

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA



CSA481054

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones



PCT
SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

08-29232

21. EXPEDIENTE No.

54. TÍTULO AUMENTO DE DEFENSAS CONTRA AGENTES PATOGENOS EN
PLANTAS

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE BAYER CROPSCIENCE AG

DOMICILIO MONHEIM, ALEMANIA

74. APODERADO JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS

22. BOGOTÁ, D. C.,

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-029232- -00000-0000

Fecha: 2008-03-25 15:01:37 Dep. 2020 NUECREACIONI
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 80FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

21 Abril 2008

1

☒ Patente de Invención

SOLICITUD DE:

☐ Patente de Modelo de Utilidad☒ Capítulo I☐ Capítulo II

2

SOLICITANTE
(71)

Nombre: BAYER CROPSCIENCE AG

Dirección: Alfred-Nobel-Str.50, 40789, MONHEIM
GERMANY

Nacionalidad o domicilio: ALEMANIA

Lugar de Constitución:

Teléfono:

Fax:

E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐NIT ☐C.E. ☐Otro ☐

Cual: _____

Número:

3

REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS

Dirección: Avenida 22 No. 37 - 31 Of. 202
BOGOTA D.C., COLOMBIA

Teléfono: 2444096

Fax: 2442496

E-mail

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒NIT ☐C.E. ☐Otro ☐

Cual

Número: 19.270.955 T.P. 43.308 C.S.J.
BOGOTA

4

INVENTOR (ES)
(72)

Nombre:

VER HOJA ANEXA

Dirección:

Nacionalidad o Domicilio:

5

PCT '(86)

Solicitud Internacional No. PCT/EP2006/009072

Fecha 19-09-06

Publicacion Internacional No. WO2007/033810 A2

Fecha: 29-03-07

6

Título (54)

AUMENTO DE DEFENSAS CONTRA AGENTES PATÓGENOS EN PLANTAS

7

Clasificación internacional (51)

8

Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

DE

(32) Fecha

21/09/2005

(31) Número de Solicitud

10 2005 045 174.8

9

Comprobante de pago No.

Fecha:

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

INVENTORES

- 1) **THIELERT, Wolfgang**
Buschweg 69, 51519
Odenthal, ALEMANIA
Nacionalidad: Alemán
- 2) **ANDERSCH, Wolfram**
Schlodderdicher Weg 77, 51469
Bergisch Gladbach, ALEMANIA
Nacionalidad: Alemán
- 3) **ECKES, Peter**
Gagernring 104, 65779
Kelkheim, ALEMANIA
Nacionalidad: Alemán
- 4) **BENTING, Jürgen**
Fliederweg 20, 42799
Leichlingen, ALEMANIA
Nacionalidad: Alemán

10

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.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☐ 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 12X12 cm.
- ☐ De ser el caso, información de otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas total o parcialmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional, Nuevas Reivindicaciones
- ☐ Otros: Informe de Búsqueda de Antecedentes Internacional junto con la traducción
Publicación Internacional No. WO2007/030794 A2

11

FIGURA CARACTERISTICA

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS

FIRMA:

C.C. 19.270.955 Bogotá T.P 43.308 C.S.J.

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCTNOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

(PCT Administrative Instructions, Section 411)

To:

BAYER CROPSCIENCE AG
Business Planning and Administration
Law and Patents
Patents and Licensing
Alfred-Nobel-Str. 50
40789 Monheim
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 14 December 2006 (14.12.2006)	
Applicant's or agent's file reference BCS053199-WO	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/EP2006/009072	International filing date (day/month/year) 19 September 2006 (19.09.2006)
International publication date (day/month/year) Not yet published	Priority date (day/month/year) 21 September 2005 (21.09.2005)
Applicant BAYER CROPSCIENCE AG et al	

- By means of this Form, which replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents, the applicant is hereby notified of the date of receipt by the International Bureau of the priority document(s) relating to all earlier application(s) whose priority is claimed. Unless otherwise indicated by the letters "NR", in the right-hand column or by an asterisk appearing next to a date of receipt, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
- (If applicable)* The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which, on the date of mailing of this Form, had not yet been received by the International Bureau under Rule 17.1(a) or (b). Where, under Rule 17.1(a), the priority document must be submitted by the applicant to the receiving Office or the International Bureau, but the applicant fails to submit the priority document within the applicable time limit under that Rule, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
- (If applicable)* An asterisk (*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b) (the priority document was received after the time limit prescribed in Rule 17.1(a) or the request to prepare and transmit the priority document was submitted to the receiving Office after the applicable time limit under Rule 17.1(b)). Even though the priority document was not furnished in compliance with Rule 17.1(a) or (b), the International Bureau will nevertheless transmit a copy of the document to the designated Offices, for their consideration. In case such a copy is not accepted by the designated Office as the priority document, Rule 17.1(c) provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Priority date	Priority application No.	Country or regional Office or PCT receiving Office	Date of receipt of priority document
21 September 2005 (21.09.2005)	10 2005 045 174.8	DE	30 October 2006 (30.10.2006)

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Yolaine Cussac

Facsimile No. +41 22 338 82 70

Facsimile No. +41 22 338 70 80

Telephone No. +41 22 338 90 12

5

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP2006/009072

International filing date: 19 September 2006 (19.09.2006)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE
Number: 10 2005 045 174.8
Filing date: 21 September 2005 (21.09.2005)

Date of receipt at the International Bureau: 30 October 2006 (30.10.2006)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in
compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

6

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



Prioritätsbescheinigung DE 10 2005 045 174.8 über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen:	10 2005 045 174.8
Anmeldetag:	21. September 2005
Anmelder/Inhaber:	BAYER CropScience AG, 40789 Monheim/DE
Bezeichnung:	Steigerung der Pathogenabwehr in Pflanzen
IPC:	A 01 N 43/40

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 27. Juni 2006
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Leisang

Steigerung der Pathogenabwehr in Pflanzen

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Steigerung der Pathogenabwehr in Pflanzen.

Es ist bekannt, dass Pflanzen auf natürliche Stressbedingungen, wie beispielsweise Kälte, Hitze, Trockenheit, Verwundung, Pathogenbefall (Viren, Bakterien, Pilze, Insekten) etc. aber auch auf
5 Herbizide mit spezifischen oder unspezifischen Abwehrmechanismen reagieren [Pflanzen-
biochemie, S. 393-462, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, Hans W.
Heldt, 1996.; Biochemistry and Molecular Biology of Plants, S. 1102-1203, American Society of
Plant Physiologists, Rockville, Maryland, eds. Buchanan, Gruissem, Jones, 2000]. Dabei dienen
z.B. durch Verwundung entstandene Zellwandbestandteile oder spezifische vom Pathogen
10 stammende Signalsubstanzen als Induktoren pflanzlicher Signaltransduktionsketten, die am Ende
zur Bildung von gegen den Stressfaktor gerichteten Abwehrmolekülen führen. Hierbei kann es sich
beispielsweise um (a) niedermolekulare Substanzen, wie z.B. Phytoalexine, (b) nicht-enzymatische
Proteine, wie z.B. „Pathogenesis-related proteins“ (PR-Proteine), (c) enzymatische Proteine, wie
beispielsweise Chitinasen, Glucanasen, oder (d) um spezifische Inhibitoren essentieller Proteine,
15 wie beispielsweise um Protease-Inhibitoren, Xylanase-Inhibitoren, handeln, welche das Pathogen
direkt angreifen oder seine Proliferation behindern (Dangl and Jones, 2001, Nature 411: 826-833;
Kessler and Baldwin, 2003, Annual Review of Plant Biology, 53: 299-328).

Ein zusätzlicher Abwehrmechanismus ist die sogenannte hypersensitive Reaktion (HR), die über
oxidativen Stress vermittelt wird und zum Absterben von Pflanzengewebe im Bereich eines
20 Infektionsherdes führt, wodurch eine Ausbreitung von Pflanzenpathogenen, die auf lebende Zellen
angewiesen sind, verhindert wird [Pennazio, 1995, New Microbiol. 18, S. 229-240].

Im weiteren Verlauf einer Infektion werden durch pflanzeneigene Botenstoffe Signale in nicht
befallene Gewebe weitergegeben, die auch dort zur Auslösung von Abwehrreaktionen führen und
die Entstehung von Sekundärinfektionen behindern (Systemic acquired resistance, SAR) [Ryals et
25 al., 1996, The Plant Cell 8: 1809-1819].

Eine Reihe von pflanzenendogenen Signalstoffen, die in die Stresstoleranz bzw. die
Pathogenabwehr involviert sind, sind bereits bekannt. Zu nennen sind hier beispielsweise
Salicylsäure, Benzoessäure, Jasmonsäure oder Ethylen [Biochemistry and Molecular Biology of
Plants, S. 850-929, American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, eds. Buchanan,
30 Gruissem, Jones, 2000]. Einige dieser Substanzen oder deren stabile synthetische Derivate und
abgeleitete Strukturen sind auch bei externer Applikation auf Pflanzen oder Saatgutbeizung
wirksam und aktivieren Abwehrreaktionen, die eine erhöhte Stress- bzw. Pathogentoleranz der
Pflanze zur Folge haben [Sembdner, and Parthier, 1993, Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.

44: 569-589]. Die Salicylat-vermittelte Abwehr richtet sich besonders gegen phytopathogene Pilze, Bakterien und Viren [Ryals et al., 1996, The Plant Cell 8: 1809-1819].

- Ein bekanntes synthetisches Produkt, das eine der Salicylsäure vergleichbare Funktion übernimmt und eine Schutzwirkung gegen phytopathogene Pilze, Bakterien und Viren vermitteln kann, ist
- 5 Benzothiadiazol (Handelsname Bion[®]) [Achuo et al., 2004, Plant Pathology 53 (1): 65-72].

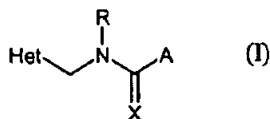
Andere Verbindungen, die in die Gruppe der Oxylipine gehören, wie z.B. Jasmonsäure, und die durch sie ausgelösten Schutzmechanismen sind besonders gegen Schadinsekten wirksam [Walling, 2000, J Plant Growth Regul. 19, 195-216].

- Somit ist bekannt, dass Pflanzen über mehrere endogene Reaktionsmechanismen verfügen, die eine
- 10 wirksame Abwehr gegenüber verschiedensten Schadorganismen (biotischer Stress) und/oder natürlichen abiotischen Stress bewirken können.

- Es ist bereits bekannt, dass Chlornikotinylinsektizide zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen, insbesondere Insekten eingesetzt werden können. Ferner ist bekannt, dass die Behandlung von
- 15 Pflanzen mit Insektiziden aus der Reihe der Chlornikotinyne zu einer erhöhten Resistenz der Pflanze gegenüber abiotischem Stress führt. Insbesondere gilt dies für das Imidacloprid (Brown et al., 2004, Beltwide Cotton Conference Proceedings: 2231-2237. Dieser Schutz erfolgt durch Beeinflussung physiologischer und biochemischer Eigenschaften der Pflanzenzellen wie z.B. durch Verbesserung der Membranstabilität, Erhöhung der Kohlenhydratkonzentration, Steigerung der Polyolkonzentration und Antioxidantienaktivität (Gonias et al., 2004, Beltwide Cotton
- 20 Conference Proceedings: 2225-2229).

Für die Wirkung von Chlornikotinylen gegen biotische Stressfaktoren finden sich nur vereinzelte Hinweise in der Literatur (Crop Protection (2000), 19(5), 349-354; Journal of Entomological Science (2002), 37(1), 101-112; Annals of Biology (Hisar, India) (2003), 19(2), 179-181).

Chlornikotinyne können durch folgende die allgemeine Formel (I) beschrieben werden,



25

worin

Het für einen jeweils gegebenenfalls einfach oder mehrfach durch Fluor, Chlor, Methyl oder Ethyl substituierten Heterocyclus ausgewählt aus der folgenden Gruppe von Heterocyclen steht:

Pyrid-3-yl, Pyrid-5-yl, 3-Pyridinio, 1-Oxido-5-pyridinio, 1-Oxido-5-pyridinio, Tetrahydrofuran-3-yl, Thiazol-5-yl,

A für C_1 - C_6 -Alkyl, $-N(R^1)(R^2)$ oder $S(R^2)$ steht,

worin

5 R^1 für Wasserstoff, C_1 - C_6 -Alkyl, Phenyl- C_1 - C_4 -Alkyl, C_3 - C_6 -Cycloalkyl, C_2 - C_6 -Alkenyl oder C_2 - C_6 -Alkynyl steht, und

R^2 für C_1 - C_6 -Alkyl, C_2 - C_6 -Alkenyl, C_2 - C_6 -Alkynyl, $-C(=O)-CH_3$ oder Benzyl steht,

R für Wasserstoff, C_1 - C_6 -Alkyl, C_2 - C_6 -Alkenyl, C_2 - C_6 -Alkynyl, $-C(=O)-CH_3$ oder Benzyl steht oder gemeinsam mit R^2 für eine der folgenden Gruppen steht:

10 $-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-O-CH_2-$, $-CH_2-S-CH_2-$, $-CH_2-NH-CH_2-$, $-CH_2-N(CH_3)-CH_2-$, und

X für $N-NO_2$, $N-CN$ oder $CH-NO_2$ steht.

Het steht besonders bevorzugt für einen Heterocyclus ausgewählt aus der folgenden Gruppe von Heterocyclen:

15 2-Chlorpyrid-5-yl, 2-Methylpyrid-5-yl, 1-Oxido-3-pyridinio, 2-Chlor-1-oxido-5-pyridinio, 2,3-dichlor-1-oxido-5-pyridinio, Tetrahydrofuran-3-yl, 5-Methyl-tetrahydrofuran-3-yl, 2-Chlorothiazol-5-yl.

A steht besonders bevorzugt für $-N(R^1)(R^2)$.

R^1 steht besonders bevorzugt für Wasserstoff, Methyl oder Ethyl.

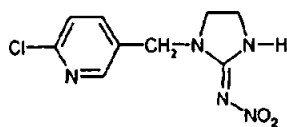
20 R^2 steht besonders bevorzugt für Methyl, Ethyl, n- oder i-Propyl, n-, i-, s- oder t-Butyl, Ethenyl, 1-Propenyl, 2-Propenyl, Ethinyl, 1-Propinyl, 2-Propinyl, $-C(=O)-CH_3$ oder Benzyl.

R steht besonders bevorzugt für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, oder $-C(=O)-CH_3$ oder steht besonders bevorzugt gemeinsam mit R^2 für eine der folgenden Gruppen:

25 $-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-O-CH_2-$, $-CH_2-S-CH_2-$.

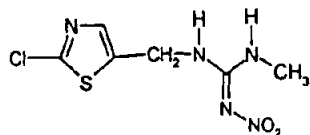
Zu dieser Klasse von Verbindungen gehören z.B. folgende Verbindungen, wobei die Aufzählung nicht abschließend zu verstehen ist:

Imidacloprid der Formel (I)



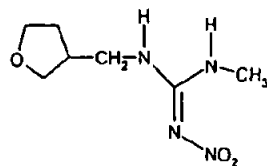
(I), vgl. EP 0 192 060,

Clothianidin der Formel (II)



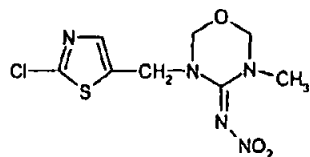
(II), vgl. EP 0 376 279,

5 Dinotefuran der Formel (III)



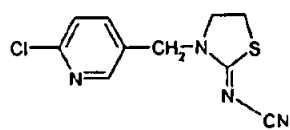
(III), vgl. EP 0 649 845,

Thiamethoxam der Formel (IV)



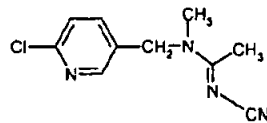
(IV), vgl. EP 0 580 553,

Thiacloprid der Formel (V)



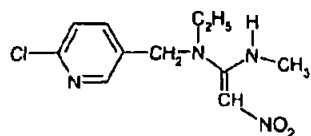
(V), vgl. EP 0 235 725,

Acetamiprid der Formel (VI)



(VI), vgl. WO 91/04965,

Nitenpyram der Formel (VII)



(VII), vgl. EP 0 302 389.

Es wurde nun überraschenderweise gefunden, dass Chlornikotinyne und insbesondere Imidacloprid zu einer erhöhten Expression von Genen aus der Reihe der „Pathogenesis-related proteins“ (PR-Proteine) führen. PR Proteine unterstützen die Pflanzen primär in der Abwehr von biotischen Stressoren, wie z.B. phytopathogene Pilze, Bakterien und Viren. Dies hat zur Folge, dass Pflanzen nach Anwendung von Imidacloprid besser geschützt sind vor Infektionen phytopathogener Pilze, Bakterien und Viren. Bei notwendigem Einsatz von Fungiziden und Bakteriziden in Mischung wie auch bei sequentieller Anwendung mit Imidacloprid wird deren Wirkung unterstützt.

10 Definitionen nachfolgend verwendeter Begriffe

Der Begriff „cDNA“ (complementary DNA), wie hier verwendet, beschreibt einen DNA-Einzelstrang, der zu einer RNA komplementär, und der durch eine enzymatische reverse Transkription in vitro synthetisiert wird. Die cDNA kann entweder der gesamten RNA-Länge entsprechen, oder aber nur eine Teilsequenz der als Matrix dienenden RNA darstellen.

- 15 Unter den Begriffen „DNA-Chip“ und „DNA-Microarray“, die hier synonym verwendet werden, wird ein Träger bezeichnet, dessen Grundmaterial beispielsweise aus Glas oder Nylon besteht, auf dessen Grundmaterial DNA-Fragmente fixiert sind, wobei die Aufbringung der DNA beispielsweise durch (a) ein photolithographisches Verfahren (DNA wird direkt auf dem Arrayträger synthetisiert), (b) ein Microspotting-Verfahren (extern synthetisierte Oligonukleotide oder PCR-Produkte werden auf den Träger appliziert und kovalent gebunden), oder (c) durch eine
- 20 Microspraying-Verfahren (extern synthetisierte Oligonukleotide oder PCR-Produkte werden mit einem Tintenstrahldrucker berührungsfrei auf den Träger gesprüht) erfolgen kann (R. Rauhut, Bioinformatik, S 197-199, Verlag Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2001). Ein DNA-Chip, der genomische Sequenzen eines Organismus repräsentiert, wird als „genomischer DNA-Chip“
- 25 bezeichnet. Die Auswertung der mit Hilfe dieser DNA-Chips erhaltenen Messwerte wird als „DNA-Chip-Analyse“ bezeichnet.

- Der Begriff „DNA-Chip-Hybridisierung“, wie hier verwendet, bedeutet die Paarung zweier einzelsträngiger, komplementärer Nukleinsäuremoleküle, wobei eines der basenpaarenden Molekülpartner als DNA (Desoxyribonukleinsäure) auf dem DNA-Chip in bevorzugt kovalent
- 30 gebundener Form lokalisiert ist, während der andere in Form der RNA (Ribonukleinsäure) oder

der hierzu korrespondierenden cDNA (komplementäre DNA) in Lösung vorliegt. Die Hybridisierung der gebundenen und nicht gebundenen Nukleinsäuren erfolgt auf dem DNA-Chip in wässriger Pufferlösung, gegebenenfalls unter zusätzlich denaturierenden Bedingungen, wie beispielsweise in Gegenwart von Dimethylsulfoxid, bei Temperaturen von 30-60°C, bevorzugt 40-50°C, besonders bevorzugt bei 45°C für 10-20 Stunden, bevorzugt für 14-18 Stunden, besonders bevorzugt für 16 Stunden unter ständiger Bewegung. Die Hybridisierungsbedingungen können konstant beispielsweise in einem Hybridisierungssofen realisiert werden. Standardmäßig werden in einem solchen Hybridisierungssofen Bewegungen von 60 rpm (rounds per minute, Umdrehungen pro Minute) realisiert.

- 10 Die synonym gebrauchten Begriffe „Expressionsmuster“, „Induktionsmuster“ bzw. „Expressionsprofil“, wie hier verwendet, beschreiben die zeitlich differenzierte und/oder gewebespezifische Expression der pflanzlichen mRNA, wobei das Muster direkt durch die erzeugte Intensität des Hybridisierungssignals der aus der Pflanze erhaltenen RNA oder deren korrespondierender cDNA mit Hilfe der DNA-Chip-Technologie erhalten wird. Die gemessenen „Expressionswerte“ ergeben sich durch direkte Verrechnung mit den korrespondierenden Signalen, die durch Verwendung eines synonymen Chips unter Hybridisierung mit einer nicht behandelten Kontrollpflanze erhalten werden.

- 20 Der Begriff „Expressionszustand“ der durch das vorgenommene „Gene Expression Profiling“ erhalten wird, wie hier verwendet, beschreibt die gesamte erfasste Transkriptionsaktivität zellulärer Gene, die mit Hilfe eines DNA-Chips gemessen wird.

- 25 Der Begriff „Gesamt-RNA“, wie hier verwendet, beschreibt die aufgrund des angewendeten Aufschlußverfahrens mögliche Repräsentanz verschiedener pflanzenendogener RNA-Gruppen, die in einer Pflanzenzelle vorliegen können, wie beispielsweise, cytoplasmatische rRNA (ribosomale RNA), cytoplasmatische tRNA (transfer RNA), cytoplasmatische mRNA (messenger RNA), sowie deren jeweilige nucleäre Vorläufer, ctRNA (chloroplastidäre RNA) und mtRNA (mitochondriale RNA), sie umfaßt aber auch RNA-Moleküle, die von exogenen Organismen stammen können, wie beispielsweise von Viren, oder parasitierenden Bakterien und Pilzen.

Der Begriff „Nutzpflanzen“, wie hier verwendet, bezeichnet Kulturpflanzen, die als Pflanzen für die Gewinnung von Nahrungsmitteln, Futtermitteln oder für technische Zwecke eingesetzt werden.

- 30 Die Wirkstoffe können in die üblichen Formulierungen überführt werden, wie Lösungen, Emulsionen, Spritzpulver, wasser- und ölbasierte Suspensionen, Pulver, Stäubemittel, Pasten, lösliche Pulver, lösliche Granulate, Streugranulate, Suspensions-Emulsions-Konzentrate, Wirkstoff-

imprägnierte Naturstoffe, Wirkstoff-imprägnierte synthetische Stoffe, Düngemittel sowie Feinstverkapselungen in polymeren Stoffen.

Diese Formulierungen werden in bekannter Weise hergestellt, z.B. durch Vermischen der Wirkstoffe mit Streckmitteln, also flüssigen Lösungsmitteln und/oder festen Trägerstoffen, gegebenenfalls unter Verwendung von oberflächenaktiven Mitteln, also Emulgiermitteln und/oder Dispergiermitteln und/oder schaumerzeugenden Mitteln. Die Herstellung der Formulierungen erfolgt entweder in geeigneten Anlagen oder auch vor oder während der Anwendung.

Als Hilfsstoffe können solche Stoffe Verwendung finden, die geeignet sind, dem Mittel selbst oder und/oder davon abgeleitete Zubereitungen (z.B. Spritzbrühen, Saatgutbeizen) besondere Eigenschaften zu verleihen, wie bestimmte technische Eigenschaften und/oder auch besondere biologische Eigenschaften. Als typische Hilfsmittel kommen in Frage: Streckmittel, Lösemittel und Trägerstoffe.

Als Streckmittel eignen sich z.B. Wasser, polare und unpolare organische chemische Flüssigkeiten z.B. aus den Klassen der aromatischen und nicht-aromatischen Kohlenwasserstoffe (wie Paraffine, Alkylbenzole, Alkyl-naphthaline, Chlorbenzole), der Alkohole und Polyole (die ggf. auch substituiert, verethert und/oder verestert sein können), der Ketone (wie Aceton, Cyclohexanon), Ester (auch Fette und Öle) und (poly-)Ether, der einfachen und substituierten Amine, Amide, Lactame (wie N-Alkylpyrrolidone) und Lactone, der Sulfone und Sulfoxide (wie Dimethylsulfoxid).

Im Falle der Benutzung von Wasser als Streckmittel können z.B. auch organische Lösemittel als Hilfslösungsmittel verwendet werden. Als flüssige Lösemittel kommen im wesentlichen in Frage: Aromaten, wie Xylol, Toluol, oder Alkyl-naphthaline, chlorierte Aromaten und chlorierte aliphatische Kohlenwasserstoffe, wie Chlorbenzole, Chlorethylene oder Methylenchlorid, aliphatische Kohlenwasserstoffe, wie Cyclohexan oder Paraffine, z.B. Erdölfractionen, mineralische und pflanzliche Öle, Alkohole, wie Butanol oder Glykol sowie deren Ether und Ester, Ketone wie Aceton, Methyl-ethylketon, Methylisobutylketon oder Cyclohexanon, stark polare Lösungsmittel, wie Dimethylsulfoxid, sowie Wasser.

Als feste Trägerstoffe kommen in Frage:

z.B. Ammoniumsalze und natürliche Gesteinsmehle, wie Kaoline, Tonerden, Talkum, Kreide, Quarz, Attapulgit, Montmorillonit oder Diatomeenerde und synthetische Gesteinsmehle, wie hochdisperse Kieselsäure, Aluminiumoxid und Silikate, als feste Trägerstoffe für Granulate kommen in Frage: z.B. gebrochene und fraktionierte natürliche Gesteine wie Calcit, Marmor, Bims, Sepiolith, Dolomit sowie synthetische Granulate aus anorganischen und organischen Mehlen sowie Granulate aus organischem Material wie Papier, Sägemehl, Kokosnußschalen, Maiskolben

und Tabakstengeln; als Emulgier- und/oder schaumzeugende Mittel kommen in Frage: z.B. nichtionogene und anionische Emulgatoren, wie Polyoxyethylen-Fettsäure-Ester, Polyoxyethylen-Fettalkohol-Ether, z.B. Alkylaryl-polyglykolether, Alkylsulfonate, Alkylsulfate, Arylsulfonate sowie Eiweißhydrolysate; als Dispergiermittel kommen in Frage nicht-ionische und/oder ionische Stoffe, z.B. aus den Klassen der Alkohol-POE- und/oder POP-Ether, Säure- und/oder POP- POE-Ester, Alkyl-Aryl- und/oder POP- POE-Ether, Fett- und/oder POP- POE-Addukte, POE- und/oder POP-Polyol Derivate, POE- und/oder POP-Sorbitan- oder-Zucker-Addukte, Alky- oder Aryl-Sulfate, Sulfonate und Phosphate oder die entsprechenden PO-Ether-Addukte. Ferner geeignete Oligo- oder Polymere, z.B. ausgehend von vinylischen Monomeren, von Acrylsäure, aus EO und/oder PO allein oder in Verbindung mit z.B. (poly-) Alkoholen oder (poly-) Aminen. Ferner können Einsatz finden Lignin und seine Sulfonsäure-Derivate, einfache und modifizierte Cellulosen, aromatische und/oder aliphatische Sulfonsäuren sowie deren Addukte mit Formaldehyd.

Es können in den Formulierungen Haftmittel wie Carboxymethylcellulose, natürliche und synthetische pulvrige, körnige oder latexförmige Polymere verwendet werden, wie Gummi-arabicum, Polyvinylalkohol, Polyvinylacetat, sowie natürliche Phospholipide, wie Kephaline und Lecithine und synthetische Phospholipide.

Es können Farbstoffe wie anorganische Pigmente, z.B. Eisenoxid, Titanoxid, Ferrocyanblau und organische Farbstoffe, wie Alizarin-, Azo- und Metallphthalocyaninfarbstoffe und Spurennährstoffe wie Salze von Eisen, Mangan, Bor, Kupfer, Kobalt, Molybdän und Zink verwendet werden.

Weitere Additive können Duftstoffe, mineralische oder vegetabile gegebenenfalls modifizierte Öle, Wachse und Nährstoffe (auch Spurennährstoffe), wie Salze von Eisen, Mangan, Bor, Kupfer, Kobalt, Molybdän und Zink sein.

Weiterhin enthalten sein können Stabilisatoren wie Kältestabilisatoren, Konservierungsmittel, Oxidationsschutzmittel, Lichtschutzmittel oder andere die chemische und / oder physikalische Stabilität verbessernde Mittel.

Die Formulierungen enthalten im allgemeinen zwischen 0,01 und 98 Gew.-% Wirkstoff, vorzugsweise zwischen 0,5 und 90 %.

Der erfindungsgemäße Wirkstoff kann in seinen handelsüblichen Formulierungen sowie in den aus diesen Formulierungen bereiteten Anwendungsformen in Mischung mit anderen Wirkstoffen wie Insektiziden, Lockstoffen, Sterilantien, Bakteriziden, Akariziden, Nematiziden, Fungiziden,

wachstumsregulierenden Stoffen, Herbiziden, Safenern, Düngemitteln oder Semiochemicals vorliegen.

Die Erfindung betrifft die Verwendung von Chlornikotinyle, um Pflanzen gegen Pilze, Bakterien, Viren zu schützen. Chlornikotinyne führen unabhängig von einer Insektenbekämpfung zu einem
5 guten Schutz der Pflanze vor Schäden durch pilzliche, bakterielle oder virale Pathogene.

Vorteile gegenüber anderen möglichen Verfahren sind die geringen Aufwandmengen, um diesen Schutz zu erreichen, die hohe Pflanzenverträglichkeit und die bestehenden Zulassungen zur Verwendung der Chlornikotinyne in der Landwirtschaft. Außerdem kann mit einem Wirkstoff ein Schutz gegen eine Vielzahl von Pathogenen erreicht werden.

10 Um einen Schutz vor Pathogenen zu erhalten, können die Pflanzen mit Einzelwirkstoffen oder mit Kombinationen von Chlornikotinyle behandelt werden.

Ferner lässt sich die beschriebene positive Wirkung der Chlornikotinyne auf die pflanzeigenen Abwehrkräfte durch eine zusätzliche Behandlung mit fungiziden oder herbiziden Wirkstoffen unterstützen.

15 In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt dieser Schutz durch die Induktion von PR Proteinen als Folge der Behandlung mit Chlornikotinyle.

Bevorzugte Chlornikotinyne sind Imidacloprid, Clothianidin, Dinotefuran, Thiamethoxam, Thiacloprid, Acetamiprid und Nitenpyram. Besonders bevorzugte Chlornikotinyne sind Imidacloprid, Thiacloprid, Clothianidin und Thiamethoxam. Ganz besonders bevorzugt ist
20 Imidacloprid.

Besonders bevorzugt werden erfindungsgemäß Pflanzen der jeweils handelsüblichen oder in Gebrauch befindlichen Pflanzensorten behandelt. Unter Pflanzensorten versteht man Pflanzen mit neuen Eigenschaften ("Traits"), die sowohl durch konventionelle Züchtung, durch Mutagenese oder mit Hilfe rekombinanter DNA-Techniken, gezüchtet worden sind. Kulturpflanzen können
25 demnach Pflanzen sein, die durch konventionelle Züchtungs- und Optimierungsmethoden oder durch biotechnologische und gentechnologische Methoden oder Kombinationen dieser Methoden erhalten werden können, einschließlich der transgenen Pflanzen und einschließlich der durch Sortenschutzrechte schützba- ren oder nicht schützba- ren Pflanzensorten.

Bevorzugte Pflanzen sind Gerste, Tabak, Tomate, Weizen, Mais, Reis, Soja, Baumwolle, Raps,
30 Kartoffel, Kohlarten, Paprika, Aubergine, Gurke, Salat, Melone, Turf, Zitrus, Reben, Kaffee, Tee, Hopfen, Kernobst, Steinobst und Beerenobst.

Besonders bevorzugt ist Gerste.

Die erfindungsgemäßen Verfahren eignen sich insbesondere auch zur Anwendung an transgenen Pflanzen und transgenem Saatgut. Bevorzugte Chlornikotinyne für diese Anwendung sind Imidacloprid, Clothianidin und Thiamethoxam. Ganz besonders bevorzugt für diese Anwendung ist Imidacloprid.

Bevorzugte Pathogene sind *Phytophthora nicotianae*, *Peronospora tabacinae*, *Phytophthora infestans*, *Sphaerotheca fuliginea*, *Phakopsora pachyrhizi*, *Ramularia gossypii*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia spec.*, *Pyrenophora spec.*, *Sclerotinia homoeocarpa*, *Erysiphe graminis*, *Colletotrichum graminicola*.

10 Bevorzugte Zeitpunkte für die Applikation von Chlornikotinylen zur Pathogenabwehr sind Saatgut-, Boden-, Nährlösungs-, Stamm- und/oder Blattbehandlungen mit den zugelassenen Aufwandmengen.

Die Mengen eines Chlornikotinyls, um die erfindungsgemäßen Eigenschaften zu erreichen, können in einem größeren Bereich variiert werden. Bevorzugt werden zum Erreichen des erfinderischen Effekts Konzentrationen von 0,00001% bis 0,05% verwendet, besonders bevorzugt von 0,000025% bis 0,025% und ganz besonders bevorzugt von 0,000025% bis 0,005%. Wenn Mischungen eingesetzt werden, liegt die Konzentration der Wirkstoffkombinationen vorzugsweise zwischen 0,000025% und 0,005%, besonders bevorzugt zwischen 0,00005% und 0,001%. Bei den angegebenen Werten handelt es sich vor- und nachstehend, soweit nicht anders angegeben, um Gewichtsprozent.

Das folgende Beispiel beschreibt die Erfindung im Einzelnen.

Beispiel 1Induktion von PR Proteinen in Gerste nach Behandlung mit Imidacloprid

Gerstensamen (Varietät Baronesse) wurden in Töpfen mit Erde ca. 2 cm tief gesät (1250 g sandiger Lehmboden/Topf; Bodenfeuchte auf 70% der max. Wasserhaltekapazität eingestellt) und in einer Klimakammer unter definierten Licht-, Feuchtigkeits- und Temperaturbedingungen (15 h Weißlicht, 70 % Luftfeuchtigkeit, 23-19°C Tag/Nacht) kultiviert.

14 Tage nach dem Auflaufen der Gerstenpflanzen wurden 10 mg Imidacloprid pro Pflanze gelöst in 100 ml Wasser mittels einer Pipette um die Sprossbasis herum auf den Boden appliziert. In die Kontrolltöpfe wurde das gleiche Volumen Wasser ohne Wirkstoff appliziert. Nach der Bodenbehandlung wurden die Pflanzen nicht mehr gegossen. Zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Applikation (0.25; 1; 6; 8; 11; 13; 15; 16 und 17 Tage wurden die Blätter geerntet, in Flüssig-Stickstoff schockgefroren und bis zur Aufarbeitung bei -80°C gelagert.

Die Herstellung der markierten RNA-Sonden für die DNA-Chip-Hybridisierung erfolgte nach den Protokollen (Expression Analysis, Technical Manual) der Firma Affymetrix (Affymetrix Inc., 3380 Central Expressway, Santa Clara, CA, USA). Aus je 500 mg der geernteten Blätter wurde zunächst Gesamt-RNA isoliert. Je 10 µg Gesamt-RNA wurden für die Erst- und Zweitstrang cDNA-Synthese verwendet. Die cDNA wurde mit T7-Polymerase amplifiziert und dabei gleichzeitig mit Biotin-UTP markiert. Je 20 µg dieser biotinylierten cDNA wurden für die Hybridisierung des Gerste Genom-Arrays (Gene Chip Barley1, Best.-Nr.: 511012) von Affymetrix eingesetzt. Dieser DNA-Microarray enthält DNA-Sequenzen von 22840 Genen, die aus insgesamt 400000 EST-Sequenzen (Expressed Sequence Tag-Sequenzen) zusammengesetzt sind. Anschließend wurden die DNA-Microarrays in der Affymetrix Fluidics Station gewaschen, mit Streptavidin/ Phycoerythrin (Molecular Probes, P/N S-866) gefärbt und mit dem Affymetrix Gene Chip Scanner 3000 gescannt. Die erhaltenen Fluoreszenzdaten wurden mit der Software Microarray Suite 5 von Affymetrix und der Software Expressionist Pro der Firma GeneData analysiert. Nach erfolgter Qualitätskontrolle wurden alle DNA-Chip-Analysen in einer Datenbank gespeichert. Da das Affymetrix Gene Chip System auf der Messung der absoluten Expressionswerte der enthaltenen Gene beruht, wurden die Expressionswerte der biologischen Replikate von behandelten- und unbehandelten Pflanzen nach erfolgter Normalisierung jeweils gemittelt (Medianberechnung). Mit Hilfe der statistischen Methode ANOVA wurden die Gene identifiziert, deren Expression sich in den Imidacloprid behandelten Pflanzen erhöhte aber in den unbehandelten Kontrollen relativ konstant blieb. Die Zusammenstellung von Gengruppen aus bestimmten Stoffwechselwegen, Signaltransduktionsketten oder Funktionen erfolgte durch Key

Word-Suche in den von Affymetrix mitgelieferten Annotationen der Gene und durch Zuordnung der Gene zu ihren entsprechenden Gene Ontology Annotationen (Gene Ontology Consortium).

Eine Durchsicht von Gengruppen aus Signaltransduktionsketten und Stoffwechselwegen, die mit Stresstoleranz und Pathogenabwehr in Zusammenhang stehen, ergab u.a. eine starke Induktion von 5 Genen für PR-Proteine in behandelten gegenüber nicht behandelten Pflanzen (Tabelle 1-3).

Tabelle 1

Pathogenesis related protein" Gene, durch Imidacloprid induziert

Affymetrix Nummer	Beschreibung der Gene
Contig2990_at	CHITINASE (EC 3.2.1.14)
Contig2788_x_at	THAUMATIN-LIKE PROTEIN TLP7
Contig2214_s_at	PATHOGENESIS RELATED PROTEIN (HV-1A)
Contig2209_at	PATHOGENESIS RELATED PROTEIN (HV-1A)
Contig639_at	PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN PRECURSOR
Contig2210_at	PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN 1 PRECURSOR
Contig17082_at	TRYPSIN INHIBITOR
Contig2212_s_at	PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN PRB1-3
Contig11773_at	REGULATOR OF PATHOGENICITY FACTORS
Contig12046_at	PATHOGENESIS RELATED PROTEIN-1
Contig4405_x_at	PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN PR-10A
HV_CEB0020C01r2_at	INTEGUMENTARY MUCIN B.1
Contig2550_x_at	PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN 4
Contig2211_at	PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN PRECURSOR

Tabelle 2a

Median der Rohexpressionsdaten (jew. 3 biologische Replikate)

Affymetrix Nummer	0,25 Tage		1 Tag		6 Tage		8 Tage		11 Tage	
	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	unbehandelt	behandelt
Contig2990_at	35,51	31,12	31,38	29,13	66,82	561,20	43,07	830,74	49,01	664,56
Contig2788_x_at	90,09	71,22	47,02	70,44	445,30	5432,88	989,41	7952,61	1940,45	12190,31
Contig2214_s_at	96,03	86,29	39,68	44,68	338,95	3322,93	433,24	4807,28	479,17	4463,75
Contig2209_at	239,67	187,60	106,74	153,35	489,30	4773,49	711,28	8173,99	711,11	8587,82
Contig639_at	218,37	157,66	41,56	38,68	289,31	2482,57	269,13	3944,01	479,62	4273,57
Contig2210_at	241,38	143,08	61,60	78,12	866,31	6881,20	1017,88	8961,17	1460,36	7946,25
Contig17082_at	173,51	161,42	182,26	162,50	197,68	745,06	230,64	853,21	250,42	911,63
Contig2212_s_at	165,29	153,25	137,70	135,85	363,79	3508,08	382,89	3936,08	430,16	3866,40
Contig11773_at	187,82	175,49	71,90	70,99	194,41	1513,72	191,42	2102,86	212,15	1580,30
Contig12046_at	85,31	76,89	57,89	46,22	121,37	786,00	184,88	1336,13	101,84	792,96
Contig4405_x_at	57,15	60,34	55,27	55,96	68,93	146,82	64,94	181,30	56,60	125,79
HV_CEB0020C01r2_at	68,25	96,81	86,20	87,44	96,17	418,12	150,33	428,35	180,21	389,74
Contig2550_x_at	86,98	68,63	47,12	54,66	122,48	716,14	152,46	1121,61	126,26	771,21
Contig2211_at	217,60	223,31	221,83	206,49	263,78	824,50	252,07	928,65	290,17	868,02

Tabelle 2b

Median der Rohexpressionsdaten (jew. 3 biologische Replikate), Fortsetzung von Tabelle 2a

Affymetrix Nummer	13 Tage		15 Tage		16 Tage		17 Tage	
	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt
Contig2990_at	77,68	235,46	216,16	227,32	31,04	76,80	52,55	32,84
Contig2788_x_at	2083,35	4800,62	3248,12	4880,14	721,89	1836,52	998,31	1166,53
Contig2214_s_at	125,46	636,20	273,34	808,24	516,41	1241,52	756,38	472,04
Contig2209_at	287,59	1723,94	633,29	1689,29	823,13	2069,04	1406,75	888,58
Contig639_at	132,32	1496,21	322,95	920,86	298,41	1300,36	416,44	1196,37
Contig2210_at	426,37	1553,93	706,30	1970,04	845,77	2013,49	1627,64	1121,55
Contig17082_at	126,15	281,55	137,96	209,34	174,85	276,41	208,27	225,25
Contig2212_s_at	126,72	470,29	167,28	378,35	316,94	756,91	531,25	376,36
Contig11773_at	59,01	208,99	96,55	182,27	185,22	694,71	148,57	340,39
Contig12046_at	51,84	140,26	60,92	150,31	211,37	622,77	254,76	220,80
Contig4405_x_at	41,99	55,42	50,58	57,66	62,61	88,69	56,98	87,06
HV_CEB0020C01r2_at	107,82	180,00	175,74	170,35	132,88	161,77	191,56	106,72
Contig2550_x_at	48,92	150,42	112,63	162,60	145,82	389,62	190,59	174,42
Contig2211_at	166,66	296,99	221,25	252,25	231,97	340,64	267,64	219,24

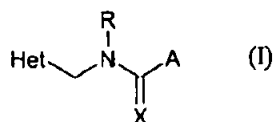
Tabelle 3

Induktionsfaktor = Expression (behandelt) / Expression (unbehandelt) als Funktion der Zeitpunkte in Tagen (d).

	0.25d	1d	6d	8d	11d	13d	15d	16d	17d
Affymetrix Number									
Contig2990_at	0,9	0,9	8,4	19,3	13,6	3,0	1,1	2,5	0,6
Contig2788_x_at	0,8	0,7	12,2	8,0	6,3	2,3	1,5	2,5	1,2
Contig2214_s_at	0,9	0,5	9,8	11,1	9,3	5,1	3,0	2,4	0,6
Contig2209_at	0,8	0,6	9,8	11,5	12,1	6,0	2,7	2,5	0,6
Contig639_at	0,7	0,3	8,6	14,7	8,9	11,3	2,9	4,4	2,9
Contig2210_at	0,6	0,4	7,9	8,8	5,4	3,6	2,8	2,4	0,7
Contig17082_at	0,9	1,1	3,8	3,7	3,6	2,2	1,5	1,6	1,1
Contig2212_s_at	0,9	0,9	9,6	10,3	9,0	3,7	2,3	2,4	0,7
Contig11773_at	0,9	0,4	7,8	11,0	7,4	3,5	1,9	3,8	2,3
Contig12046_at	0,9	0,8	6,5	7,2	7,8	2,7	2,5	2,9	0,9
Contig4405_x_at	1,1	0,9	2,1	2,8	2,2	1,3	1,1	1,4	1,5
HV_CEb0020C01r2_at	1,4	0,9	4,3	2,8	2,2	1,7	1,0	1,2	0,6
Contig2550_x_at	0,8	0,7	5,8	7,4	6,1	3,1	1,4	2,7	0,9
Contig2211_at	1,0	1,0	3,1	3,7	3,0	1,8	1,1	1,5	0,8

Patentansprüche

1. Verwendung zumindest einer Verbindung ausgewählt aus der Klasse der Chlornikotinyne der Formel (I),



worin

Het für einen jeweils gegebenenfalls einfach oder mehrfach durch Fluor, Chlor, Methyl oder Ethyl substituierten Heterocyclus ausgewählt aus der folgenden Gruppe von Heterocyclen steht:

Pyrid-3-yl, Pyrid-5-yl, 3-Pyridinio, 1-Oxido-5-pyridinio, 1-Oxido-5-pyridinio, Tetrahydrofuran-3-yl, Thiazol-5-yl,

A für C₁-C₆-Alkyl, -N(R¹)(R²) oder S(R²) steht,

worin

R¹ für Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, Phenyl-C₁-C₄-Alkyl, C₃-C₆-Cycloalkyl, C₂-C₆-Alkenyl oder C₂-C₆-Alkynyl steht, und

R² für C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl, -C(=O)-CH₃ oder Benzyl steht,

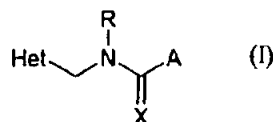
R für Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl, -C(=O)-CH₃ oder Benzyl steht oder gemeinsam mit R² für eine der folgenden Gruppen steht:

-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-S-CH₂-, -CH₂-NH-CH₂-, -CH₂-N(CH₃)-CH₂-, und

X für N-NO₂, N-CN oder CH-NO₂ steht, gegebenenfalls in Kombination mit einem oder mehreren weiteren Pflanzenschutzwirkstoffen zur Steigerung der pflanzen-eigenen Abwehrkräfte.

2. Verwendung zumindest einer Verbindung ausgewählt aus der Klasse der Chlornikotinyne der Formel (I) gemäß Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Chlornikotinylen um Imidacloprid, Clothianidin, Dinotefuran, Thiamethoxam, Thiacloprid, Acetamiprid oder Niténpyram handelt.

3. Verwendung zumindest einer Verbindung ausgewählt aus der Klasse der Chlornikotinyne der Formel (I) gemäß Anspruch 2 dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem Chlornikotinyl um Imidacloprid handelt.
4. Verwendung zumindest einer Verbindung ausgewählt aus der Klasse der Chlornikotinyne der Formel (I) gemäß einem der Ansprüche 1-3 gekennzeichnet dadurch, dass die Pflanzen transgen sind.
5. Verwendung zumindest einer Verbindung ausgewählt aus der Klasse der Chlornikotinyne der Formel (I) gemäß Anspruch 1 zum Schutz von Pflanzen vor biotischen Stressfaktoren.
6. Verfahren zur Induktion von PR Proteinen in Pflanzen durch die Behandlung der Pflanzen mit Chlornikotinylen. dadurch gekennzeichnet dass, Pflanzen mit zumindest einer Verbindung ausgewählt aus der Klasse der Chlornikotinyne der Formel (I),



10 worin

Het für einen jeweils gegebenenfalls einfach oder mehrfach durch Fluor, Chlor, Methyl oder Ethyl substituierten Heterocyclen ausgewählt aus der folgenden Gruppe von Heterocyclen steht:

Pyrid-3-yl, Pyrid-5-yl, 3-Pyridinio, 1-Oxido-5-pyridinio, 1-Oxido-5-pyridinio, Tetrahydrofuran-3-yl, Thiazol-5-yl,

15 A für C₁-C₆-Alkyl, -N(R¹)(R²) oder S(R²) steht,

worin

R¹ für Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, Phenyl-C₁-C₄-Alkyl, C₃-C₆-Cycloalkyl, C₂-C₆-Alkenyl oder C₂-C₆-Alkynyl steht, und

20 R² für C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl, -C(=O)-CH₃ oder Benzyl steht,

R für Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl, -C(=O)-CH₃ oder Benzyl steht oder gemeinsam mit R² für eine der folgenden Gruppen steht:

- 18 -

-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-S-CH₂-, -CH₂-NH-CH₂-, -CH₂-N(CH₃)-CH₂-, und

X für N-NO₂, N-CN oder CH-NO₂ steht, gegebenenfalls in Kombination mit einem oder mehreren weiteren Pflanzenschutzwirkstoffen behandelt werden.

- 5 7. Verfahren gemäß Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Chlornikotinylen um Imidacloprid, Clothianidin, Dinotefuran, Thiamethoxam, Thiacloprid, Acetamiprid oder Nitenpyram handelt.
8. Verfahren gemäß Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem Chlornikotinyl um Imidacloprid handelt.
- 10 9. Verfahren gemäß Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Pflanzen um Gerste, Tabak, Tomate, Weizen, Mais, Reis, Soja, Baumwolle, Raps, Kartoffel, Kohlartern, Paprika, Aubergine, Gurke, Salat, Melone, Turf, Zitrus, Reben, Kaffee, Tee, Hopfen, Kernobst, Steinobst oder Beerenobst handelt.
- 15 10. Verfahren zum Schutz von Pflanzen vor Befall durch pilzliche, bakterielle oder virale Pathogene durch die Behandlung mit Chlornikotinylen.
11. Verfahren gemäß Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Pflanzen mit Imidacloprid behandelt werden.
12. Verwendung von Chlornikotinylen zum Schutz von Pflanzen vor Schädigung durch pilzliche, bakterielle oder virale Pathogene.
- 20 13. Verwendung von Chlornikotinylen gemäß Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Chlornikotinylen um Imidacloprid, Clothianidin, Dinotefuran, Thiamethoxam, Thiacloprid, Acetamiprid oder Nitenpyram handelt.
14. Verwendung von Chlornikotinylen gemäß Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass das Chlornikotinyl Imidacloprid ist.
- 25 15. Verwendung von Imidacloprid gemäß Anspruch 14, gekennzeichnet dadurch, dass der Schutz vor Schädigung durch pilzliche, bakterielle oder virale Pathogene durch eine Induktion von PR Proteinen erfolgt.

25

Steigerung der Pathogenabwehr in Pflanzen

Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Steigerung der pflanzeigenen Abwehrkräfte durch die Behandlung mit Chlornikotinyl. Chlornikotinylen führen unabhängig von einer Insektenbekämpfung zu einem guten Schutz der Pflanze vor Schäden durch pilzliche, bakterielle oder virale Pathogene. Die Abwehr der Pathogene erfolgt durch die Induktion von PR Proteinen als Folge der Behandlung mit mindestens einem Chlornikotinyl.

BCS053199-WO

1/4

PCT-ANTRAG

Original (für EINREICHUNG)

0	Vom Anmeldeamt auszufüllen	
0-1	Internationales Aktenzeichen	
0-2	Internationales Anmeldedatum	
0-3	Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"	
0-4	Formular PCT/RO/101 PCT-Antrag	
0-4-1	erstellt mit	PCT-SAFE [EASY mode] Version 3.51.009.184 MT/FOP 20060701/0.20.5
0-5	Antragsersuchen Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird	
0-6	(Vom Anmelder gewähltes) Anmeldeamt	Europäisches Patentamt (EPA) (RO/EP)
0-7	Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts	BCS053199-WO
I	Bezeichnung der Erfindung	STEIGERUNG DER PATHOGENABWEHR IN PFLANZEN
II	Anmelder	
II-1	Diese Person ist	nur Anmelder
II-2	Anmelder für	Alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US
II-4	Name	BAYER CROPSCIENCE AG
II-5	Anschrift	Alfred-Nobel-Str. 50 40789 Monheim Deutschland
II-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
II-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
III-1	Anmelder und/oder Erfinder	
III-1-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-1-2	Anmelder für	Nur US
III-1-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	THIELERT, Wolfgang
III-1-5	Anschrift	Buschweg 69 51519 Odenthal Deutschland
III-1-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-1-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE

BCS053199-WO

2/4

PCT-ANTRAG

Original (für EINREICHUNG)

III-2	Anmelder und/oder Erfinder	
III-2-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-2-2	Anmelder für	Nur US
III-2-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	ANDERSCH, Wolfram
III-2-5	Anschrift	Schlodderdicher Weg 77 51468 Bergisch Gladbach 51469 Deutschland
III-2-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-2-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
III-3	Anmelder und/oder Erfinder	
III-3-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-3-2	Anmelder für	Nur US
III-3-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	ECKES, Peter
III-3-5	Anschrift	Gagernring 104 65779 Kelkheim Deutschland
III-3-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-3-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
III-4	Anmelder und/oder Erfinder	
III-4-1	Diese Person ist	Anmelder und Erfinder
III-4-2	Anmelder für	Nur US
III-4-4	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	BENTING, Jürgen
III-4-5	Anschrift	Fliederweg 20 42799 Leichlingen Deutschland
III-4-6	Staatsangehörigkeit (Staat)	DE
III-4-7	Sitz/Wohnsitz (Staat)	DE
IV-1	Anwalt oder gemeinsamer Vertreter oder besondere Zustellanschrift Die unten bezeichnete Person ist/wird hiermit bestellt, um für den (die) Anmelder vor den zuständigen inter- nationalen Behörden zu handeln, und zwar in folgender Eigenschaft:	gemeinsamer Vertreter
IV-1-1	Name	BAYER CROPSCIENCE AG
IV-1-2	Anschrift	Business Planning and Administration Law and Patents Patents and Licensing Alfred-Nobel-Str. 50 40789 Monheim Deutschland

27

28

BCS053199-WO

3/4

PCT-ANTRAG

Original (für EINREICHUNG)

V	BESTIMMUNGEN	
V-1	Die Einreichung dieses Antrags umfaßt gemäß Regel 4.9 Absatz a die Bestimmung aller Vertragsstaaten, für die der PCT am internationalen Anmeldedatum verbindlich ist, und, insoweit verfügbar, für jede Art von Schutzrecht und sowohl für ein regionales als auch für ein nationales Patent	
VI-1	Priorität einer früheren nationalen Anmeldung beansprucht	
VI-1-1	Anmeldedatum	21. September 2005 (21.09.2005)
VI-1-2	Nummer	102005045174.8
VI-1-3	Staat	DE
VII-1	Gewählte internationale Recherchenbehörde	
	Europäisches Patentamt (EPA) (ISA/EP)	
VIII	Erklärungen	Anzahl der Erklärungen
VIII-1	Erklärung hinsichtlich der Identität des Erfinders	-
VIII-2	Erklärung hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, zum Zeitpunkt des internationalen Anmeldedatums, ein Patent zu beantragen und zu erhalten	-
VIII-3	Erklärung hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, zum Zeitpunkt des internationalen Anmeldedatums, die Priorität einer früheren Anmeldung zu beanspruchen	-
VIII-4	Erfindererklärung (nur im Hinblick auf die Bestimmung der Vereinigten Staaten von Amerika)	-
VIII-5	Erklärung hinsichtlich unschädlicher Offenbarungen oder Ausnahmen von der Neuheitsschädlichkeit	-
IX	Kontrollliste	Anzahl der Blätter
IX-1	Antrag (inklusive Erklärungsblätter)	4
IX-2	Beschreibung	15
IX-3	Ansprüche	3
IX-4	Zusammenfassung	1
IX-5	Zeichnung(en)	0
IX-7	INSGESAMT	23
		Elektronische Datei(en) beigelegt
		✓
		-
		-
		✓
		-

BCS053199-WO

4/4

PCT-ANTRAG

Original (für EINREICHUNG)

	Beigefügte Unterlagen	Unterlage(n) in Papierform beigefügt	Elektronische Datei(en) beigefügt
IX-8	Blatt für die Gebührenberechnung	✓	-
IX-9	Original einer gesonderten Vollmacht	✓	-
IX-13	Prioritätsbeleg(e)	Unterlage(n) VI-1	-
IX-17	PCT-SAFE Datenträger	-	✓
IX-19	Nr. der Abb. der Zeichn., die mit der Zusammenf. veröffentlicht werden soll		
IX-20	Sprache der Int. Anmeldung	Deutsch	
X-1	Unterschrift des Anmelders, des Anwalts oder des Gemeinsamen Vertreters		
X-1-1	Name (FAMILIENNAME, Vorname)	BAYER CROPSCIENCE AG	
X-1-2	Name der unterzeichnenden Person	<i>irg/c h</i>	
X-1-3	Eigenschaft	<i>Dr. Schneider</i>	

ppa.-Dr. Bader

VOM ANMELDEAMT AUSZUFÜLLEN

10-1	Datum des tatsächlichen Eingangs dieser Internationalen Anmeldung	
10-2	Zeichnung(en):	
10-2-1	Eingegangen	
10-2-2	Nicht eingegangen	
10-3	Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingeg. Unterlage(n) oder Zeichnung(en) zur Vervollständigung dieser Int. Anmeldung	
10-4	Datum des fristgerechten Eingangs der Berichtigung nach PCT Artikel 11(2)	
10-5	Internationale Recherchenbehörde	ISA/EP
10-6	Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben	

VOM INTERNATIONALEN BÜRO AUSZUFÜLLEN

11-1	Datum des Eingangs des Aktenexemplars beim Internationalen Büro	
------	---	--

30

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
29. März 2007 (29.03.2007)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2007/033810 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:
A01N 51/00 (2006.01) A01N 47/40 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2006/009072

(22) Internationales Anmeldedatum:
19. September 2006 (19.09.2006)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2005 045 174.8
21. September 2005 (21.09.2005) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): BAYER CROPSCIENCE AG [DE/DE]; Alfred-Nobel-
Str. 50, 40789 Monheim (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): THIELERT, Wolf-
gang [DE/DE]; Buschweg 69, 51519 Odenthal (DE).
ANDERSCH, Wolfram [DE/DE]; Schlodderdicher Weg
77, 51468 Bergisch Gladbach (DE). ECKES, Peter
[DE/DE]; Gagernring 104, 65779 Kelkheim (DE). BENT-
ING, Jürgen [DE/DE]; Fliederweg 20, 42799 Leichlingen
(DE).

(74) Gemeinsamer Vertreter: BAYER CROPSCIENCE
AG; Business Planning and Administration, Law and
Patents, Patents and Licensing, Alfred-Nobel-Str. 50,
40789 Monheim (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH,
CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES,
FI, GB, GD, GE, GH, GM, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS,
JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MY,
MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS,
RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG,
ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU,
TJ, TM), europäisches (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC,
NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG,
CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu ver-
öffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Ab-
kürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Co-
des and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der
PCT-Gazette verwiesen.



WO 2007/033810 A2

(54) Title: PLANT PATHOGENIC DEFENCE INCREASE

(54) Bezeichnung: STEIGERUNG DER PATHOGENABWEHR IN PFLANZEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for increasing a plant pathogenic defence by chloronicotinyl treatment. The chloronicotinyls make it possible to obtain a good protection of plants against damages caused by fungal, bacterial or viral pathogens independently of insect control. The anti-pathogenic defences are obtainable by inducing PR proteins following the treatment by at least one type of chloronicotinyl.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Steigerung der pflanzeigenen Abwehrkräfte durch die Behand-
lung mit Chlornikotinylen. Chlornikotinyle führen unabhängig von einer Insektenbekämpfung zu einem guten Schutz der Pflanze
vor Schäden durch pilzliche, bakterielle oder virale Pathogene. Die Abwehr der Pathogene erfolgt durch die Induktion von PR Pro-
teinen als Folge der Behandlung mit mindestens einem Chlornikotinyl.

Steigerung der Pathogenabwehr in Pflanzen

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Steigerung der Pathogenabwehr in Pflanzen.

Es ist bekannt, dass Pflanzen auf natürliche Stressbedingungen, wie beispielsweise Kälte, Hitze, Trockenheit, Verwundung, Pathogenbefall (Viren, Bakterien, Pilze, Insekten) etc. aber auch auf
5 Herbizide mit spezifischen oder unspezifischen Abwehrmechanismen reagieren [Pflanzen-
biochemie, S. 393-462, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, Oxford, Hans W.
Heldt, 1996.; Biochemistry and Molecular Biology of Plants, S. 1102-1203, American Society of
Plant Physiologists, Rockville, Maryland, eds. Buchanan, Gruissem, Jones, 2000]. Dabei dienen
z.B. durch Verwundung entstandene Zellwandbestandteile oder spezifische vom Pathogen
10 stammende Signalsubstanzen als Induktoren pflanzlicher Signaltransduktionsketten, die am Ende
zur Bildung von gegen den Stressfaktor gerichteten Abwehrmolekülen führen. Hierbei kann es sich
beispielsweise um (a) niedermolekulare Substanzen, wie z.B. Phytoalexine, (b) nicht-enzymatische
Proteine, wie z.B. „Pathogenesis-related proteins“ (PR-Proteine), (c) enzymatische Proteine, wie
beispielsweise Chitinasen, Glucanasen, oder (d) um spezifische Inhibitoren essentieller Proteine,
15 wie beispielsweise um Protease-Inhibitoren, Xylanase-Inhibitoren, handeln, welche das Pathogen
direkt angreifen oder seine Proliferation behindern (Dangl and Jones, 2001, Nature 411: 826-833;
Kessler and Baldwin, 2003, Annual Review of Plant Biology, 53: 299-328).

Ein zusätzlicher Abwehrmechanismus ist die sogenannte hypersensitive Reaktion (HR), die über
oxidativen Stress vermittelt wird und zum Absterben von Pflanzengewebe im Bereich eines
20 Infektionsherdes führt, wodurch eine Ausbreitung von Pflanzenpathogenen, die auf lebende Zellen
angewiesen sind, verhindert wird [Pennazio, 1995, New Microbiol. 18, S. 229-240].

Im weiteren Verlauf einer Infektion werden durch pflanzeigene Botenstoffe Signale in nicht
befallene Gewebe weitergegeben, die auch dort zur Auslösung von Abwehrreaktionen führen und
die Entstehung von Sekundärinfektionen behindern (Systemic acquired resistance, SAR) [Ryals et
25 al., 1996, The Plant Cell 8: 1809-1819].

Eine Reihe von pflanzenendogenen Signalstoffen, die in die Stresstoleranz bzw. die
Pathogenabwehr involviert sind, sind bereits bekannt. Zu nennen sind hier beispielsweise
Salicylsäure, Benzoesäure, Jasmonsäure oder Ethylen [Biochemistry and Molecular Biology of
Plants, S. 850-929, American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, eds. Buchanan,
30 Gruissem, Jones, 2000]. Einige dieser Substanzen oder deren stabile synthetische Derivate und
abgeleitete Strukturen sind auch bei externer Applikation auf Pflanzen oder Saatgutbeizung
wirksam und aktivieren Abwehrreaktionen, die eine erhöhte Stress- bzw. Pathogentoleranz der
Pflanze zur Folge haben [Sembdner, and Parthier, 1993, Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.

32

44: 569-589]. Die Salicylat-vermittelte Abwehr richtet sich besonders gegen phytopathogene Pilze, Bakterien und Viren [Ryals et al., 1996, The Plant Cell 8: 1809-1819].

Ein bekanntes synthetisches Produkt, das eine der Salicylsäure vergleichbare Funktion übernimmt und eine Schutzwirkung gegen phytopathogene Pilze, Bakterien und Viren vermitteln kann, ist
5 Benzothiadiazol (Handelsname Bion®) [Achuo et al., 2004, Plant Pathology 53 (1): 65-72].

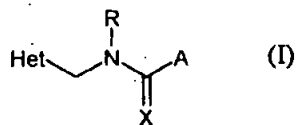
Andere Verbindungen, die in die Gruppe der Oxylipine gehören, wie z.B. Jasmonsäure, und die durch sie ausgelösten Schutzmechanismen sind besonders gegen Schadinsekten wirksam [Walling, 2000, J Plant Growth Regul. 19, 195-216].

Somit ist bekannt, dass Pflanzen über mehrere endogene Reaktionsmechanismen verfügen, die eine
10 wirksame Abwehr gegenüber verschiedensten Schadorganismen (biotischer Stress) und/oder natürlichen abiotischen Stress bewirken können.

Es ist bereits bekannt, dass Chlornikotinylinsektizide zur Bekämpfung von tierischen Schädlingen, insbesondere Insekten eingesetzt werden können. Ferner ist bekannt, dass die Behandlung von Pflanzen mit Insektiziden aus der Reihe der Chlornikotinyne zu einer erhöhten Resistenz der
15 Pflanze gegenüber abiotischem Stress führt. Insbesondere gilt dies für das Imidacloprid (Brown et al., 2004, Beltwide Cotton Conference Proceedings: 2231-2237. Dieser Schutz erfolgt durch Beeinflussung physiologischer und biochemischer Eigenschaften der Pflanzenzellen wie z.B. durch Verbesserung der Membranstabilität, Erhöhung der Kohlenhydratkonzentration, Steigerung der Polyolkonzentration und Antioxidantienaktivität (Gonias et al., 2004, Beltwide Cotton
20 Conference Proceedings: 2225-2229).

Für die Wirkung von Chlornikotinylen gegen biotische Stressfaktoren finden sich nur vereinzelte Hinweise in der Literatur (Crop Protection (2000), 19(5), 349-354; Journal of Entomological Science (2002), 37(1), 101-112; Annals of Biology (Hisar, India) (2003), 19(2), 179-181).

Chlornikotinyne können durch folgende die allgemeine Formel (I) beschrieben werden,



25

worin

Het für einen jeweils gegebenenfalls einfach oder mehrfach durch Fluor, Chlor, Methyl oder Ethyl substituierten Heterocyclen ausgewählt aus der folgenden Gruppe von Heterocyclen steht:

Pyrid-3-yl, Pyrid-5-yl, 3-Pyridinio, 1-Oxido-5-pyridinio, 1-Oxido-5-pyridinio, Tetrahydrofuran-3-yl, Thiazol-5-yl,

A für C₁-C₆-Alkyl, -N(R¹)(R²) oder S(R²) steht,

worin

5 R¹ für Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, Phenyl-C₁-C₄-Alkyl, C₃-C₆-Cycloalkyl, C₂-C₆-Alkenyl oder C₂-C₆-Alkynyl steht, und

R² für C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl, -C(=O)-CH₃ oder Benzyl steht,

R für Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl, -C(=O)-CH₃ oder Benzyl steht oder gemeinsam mit R² für eine der folgenden Gruppen steht:

10 -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-S-CH₂-, -CH₂-NH-CH₂-, -CH₂-N(CH₃)-CH₂-, und

X für N-NO₂, N-CN oder CH-NO₂ steht.

Het steht besonders bevorzugt für einen Heterocyclus ausgewählt aus der folgenden Gruppe von Heterocyclen:

15 2-Chlorpyrid-5-yl, 2-Methylpyrid-5-yl, 1-Oxido-3-pyridinio, 2-Chlor-1-oxido-5-pyridinio, 2,3-dichlor-1-oxido-5-pyridinio, Tetrahydrofuran-3-yl, 5-Methyl-tetrahydrofuran-3-yl, 2-Chlorthiazol-5-yl.

A steht besonders bevorzugt für -N(R¹)(R²).

R¹ steht besonders bevorzugt für Wasserstoff, Methyl oder Ethyl.

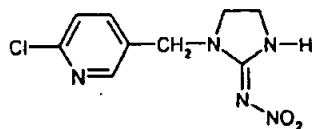
20 R² steht besonders bevorzugt für Methyl, Ethyl, n- oder i-Propyl, n-, i-, s- oder t-Butyl, Ethenyl, 1-Propenyl, 2-Propenyl, Ethinyl, 1-Propinyl, 2-Propinyl, -C(=O)-CH₃ oder Benzyl.

R steht besonders bevorzugt für Wasserstoff, Methyl, Ethyl, oder -C(=O)-CH₃ oder steht besonders bevorzugt gemeinsam mit R² für eine der folgenden Gruppen:

25 -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-S-CH₂-.

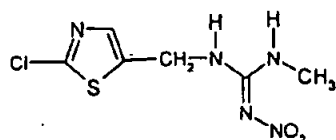
Zu dieser Klasse von Verbindungen gehören z.B. folgende Verbindungen, wobei die Aufzählung nicht abschließend zu verstehen ist:

Imidacloprid der Formel (I)



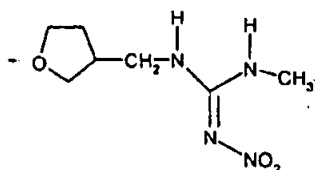
(I), vgl. EP 0 192 060,

Clothianidin der Formel (II)



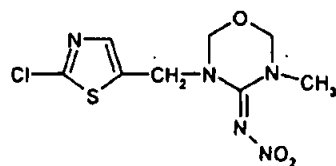
(II), vgl. EP 0 376 279,

5 Dinotefuran der Formel (III)



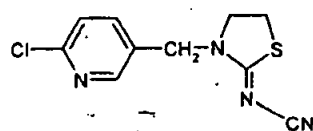
(III), vgl. EP 0 649 845,

Thiamethoxam der Formel (IV)



(IV), vgl. EP 0 580 553,

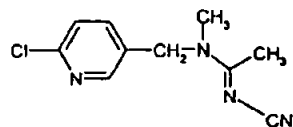
Thiacloprid der Formel (V)



10

(V), vgl. EP 0 235 725,

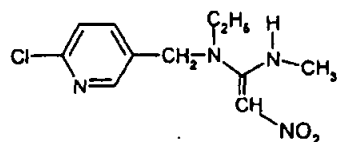
Acetamiprid der Formel (VI)



(VI), vgl. WO 91/04965,

35

Nitenpyram der Formel (VII)



(VII), vgl. EP 0 302 389.

- Es wurde nun überraschenderweise gefunden, dass Chlornikotinyne und insbesondere Imidacloprid zu einer erhöhten Expression von Genen aus der Reihe der „Pathogenesis-related proteins“ (PR-Proteine) führen. PR Proteine unterstützen die Pflanzen primär in der Abwehr von biotischen Stressoren, wie z.B. phytopathogene Pilze, Bakterien und Viren. Dies hat zur Folge, das Pflanzen nach Anwendung von Imidacloprid besser geschützt sind vor Infektionen phytopathogener Pilze, Bakterien und Viren. Bei notwendigem Einsatz von Fungiziden und Bakteriziden in Mischung wie - auch bei sequentieller Anwendung mit Imidacloprid wird deren Wirkung unterstützt.

10 Definitionen nachfolgend verwendeter Begriffe

- Der Begriff „cDNA“ (complementary DNA), wie hier verwendet, beschreibt einen DNA-Einzelstrang, der zu einer RNA komplementär, und der durch eine enzymatische reverse Transkription in vitro synthetisiert wird. Die cDNA kann entweder der gesamten RNA-Länge entsprechen, oder aber nur eine Teilsequenz der als Matrix dienenden RNA darstellen.
- 15 Unter den Begriffen „DNA-Chip“ und „DNA-Microarray“, die hier synonym verwendet werden, wird ein Träger bezeichnet, dessen Grundmaterial beispielsweise aus Glas oder Nylon besteht, auf dessen Grundmaterial DNA-Fragmente fixiert sind, wobei die Aufbringung der DNA beispielsweise durch (a) ein photolithographisches Verfahren (DNA wird direkt auf dem Arrayträger synthetisiert), (b) ein Microspotting-Verfahren (extern synthetisierte Oligonukleotide oder PCR-Produkte werden auf den Träger appliziert und kovalent gebunden), oder (c) durch eine Microspraying-Verfahren (extern synthetisierte Oligonukleotide oder PCR-Produkte werden mit einem Tintenstrahldrucker berührungsfrei auf den Träger gesprüht) erfolgen kann (R. Rauhut, Bioinformatik, S 197-199, Verlag Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2001). Ein DNA-Chip, der genomische Sequenzen eines Organismus repräsentiert, wird als „genomischer DNA-Chip“ bezeichnet. Die Auswertung der mit Hilfe dieser DNA-Chips erhaltenen Messwerte wird als „DNA-Chip-Analyse“ bezeichnet.

- Der Begriff „DNA-Chip-Hybridisierung“, wie hier verwendet, bedeutet die Paarung zweier einzelsträngiger, komplementärer Nukleinsäuremoleküle, wobei eines der basenpaarenden Molekülpartner als DNA (Desoxiribonukleinsäure) auf dem DNA-Chip in bevorzugt kovalent gebundener Form lokalisiert ist, während der andere in Form der RNA (Ribonukleinsäure) oder

der hierzu korrespondierenden cDNA (komplementäre DNA) in Lösung vorliegt. Die Hybridisierung der gebundenen und nicht gebundenen Nukleinsäuren erfolgt auf dem DNA-Chip in wässriger Pufferlösung, gegebenenfalls unter zusätzlich denaturierenden Bedingungen, wie beispielsweise in Gegenwart von Dimethylsulfoxid, bei Temperaturen von 30-60°C, bevorzugt 40-50°C, besonders bevorzugt bei 45°C für 10-20 Stunden, bevorzugt für 14-18 Stunden, besonders bevorzugt für 16 Stunden unter ständiger Bewegung. Die Hybridisierungsbedingungen können konstant beispielsweise in einem Hybridisierungssofen realisiert werden. Standardmäßig werden in einem solchen Hybridisierungssofen Bewegungen von 60 rpm (rounds per minute, Umdrehungen pro Minute) realisiert.

- 10 Die synonym gebrauchten Begriffe „Expressionsmuster“, „Induktionsmuster“ bzw. „Expressionsprofil“, wie hier verwendet, beschreiben die zeitlich differenzierte und/oder gewebespezifische Expression der pflanzlichen mRNA, wobei das Muster direkt durch die erzeugte Intensität des Hybridisierungssignals der aus der Pflanze erhaltenen RNA oder deren korrespondierender cDNA mit Hilfe der DNA-Chip-Technologie erhalten wird. Die gemessenen „Expressionswerte“ ergeben sich durch direkte Verrechnung mit den korrespondierenden Signalen, die durch Verwendung eines synonymen Chips unter Hybridisierung mit einer nicht behandelten Kontrollpflanze erhalten werden.

- 20 Der Begriff „Expressionszustand“ der durch das vorgenommene „Gene Expression Profiling“ erhalten wird, wie hier verwendet, beschreibt die gesamte erfasste Transkriptionsaktivität zellulärer Gene, die mit Hilfe eines DNA-Chips gemessen wird.

- 25 Der Begriff „Gesamt-RNA“, wie hier verwendet, beschreibt die aufgrund des angewendeten Aufschlußverfahrens mögliche Repräsentanz verschiedener pflanzenendogener RNA-Gruppen, die in einer Pflanzenzelle vorliegen können, wie beispielsweise, cytoplasmatische rRNA (ribosomale RNA), cytoplasmatische tRNA (transfer RNA), cytoplasmatische mRNA (messenger RNA), sowie deren jeweilige nucleäre Vorläufer, ctRNA (chloroplastidäre RNA) und mtRNA (mitochondriale RNA), sie umfaßt aber auch RNA-Moleküle, die von exogenen Organismen stammen können, wie beispielsweise von Viren, oder parasitierenden Bakterien und Pilzen.

Der Begriff „Nutzpflanzen“, wie hier verwendet, bezeichnet Kulturpflanzen, die als Pflanzen für die Gewinnung von Nahrungsmitteln, Futtermitteln oder für technische Zwecke eingesetzt werden.

- 30 Die Wirkstoffe können in die üblichen Formulierungen überführt werden, wie Lösungen, Emulsionen, Spritzpulver, wasser- und ölbasierte Suspensionen, Pulver, Stäubemittel, Pasten, lösliche Pulver, lösliche Granulate, Streugranulate, Suspensions-Emulsions-Konzentrate, Wirkstoff-

imprägnierte Naturstoffe, Wirkstoff-imprägnierte synthetische Stoffe, Düngemittel sowie Feinstverkapselfungen in polymeren Stoffen.

Diese Formulierungen werden in bekannter Weise hergestellt, z.B. durch Vermischen der Wirkstoffe mit Streckmitteln, also flüssigen Lösungsmitteln und/oder festen Trägerstoffen, gegebenenfalls unter Verwendung von oberflächenaktiven Mitteln, also Emulgiermitteln und/oder Dispergiermitteln und/oder schaum erzeugenden Mitteln. Die Herstellung der Formulierungen erfolgt entweder in geeigneten Anlagen oder auch vor oder während der Anwendung.

Als Hilfsstoffe können solche Stoffe Verwendung finden, die geeignet sind, dem Mittel selbst oder und/oder davon abgeleitete Zubereitungen (z.B. Spritzbrühen, Saatgutbeizen) besondere Eigenschaften zu verleihen, wie bestimmte technische Eigenschaften und/oder auch besondere biologische Eigenschaften. Als typische Hilfsmittel kommen in Frage: Streckmittel, Lösemittel und Trägerstoffe.

Als Streckmittel eignen sich z.B. Wasser, polare und unpolare organische chemische Flüssigkeiten z.B. aus den Klassen der aromatischen und nicht-aromatischen Kohlenwasserstoffe (wie Paraffine, Alkylbenzole, Alkyl-naphthaline, Chlorbenzole), der Alkohole und Polyole (die ggf. auch substituiert, verethert und/oder verestert sein können), der Ketone (wie Aceton, Cyclohexanon), Ester (auch Fette und Öle) und (poly-)Ether, der einfachen und substituierten Amine, Amide, Lactame (wie N-Alkylpyrrolidone) und Lactone, der Sulfone und Sulfoxide (wie Dimethylsulfoxid).

Im Falle der Benutzung von Wasser als Streckmittel können z.B. auch organische Lösemittel als Hilfslösungsmittel verwendet werden. Als flüssige Lösemittel kommen im wesentlichen in Frage: Aromaten, wie Xylol, Toluol, oder Alkyl-naphthaline, chlorierte Aromaten und chlorierte aliphatische Kohlenwasserstoffe, wie Chlorbenzole, Chlorethylene oder Methylenchlorid, aliphatische Kohlenwasserstoffe, wie Cyclohexan oder Paraffine, z.B. Erdölfraktionen, mineralische und pflanzliche Öle, Alkohole, wie Butanol oder Glykol sowie deren Ether und Ester, Ketone wie Aceton, Methylethylketon, Methylisobutylketon oder Cyclohexanon, stark polare Lösungsmittel, wie Dimethylsulfoxid, sowie Wasser.

Als feste Trägerstoffe kommen in Frage:

z.B. Ammoniumsalze und natürliche Gesteinsmehle, wie Kaoline, Tonerden, Talkum, Kreide, Quarz, Attapulgit, Montmorillonit oder Diatomeenerde und synthetische Gesteinsmehle, wie hochdisperse Kieselsäure, Aluminiumoxid und Silikate, als feste Trägerstoffe für Granulate kommen in Frage: z.B. gebrochene und fraktionierte natürliche Gesteine wie Calcit, Marmor, Bims, Sepiolith, Dolomit sowie synthetische Granulate aus anorganischen und organischen Mehlen sowie Granulate aus organischem Material wie Papier, Sägemehl, Kokosnußschalen, Maiskolben

38

und Tabakstengeln; als Emulgier- und/oder schäumerzeugende Mittel kommen in Frage: z.B. nichtionogene und anionische Emulgatoren, wie Polyoxyethylen-Fettsäure-Ester, Polyoxyethylen-Fettalkohol-Ether, z.B. Alkylaryl-polyglykolether, Alkylsulfonate, Alkylsulfate, Arylsulfonate sowie Eiweißhydrolysate; als Dispergiermittel kommen in Frage nicht-ionische und/oder ionische
5 Stoffe, z.B. aus den Klassen der Alkohol-POE- und/oder POP-Ether, Säure- und/oder POP- POE-Ester, Alkyl-Aryl- und/oder POP- POE-Ether, Fett- und/oder POP- POE-Addukte, POE- und/oder POP-Polyol Derivate, POE- und/oder POP-Sorbitan- oder-Zucker-Addukte, Alkyl- oder Aryl-Sulfate, Sulfonate und Phosphate oder die entsprechenden PO-Ether-Addukte. Ferner geeignete Oligo- oder Polymere, z.B. ausgehend von vinylischen Monomeren, von Acrylsäure, aus EO
10 und/oder PO allein oder in Verbindung mit z.B. (poly-) Alkoholen oder (poly-) Aminen. Ferner können Einsatz finden Lignin und seine Sulfonsäure-Derivate, einfache und modifizierte Cellulosen, aromatische und/oder aliphatische Sulfonsäuren sowie deren Addukte mit Formaldehyd.

Es können in den Formulierungen Haftmittel wie Carboxymethylcellulose, natürliche und
15 synthetische pulvrige, körnige oder latexförmige Polymere verwendet werden, wie Gummi-arabicum, Polyvinylalkohol, Polyvinylacetat, sowie natürliche Phospholipide, wie Kephaline und Lecithine und synthetische Phospholipide.

Es können Farbstoffe wie anorganische Pigmente, z.B. Eisenoxid, Titanoxid, Ferrocyanblau und organische Farbstoffe, wie Alizarin-, Azo- und Metallphthalocyaninfarbstoffe und Spuren-
20 nährstoffe wie Salze von Eisen, Mangan, Bor, Kupfer, Kobalt, Molybdän und Zink verwendet werden.

Weitere Additive können Duftstoffe, mineralische oder vegetabilische gegebenenfalls modifizierte Öle, Wachse und Nährstoffe (auch Spurennährstoffe), wie Salze von Eisen, Mangan, Bor, Kupfer, Kobalt, Molybdän und Zink sein.

25 Weiterhin enthalten sein können Stabilisatoren wie Kältestabilisatoren, Konservierungsmittel, Oxidationsschutzmittel, Lichtschutzmittel oder andere die chemische und / oder physikalische Stabilität verbessernde Mittel.

Die Formulierungen enthalten im allgemeinen zwischen 0,01 und 98 Gew.-% Wirkstoff, vorzugsweise zwischen 0,5 und 90 %.

30 Der erfindungsgemäße Wirkstoff kann in seinen handelsüblichen Formulierungen sowie in den aus diesen Formulierungen bereiteten Anwendungsformen in Mischung mit anderen Wirkstoffen wie Insektiziden, Lockstoffen, Sterilantien, Bakteriziden, Akariziden, Nematiziden, Fungiziden,

wachstumsregulierenden Stoffen, Herbiziden, Safenern, Düngemitteln oder Semiochemicals vorliegen.

- Die Erfindung betrifft die Verwendung von Chlornikotinylen, um Pflanzen gegen Pilze, Bakterien, Viren zu schützen. Chlornikotinyle führen unabhängig von einer Insektenbekämpfung zu einem guten Schutz der Pflanze vor Schäden durch pilzliche, bakterielle oder virale Pathogene.

Vorteile gegenüber anderen möglichen Verfahren sind die geringen Aufwandsmengen, um diesen Schutz zu erreichen, die hohe Pflanzenverträglichkeit und die bestehenden Zulassungen zur Verwendung der Chlornikotinyle in der Landwirtschaft. Außerdem kann mit einem Wirkstoff ein Schutz gegen eine Vielzahl von Pathogenen erreicht werden.

- Um einen Schutz vor Pathogenen zu erhalten, können die Pflanzen mit Einzelwirkstoffen oder mit Kombinationen von Chlornikotinylen behandelt werden.

Ferner lässt sich die beschriebene positive Wirkung der Chlornikotinyle auf die pflanzeigenen Abwehrkräfte durch eine zusätzliche Behandlung mit fungiziden oder bakteriziden Wirkstoffen unterstützen.

- In einer bevorzugten Ausführungsform erfolgt dieser Schutz durch die Induktion von PR Proteinen als Folge der Behandlung mit Chlornikotinylen.

Bevorzugte Chlornikotinyle sind Imidacloprid, Clothianidin, Dinotefuran, Thiamethoxam, Thiacloprid, Acetamiprid und Nitenpyram. Besonders bevorzugte Chlornikotinyle sind Imidacloprid, Thiacloprid, Clothianidin und Thiamethoxam. Ganz besonders bevorzugt ist

- Imidacloprid.

- Besonders bevorzugt werden erfindungsgemäß Pflanzen der jeweils handelsüblichen oder in Gebrauch befindlichen Pflanzensorten behandelt. Unter Pflanzensorten versteht man Pflanzen mit neuen Eigenschaften ("Traits"), die sowohl durch konventionelle Züchtung, durch Mutagenese oder mit Hilfe rekombinanter DNA-Techniken, gezüchtet worden sind. Kulturpflanzen können demnach Pflanzen sein, die durch konventionelle Züchtungs- und Optimierungsmethoden oder durch biotechnologische und gentechnologische Methoden oder Kombinationen dieser Methoden erhalten werden können, einschließlich der transgenen Pflanzen und einschließlich der durch Sortenschutzrechte schützbaeren oder nicht schützbaeren Pflanzensorten.

- Bevorzugte Pflanzen sind Gerste, Tabak, Tomate, Weizen, Mais, Reis, Soja, Baumwolle, Raps, Kartoffel, Kohlarten, Paprika, Aubergine, Gurke, Salat, Melone, Turf, Zitrus, Reben, Kaffee, Tee, Hopfen, Kernobst, Steinobst und Beerenobst.

40

Besonders bevorzugt ist Gerste.

Die erfindungsgemäßen Verfahren eignen sich insbesondere auch zur Anwendung an transgenen Pflanzen und transgenem Saatgut. Bevorzugte Chlornikotinyne für diese Anwendung sind Imidacloprid, Clothianidin und Thiamethoxam. Ganz besonders bevorzugt für diese Anwendung ist Imidacloprid.

Bevorzugte Pathogene sind *Phytophthora nicotianae*, *Peronospora tabacinae*, *Phytophthora infestans*, *Sphaerotheca fuliginea*, *Phakopsora pachyrhizi*, *Ramularia gossypii*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia spec.*, *Pyrenophora spec.*, *Sclerotinia homoeocarpa*, *Erysiphe graminis*, *Colletotrichum graminicola*.

10 Bevorzugte Zeitpunkte für die Applikation von Chlornikotinylen zur Pathogenabwehr sind - Saatgut-, Boden-, Nährlösungs-, Stamm- und/oder Blattbehandlungen mit den zugelassenen Aufwandmengen.

Die Mengen eines Chlornikotinylns, um die erfindungsgemäßen Eigenschaften zu erreichen, können in einem größeren Bereich variiert werden. Bevorzugt werden zum Erreichen des erfinderischen Effekts Konzentrationen von 0,00001% bis 0,05% verwendet, besonders bevorzugt von 0,000025% bis 0,025% und ganz besonders bevorzugt von 0,000025% bis 0,005%. Wenn Mischungen eingesetzt werden, liegt die Konzentration der Wirkstoffkombinationen vorzugsweise zwischen 0,000025% und 0,005%, besonders bevorzugt zwischen 0,00005% und 0,001%. Bei den angegebenen Werten handelt es sich vor- und nachstehend, soweit nicht anders angegeben, um Gewichtsprozent.

Das folgende Beispiel beschreibt die Erfindung im Einzelnen.

41

Beispiel 1**Induktion von PR Proteinen in Gerste nach Behandlung mit Imidacloprid**

Gerstensamen (Varietät Baroness) wurden in Töpfen mit Erde ca. 2 cm tief gesät (1250 g sandiger Lehm Boden/Topf; Bodenfeuchte auf 70% der max. Wasserhaltekapazität eingestellt) und
5 in einer Klimakammer unter definierten Licht-, Feuchtigkeits- und Temperaturbedingungen (15 h Weißlicht, 70 % Luftfeuchtigkeit, 23-19°C Tag/Nacht) kultiviert.

14 Tage nach dem Auflaufen der Gerstenpflanzen wurden 10 mg Imidacloprid pro Pflanze gelöst in 100 ml Wasser mittels einer Pipette um die Sprossbasis herum auf den Boden appliziert. In die Kontrolltöpfe wurde das gleiche Volumen Wasser ohne Wirkstoff appliziert. Nach der
10 Bodenbehandlung wurden die Pflanzen nicht mehr gegossen. Zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Applikation (0.25; 1; 6; 8; 11; 13; 15; 16 und 17 Tage wurden die Blätter geerntet, in Flüssig-Stickstoff schockgefroren und bis zur Aufarbeitung bei -80°C gelagert.

Die Herstellung der markierten RNA-Sonden für die DNA-Chip-Hybridisierung erfolgte nach den Protokollen (Expression Analysis, Technical Manual) der Firma Affymetrix (Affymetrix Inc.,
15 3380 Central Expressway, Santa Clara, CA, USA). Aus je 500 mg der geernteten Blätter wurde zunächst Gesamt-RNA isoliert. Je 10 µg Gesamt-RNA wurden für die Erst- und Zweitstrang cDNA-Synthese verwendet. Die cDNA wurde mit T7-Polymerase amplifiziert und dabei gleichzeitig mit Biotin-UTP markiert. Je 20 µg dieser biotinylierten cDNA wurden für die Hybridisierung des Gerste Genom-Arrays (Gene Chip Barley1, Best.-Nr.: 511012) von Affymetrix
20 eingesetzt. Dieser DNA-Microarray enthält DNA-Sequenzen von 22840 Genen, die aus insgesamt 400000 EST-Sequenzen (Expressed Sequence Tag-Sequenzen) zusammengesetzt sind. Anschließend wurden die DNA-Microarrays in der Affymetrix Fluidics Station gewaschen, mit Streptavidin[™]Phycoerythrin (Molecular Probes, P/N S-866) gefärbt und mit dem Affymetrix Gene Chip Scanner 3000 gescannt. Die erhaltenen Fluoreszenzdaten wurden mit der Software
25 Microarray Suite 5 von Affymetrix und der Software Expressionist Pro der Firma GeneData analysiert. Nach erfolgter Qualitätskontrolle wurden alle DNA-Chip-Analysen in einer Datenbank gespeichert. Da das Affymetrix Gene Chip System auf der Messung der absoluten Expressionswerte der enthaltenen Gene beruht, wurden die Expressionswerte der biologischen Replikate von behandelten- und unbehandelten Pflanzen nach erfolgter Normalisierung jeweils gemittelt
30 (Medianberechnung). Mit Hilfe der statistischen Methode ANOVA wurden die Gene identifiziert, deren Expression sich in den Imidacloprid behandelten Pflanzen erhöhte aber in den unbehandelten Kontrollen relativ konstant blieb. Die Zusammenstellung von Gengruppen aus bestimmten Stoffwechselwegen, Signaltransduktionsketten oder Funktionen erfolgte durch Key

Word-Suche in den von Affymetrix mitgelieferten Annotationen der Gene und durch Zuordnung der Gene zu ihren entsprechenden Gene Ontology Annotationen (Gene Ontology Consortium).

- Eine Durchsicht von Gengruppen aus Signaltransduktionsketten und Stoffwechselwegen, die mit Stresstoleranz und Pathogenabwehr in Zusammenhang stehen, ergab u.a. eine starke Induktion von
- 5 Genen für PR-Proteine in behandelten gegenüber nicht behandelten Pflanzen (Tabelle 1-3).

Tabelle 1

Pathogenesis related protein“ Gene, durch Imidacloprid induziert

Affymetrix Nummer	Beschreibung der Gene
Contig2990_at	CHITINASE (EC 3.2.1.14)
Contig2788_x_at	THAUMATIN-LIKE PROTEIN TLP7
Contig2214_s_at	PATHOGENESIS RELATED PROTEIN (HV-1A)
Contig2209_at	PATHOGENESIS RELATED PROTEIN (HV-1A)
Contig639_at	PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN PRECURSOR
Contig2210_at	PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN 1 PRECURSOR
Contig17082_at	TRYPSIN INHIBITOR
Contig2212_s_at	PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN PRB1-3
Contig11773_at	REGULATOR OF PATHOGENICITY FACTORS
Contig12046_at	PATHOGENESIS RELATED PROTEIN-1
Contig4405_x_at	PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN PR-10A
HV_Ceb0020C01r2_at	INTEGUMENTARY MUCIN B.1
Contig2550_x_at	PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN 4
Contig2211_at	PATHOGENESIS-RELATED PROTEIN PRECURSOR

43

Tabelle 2a

Median der Rohexpressionsdaten (jew. 3 biologische Replikate)

Affymetrix Nummer	0,25 Tage		1 Tag		6 Tage		8 Tage		11 Tage	
	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	unbehandelt	behandelt
Contig2990_at	35,51	31,12	31,38	29,13	66,82	561,20	43,07	830,74	49,01	664,56
Contig2788_x_at	90,09	71,22	47,02	70,44	445,30	5432,88	989,41	7952,61	1940,45	12190,31
Contig2214_s_at	96,03	86,29	39,68	44,68	338,95	3322,93	433,24	4807,28	479,17	4463,75
Contig2209_at	239,67	187,60	106,74	153,35	489,30	4773,49	711,28	8173,99	711,11	8587,82
Contig639_at	218,37	157,66	41,56	38,68	289,31	2482,57	269,13	3944,01	479,62	4273,57
Contig2210_at	241,38	143,08	61,60	78,12	866,31	6881,20	1017,88	8961,17	1460,36	7946,25
Contig17082_at	173,51	161,42	182,26	162,50	197,68	745,06	230,64	853,21	250,42	911,63
Contig2212_s_at	165,29	153,25	137,70	135,85	363,79	3508,08	382,89	3936,08	430,16	3866,40
Contig11773_at	187,82	175,49	71,90	70,99	194,41	1513,72	191,42	2102,86	212,15	1580,30
Contig12046_at	85,31	76,89	57,89	46,22	121,37	786,00	184,88	1336,13	101,84	792,96
Contig4405_x_at	57,15	60,34	55,27	55,96	68,93	146,82	64,94	181,30	56,60	125,79
HV_CEB0020C01r2_at	68,25	96,81	86,20	87,44	96,17	418,12	150,33	428,35	180,21	389,74
Contig2550_x_at	86,98	68,63	47,12	54,66	122,48	716,14	152,46	1121,61	126,26	771,21
Contig2211_at	217,60	223,31	221,83	206,49	263,78	824,50	252,07	928,65	290,17	868,02

Tabelle 2b

Median der Rohexpressionsdaten (jew. 3 biologische Replikate), Fortsetzung von Tabelle 2a

Affymetrix Nummer	13 Tage		15 Tage		16 Tage		17 Tage	
	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt	behandelt
Contig2990_at	77,68	235,46	216,16	227,32	31,04	76,80	52,55	32,84
Contig2788_x_at	2083,35	4800,62	3248,12	4880,14	721,89	1836,52	998,31	1166,53
Contig2214_s_at	125,46	636,20	273,34	808,24	516,41	1241,52	756,38	472,04
Contig2209_at	287,59	1723,94	633,29	1689,29	823,13	2069,04	1406,75	888,58
Contig639_at	132,32	1496,21	322,95	920,86	298,41	1300,36	416,44	1196,37
Contig2210_at	426,37	1553,93	706,30	1970,04	845,77	2013,49	1627,64	1121,55
Contig17082_at	126,15	281,55	137,96	209,34	174,85	276,41	208,27	225,25
Contig2212_s_at	126,72	470,29	167,28	378,35	316,94	756,91	531,25	376,36
Contig11773_at	59,01	208,99	96,55	182,27	185,22	694,71	148,57	340,39
Contig12046_at	51,84	140,26	60,92	150,31	211,37	622,77	254,76	220,80
Contig4405_x_at	41,99	55,42	50,58	57,66	62,61	88,69	56,98	87,06
HV_CE0020C01r2_at	107,82	180,00	175,74	170,35	132,88	161,77	191,56	106,72
Contig2550_x_at	48,92	150,42	112,63	162,60	145,82	389,62	190,59	174,42
Contig2211_at	166,66	296,99	221,25	252,25	231,97	340,64	267,64	219,24

45

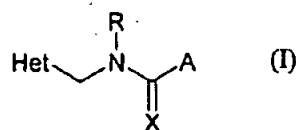
Tabelle 3

Induktionsfaktor = Expression (behandelt) / Expression (unbehandelt) als Funktion der Zeitpunkte in Tagen (d).

	0.25d	1d	6d	8d	11d	13d	15d	16d	17d
Affymetrix Number									
Contig2990_at	0,9	0,9	8,4	19,3	13,6	3,0	1,1	2,5	0,6
Contig2788_x_at	0,8	0,7	12,2	8,0	6,3	2,3	1,5	2,5	1,2
Contig2214_s_at	0,9	0,5	9,8	11,1	9,3	5,1	3,0	2,4	0,6
Contig2209_at	0,8	0,6	9,8	11,5	12,1	6,0	2,7	2,5	0,6
Contig639_at	0,7	0,3	8,6	14,7	8,9	11,3	2,9	4,4	2,9
Contig2210_at	0,6	0,4	7,9	8,8	5,4	3,6	2,8	2,4	0,7
Contig17082_at	0,9	1,1	3,8	3,7	3,6	2,2	1,5	1,6	1,1
Contig2212_s_at	0,9	0,9	9,6	10,3	9,0	3,7	2,3	2,4	0,7
Contig11773_at	0,9	0,4	7,8	11,0	7,4	3,5	1,9	3,8	2,3
Contig12046_at	0,9	0,8	6,5	7,2	7,8	2,7	2,5	2,9	0,9
Contig4405_x_at	1,1	0,9	2,1	2,8	2,2	1,3	1,1	1,4	1,5
HV_CEB0020C01r2_at	1,4	0,9	4,3	2,8	2,2	1,7	1,0	1,2	0,6
Contig2550_x_at	0,8	0,7	5,8	7,4	6,1	3,1	1,4	2,7	0,9
Contig2211_at	1,0	1,0	3,1	3,7	3,0	1,8	1,1	1,5	0,8

Patentansprüche

1. Verwendung zumindest einer Verbindung ausgewählt aus der Klasse der Chlornikotinyne der Formel (I),



worin

5. Het für einen jeweils gegebenenfalls einfach oder mehrfach durch Fluor, Chlor, Methyl oder Ethyl substituierten Heterocyclus ausgewählt aus der folgenden Gruppe von Heterocyclen steht:

Pyrid-3-yl, Pyrid-5-yl, 3-Pyridinio, 1-Oxido-5-pyridinio, 1-Oxido-5-pyridinio, Tetrahydrofuran-3-yl, Thiazol-5-yl,

- A für C₁-C₆-Alkyl, -N(R¹)(R²) oder S(R²) steht,

10

worin

R¹ für Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, Phenyl-C₁-C₄-Alkyl, C₃-C₆-Cycloalkyl, C₂-C₆-Alkenyl oder C₂-C₆-Alkynyl steht, und

R² für C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl, -C(=O)-CH₃ oder Benzyl steht,

15

- R für Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl, -C(=O)-CH₃ oder Benzyl steht oder gemeinsam mit R² für eine der folgenden Gruppen steht:

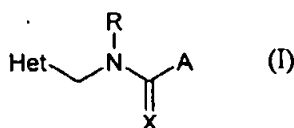
-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-S-CH₂-, -CH₂-NH-CH₂-, -CH₂-N(CH₃)-CH₂-, und

20

- X für N-NO₂, N-CN oder CH-NO₂ steht, gegebenenfalls in Kombination mit einem oder mehreren weiteren Pflanzenschutzwirkstoffen zur Steigerung der pflanzen-eigenen Abwehrkräfte.

2. Verwendung zumindest einer Verbindung ausgewählt aus der Klasse der Chlornikotinyne der Formel (I) gemäß Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Chlornikotinylen um Imidacloprid, Clothianidin, Dinotefuran, Thiamethoxam, Thiacloprid, Acetamiprid oder Nitenpyram handelt.
- 25

3. Verwendung zumindest einer Verbindung ausgewählt aus der Klasse der Chlornikotinyne der Formel (I) gemäß Anspruch 2 dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem Chlornikotinyl um Imidacloprid handelt.
4. Verwendung zumindest einer Verbindung ausgewählt aus der Klasse der Chlornikotinyne der Formel (I) gemäß einem der Ansprüche 1-3 gekennzeichnet dadurch, dass die Pflanzen transgen sind.
5. Verwendung zumindest einer Verbindung ausgewählt aus der Klasse der Chlornikotinyne der Formel (I) gemäß Anspruch 1 zum Schutz von Pflanzen vor biotischen Stressfaktoren.
6. Verfahren zur Induktion von PR Proteinen in Pflanzen durch die Behandlung der Pflanzen mit Chlornikotinylen, dadurch gekennzeichnet dass, Pflanzen mit zumindest einer Verbindung ausgewählt aus der Klasse der Chlornikotinyne der Formel (I),



10

worin

Het für einen jeweils gegebenenfalls einfach oder mehrfach durch Fluor, Chlor, Methyl oder Ethyl substituierten Heterocyclen ausgewählt aus der folgenden Gruppe von Heterocyclen steht:

15

Pyrid-3-yl, Pyrid-5-yl, 3-Pyridinio, 1-Oxido-5-pyridinio, 1-Oxido-5-pyridinio, Tetrahydrofuran-3-yl, Thiazol-5-yl,

A für C₁-C₆-Alkyl, -N(R¹)(R²) oder S(R²) steht,

worin

R¹ für Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, Phenyl-C₁-C₄-Alkyl, C₃-C₆-Cycloalkyl, C₂-C₆-Alkenyl oder C₂-C₆-Alkynyl steht, und

20

R² für C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl, -C(=O)-CH₃ oder Benzyl steht,

R für Wasserstoff, C₁-C₆-Alkyl, C₂-C₆-Alkenyl, C₂-C₆-Alkynyl, -C(=O)-CH₃ oder Benzyl steht oder gemeinsam mit R² für eine der folgenden Gruppen steht:

48

-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-S-CH₂-, -CH₂-NH-CH₂-, -CH₂-N(CH₃)-CH₂-, und

X für N-NO₂, N-CN oder CH-NO₂ steht, gegebenenfalls in Kombination mit einem oder mehreren weiteren Pflanzenschutzwirkstoffen behandelt werden.

- 5 7. Verfahren gemäß Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Chlornikotinylen um Imidacloprid, Clothianidin, Dinotefuran, Thiamethoxam, Thiacloprid, Acetamiprid oder Nitenpyram handelt.
8. Verfahren gemäß Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei dem Chlornikotinyl um Imidacloprid handelt.
- 10 9. Verfahren gemäß Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Pflanzen um Gerste, Tabak, Tomate, Weizen, Mais, Reis, Soja, Baumwolle, Raps, Kartoffel, Kohlrarten, Paprika, Aubergine, Gurke, Salat, Melone, Turf, Zitrus, Reben, Kaffee, Tee, Hopfen, Kernobst, Steinobst oder Beerenobst handelt.
10. Verfahren zum Schutz von Pflanzen vor Befall durch pilzliche, bakterielle oder virale Pathogene durch die Behandlung mit Chlornikotinylen.
- 15 11. Verfahren gemäß Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass die Pflanzen mit Imidacloprid behandelt werden.
12. Verwendung von Chlornikotinylen zum Schutz von Pflanzen vor Schädigung durch pilzliche, bakterielle oder virale Pathogene.
- 20 13. Verwendung von Chlornikotinylen gemäß Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass es sich bei den Chlornikotinylen um Imidacloprid, Clothianidin, Dinotefuran, Thiamethoxam, Thiacloprid, Acetamiprid oder Nitenpyram handelt.
14. Verwendung von Chlornikotinylen gemäß Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, dass das Chlornikotinyl Imidacloprid ist.
- 25 15. Verwendung von Imidacloprid gemäß Anspruch 14, gekennzeichnet dadurch, dass der Schutz vor Schädigung durch pilzliche, bakterielle oder virale Pathogene durch eine Induktion von PR Proteinen erfolgt.

AUMENTO DE DEFENSAS CONTRA AGENTES PATÓGENOS EN PLANTAS

La invención se refiere a un procedimiento para el aumento de las
5 defensas contra agentes patógenos en plantas.

Se sabe que las plantas antes condiciones de estrés naturales como, por ejemplo, frío, calor, sequedad, lesión, infestación por agentes patógenos (virus, bacterias, hongos, insectos), etc. pero también frente a herbicidas, reaccionan con mecanismos de defensa específicos e inespecíficos [Pflanzenbiochemie,
10 páginas 393 a 462, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlín, Oxford, Hans W. Heldt, 1996; Biochemistry and Molecular Biology of Plants, páginas 1102 a 1203, American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, eds. Buchanan, Gruissem, Jones, 2000]. A este respecto, por ejemplo, los componentes de pared celular que surgen por lesión o sustancias de señal
15 específicas que provienen de agentes patógenos sirven como inductores de cadenas de transducción de señal vegetales, que conducen al final a la formación de moléculas de defensa dirigidas contra el factor de estrés. En esto se puede tratar, por ejemplo, de (a) sustancias de bajo peso molecular como, por ejemplo, fitoalexina, (b) proteínas no enzimáticas como, por ejemplo,
20 "proteínas relacionadas con la patogénesis" (proteínas PR), (c) proteínas enzimáticas como, por ejemplo, quitinasas, glucanasas, o (d) de inhibidores específicos de proteínas esenciales como, por ejemplo, de inhibidores de la proteasa, inhibidores de xilanasas, que atacan directamente al agente patógeno o impiden su proliferación (Dangl y Jones, 2001, Nature 411: 826 a 833;
25 Kessler y Baldwin, 2003, Annual Review of Plant Biology, 53: 299 a 328).

Un mecanismo de defensa adicional es la denominada reacción hipersensible (HR), que es facilitada por estrés oxidativo y conduce a la desaparición de tejido vegetal en la zona de un área infectada, con lo que se impide una propagación de agentes patógenos vegetales que se aprovechan de las células vivas [Pennazio, 1995, New Microbiol. 18, páginas 229 a 240].

En otro transcurso de una infección se transmiten por sustancias mensajeras propias de la planta señales a tejidos no infestados, que conducen también ahí al desencadenamiento de reacciones de defensa e impiden la generación de infecciones secundarias (Systemic acquired resistance, SAR) [Ryals y col., 1996, The Plant Cell 8: 1809 a 1819].

Ya se conocen una serie de sustancias de señal endógenas de la planta que están involucradas en la tolerancia del estrés o en la defensa frente a agentes patógenos. Son de citar aquí, por ejemplo, ácido salicílico, ácido benzoico, ácido jasmónico o etileno [Biochemistry and Molecular Biology of Plants, páginas 850 a 929, American Society of Plant Physiologists, Rockville, Maryland, eds. Buchanan, Gruissem, Jones, 2000]. Algunas de estas sustancias o sus derivados sintéticos estables y estructuras derivadas son también efectivas en aplicación externa en plantas o desinfección de semillas y activan reacciones de defensa, que tienen como consecuencia un aumento de la tolerancia de la planta al estrés o a los agentes patógenos [Sembdner, y Parthier, 1993, Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 44: 569 a 589]. La defensa facilitada por salicilato se dirige especialmente contra hongos fitopatógenos, bacterias y virus [Ryals y col., 1996, The Plant Cell 8: 1809 a 1819].

Un producto sintético conocido que adopta una función comparable al

ácido salicílico y puede facilitar un efecto de protección contra hongos fitopatógenos, bacterias y virus, es benzotiadiazol (nombre comercial Bion®) [Achuo y col., 2004, Plant Pathology 53 (1): 65 a 72].

Otros compuestos que pertenecen al grupo de oxilipina como, por ejemplo, ácido jasmónico, y los mecanismos de protección desencadenados por ellos son especialmente efectivos contra insectos dañinos [Walling, 2000, J Plant Growth Regul. 19, 195 a 216].

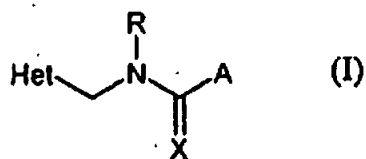
Por tanto se sabe que las plantas disponen de varios mecanismos de reacción endógenos que pueden provocar una defensa efectiva frente a organismos dañinos de lo más diverso (estrés biótico) y/o estrés abiótico natural.

Ya se sabe que se pueden usar insecticidas de cloronicotinilo para combatir parásitos animales, especialmente insectos. Además se sabe que el tratamiento de plantas con insecticidas del grupo de cloronicotinilos conduce a una resistencia elevada de la planta frente a estrés abiótico. Especialmente esto es válido para imidacloprid (Brown y col., 2004, Beltwide Cotton Conference Proceedings: 2231 a 2237. Esta protección se realiza influyendo sobre propiedades fisiológicas y bioquímicas de las células de la planta como, por ejemplo, mediante mejora de la estabilidad de la membrana, aumento de la concentración de hidratos de carbono, aumento de la concentración de poliol y actividad de antioxidantes (Gonias y col., 2004, Beltwide Cotton Conference Proceedings: 2225 a 2229).

Para el efecto de cloronicotinilos contra factores de estrés bióticos se encuentra en la bibliografía sólo indicaciones aisladas (Crop Protection (2000), 19(5), 349 a 354; Journal of Entomological Science (2002), 37(1), 101 a 112;

Annals of Biology (Hisar, India) (2003), 19(2), 179 a 181).

Los cloronicotinilos se pueden describir mediante la siguiente fórmula general (I)



5 en la que

Het representa un heterociclo sustituido respectivamente dado el caso una o varias veces con flúor, cloro, metilo o etilo, seleccionado del siguiente grupo de heterociclos:

10 pirid-3-ilo, pirid-5-ilo, 3-piridinio, 1-oxido-5-piridinio, 1-oxido-5-piridinio, tetrahidro-furan-3-ilo, tiazol-5-ilo,

A representa alquilo C₁-C₆, -N(R¹)(R²) o S(R²),
en las que

R¹ representa hidrógeno, alquilo C₁-C₆, fenil-alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₃-C₆, alquenilo C₂-C₆ o alquinilo C₂-C₆, y

15 R² representa alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, -C(=O)-CH₃ o bencilo,

R representa hidrógeno, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, -C(=O)-CH₃ o bencilo o junto con R² representa uno de los siguientes grupos:

20 -CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-S-CH₂-, -CH₂-NH-CH₂-, -CH₂-N(CH₃)-CH₂, y

X representa N-NO₂, N-CN o CH-NO₂,

Het representa con especial preferencia un heterociclo seleccionado del

siguiente grupo de heterociclos:

2-cloropirid-5-ilo, 2-metilpirid-5-ilo, 1-oxido-3-piridinio, 2-cloro-1-oxido-5-piridinio, 2,3-dicloro-1-oxido-5-piridinio, tetrahidrofuran-3-ilo, 5-metil-tetrahidrofuran-3-ilo, 2-clorotiazol-5-ilo,

5 A representa con especial preferencia $-N(R^1)(R^2)$,

R^1 representa con especial preferencia hidrógeno, metilo o etilo,

R^2 representa con especial preferencia metilo, etilo, n- o i-propilo, n-, i-, s- o t-butilo, etenilo, 1-propenilo, 2-propenilo, etinilo, 1-propinilo, 2-propinilo, $-C(=O)-CH_3$ o bencilo.

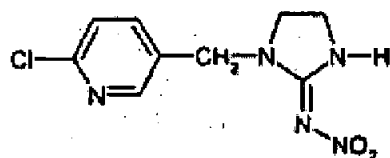
10 R representa con especial preferencia hidrógeno, metilo, etilo o $-C(=O)-CH_3$ o representa con especial preferencia junto con R^2 uno de los siguientes grupos:

$-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-CH_2-CH_2-$, $-CH_2-O-CH_2-$, $-CH_2-S-CH_2-$,

A esta clase de compuestos pertenecen, por ejemplo, los siguientes

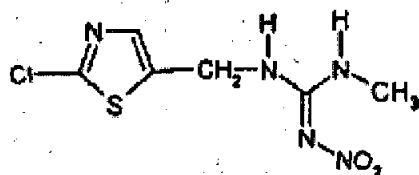
15 compuestos, en donde el listado no se tiene que entender como exhaustivo:

imidacloprid de fórmula (I)



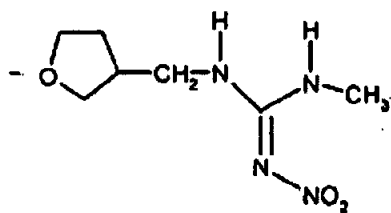
(I), véase el documento EP 0 192 060,

clotianidina de fórmula (II)



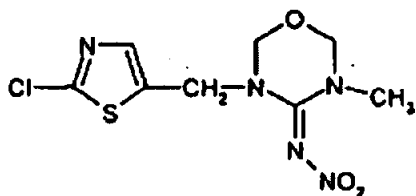
(II), véase el documento EP 0 376 279,

20 dinotefurano de fórmula (III)



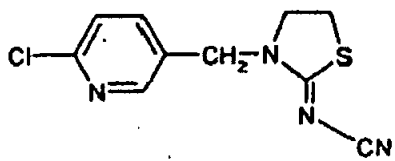
(III), véase el documento EP 0 649 845,

tiametoxam de fórmula (IV)



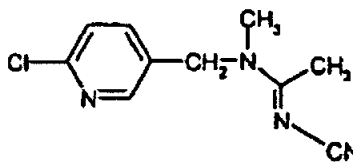
(IV), véase el documento EP 0 580 553,

tiacloprid de fórmula (V)



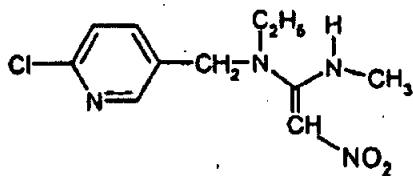
(V), véase el documento EP 0 235 725,

acetamiprid de fórmula (VI)



(VI), véase el documento WO 91/04965,

nitenpiram de fórmula (VII)



(VII), véase el documento EP 0 302 389.

10 Se ha encontrado ahora de forma sorprendente que los cloronicotinilos y especialmente imidacloprid conducen a un aumento en la expresión de los

genes del grupo de "proteínas relacionadas con patogénesis" (proteínas PR). Las proteínas PR protegen las plantas fundamentalmente en la defensa frente a factores de estrés bióticos como, por ejemplo, hongos fitopatógenos, bacterias y virus. Esto trae como consecuencia que las plantas estén mejor protegidas tras aplicación de imidacloprid frente a infecciones de hongos fitopatógenos, bacterias y virus. Se refuerza su efecto con uso necesario de fungicidas y bactericidas en mezcla así como también en aplicación secuencial con imidacloprid.

Definiciones de términos usados a continuación

- 10 El término "ADNc" (ADN complementario) como se usa en esta invención, describe una hebra simple de ADN, que es complementaria a un ARN, y que se sintetiza in vitro mediante una transcripción inversa enzimática. El ADNc puede corresponder bien a longitudes de ARN completo o bien representar sólo una secuencia parcial del ARN que sirve como matriz.
- 15 Con los términos "chip de ADN" y "micromatriz de ADN", que se usan como sinónimos en esta invención, se designa un soporte, cuyo material base se compone, por ejemplo, de vidrio o nylon, sobre cuyo material base están fijados fragmentos de ADN, en donde la incorporación del ADN puede realizarse, por ejemplo, mediante (a) un procedimiento fotolitográfico (el ADN
- 20 se sintetiza directamente sobre el soporte de la matriz), (b) un procedimiento de microlocalización (oligonucleótidos sintetizados externamente o productos de PCR se aplican sobre el soporte y se unen covalentemente), o (c) mediante un procedimiento de micropulverización (oligonucleótidos sintetizados externamente o productos de PCR se pulverizan con un impresor de tintas por
- 25 radiación sin contacto sobre los soportes) (R. Rauhut, Bioinformatik, páginas

197 a 199, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2001). Un chip de ADN que representa secuencias genómicas de un organismo se designa como "chip de ADN genómico". La evaluación de los valores de medida que se obtienen con ayuda de estos "chips de ADN" se designa como "análisis de chip de ADN".

- 5 El término "hibridación de chip de ADN", como se usa en esta invención, significa el emparejamiento de dos moléculas de ácido nucleico complementarias, de hebra simple, en donde uno de los asociados moleculares que se emparejan con bases está localizado como ADN (ácido desoxirribonucleico) sobre el chip de ADN en forma unida preferiblemente
- 10 covalente, mientras que la otra está presente en forma de ARN (ácido ribonucleico) o de ADNc que se corresponde con este (ADN complementario) en solución. La hibridación de los ácidos nucleicos unidos y no unidos se realiza sobre el chip de ADN en solución tampón acuosa, dado el caso en condiciones de desnaturalización adicionales como, por ejemplo, en presencia
- 15 de dimetilsulfóxido, a temperaturas de 30 a 60 °C, preferiblemente de 40 a 50 °C, con especial preferencia a 45 °C durante 10 a 20 horas, preferiblemente durante 14 a 18 horas, con especial preferencia durante 16 horas en movimiento constante. Las condiciones de hibridación se pueden mantener constantes, por ejemplo, en una estufa de hibridación. De forma convencional
- 20 se realizan en una estufa de hibridación de este tipo movimientos de 60 rpm (revoluciones por minuto).

Los términos "modelo de expresión", "modulo de inducción" o "perfil de expresión" usados como sinónimos, como se usan en esta invención, describen la expresión temporalmente diferenciada y/o específica del tejido de ARNm

25 vegetal, en donde el modelo se obtiene directamente mediante la intensidad

generada de la señal de hibridación del ARN obtenido de la planta o de su ADNc correspondiente con ayuda de la tecnología de chip de ADN. Los "valores de expresión" medidos resultan de la compensación directa con las señales correspondientes que se obtienen con uso de un chip sinónimo con
5 hibridación con una planta de control no tratada.

El término "estado de expresión" que se obtiene mediante el "perfil de la expresión génica" efectuado, como se usa en esta invención, describe la actividad de transcripción completa de genes celulares, que se mide con ayuda de un chip de ADN.

10 El término "ARN completo", como se usa en esta invención, describe la representación posible en base al procedimiento de disgregación aplicado de distintos grupos de ARN endógenos de plantas, que pueden estar presentes en una célula vegetal como, por ejemplo, ARNr citoplasmático (ARN ribosomal), ARNt citoplasmático (ARN de transferencia), ARNm citoplasmático (ARN
15 mensajero), así como sus precursores nucleares respectivos, ARNct (ARN cloroplastidial) y ARNmt (ARN mitocondrial), sin embargo este comprende también moléculas de ARN que pueden derivarse de organismos exógenos como, por ejemplo, de virus, o bacterias y hongos parasitarios.

El término "plantas útiles", como se usa en esta invención, designa
20 plantas de cultivo, que se usan como plantas para la obtención de alimentos, piensos o para fines industriales.

Los principios activos se pueden transformar en las formulaciones habituales como soluciones, emulsiones, polvos de pulverización, suspensiones basadas en agua y aceite, polvos, productos en polvo, pastas,
25 polvos solubles, gránulos solubles, gránulos de dispersión, concentrados de

suspensión-emulsión, sustancias naturales impregnadas con principio activo, sustancias sintéticas impregnadas con principio activo, fertilizantes, así como microencapsulaciones de sustancias poliméricas.

Estas formulaciones se preparan de modo conocido, por ejemplo, mediante mezclado de los principios activos con extensores, como disolventes líquidos y/o vehículos sólidos, dado el caso usando agentes tensioactivos, como agentes emulsionantes y/o agentes dispersantes y/o agentes espumantes. La preparación de formulaciones se realiza bien en equipos adecuados o también antes o durante el uso.

10 Como coadyuvantes pueden ser de uso aquellas sustancias que son adecuadas para conferir al propio agente y/o a preparaciones derivadas de este (por ejemplo, líquidos de pulverización, desinfectantes de semillas) propiedades especiales, como determinadas propiedades técnicas y/o también propiedades biológicas especiales. Como coadyuvantes típicos se tienen en
15 cuenta: extensores, disolventes y vehículos.

Como extensores son adecuados, por ejemplo, agua, líquidos químicos orgánicos polares y no polares, por ejemplo, de la clase de los hidrocarburos aromáticos y no aromáticos (como parafinas, alquilbencenos, alquilnaftalenas, clorobencenos), los alcoholes y polioles (que eventualmente pueden estar
20 sustituidos, eterificados y/o esterificados), las cetonas (como acetona, ciclohexanona), ésteres (también grasas y aceites) y (poli)éteres, las aminas simples y sustituidas, amidas, lactamas (como N-alquilpirrolidona) y lactonas, las sulfonas y sulfóxidos (como dimetilsulfóxido).

En caso de uso de agua como extensor se pueden usar, por ejemplo,
25 también disolventes orgánicos como disolventes auxiliares. Como disolventes

líquidos se tienen en cuenta esencialmente: compuestos aromáticos como xileno, tolueno o alquilnaftaleno, compuestos aromáticos clorados e hidrocarburos alifáticos clorados como clorobenceno, cloroetileno o cloruro de metileno, hidrocarburos alifáticos como ciclohexano o parafina, por ejemplo, 5 fracciones de petróleo, aceites minerales y vegetales, alcoholes como butanol o glicol, así como sus éteres y ésteres, cetonas como acetona, metiletilcetona, metilisobutilcetona o ciclohexanona, disolventes polares fuertes como dimetilsulfóxido, así como agua.

Se tienen en cuenta como vehículos sólidos:

- 10 por ejemplo, sales de amonio y polvos de rocas naturales como caolín, arcilla, talco, creta, cuarzo, atapulgita, montmorillonita o tierra de diatomeas y polvos de rocas sintéticos como sílice de alta dispersión, óxido y silicatos de aluminio; como vehículos sólidos para gránulos se tienen en cuenta: por ejemplo, rocas naturales rotas y fraccionadas como calcita, mármol, piedra pómez, sepiolita, 15 dolomita, así como gránulos sintéticos de polvos inorgánicos y orgánicos, así como gránulos de material orgánico como papel, serrín, cáscaras de coco, mazorcas de maíz y tallos de tabaco; como agentes emulsionantes y/o espumantes se tienen en cuenta: por ejemplo, agentes emulsionantes no ionogénicos y aniónicos como éster de ácido graso y polioxietileno, éteres de 20 alcohol graso y polioxietileno, por ejemplo, alquilaril-poliglicoléteres, alquilsulfonatos, alquilsulfatos, arilsulfonatos, así como hidrolizados de albúmina; como agentes de dispersión se tienen en cuenta sustancias no iónicas y/o iónicas, por ejemplo, de las clases de alcohol-POE- y/o POP-éteres, ésteres de ácido y/o de POP- POE, alquil-aril- y/o POP- POE-éteres, aductos 25 grasos y/o de POP- POE, derivados de POE- y/o POP-poliol, aductos de POE-

y/o POP-sorbitán o azúcar, sulfatos, sulfonatos y fosfatos de alquilo o arilo o los aductos de PO-éter correspondientes. Además de oligo- o polímeros adecuados, por ejemplo partiendo de monómeros vinílicos, de ácido acrílico, de EO y/o PO sólo o en combinación con, por ejemplo, (poli)-alcoholes o (poli)-
5 aminas. Además pueden ser de uso lignina y sus derivados de ácido sulfónico, celulosas simples y modificadas, ácidos sulfónicos aromáticos y/o alifáticos así como sus aductos con formaldehído.

Se pueden usar en las formulaciones adhesivos como carboximetilcelulosa, polímeros naturales y sintéticos en forma de polvo, grano
10 o látex, como goma arábiga, poli(alcohol vinílico), poli(acetato de vinilo), así como fosfolípidos naturales como cefalina y lecitina y fosfolípidos sintéticos.

Se pueden usar colorantes como pigmentos inorgánicos, por ejemplo, óxido de hierro, óxido de titanio, azul de ferrocianuro y colorantes orgánicos como colorantes de alizarina, azoicos y de metalftalocianina y oligonutrientes
15 como sales de hierro, manganeso, boro, cobre, cobalto, molibdeno y cinc.

Otros aditivos pueden ser sustancias aromáticas, aceites minerales o vegetales dado el caso modificados, ceras y sustancias nutritivas (también oligonutrientes), como sales de hierro, manganeso, boro, cobre, cobalto, molibdeno y cinc.

20 Además pueden estar contenidos estabilizadores como estabilizadores de frío, conservantes, agentes anti-oxidación, agentes fotoprotectores u otros agentes que mejoran la estabilidad química y/o física.

Las formulaciones contienen en general entre el 0,01 y el 98% en peso de principio activo, preferiblemente entre el 0,5 y el 90%.

25 El principio activo de acuerdo con la invención puede presentarse en sus

formulaciones comerciales, así como en las formas de aplicación preparadas a partir de estas formulaciones, mezclado con otros principios activos como insecticidas, feromonas, esterilizadores, bactericidas, acaricidas, nematocidas, fungicidas, sustancias reguladoras del crecimiento, herbicidas, agentes
5 protectores, fertilizantes o semioquímicos.

La invención se refiere al uso de cloronicotinilos para proteger plantas contra hongos, bacterias, virus. Los cloronicotinilos conducen independientemente de la lucha contra los insectos a una buena protección de la planta frente a daños por agentes patógenos fúngicos, bacterianos o víricos.

10 Son ventajas frente a otros procedimientos posibles las bajas cantidades de aplicación para conseguir esta protección, la elevada tolerancia en las plantas y los permisos existentes para el uso de cloronicotinilos en la agricultura. Además se puede conseguir con un principio activo una protección contra una pluralidad de agentes patógenos.

15 Para conseguir una protección frente a agentes patógenos se pueden tratar las plantas con principios activos individuales o con combinaciones de cloronicotinilos.

Además el efecto positivo descrito de los cloronicotinilos sobre las defensas propias de la planta se puede reforzar con un tratamiento adicional
20 con principios activos fungicidas o bactericidas.

En una forma de realización preferida se realiza esta protección con la inducción de proteínas PR como consecuencia del tratamiento con cloronicotinilos.

Son cloronicotinilos preferidos imidacloprid, clotianidina, dinotefurano,
25 tiametoxam, tiacloprid, acetamiprid y nitenpiram. Son cloronicotinilos

especialmente preferidos imidacloprid, tiacloprid, clotianidina y tiametoxam. Es muy especialmente preferido imidacloprid.

De forma especialmente preferida, se tratan plantas de acuerdo con la invención de las variedades de plantas respectivamente comerciales o que se encuentran en uso. Por variedades de plantas, se entienden plantas con nuevas propiedades ("rasgos"), que se cultivan tanto mediante cultivo convencional, mediante mutagénesis o mediante técnicas de ADN recombinante. En consecuencia, las plantas de cultivo pueden ser plantas que pueden obtenerse mediante procedimientos de cultivo y optimización convencionales o mediante procedimientos biotecnológicos y de tecnología genética o combinaciones de estos procedimientos, incluyendo las plantas transgénicas e incluyendo las variedades de plantas protegibles por el derecho de protección de variedades o las variedades de plantas no protegibles.

Son plantas preferidas cebada, tabaco, tomate, trigo, maíz, arroz, soja, algodón, colza, patata, especies de col, pimiento, berenjena, pepino, lechuga, melón, turba, cítricos, vid, café, té, lúpulo, frutas de pepita, frutas de hueso y bayas.

Se prefiere especialmente la cebada.

Los procedimientos de acuerdo con la invención son adecuados especialmente también para la aplicación en plantas transgénicas y en semillas transgénicas. Cloronicotinilos preferidos para esta aplicación son imidacloprid, clotianidina y tiametoxam. Es muy especialmente preferida para esta aplicación imidacloprid.

Son agentes patógenos preferidos *Phytophthora nicotianae*, *Peronospora tabacinae*, *Phytophthora infestans*, *Sphaerotheca fuliginea*,

Phakopsora pachyrhizi, *Ramularia gossypii*, *Rhizoctonia solani*, *Curvularia spec.*, *Pyrenophora spec.*, *Sclerotinia homoeocarpa*, *Erysiphe graminis*, *Colletotrichum graminicola*.

5 Momentos preferidos para la aplicación de cloronicotinilos para la defensa frente a agentes patógenos son tratamientos de semillas, suelo, soluciones nutritivas, cepas y/o hojas con las cantidades de aplicación permitidas.

Las cantidades de un cloronicotinilo para conseguir las propiedades de acuerdo con la invención se pueden variar en un amplio intervalo. Se prefieren
10 usar para conseguir el efecto de la invención concentraciones de 0,00001% a 0,05%, con especial preferencia de 0,000025% a 0,025% y con muy especial preferencia de 0,000025% a 0,005%. Si se usan mezclas la concentración de las combinaciones de principio activo se encuentran preferiblemente entre 0,000025% y 0,005%, con especial preferencia entre 0,00005% y 0,001%. En
15 cuanto a los valores dados se trata tanto previamente como en lo sucesivo de porcentajes en peso en tanto no se indique otra cosa.

El siguiente ejemplo describe la invención de forma detallada.

Ejemplo 1

Inducción de proteínas PR en cebada tras tratamiento con imidacloprid.

20 Se sembraron semillas de cebada (variedad Baronesse) en tiestos con tierra a profundidad de aproximadamente 2 cm (1250 g de tierra arcillosa arenoso/tiesto; humedad de la tierra regulada a 70% de la capacidad máxima de retención de agua) y se cultivaron en una cámara climatizada en condiciones de luz, humedad y temperatura definidas (15 h de luz blanca, 70%
25 de humedad ambiental, de 23 a 19 °C día/noche).

14 días después de la emergencia de las plantas de cebada se disolvieron 10 mg de imidacloprid por planta en 100 ml de agua con una pipeta para aplicar sobre la tierra en torno a la base del tallo. En los tiestos de control se aplicó el mismo volumen de agua sin principio activo. Tras el tratamiento de la tierra ya no se vertió sobre las plantas. En distintos momentos tras la aplicación (0,25; 1; 6; 8; 11; 13; 15; 16 y 17 días se recolectaron las hojas, se congelaron súbitamente en nitrógeno líquido y se conservaron hasta el procesamiento a -80 °C.

La preparación de las sondas de ARN marcadas para la hibridación del chip de ADN se realizó según los protocolos (Análisis de Expresión, manual técnico) de la compañía Affymetrix (Affymetrix Inc., 3380 Central Expressway, Santa Clara, CA, EEUU). Se aislaron de cada 500 mg de hojas recolectadas en primer lugar ARN completo. Se usaron de cada uno 10 µg de ARN completo para la síntesis de ADNc de primera y segunda hebra. El ADNc se amplificó con T7-polimerasa y a este respecto se marcó simultáneamente con Biotina-UTP. Se usaron 20 µg de este ADNc biotinilado para la hibridación de la matriz genómica de la cebada (Gene Chip Barley 1, número de pedido: 511012) de Affymetrix. Esta micromatriz de ADN contiene secuencias de ADN de 22840 genes, que se reúnen en un total de 400000 secuencias EST (etiquetas de secuencia expresadas). A continuación se lavaron las micromatrices de ADN en el equipo Fluidics Station de Affymetrix, se tiñieron con estreptavidina/ficoeritrina (muestras moleculares, P/N S-866) y se escanearon con el equipo Gene Chip Scanner 3000 de Affymetrix. Los datos de fluorescencia obtenidos se analizaron con el software Microarray Suite 5 de Affymetrix y el software Expressionist Pro de la compañía GeneData. Tras el

control de calidad subsiguiente se guardaron todos los análisis de chips de ADN en una base de datos. Debido a que el sistema Gen Chip de Affymetrix se basa en la medida de valores de expresión absolutos de los genes obtenidos, se promediaron respectivamente los valores de expresión de los replicados biológicos de plantas tratadas y no tratadas tras normalización subsiguiente (cálculo de mediana). Con ayuda del procedimiento estadístico ANOVA se identificaron los genes cuya expresión aumentó en las plantas tratadas con imidacloprid pero que se mantuvo relativamente constante en los controles no tratados. La recopilación de los grupos génicos de determinadas vías metabólicas, cadenas de transducción de señales o funciones se realizó mediante búsqueda de palabras clave en los registros facilitados por Affymetrix de genes y mediante asignación de genes a sus registros de ontología génica correspondientes (Gen Ontology Consortium).

Una revisión de grupos de genes de cadenas de transducción de señales y metabolismos que están relacionados con tolerancia al estrés y defensa frente a agentes patógenos aportó, entre otros, una fuerte inducción de genes para proteínas PR en plantas tratadas frente a plantas no tratadas (tabla 1 a 3).

Tabla 1

Gen de proteína relacionada con patogénesis, inducido por imidacloprid

Número de Affymetrix	Descripción de los genes
Contig2990_at	QUITINASA (EC 3.2.1.14)
Contig2788_x_at	PROTEÍNA TLP7 DE TIPO TAUMATINA
Contig2214_s_at	PROTEÍNA (HV-1A) RELACIONADA CON

	PATOGENESIS
Contig2209_at	PROTEINA (HV-1A) RELACIONADA CON PATOGENESIS
Contig_639_at	PRECURSOR DE PROTEINA RELACIONADA CON PATOGENESIS
Contig_2210_at	PRECURSOR 1 DE PROTEINA RELACIONADA CON PATOGENESIS
Contig17082_at	INHIBIDOR DE TRIPSINA
Contig2212_s_at	PROTEINA PRB1-3 RELACIONADA CON PATOGENESIS
Contig11773_at	REGULADOR DE FACTORES DE PATOGENICIDAD
Contig12046_at	PROTEINA 1 RELACIONADA CON PATOGENESIS
Contig4405_x_at	PROTEINA PR-10A RELACIONADA CON PATOGENESIS
HV_CEb0020C01r2_at	MUCINA B.1 INTEGUMENTARIA
Contig2550_x_at	PROTEINA 4 RELACIONADA CON PATOGENESIS
Contig2211_at	PRECURSOR DE PROTEINA RELACIONADA CON PATOGENESIS

Tabla 2a

Mediana de los datos de expresión brutos (respectivamente 3 replicados biológicos)

	0,25 días		1 día		6 días		8 días		11 días	
	Tratado	Tratado	Tratado	Tratado	Tratado	Tratado	Tratado	Tratado	No tratado	Tratado
Número de Affymetrix										
Contig2990_at	35,51	31,12	31,38	29,13	66,82	561,20	43,07	830,74	49,01	664,56
Contig2788_x_at	90,09	71,22	47,02	70,44	445,30	5432,88	989,41	7952,61	1940,45	12190,31
Contig2214_s_at	96,03	86,29	39,68	44,68	338,95	3322,93	433,24	4807,28	479,17	4463,75
Contig2209_at	239,67	187,60	106,74	153,35	489,30	4773,49	711,28	8173,99	711,11	8587,82
Contig_639_at	218,37	157,66	41,56	38,68	289,31	2482,57	269,13	3944,01	479,62	4273,57
Contig_2210_at	241,38	143,08	61,60	78,12	866,31	6881,20	1017,88	8961,17	1460,36	7946,25
Contig17082_at	173,51	161,42	182,26	162,50	197,68	745,06	230,64	853,21	250,42	911,63
Contig2212_s_at	165,29	153,25	137,70	135,85	363,79	3508,08	382,89	3936,08	430,16	3866,40
Contig11773_at	187,82	175,49	71,90	70,99	194,41	1513,72	191,42	2102,86	212,15	1580,30
Contig12046_at	85,31	76,89	57,89	46,22	121,37	786,00	184,88	1336,13	101,84	792,96
Contig4405_x_at	57,15	60,34	55,27	55,96	68,93	146,82	64,94	181,30	56,60	125,79
HV_CE0020C01r2_at	68,25	96,81	86,20	87,44	96,17	418,12	150,33	428,35	180,21	389,74
Contig2550_x_at	86,98	68,63	47,12	54,66	122,48	716,14	152,46	1121,61	126,26	771,21
Contig2211_at	217,60	223,31	221,83	206,49	263,78	824,50	252,07	928,65	290,17	868,02

67

Tabla 2b

Mediana de los datos de expresión brutos (respectivamente 3 replicados biológicos), continuación de tabla 2a

	13 días		15 días		16 días		17 días	
	Tratado	Tratado	Tratado	Tratado	Tratado	Tratado	Tratado	Tratado
Número de Affymetrix								
Contig2990_at	77,68	235,46	216,16	227,32	31,04	76,80	52,55	32,84
Contig2788_x_at	2083,35	4800,62	3248,12	4880,14	721,89	1836,52	998,31	1166,53
Contig2214_s_at	125,46	636,20	273,34	808,24	516,41	1241,52	756,38	472,04
Contig2209_at	287,59	1723,94	633,29	1689,29	823,13	2069,04	1406,75	888,58
Contig_639_at	132,32	1496,21	322,95	920,86	298,41	1300,36	416,44	1196,37
Contig_2210_at	426,37	1553,93	706,30	1970,04	845,77	2013,49	1627,64	1121,55
Contig17082_at	126,15	281,55	137,96	209,34	174,85	276,41	208,27	225,25
Contig2212_s_at	126,72	470,29	167,28	378,35	316,94	756,91	531,25	376,36
Contig11773_at	59,01	208,99	96,55	182,27	185,22	694,71	148,57	340,39
Contig12046_at	51,84	140,26	60,92	150,31	211,37	622,77	254,76	220,80
Contig4405_x_at	41,99	55,42	50,58	57,66	62,61	88,69	56,98	87,06
HV_CEB0020C01r2_at	107,82	180,00	175,74	170,35	132,88	161,77	191,56	106,72
Contig2550_x_at	48,92	150,42	112,63	162,60	145,82	389,62	190,59	174,42
Contig2211_at	166,66	296,99	221,25	252,25	231,97	340,97	267,64	219,24

Tabla 3

Factor de inducción = expresión (tratado) / expresión (no tratado) como
función del tiempo en días (d)

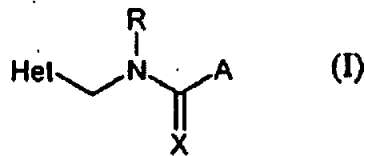
	0,25 d	1 d	6 d	8 d	11 d	13 d	15 d	16 d	17 d
Número Affymetrix									
Contig2990_at	0,9	0,9	8,4	19,3	13,6	3,0	1,1	2,5	0,6
Contig2788_x_at	0,8	0,7	12,2	8,0	6,3	2,3	1,5	2,5	1,2
Contig2214_s_at	0,9	0,5	9,8	11,1	9,3	5,1	3,0	2,4	0,6
Contig2209_at	0,8	0,6	9,8	11,5	12,1	6,0	2,7	2,5	0,6
Contig_639_at	0,7	0,3	8,6	14,7	8,9	11,3	2,9	4,4	2,9
Contig_2210_at	0,6	0,4	7,9	8,8	5,4	3,6	2,8	2,4	0,7
Contig17082_at	0,9	1,1	3,8	3,7	3,6	2,2	1,5	1,6	1,1
Contig2212_s_at	0,9	0,9	9,6	10,3	9,0	3,7	2,3	2,4	0,7
Contig11773_at	0,9	0,4	7,8	11,0	7,4	3,5	1,9	3,8	2,3
Contig12046_at	0,9	0,8	6,5	7,2	7,8	2,7	2,5	2,9	0,9
Contig4405_x_at	1,1	0,9	2,1	2,8	2,2	1,3	1,1	1,4	1,5
HV_CEB0020C01r2_at	1,4	0,9	4,3	2,8	2,2	1,7	1,0	1,2	0,6
Contig2550_x_at	0,8	0,7	5,8	7,4	6,1	3,1	1,4	2,7	0,9
Contig2211_at	1,0	1,0	3,1	3,7	3,0	1,8	1,1	1,5	0,8

Habiéndose descrito la presente invención como antecede, se declara como propiedad lo contenido en las siguientes

REIVINDICACIONES

5

1. Uso de al menos un compuesto seleccionado de la clase de los cloronicotinilos de fórmula (I)



en la que

- 10 Het representa un heterociclo sustituido respectivamente dado el caso una o varias veces con flúor, cloro, metilo o etilo, seleccionado del siguiente grupo de heterociclos:

pirid-3-ilo, pirid-5-ilo, 3-piridinio, 1-oxido-5-piridinio, 1-oxido-5-piridinio, tetrahidrofuran-3-ilo, tiazol-5-ilo,

- 15 A representa alquilo C₁-C₆, -N(R¹)(R²) o S(R²),

en las que

R¹ representa hidrógeno, alquilo C₁-C₆, fenil-alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₃-C₆, alquenilo C₂-C₆ o alquinilo C₂-C₆, y

R² representa alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, -C(=O)-CH₃ o bencilo,

20

- R representa hidrógeno, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, -C(=O)-CH₃ o bencilo o junto con R² representa uno de los siguientes grupos:

-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-S-CH₂-, -CH₂-NH-CH₂-, -CH₂-N(CH₃)-CH₂, y

- X representa N-NO₂, N-CN o CH-NO₂, dado el caso en combinación con uno o varios de otros principios activos de protección de plantas para el aumento de las defensas propias de la planta.

2. Uso de al menos un compuesto seleccionado de la clase de los cloronicotinilos de fórmula (I) según la reivindicación 1, caracterizado porque los cloronicotinilos se tratan de imidacloprid, clotianidina, dinotefurano, tiametoxam, tiacloprid, acetamiprid o nitenpiram.

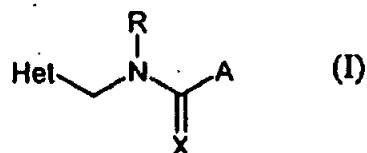
3. Uso de al menos un compuesto seleccionado de la clase de los cloronicotinilos de fórmula (I) según la reivindicación 2, caracterizado porque el cloronicotínilo se trata de imidacloprid.

4. Uso de al menos un compuesto seleccionado de la clase de los cloronicotinilos de fórmula (I) según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado porque las plantas son transgénicas.

5. Uso de al menos un compuesto seleccionado de la clase de los cloronicotinilos de fórmula (I) según la reivindicación 1 para la protección de plantas frente a factores de estrés bióticos.

6. Procedimiento para la inducción de proteínas PR en plantas mediante el tratamiento de las plantas con cloronicotinilos, caracterizado porque se tratan

plantas con al menos un compuesto seleccionado de la clase de los cloronicotinilos de fórmula (I),



en la que

- 5 Het representa un heterociclo sustituido respectivamente dado el caso una o
varias veces con flúor, cloro, metilo o etilo, seleccionado del siguiente
grupo de heterociclos:
pirid-3-ilo, pirid-5-ilo, 3-piridinio, 1-oxido-5-piridinio, 1-oxido-5-piridinio,
tetrahidrofuran-3-ilo, tiazol-5-ilo,
- 10 A representa alquilo C₁-C₆, -N(R¹)(R²) o S(R²),
en las que
R¹ representa hidrógeno, alquilo C₁-C₆, fenil-alquilo C₁-C₄,
cicloalquilo C₃-C₆, alquenilo C₂-C₆ o alquinilo C₂-C₆, y
R² representa alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, -C(=O)-
15 CH₃ o bencilo,
- R representa hidrógeno, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, -
C(=O)-CH₃ o bencilo o junto con R² representa uno de los siguientes
grupos:
-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-S-CH₂-, -CH₂-NH-CH₂-,
20 -CH₂-N(CH₃)-CH₂, y
- X representa N-NO₂, N-CN o CH-NO₂, dado el caso en combinación con
uno o varios de otros principios activos de protección de plantas.

7. Procedimiento según la reivindicación 6, caracterizado porque los cloronicotinilos se tratan de imidacloprid, clotianidina, dinotefurano, tiametoxam, tiacloprid, acetamiprid o nitenpiram.
- 5 8. Procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado porque el cloronicotínilo se trata de imidacloprid.
9. Procedimiento según la reivindicación 6, caracterizado porque las plantas se tratan de cebada, tabaco, tomate, trigo, maíz, arroz, soja, algodón, 10 colza, patata, especies de col, pimiento, berenjena, pepino, lechuga, melón, turba, cítricos, vid, café, té, lúpulo, frutas de pepita, frutas de hueso o bayas.
10. Procedimiento para la protección de plantas frente a infestación por agentes patógenos fúngicos, bacterianos o víricos mediante el tratamiento con 15 cloronicotinilos.
11. Procedimiento según la reivindicación 10, caracterizado porque las plantas se tratan con imidacloprid.
- 20 12. Uso de cloronicotinilos para la protección de plantas frente al daño por agentes patógenos fúngicos, bacterianos o víricos.
13. Uso de cloronicotinilos según la reivindicación 12, caracterizado porque los cloronicotinilos se tratan de imidacloprid, clotianidina, dinotefurano, 25 tiametoxam, tiacloprid, acetamiprid o nitenpiram.

14. Uso de cloronicotinilos según la reivindicación 12, caracterizado porque el cloronicotinilo es imidacloprid.
- 5 15. Uso de imidacloprid según la reivindicación 14, caracterizado porque la protección frente al daño por agentes patógenos fúngicos, bacterianos o víricos se realiza mediante una inducción de proteínas PR.

AUMENTO DE DEFENSAS CONTRA PATÓGENOS EN PLANTAS

Resumen

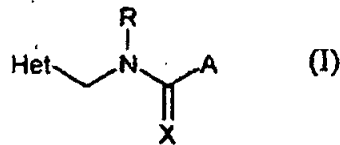
5

La invención se refiere a un procedimiento para el aumento de defensas propias de la planta mediante el tratamiento con cloronicotinilos. Los cloronicotinilos conducen independientemente de combatir insectos a una buena protección de la planta frente a daños por agentes patógenos fúngicos, 10 bacterianos o víricos. La defensa contra agentes patógenos se realiza mediante inducción de proteínas PR como consecuencia del tratamiento con al menos un cloronicotínilo.

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIVISION DE NUEVAS CREACIONES EXTRACTO PARA PUBLICACIÓN SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION PCT	
(21) N° de solicitud: 22) Fecha de solicitud: (30) Prioridad (31) No. Prioridad (32) Fecha (33) Pais 10 2005 045 174.8 21-09-05 DE		(51) Int Cl: (71) Solicitante(s) BAYER CROPSCIENCE AG (72) Inventor(es) THIELERT, Wolfgang; ANDERSCH, Wolfram; ECKES, Peter BENTING, Jürgen (74) Apoderado: JAIME EDUARDO DELGADO VILLEGAS	
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 21-04-2008 (86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT Fecha de presentación de la solicitud: 19 -09 - 06 No. de solicitud PCT/EP2006/009072		(87) Publicación Internacional Fecha: 29-03 - 07 Fecha (dd/mm/aa) N° publicación: WO2007/033810 A2	
(54) Titulo: AUMENTO DE DEFENSAS CONTRA AGENTES PATÓGENOS EN PLANTAS			

Resumen - Reivindicación(es):

Uso de al menos un compuesto seleccionado de la clase de los cloronicotinilos de fórmula (I)



en la que

Het representa un heterociclo sustituido respectivamente dado el caso una o varias veces con flúor, cloro, metilo o etilo, seleccionado del siguiente grupo de heterociclos:
pirid-3-ilo, pirid-5-ilo, 3-piridinio, 1-oxido-5-piridinio, 1-oxido-5-piridinio, tetrahidrofuran-3-ilo, tiazol-5-ilo,

A representa alquilo C₁-C₆, -N(R¹)(R²) o S(R²),
en las que

R¹ representa hidrógeno, alquilo C₁-C₆, fenil-alquilo C₁-C₄, cicloalquilo C₃-C₆, alquenilo C₂-C₆ o alquinilo C₂-C₆, y

R² representa alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, -C(=O)-CH₃ o bencilo,

R representa hidrógeno, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, -C(=O)-CH₃ o bencilo o junto con R² representa uno de los siguientes grupos:

-CH₂-CH₂-, -CH₂-CH₂-CH₂-, -CH₂-O-CH₂-, -CH₂-S-CH₂-, -CH₂-NH-CH₂-, -CH₂-N(CH₃)-CH₂, y

X representa N-NO₂, N-CN o CH-NO₂, dado el caso en combinación con uno o varios de otros principios activos de protección de plantas para el aumento de las defensas propias de la planta.

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-029232- -00000-0000

Fecha: 2008-03-25 15:01:37 Dep: 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTE/II Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 80

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 08 - 22,576
FECHA : MARZO 14 DE 2008

80
CONTRA AGENTES

Este recibo debe ser utilizado
únicamente para trámites de
MARIO DELGADO ECHEVERRY
AUMENTO DE DEFENSAS
PAT 06009 EP 2008/009072
EN PLANTAS

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
MARIO DELGADO ECHEVERRY	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	1483123	14/03/2008	10,571,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	501,000.00
		TOTAL :	\$ 501,000.00

SON: QUINIENTOS UN MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 08-029232- -00000-0000

Fecha: 2008-03-25 15:01:37
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACIONE
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 80



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- ◆ Indicación de que se solicita la concesión de 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 ☒

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de 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 ☐

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado ☐
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☐
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado ☐
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

Claudia M Nava Cortes
Firma Responsable

Fecha _____

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10
Commutador: 3 82 08 40
Fax: 350 52 20
E-mail: info@slc.gov.co
www.slc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
DELGADO VILLEGAS JAIME EDUARDO

REFERENCIA	Radicación No.	08 29232
	Solicitud internacional	PCT/EP2006/009072
	Fecha inicio fase nacional	21/04/2005
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	6747

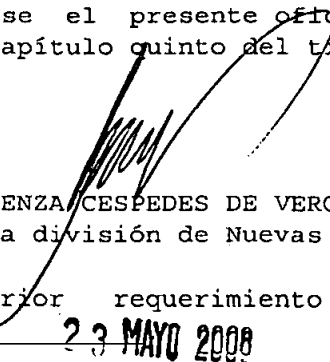
Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k) Decisión 486.

2. La solicitud no contiene el poder debidamente otorgado, con el lleno de los requisitos exigidos por los artículos 63 y subsiguientes del Código de Procedimiento Civil. Adicionalmente, deberá presentar el documento que acredita la existencia y representación legal de la sociedad solicitante, cuando ésta fuere persona jurídica.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Unica No.10 de 2001.


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 23 MAYO 2008
jfernand

88