incorpora el diseño
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

(Art. 92 Decisión 486/00)

☐	Indicación que se solicita un esquema de trazado
☐	Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud
☐	Representación gráfica de un esquema de trazado
☐	Comprobante de pago de las tasas establecidas
Completa ☐	Incompleta ☐