

MÉTODOS BIOLÓGICOS PARA CONTROLAR HONGOS FITOPATOGÉNICOS

[0001] La presente invención está relacionada con métodos para controlar hongos fitopatogénicos usando agentes de control biológicos. Más específicamente, la invención está relacionada con métodos para controlar hongos fitopatogénicos con un período de incubación prolongado. En particular, los métodos según la invención son apropiados para controlar el agente causal del oídio en la vid, el hongo *Erysiphe necator*.

ANTECEDENTES

[0002] Para controlar las enfermedades fúngicas, se han desarrollado y comercializado diversas soluciones químicas sintéticas. Sin embargo, existe una demanda creciente de los consumidores por productos alimenticios sometidos a menos tratamientos con productos químicos sintéticos durante su producción. Para satisfacer esta demanda, se están desarrollando agentes de control biológico.

[0003] En general, a los cultivadores se les recomienda aplicar la mayoría de los agentes de control biológico con actividad fungicida sobre las plantas de cultivo antes del surgimiento de cualquier enfermedad, es decir, antes de la observación visual de síntomas.

[0004] Sin embargo, numerosos hongos fitopatogénicos tienen períodos de incubación prolongados, es decir, los síntomas visibles de la enfermedad aparecen varias semanas después de la infección de las plantas por los hongos. Por ende, una aplicación previa a la observación visual de síntomas puede no corresponder al momento de aplicación óptimo, ya que la

enfermedad puede estar instalada en las plantas en ausencia de síntomas visibles.

[0005] El oídio causado por *Erysiphe necator* (también conocido como *Uncinula necator*) es una de las enfermedades más extendidas en la vid (*Vitis vinifera* L.) en todo el mundo. *Erysiphe necator* es un ascomiceto y un hongo biotrófico obligatorio, lo que implica que su crecimiento y su reproducción dependen totalmente del anfitrión (frutos y hojas). *Erysiphe necator* es un hongo fitopatogénico con un período de incubación prolongado, que puede durar varias semanas.

[0006] En WO 00/58442 se indica que la cepa biológica QST2808 de *Bacillus pumilus* (también denominada NRRL N° B-30087) presenta actividad sobre determinadas enfermedades de las plantas. Más específicamente, se ha demostrado que la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus* puede controlar el oídio provocado por *Erysiphe necator* en la vid cuando se la evalúa bajo condiciones experimentales controladas, donde el patógeno y los tratamientos se aplican concomitantemente. Así, se ha comprobado que la cepa biológica QST2808 de *Bacillus pumilus* puede controlar el oídio provocado por *Erysiphe necator* en la vid, pero no se ha establecido si el control podría ser más o menos eficaz en función de la etapa de infestación de la vid. Por consiguiente, a partir de WO 00/58442 se ha supuesto que la capacidad de la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus* de controlar *Erysiphe necator* es similar con cualquier nivel de infestación, y que la eficacia del tratamiento es idéntica en cualquier momento de la infestación.

[0007] Los presentes inventores determinaron que los agentes de control biológico controlan mejor los hongos con períodos de incubación prolongados

cuando se los aplica en el inicio del período de incubación. Más particularmente, comprobaron que la cepa biológica QST2808 de *Bacillus pumilus* controla mucho mejor el oídio provocado por *Erysiphe necator* en la vid bajo condiciones de campo cuando se la aplica durante la primera etapa del período de incubación del hongo. Se realizaron observaciones idénticas para otros agentes de control biológico. Se ha sugerido que estos agentes de control biológico funcionan mejor antes de la infestación, es decir, antes de que los primeros síntomas de la enfermedad se tornen visibles en la vid. Sin embargo, la aplicación de un producto antes de la observación de una infestación asociada a una enfermedad es un desafío para los cultivadores de plantas, ya que hay pocas herramientas disponibles más allá de la observación de los primeros síntomas en las plantas en sus campos o los campos vecinos. Cuando los cultivadores deben enfrentar infestaciones de hongos con períodos de incubación prolongados, la aplicación de un agente de control biológico antes de la observación visual de los síntomas puede ocurrir demasiado tarde para obtener una eficacia óptima si los hongos ya están en una etapa de infestación correspondiente a la etapa final del período de incubación, es decir, cuando los hongos ya están instalados en el cultivo. Además, los tratamientos son costosos para los cultivadores, por lo que prefieren aplicar uno solo cuando están convencidos de la necesidad de hacerlo. De hecho, la aplicación de un tratamiento en ausencia de cualquier signo visible puede resultar inútil, al no haber infestaciones en el campo, o puede dar como resultado un tratamiento demasiado anticipado del campo, que puede perderse a causa de la lluvia, antes de cualquier infestación.

[0008] Estos riesgos son incluso mayores cuando se desea tratar una enfermedad causada por un hongo con un período de incubación prolongado, por ejemplo, *Erysiphe necator* en la vid. De hecho, los síntomas provocados por *Erysiphe necator* en la vid, al igual que los de la mayoría de los hongos con períodos de incubación prolongados, solamente se tornan visibles al ojo humano varias semanas después de la infestación real de las plantas. Por ende, para los cultivadores resulta difícil evaluar si sus vides están realmente infectadas antes de la observación visual de cualquier síntoma, pero cuando los síntomas se tornan visibles, la infestación ya está instalada en las plantas infectadas. Se sabe que los agentes de control biológico como la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus* todavía pueden ser eficaces si se los aplica apenas se tornan visibles los primeros síntomas en algunas plantas de vid en el campo. En general, los productores recolectan información de los campos vecinos, junto con datos del clima, para evaluar el riesgo de infección. Cuando se han observado síntomas visibles en campos vecinos y las condiciones climáticas corresponden a las favorables para el desarrollo del hongo, consideran que su propio campo y sus cultivos están en riesgo de infestación. Sin embargo, para hongos como *Erysiphe necator*, esta etapa generalmente corresponde a una situación de infección concreta del cultivo por el hongo, que ya está en una etapa tardía de su período de incubación y puede provocar daños en las plantas, de modo tal que pronto podrán observarse síntomas visibles.

[0009] Para intentar mejorar la capacidad del cultivador de determinar si una vid está infectada por un hongo con un período de incubación prolongado antes de la aparición de síntomas visibles, posiblemente para aplicar un tratamiento con

anticipación, se han desarrollado determinadas de detección precisas como la qPCR, con la cual pueden detectarse cantidades muy pequeñas de hongos en las plantas. Estas herramientas se describen, por ejemplo, en WO2017/009251 para el hongo *Erysiphe necator*.

[0010] Sin embargo, aunque se sabe que la cepa biológica QST2808 de *Bacillus pumilus* es más eficaz antes de la infestación de *Erysiphe necator*, es decir, antes de la observación de los primeros síntomas visibles en el campo, con relación a lo que ocurre cuando una infestación ya es visible en la mayoría de las plantas en el campo, no hay evidencia de que un tratamiento con el mismo producto aplicado mucho antes en el proceso de infestación resulte tan eficaz.

[0011] Usando herramientas de detección precisas, los inventores determinaron que los agentes de control biológico como la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus* son incluso más eficaces cuando se los aplica muy temprano en el proceso de infestación de *Erysiphe necator*, por lo que con un método donde se emplearan herramientas de detección precisas para aplicar un tratamiento en la etapa inicial de la infestación podría optimizarse la eficacia de productos como la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus*. Se considera que este descubrimiento podría aplicarse de manera similar al tratamiento con agentes de control biológico para otras enfermedades causadas por hongos con períodos de incubación prolongados.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

[0012] En la presente invención se provee un método para controlar un patógeno fúngico de plantas con un período de incubación prolongado usando un agente de control biológico, que comprende aplicar una cantidad eficaz del

agente de control biológico sobre la planta cuando la infección del patógeno fúngico de plantas está en el inicio del período de incubación.

[0013] Asimismo, para un campo de cultivo con varios cientos o miles de plantas, en la invención se provee un método para controlar un patógeno fúngico de plantas con un período de incubación prolongado con un agente de control biológico, que comprende aplicar una cantidad eficaz del agente de control biológico sobre el campo de cultivo cuando la infección del patógeno fúngico de plantas en el campo de cultivo está en promedio en el inicio del período de incubación.

[0014] En las enfermedades infecciosas, el “período de incubación” es el tiempo que transcurre desde el momento donde huésped se infecta con un patógeno hasta el momento donde los primeros síntomas se tornan visibles. En el caso de los patógenos fúngicos de plantas, el período de incubación corresponde al tiempo que transcurre desde el momento donde las plantas huésped (para una relación determinada entre huésped y patógeno) toman contacto con el patógeno hasta el momento donde los primeros síntomas de la enfermedad se tornan observables en determinadas partes de las plantas. Para los patógenos de plantas, se considera que este período de incubación generalmente corresponde a un período durante el cual el patógeno se multiplica en la superficie de determinadas partes de las plantas (por ejemplo, hojas, raíces, frutos), penetra en estas partes de plantas usando órganos de infestación especiales (haustorios), crece entre las células de las plantas y se alimenta con ellas hasta un punto donde el deterioro biológico causado por la infestación da como resultado síntomas específicos que se tornan visibles para el ojo humano en las partes de las plantas infectadas. Por lo tanto, ha de comprenderse que

los síntomas visibles no son parte del período designado como período de incubación, y que el momento de su observación de hecho es el final del período de incubación. El momento donde las plantas huésped toman contacto con el patógeno suele denominarse etapa de infección, y puede consistir en el contacto físico entre un único cuerpo infeccioso del patógeno y una parte de una planta. Para los patógenos fúngicos, este cuerpo infeccioso único suele ser un cuerpo reproductor y propagativo, por ejemplo, una espora. Los síntomas pueden adoptar diversas formas dependiendo de la relación considerada entre huésped y patógeno, desde síntomas que afectan el crecimiento de las plantas (desarrollo deficiente o excesivo de determinados órganos, alteración de la apariencia normal, por ejemplo, manchas en las hojas, bandas en las venas, distorsión en las hojas, presencia de micelios o esporas) hasta necrosis en determinadas partes de las plantas (perforaciones y putrefacción). En Sambamurty (2006), Textbook of plant pathology, IK International Pvt. Ltd., 416p, se proveen ejemplos de síntomas de determinadas relaciones entre plantas y patógenos.

[0015] Un patógeno fúngico de plantas con un período de incubación prolongado es un hongo patogénico de determinadas plantas cuyo período de incubación dura varios días, preferiblemente varias semanas. Más preferiblemente, un patógeno fúngico de plantas con un período de incubación prolongado es un hongo cuyo período de incubación es de al menos una semana, al menos dos semanas, al menos tres semanas, más preferiblemente al menos un mes. El período de incubación depende en gran medida del patógeno y las plantas huésped infectadas, pero también puede estar influido por factores ambientales como la temperatura, la luz diurna o la humedad. Por

consiguiente, el período de incubación de un patógeno en una planta determinada es un valor promedio. Un período de incubación prolongado promedio es un período de incubación de entre aproximadamente 2 semanas y aproximadamente 16 semanas, más precisamente entre aproximadamente 2 semanas y aproximadamente 12 semanas, entre aproximadamente 2 semanas y aproximadamente 8 semanas, entre aproximadamente 2 semanas y aproximadamente 4 semanas o entre aproximadamente 3 semanas y aproximadamente 4 semanas.

[0016] Los ejemplos no limitativos de patógenos fúngicos de plantas con períodos de incubación prolongados abarcan el oídio de la vid (*Erysiphe necator*), el moho gris (*Botrytis cinerea*), la mancha de las hojas de *Septoria* (*Mycosphaerella graminicola*) y la mancha de *Septoria nodorum* (*Phaeosphaeria nodorum*).

[0017] Según el método de la invención, el agente de control biológico se aplica sobre las plantas o el campo de cultivo cuando la infección del patógeno fúngico está en el inicio del período de incubación. Ha de comprenderse que, para un patógeno fúngico particular, se considera que la infección está en el inicio del período de incubación durante un período que se extiende desde el momento donde algunos cuerpos infecciosos del patógeno fúngico (por ejemplo, sus esporas) toman contacto con las plantas huésped hasta el momento donde el hongo comienza a crecer en la superficie de las plantas. Debido a que estos acontecimientos no son visibles para el ojo humano, se necesitan determinados medios de detección para identificar el momento donde la infección del patógeno fúngico de plantas está en el inicio del período de incubación. Puede hallarse una descripción de diversos medios de

detección apropiados en P. Narayanasamy, 2011, 2011, Microbial Plant Pathogens – Detection and Disease Diagnosis: Fungal Pathogens, volumen 1, editado por Springer Science+Business Media, 5-199.

[0018] Un método de detección preferido es la qPCR, que se describe, por ejemplo, en las Solicitudes de Patentes Internacionales PCT WO95/29260 o WO2017/009251.

[0019] Independientemente del método de detección usado, la determinación de que la infección del patógeno fúngico de plantas está en el inicio del período de incubación puede depender de diversos factores, por lo cual puede evaluarse con diversos métodos.

[0020] Preferiblemente, la determinación del nivel de infección de un patógeno fúngico en una planta se realiza en un campo de cultivo. En esta situación, el nivel de infección se determina estadísticamente, mediante el muestreo y la evaluación aleatorios de una cantidad determinada de plantas en todo el campo. La cantidad de muestras tomadas depende de la cantidad total de plantas en el campo. Con métodos estadísticos, pueden evaluarse muestras con un tamaño representativo de todo el campo. El muestreo aleatorio puede realizarse recolectando material de al menos 10 plantas, al menos 20 plantas, al menos 50 plantas o al menos 100 plantas. Las partes de las plantas recolectadas dependen de la naturaleza del cultivo que se desarrolla en el campo, pero también del patógeno que se desea evaluar. Algunos patógenos fúngicos solamente afectan determinadas partes de las plantas. Cuando se desea determinar si hay una infección temprana del oídio de la vid *Erysiphe necator* en el campo, preferiblemente se recolectan hojas como material, preferiblemente antes de la floración de las plantas. Según este método de

muestreo, se considera que una infección está en el inicio del período de incubación cuando, después de evaluar el patógeno fúngico usando un método de detección apropiado, se determina que hay menos de 50% de muestras infectadas, preferiblemente menos de 40%, 30%, 20% o 10%, más preferiblemente menos de 5%, e incluso más preferiblemente menos de 1%.

[0021] En determinadas situaciones, puede ser necesario determinar el nivel de infección en plantas individuales. En estas determinaciones, se prefieren herramientas de detección útiles para medir cuantitativamente el nivel de infección de un patógeno fúngico. En estos casos, el muestreo puede realizarse en diversas partes de las plantas, dependiendo también de la naturaleza de las plantas y el patógeno fúngico que se desea evaluar. Cuando se realizan mediciones cuantitativas, el nivel de infección correspondiente al inicio del período de incubación depende en gran medida del método de detección usado. Sin embargo, puede considerarse que un parámetro correspondiente a un nivel de infección en el inicio del período de incubación es un nivel de detección bajo. Por consiguiente, en función de la planta y el patógeno fúngico evaluados y los métodos de detección usados, aquellos versados en la técnica han de saber cuáles parámetros considerar para establecer que el nivel de infección está en el inicio del período de incubación.

[0022] Por consiguiente, en la invención también se provee un método para controlar una infestación de un patógeno fúngico con un período de incubación prolongado en una planta usando un agente de control biológico, que comprende los siguientes pasos:

- (a) determinar la etapa de infección del patógeno fúngico en la planta antes de la observación de cualquier síntoma visible usando un medio de detección apropiado para el patógeno fúngico en cuestión;
- (b) si en el paso (a) se determina que la infección del patógeno fúngico de plantas está en el inicio del período de incubación, aplicar una cantidad eficaz del agente de control biológico sobre la planta.

[0023] Además de usar métodos de detección, puede tenerse en cuenta información adicional asociada a un riesgo de infección por el patógeno fúngico para determinar si el nivel de infección está en el inicio del período de incubación o para establecer el momento ideal para evaluar el nivel de infección con cualquier método de detección. De hecho, se sabe que una infección de patógenos fúngicos depende de factores ambientales como la higrometría, la temperatura del aire o la luz diurna. Además, la información sobre el estado de una infección de un patógeno fúngico en campos vecinos puede ser relevante para determinar el riesgo de infección en un campo determinado. Esta información adicional puede usarse para determinar el riesgo de infección en un campo y establecer el momento óptimo para evaluar el nivel de infección usando un medio de detección apropiado. Como consecuencia, se considera que cuando la información adicional para un patógeno fúngico determinado concuerda con la determinación de un riesgo de infección inminente en un campo determinado, resulta apropiado evaluar el nivel de infección real en el campo usando cualquier método de detección apropiado. La información adicional relevante para un patógeno fúngico y un cultivo determinados puede adquirirse con medios apropiados disponibles para aquellos versados en la técnica, que también pueden interpretar la información

adicional para determinar el riesgo de infección en un campo determinado. Esta información adicional también puede recopilarse de diversas fuentes e introducirse en una herramienta digital que comprende uno o más programas informáticos útiles para calcular el riesgo de infección en un campo determinado.

[0024] Por consiguiente, en la invención también se provee un método para controlar una infestación de un patógeno fúngico de plantas con un período de incubación prolongado en un campo de cultivo usando un agente de control biológico, que comprende los siguientes pasos:

- (a) determinar si el campo de cultivo está en riesgo de infección por el patógeno fúngico de plantas en función de parámetros asociados al desarrollo del patógeno fúngico de plantas, para luego usar la información resultante de esta determinación en el cálculo de la probabilidad de que el patógeno se desarrolle en el campo de cultivo;
- (b) si mediante la determinación en el paso (a) se establece que el campo de cultivo está en riesgo, determinar la etapa de infección del patógeno fúngico de plantas en el campo antes de la observación de cualquier síntoma visible usando un medio de detección apropiado para el patógeno fúngico en cuestión;
- (c) si mediante la determinación en el paso (a) se establece que la infección del patógeno fúngico de plantas está en el inicio del período de incubación, aplicar una cantidad eficaz del agente de control biológico sobre el campo.

[0025] Según una forma de realización particular, en la invención se provee un método para controlar el patógeno causal del oídio en la vid usando un agente de control biológico, que comprende aplicar una cantidad eficaz del agente de control biológico sobre la vid cuando la infección del patógeno fúngico está en

el inicio del período de incubación. El oídio en la vid es causado por el hongo *Erysiphe necator* (también conocido como *Uncinula necator*). Este hongo afecta diversas variedades de vid o cultivares de la especie *Vitis vinifera* L.

[0026] Según se lo emplea en la presente, el término “control” esencialmente hace referencia a la reducción de la capacidad de crecer o desarrollarse de un patógeno fúngico determinado en una planta determinada, preferiblemente una planta de cultivo, con lo que se reduce el desarrollo de cualquier síntoma causado por la enfermedad en la planta. Según una forma de realización particular, el patógeno fúngico es el hongo *Erysiphe necator* y la planta de cultivo es cualquier variedad o cultivar de la especie *Vitis vinifera* L.

[0027] En la agricultura, un “agente de control biológico” generalmente se define como un agente para controlar plagas, enfermedades o malezas que afectan el crecimiento de las plantas, más particularmente las plantas de cultivo, y que consiste en un organismo vivo, un producto o una composición obtenida de un organismo vivo o una mezcla de éstos. Según la presente invención, los agentes de control biológico son microorganismos, más particularmente bacterias y/o productos o composiciones obtenidos a partir de éstas y/o mezclas de cualquiera de éstos. Un producto o una composición obtenida de un microorganismo pueden ser un producto extraído de células del microorganismo. Más preferiblemente, un producto o una composición obtenida de un microorganismo abarcan un producto o una composición que son sintetizados por el microorganismo y son secretados en un medio donde el microorganismo fermenta para vivir y crecer, por ejemplo, un caldo de cultivo. Estos últimos tipos de productos también se designan como productos de fermentación.

[0028] A continuación se proveen ejemplos de agentes de control biológico que pueden usarse en los métodos según la invención.

Bacterias, por ejemplo, (B1.1) *Bacillus subtilis*, particularmente la cepa QST713/AQ713 (disponible como SERENADE OPTI o SERENADE ASO, Bayer CropScience LP, EEUU, N° de registro NRRL B21661, Patente de los EEUU N° 6060051); (B1.2) *Bacillus pumilus*, particularmente la cepa QST2808 (disponible como SONATA® de Bayer CropScience LP, EEUU, N° de registro NRRL B-30087, Patente de los EEUU N° 6245551); (B1.3) *Bacillus pumilus*, particularmente la cepa GB34 (disponible como Yield Shield®, Bayer AG, Alemania); (B1.4) *Bacillus pumilus*, particularmente la cepa BU F-33 (N° de registro NRRL 50185); (B1.5) *Bacillus amyloliquefaciens*, particularmente la cepa D747 (disponible como Double Nickel™, Certis, EEUU, N° de registro FERM BP-8234, Patente de los EEUU N° 7094592); (B1.6) *Bacillus subtilis* Y1336 (disponible como BIOBAC® WP, Bion-Tech, Taiwán, registros de fungicidas biológicos de Taiwán N° 4764, 5454, 5096 y 5277); (B1.7) la cepa MBI 600 de *Bacillus amyloliquefaciens* (disponible como SUBTILEX, BASF SE); (B1.8) la cepa GB03 de *Bacillus subtilis* (disponible como Kodiak®, Bayer AG, Alemania); (B1.9) la cepa FZB24 de *Bacillus subtilis* variedad *amyloliquefaciens* (disponible en Novozymes Biologicals, Inc., Salem, Virginia, o Syngenta Crop Protection, LLC, Greensboro, Carolina del Norte, como TAEGRO® o TAEGRO® ECO (N° de registro EPA 70127-5); (B1.10) el aislado J de *Bacillus mycoides* (disponible como BmJ TGAI o WG, Certis, EEUU); (B1.11) *Bacillus licheniformis*, particularmente la cepa SB3086 (disponible como los biofungicidas EcoGuard™ y Green Releaf, Novozymes); (B1.12) las cepas de *Paenibacillus* sp. con el N° de registro NRRL B-50972 o el N° de registro NRRL

B-67129, descritas en la Publicación de Patente Internacional N° WO 2016/154297.

En algunas formas de realización, el agente de control biológico es una cepa de *Bacillus subtilis* o *Bacillus amyloliquefaciens* que produce un compuesto del tipo de la fengicina o plipastatina, un compuesto de tipo de la iturina y/o un compuesto de tipo de la surfactina. Para obtener más información, véase Ongena, M., et al., *Bacillus* Lipopeptides: Versatile Weapons for Plant Disease Biocontrol, Trends in Microbiology, volumen 16, N° 3, Marzo de 2008, pp. 115-125. Las cepas de *Bacillus* que pueden producir lipopéptidos abarcan *Bacillus subtilis* QST713 (disponible como SERENADE OPTI o SERENADE ASO, Bayer CropScience LP, EEUU, N° de registro NRRL B21661, Patente de los EEUU N° 6060051), la cepa D747 de *Bacillus amyloliquefaciens* (Certis, EEUU, N° de registro FERM BP-8234, Patente de los EEUU N° 7094592); *Bacillus subtilis* MBI600 (disponible como SUBTILEX®, Becker Underwood, EEUU, N° de registro EPA 71840-8); *Bacillus subtilis* Y1336 (disponible como BIOBAC® WP, Bion-Tech, Taiwán, registros de fungicidas biológicos de Taiwán N° 4764, 5454, 5096 y 5277); *Bacillus amyloliquefaciens*, particularmente la cepa FZB42 (disponible como RHIZOVITAL®, ABiTEP, Alemania); y *Bacillus subtilis* variedad *amyloliquefaciens* FZB24 (disponible en Novozymes Biologicals, Inc., Salem, Virginia, o Syngenta Crop Protection, LLC, Greensboro, Carolina del Norte, como TAEGRO® o TAEGRO® ECO, N° de registro EPA 70127-5).

Hongos, por ejemplo, (B2.1) *Coniothyrium minitans*, particularmente la cepa CON/M/91-8 (N° de registro DSM-9660; por ejemplo, Contans®, Bayer); (B2.2) *Metschnikowia fructicola*, particularmente la cepa NRRL Y-30752 (por ejemplo, Shemer®); (B2.3) *Microsphaeropsis ochracea* (por ejemplo, Microx®,

Prophyta); (B2.5) *Trichoderma* spp., incluyendo *Trichoderma atroviride*, cepa SC1, Solicitud Internacional N° PCT/IT2008/000196); (B2.6) la cepa KRL-AG2 de *Trichoderma harzianum rifai* (también conocida como T-22/ATCC 208479, por ejemplo, PLANTSHIELD T-22G, Rootshield® o TurfShield, BioWorks, EEUU); (B2.14) *Gliocladium roseum*, cepa 321U, WF Stoneman Company LLC; (B2.35) *Talaromyces flavus*, cepa V117b; (B2.36) *Trichoderma asperellum*, cepa ICC 012, Isagro; (B2.37) *Trichoderma asperellum*, cepa SKT-1 (por ejemplo, ECO-HOPE®, Kumiai Chemical Industry); (B2.38) *Trichoderma atroviride*, cepa CNCM I-1237 (por ejemplo, Esquive® WP, Agrauxine, Francia); (B2.39) *Trichoderma atroviride*, cepa N° V08/002387; (B2.40) *Trichoderma atroviride*, cepa NMI N° V08/002388; (B2.41) *Trichoderma atroviride*, cepa NMI N° V08/002389; (B2.42) *Trichoderma atroviride*, cepa NMI N° V08/002390; (B2.43) *Trichoderma atroviride*, cepa LC52 (por ejemplo, Tenet, Agrimm Technologies Limited); (B2.44) *Trichoderma atroviride*, cepa ATCC 20476 (IMI 206040); (B2.45) *Trichoderma atroviride*, cepa T11 (IMI352941/CECT20498); (B2.46) *Trichoderma harmatum*; (B2.47) *Trichoderma harzianum*; (B2.48) *Trichoderma harzianum rifai* T39 (por ejemplo, Trichodex®, Makhteshim, EEUU); (B2.49) *Trichoderma harzianum*, particularmente la cepa KD (por ejemplo, Trichoplus, Biological Control Products, SA, adquirida por Becker Underwood); (B2.50) *Trichoderma harzianum*, cepa ITEM 908 (por ejemplo, Trianum-P, Koppert); (B2.51) *Trichoderma harzianum*, cepa TH35 (por ejemplo, Root-Pro, Mycontrol); (B2.52) *Trichoderma virens* (también conocida como *Gliocladium virens*), particularmente la cepa GL-21 (por ejemplo, SoilGard 12G, Certis, EEUU); (B2.53) *Trichoderma viride*, cepa TV1 (por ejemplo, Trianum-P, Koppert); (B2.54) *Ampelomyces quisqualis*, particularmente la cepa AQ 10 (por

ejemplo, AQ 10®, IntrachemBio, Italia); (B2.56) *Aureobasidium pullulans*, particularmente las blastosporas de la cepa DSM14940; (B2.57) *Aureobasidium pullulans*, particularmente las blastosporas de la cepa DSM 14941; (B2.58) *Aureobasidium pullulans*, particularmente mezclas de blastosporas de las cepas DSM14940 y DSM 14941 (por ejemplo, Botector® bio-ferm, CH); (B2.64) *Cladosporium cladosporioides*, cepa H39 (Stichting Dienst Landbouwkundig Onderzoek); (B2.69) *Gliocladium catenulatum* (sinónimo: *Clonostachys rosea* f. *catenulate*), cepa J1446 (por ejemplo, Prestop®, AgBio Inc., o Primastop®, Kemira Agro Oy); (B2.70) *Lecanicillium lecanii* (antes conocida como *Verticillium lecanii*), conidios de la cepa KV01 (por ejemplo Vertalec®, Koppert/Arysta); (B2.71) *Penicillium vermiculatum*; (B2.72) *Pichia anomala*, cepa WRL-076 (NRRL Y-30842); (B2.75) *Trichoderma atroviride*, cepa SKT-1 (FERM P-16510); (B2.76) *Trichoderma atroviride*, cepa SKT-2 (FERM P-16511); (B2.77) *Trichoderma atroviride*, cepa SKT-3 (FERM P-17021); (B2.78) *Trichoderma gamsii* (antes *T. viride*), cepa ICC080 (IMI CC 392151 CABI, por ejemplo, BioDerma, AGROBIOSOL DE MÉXICO, SA DE CV); (B2.79) *Trichoderma harzianum*, cepa DB 103 (por ejemplo, T-Gro 7456, Dagut Biolab); (B2.80) *Trichoderma polysporum*, cepa IMI 206039 (por ejemplo, Binab TF WP, BINAB Bio-Innovation AB, Suecia); (B2.81) *Trichoderma stromaticum* (por ejemplo, Tricovab, Ceplac, Brasil); (B2.83) *Ulocladium oudemansii*, particularmente la cepa HRU3 (por ejemplo, Botry-Zen®, Botry-Zen Ltd, NZ); (B2.84) *Verticillium albo-atrum* (antes *V. dahliae*), cepa WCS850 (CBS 276.92, por ejemplo, Dutch Trig, Tree Care Innovations); (B2.86) *Verticillium chlamydosporium*; (B2.87) mezclas de *Trichoderma asperellum*, cepa ICC 012

y *Trichoderma gamsii*, cepa ICC 080 (producto conocido, por ejemplo, como BIO-TAM TM, Bayer CropScience LP, EEUU).

[0029] Según una forma de realización preferida, el agente de control biológico comprende la cepa QST2808 de la bacteria *Bacillus pumilus*, mutantes de ésta, productos de su fermentación o una mezcla de éstos. La cepa QST2808 de la bacteria *Bacillus pumilus* se describe en la Solicitud de Patente Internacional PCT publicada como WO 00/58442. En WO 00/58442, la cepa se denomina NRRL N° B-30087, sinónimo de *Bacillus pumilus* QST2808. *Bacillus pumilus* QST2808 fue depositada en la NRRL el 14 de Enero de 1999, en virtud de las disposiciones del Tratado de Budapest sobre el reconocimiento internacional del depósito de microorganismos para fines de procedimientos de patentes, bajo el número de registro B-30087. Este agente de control biológico está disponible bajo la marca comercial Sonata®.

[0030] Según otra forma de realización, el agente de control biológico es una composición que comprende compuestos obtenidos de un organismo vivo. Un ejemplo de una composición de este tipo es una composición que comprende quito-oligo-sacáridos, también conocidos como COS, que puede obtenerse de paredes de células fúngicas o exoesqueletos de crustáceos. Otro ejemplo es una composición que comprende oligo-galacturónidos derivados de pectina, también conocidos como OGA, que puede obtenerse de la pared de diversas células vegetales. Se sabe que los COS y los OGA son determinantes de los mecanismos de defensa naturales de las plantas. Una composición preferida es una composición que comprende quito-oligo-sacáridos y oligo-galacturónidos, tal como la descrita en la Solicitud de Patente Europea

EP2115066. Este agente de control biológico está disponible bajo la marca comercial Bastid®.

[0031] Según otra forma de realización, el agente de control biológico comprende un extracto (de paredes celulares) de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, más específicamente la cepa LAS117 de *Saccharomyces cerevisiae*, mutantes de ésta, productos de su fermentación o una mezcla de éstos. Este agente de control biológico se describe en la Solicitud de Patente Internacional PCT publicada como WO2007/074303. Este agente de control biológico está disponible comercialmente bajo la marca Romeo®.

[0032] Según otra forma de realización, el agente de control biológico comprende la cepa AQ 10 del hongo *Ampelomyces quisqualis*, mutantes de ésta, productos de su fermentación o una mezcla de éstos. La cepa AQ 10 del hongo *Ampelomyces quisqualis* se describe en la Solicitud de Patente Europea EP0353662. Este agente de control biológico está disponible bajo la marca comercial AQ 10®.

[0033] Según otra forma de realización, el agente de control biológico comprende la cepa D747 de la bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* subespecie *plantarum*, mutantes de ésta, productos de su fermentación o una mezcla de éstos. Este agente de control biológico está disponible bajo la marca comercial Amylo-X®.

[0034] Según otra forma de realización, el agente de control biológico comprende un extracto de plantas del árbol del té (*Melaleuca alternifolia*). Este agente de control biológico se describe en la Solicitud de Patente Internacional PCT publicada como WO2011/140309. Este agente de control biológico está disponible comercialmente bajo la marca Timorex Gold®.

[0035] Según otra forma de realización, el agente de control biológico comprende un extracto de algas *Ascophyllum nodosum*. Este agente de control biológico está disponible comercialmente bajo la marca Alginure®.

[0036] Según otra forma de realización, el agente de control biológico comprende una composición que comprende un extracto de aceite de *Citrus* sp. Este agente de control biológico se describe en la Solicitud de Patente Europea EP2200429. Este agente de control biológico está disponible bajo la marca comercial Prev-Am®.

[0037] Según otra forma de realización, el agente de control biológico comprende un extracto de la planta *Reynoutria sachalinensis*. Este agente de control biológico se describe en la Solicitud de Patente Internacional PCT publicada como WO2011/014596. Este agente de control biológico está disponible comercialmente bajo la marca Regalia®.

[0038] Aplicado a un agente de control biológico, el término “mutante” hace referencia a una variante genética derivada del organismo vivo que constituye el agente de control biológico. En una forma de realización, un mutante tiene una o más o todas las características propias del organismo vivo progenitor (su funcionalidad de control biológico). En un caso particular, el mutante o un producto de fermentación de éste tienen una característica de control biológico al menos tan buena como la del organismo vivo progenitor. Estos mutantes pueden ser variantes genéticas con secuencias genómicas que tienen una identidad superior a 85%, 90%, 95%, 98% o 99% con el organismo vivo progenitor. Los mutantes pueden obtenerse tratando células del organismo vivo progenitor con productos químicos o radiación, seleccionando variantes mutadas espontáneas en una población de células (como mutantes resistentes

a fagos o antibióticos) o usando otros métodos bien conocidos por aquellos versados en la técnica.

[0039] Los productos o las composiciones de la presente invención pueden obtenerse cultivando el organismo vivo que produce el agente de control biológico según métodos bien conocidos en la técnica: por ejemplo, cuando el agente de control biológico es la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus*, esto puede abarcar los medios y otros métodos descritos en la Solicitud de Patente Internacional PCT publicada como WO 00/58442.

[0040] Cuando el agente de control biológico comprende o es un microorganismo, más particularmente una bacteria, los procesos convencionales de cultivo microbiano a gran escala abarcan la fermentación sumergida, la fermentación en estado sólido o el cultivo en superficies de líquidos. Hacia el final de la fermentación, a medida que se agotan los nutrientes, las células comienzan la transición desde la fase de crecimiento hasta la fase de esporulación, de modo tal que el producto final de la fermentación comprende en gran parte esporas, metabolitos y medio de fermentación residual. La esporulación es parte del ciclo vital natural de la mayoría de los microorganismos, particularmente las bacterias, y generalmente se inicia en una célula en respuesta a una limitación en los nutrientes. La fermentación está configurada para obtener niveles altos de unidades formadoras de colonias ("cfu") de las bacterias y promover la esporulación. Las células bacterianas, las esporas y los metabolitos en los medios de cultivo resultantes de la fermentación pueden usarse directamente o pueden concentrarse con métodos industriales convencionales, por ejemplo, centrifugación, filtración con flujo tangencial, filtración en profundidad o

evaporación. En la presente, el caldo de fermentación y los concentrados derivados de éste se conocen como “productos de fermentación”. Las composiciones de la presente invención abarcan productos de fermentación. En algunas formas de realización, el caldo de fermentación concentrado se lava, por ejemplo, mediante un proceso de diafiltración, para eliminar el caldo de fermentación residual y los metabolitos.

[0041] Un caldo de fermentación o un concentrado derivado de éste pueden secarse con la adición de portadores o sin ellos, usando procesos o métodos de secado convencionales, por ejemplo y sin limitaciones, secado por aspersión, secado por congelación, secado en bandejas, secado en lechos fluidos, secado en tambores o evaporación.

[0042] Los productos secos resultantes pueden someterse a procesos adicionales, por ejemplo, trituración o granulación, por ejemplo, para obtener partículas con tamaños (por ejemplo, partículas con un tamaño promedio de entre aproximadamente 1 y aproximadamente 5000, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 2500, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 500, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 250, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 100, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 50, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 25, entre aproximadamente 1 y aproximadamente 10 μm o cualquier otro tamaño o rango de tamaños deseado y conocido en la técnica) o formatos físicos específicos. Los portadores, que se describen más adelante, también pueden agregarse después del secado.

[0043] Las preparaciones libres de células de caldos de fermentación de las nuevas variantes y cepas de *Bacillus* de la presente invención pueden obtenerse por cualquier medio conocido en la técnica, por ejemplo, extracción,

centrifugación y/o filtración de un caldo de fermentación. Aquellos versados en la técnica han de apreciar que las preparaciones libres de células pueden no carecer de células, sino que pueden estar en gran parte libres de células o esencialmente libres de células, dependiendo del abordaje usado para eliminar las células (por ejemplo, la velocidad de centrifugación). La preparación libre de células resultante puede secarse y/o formularse con componentes para facilitar su aplicación sobre las plantas o los medios para cultivarlas. Los métodos de concentración y los abordajes de secado descritos con anterioridad para los caldos de fermentación también pueden aplicarse a las preparaciones libres de células.

[0044] En el caso de la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus*, los metabolitos pueden obtenerse según los métodos descritos en la Solicitud de Patente Internacional PCT publicada como WO 00/58442. El término “metabolitos”, según se lo emplea en la presente, puede hacer referencia a metabolitos semipuros, puros o esencialmente puros, o a metabolitos que no han sido separados del organismo vivo en cuestión.

[0045] Los métodos de concentración y los abordajes de secado descritos con anterioridad para los caldos de fermentación también pueden aplicarse a los metabolitos.

[0046] Las composiciones de la presente invención pueden comprender ingredientes de formulación inertes combinados con composiciones que comprenden células, preparaciones libres de células o metabolitos para mejorar la eficacia, la estabilidad o la facilidad de uso y/o para facilitar el procesamiento, el envasado y la aplicación de uso final. Estos ingredientes de formulación inertes pueden abarcar portadores, agentes de estabilización,

nutrientes o agentes modificadores de las propiedades físicas, que pueden agregarse individualmente o combinados. En algunas formas de realización, los vehículos pueden abarcar materiales líquidos, por ejemplo, agua, aceite u otros solventes orgánicos o inorgánicos, y materiales sólidos, por ejemplo, minerales, polímeros o complejos de polímeros obtenidos según abordajes biológicos o químicos. En algunas formas de realización, el portador es un aglutinante o un adhesivo que facilita la adherencia de la composición a una parte de una planta, tal como una semilla o una raíz. Véase, por ejemplo, Taylor, A. G., et al., *Concepts and Technologies of Selected Seed Treatments*, *Annu. Rev. Phytopathol.*, 28:321-339 (1990). Los agentes de estabilización pueden abarcar agentes antiaglomerantes, agentes antioxidantes, desecantes, protectores o conservantes. Los nutrientes pueden abarcar fuentes de carbono, nitrógeno o fósforo, por ejemplo, azúcares, polisacáridos, aceites, proteínas, aminoácidos, ácidos grasos o fosfatos. Los modificadores de las propiedades físicas pueden abarcar agentes de relleno, agentes humectantes, espesantes, modificadores del pH, modificadores de la reología, dispersantes, coadyuvantes, agentes tensioactivos, agentes anticongelantes o colorantes. En algunas formas de realización, puede usarse una composición que comprende células, una preparación libre de células o metabolitos producidos por fermentación directamente, con agua como diluyente o sin ella, sin otra preparación de formulación. En algunas formas de realización, se agregan ingredientes de formulación inertes después de concentrar un caldo de fermentación y durante y/o después del secado.

[0047] Las composiciones de la presente invención pueden comprender portadores, que son ingredientes de formulación inertes que se agregan a

productos de fermentación o preparaciones libres de células para mejorar la recuperación, la eficacia o las propiedades físicas y/o para ayudar en el envasado y la administración. Los portadores pueden agregarse individualmente o combinados.

[0048] Las composiciones de la presente invención pueden mezclarse con otros aditivos químicos o no químicos, coadyuvantes y/o tratamientos, donde los tratamientos pueden abarcar, sin limitaciones, fungicidas químicos o no químicos, insecticidas, acaricidas, nematocidas, fertilizantes, nutrientes, minerales, auxinas, estimulantes del crecimiento o similares.

[0049] Los fungicidas con los que pueden mezclarse los agentes de control biológico de la presente invención son fungicidas químicos o biológicos.

[0050] En algunas formas de realización, el fungicida químico o biológico es un producto formulado disponible comercialmente, y es mezclado en un tanque con composiciones de la presente descripción. En otras formas de realización, el fungicida químico o biológico se mezcla con un agente de control biológico antes de la formulación para que las composiciones formen un producto formulado.

[0051] Una “cantidad eficaz” es una cantidad suficiente para obtener resultados beneficiosos o deseados. Una cantidad eficaz puede ser útil para una o más aplicaciones. En términos del tratamiento y la protección, una “cantidad eficaz” es una cantidad suficiente para controlar una enfermedad, más específicamente para mejorar, estabilizar, revertir, demorar o retrasar su progreso.

[0052] Las composiciones que comprenden un agente de control biológico pueden aplicarse mediante una atomización foliar, como un tratamiento para

una parte propagativa de la planta (por ejemplo, una semilla o un tubérculo) y/o como un tratamiento para el suelo.

[0053] Según una forma de realización particular, las composiciones descritas en la presente se aplican sobre plantas de vid o partes de éstas, preferiblemente partes de plantas aéreas, por ejemplo, brotes, flores, hojas, uvas, troncos (o brazos) o tallos (cañas). Las composiciones de la presente invención preferiblemente se atomizan sobre la totalidad de las plantas de vid para que tomen contacto con todas las partes aéreas de las plantas.

[0054] Las composiciones que comprenden un agente de control biológico pueden aplicarse sobre plantas de cultivo en un campo, como parte de un programa de tratamiento. En general, un campo de plantas de cultivo no recibe un único tratamiento con productos para la protección de cultivos, sino varios tratamientos con productos de protección de cultivos idénticos o diferentes, que han de aplicarse, por ejemplo, consecutivamente durante el desarrollo del cultivo, de modo tal de obtener una protección óptima. Para obtener una protección óptima, puede planificarse un programa de tratamiento apropiado. Más específicamente, el programa de tratamiento puede abarcar el uso de diversos productos de protección de cultivos, que pueden ser productos químicos, agentes de control biológico o ambos. Para reducir el uso de productos químicos, un programa de tratamiento preferiblemente comprende productos químicos y agentes de control biológico. La integración de los agentes de control biológico en los programas de tratamiento debe ser óptima, es decir, debe ocurrir en una etapa apropiada del desarrollo del cultivo o la plaga que se desea controlar (por ejemplo, la etapa de infección de un

patógeno fúngico en una planta), para obtener un control con una eficacia óptima.

[0055] Según una forma de realización específica, el agente de control biológico se usa en los métodos según la invención como parte de un programa de tratamiento que puede abarcar tratamientos adicionales con productos químicos de protección de cultivos y/u otros agentes de control biológico. Cuando el agente de control biológico se incluye en un programa de tratamiento para controlar determinados patógenos fúngicos de plantas, preferiblemente se lo aplica en el inicio del período de incubación de los patógenos fúngicos de plantas.

[0056] En situaciones donde un patógeno fúngico de plantas determinado no ha podido ser controlado con éxito y ha podido desarrollarse en un campo de cultivo, en el programa de tratamiento pueden preverse tratamientos con productos de protección de cultivos apropiados para controlar patógenos fúngicos ya instalados en las plantas. Cuando se realizan estos tratamientos, el cultivo generalmente se cura del patógeno fúngico de plantas en cuestión. Sin embargo, puede subsistir el riesgo de infestaciones ulteriores de este patógeno fúngico de plantas. Como consecuencia, si se detecta una infección ulterior del patógeno fúngico de plantas en el inicio del período de incubación, el agente de control biológico también puede aplicarse en este momento, según los métodos de la presente invención.

[0057] Los productos de protección de cultivos que pueden incluirse en los programas de tratamiento pueden ser productos químicos, agentes de control biológico o ambos.

[0058] Los productos químicos que pueden aplicarse para controlar patógenos de plantas abarcan fungicidas químicos. A continuación se proveen ejemplos de estos fungicidas.

(1) Inhibidores de la síntesis de ergosterol, por ejemplo, (1.001) ciproconazol, (1.002) difenoconazol, (1.003) epoxiconazol, (1.004) fenhexamida, (1.005) fenpropidina, (1.006) fenpropimorf, (1.007) fenpirazamina, (1.008) fluquinconazol, (1.009) flutriafol, (1.010) imazalil, (1.011) sulfato de imazalil, (1.012) ipconazol, (1.013) metconazol, (1.014) miclobutanil, (1.015) paclobutrazol, (1.016) procloraz, (1.017) propiconazol, (1.018) protioconazol, (1.019) pirisoxazol, (1.020) espiroxamina, (1.021) tebuconazol, (1.022) tetraconazol, (1.023) triadimenol, (1.024) tridamorf, (1.025) triticonazol, (1.026) (1R,2S,5S)-5-(4-clorobencil)-2-(clorometil)-2-metil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)-ciclo-pentanol, (1.027) (1S,2R,5R)-5-(4-clorobencil)-2-(clorometil)-2-metil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)ciclopentanol, (1.028) (2R)-2-(1-clorociclopropil)-4-[(1R)-2,2-dicloro-ciclopropil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-ol, (1.029) (2R)-2-(1-cloro-ciclopropil)-4-[(1S)-2,2-di-clorociclopropil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-ol, (1.030) (2R)-2-[4-(4-clorofenoxi)-2-(trifluorometil)fenil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)-propan-2-ol, (1.031) (2S)-2-(1-clorociclopropil)-4-[(1R)-2,2-diclorociclopropil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-ol, (1.032) (2S)-2-(1-clorociclopropil)-4-[(1S)-2,2-dicloro-ciclo-propil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-ol, (1.033) (2S)-2-[4-(4-clorofenoxi)-2-(trifluorometil)fenil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)propan-2-ol, (1.034) (R)-[3-(4-cloro-2-fluorofenil)-5-(2,4-difluorofenil)-1,2-oxazol-4-il](piridin-3-il)metanol, (1.035) (S)-[3-(4-cloro-2-fluorofenil)-5-(2,4-difluoro-fenil)-1,2-oxazol-4-il](piridin-3-il)metanol, (1.036) [3-(4-cloro-2-fluorofenil)-5-(2,4-difluorofenil)-1,2-oxazol-4-il](piridin-3-il)metanol, (1.037) 1-({(2R,4S)-2-[2-cloro-4-(4-

clorofenoxi)fenil]-4-metil-1,3-dioxolan-2-il}metil)-1H-1,2,4-triazol, (1.038) 1-
 ({(2S,4S)-2-[2-cloro-4-(4-clorofenoxi)fenil]-4-metil-1,3-dioxolan-2-il}metil)-1H-
 1,2,4-triazol, (1.039) tiocianato de 1-{[3-(2-clorofenil)-2-(2,4-difluorofenil)oxiran-
 2-il]metil}-1H-1,2,4-triazol-5-ilo, (1.040) tiocianato de 1-{[rel(2R,3R)-3-(2-
 clorofenil)-2-(2,4-difluoro-fenil)oxiran-2-il]metil}-1H-1,2,4-triazol-5-ilo, (1.041)
 tiocianato de 1-{[rel(2R,3S)-3-(2-clorofenil)-2-(2,4-difluorofenil)oxiran-2-il]metil}-
 1H-1,2,4-triazol-5-ilo, (1.042) 2-[(2R,4R,5R)-1-(2,4-diclorofenil)-5-hidroxi-2,6,6-
 trimetilheptan-4-il]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiona, (1.043) 2-[(2R,4R,5S)-1-
 (2,4-diclorofenil)-5-hidroxi-2,6,6-trimetilheptan-4-il]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-
 3-tiona, (1.044) 2-[(2R,4S,5R)-1-(2,4-diclorofenil)-5-hidroxi-2,6,6-trimetilheptan-
 4-il]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiona, (1.045) 2-[(2R,4S,5S)-1-(2,4-
 diclorofenil)-5-hidroxi-2,6,6-trimetilheptan-4-il]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-
 tiona, (1.046) 2-[(2S,4R,5R)-1-(2,4-diclorofenil)-5-hidroxi-2,6,6-trimetilheptan-4-
 il]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiona, (1.047) 2-[(2S,4R,5S)-1-(2,4-diclorofenil)-
 5-hidroxi-2,6,6-trimetilheptan-4-il]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiona, (1.048) 2-
 [(2S,4S,5R)-1-(2,4-diclorofenil)-5-hidroxi-2,6,6-trimetil-heptan-4-il]-2,4-dihidro-
 3H-1,2,4-triazol-3-tiona, (1.049) 2-[(2S,4S,5S)-1-(2,4-diclorofenil)-5-hidroxi-
 2,6,6-trimetilheptan-4-il]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiona, (1.050) 2-[1-(2,4-
 diclorofenil)-5-hidroxi-2,6,6-trimetilheptan-4-il]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-
 tiona, (1.051) 2-[2-cloro-4-(2,4-diclorofenoxi)fenil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-
 il)propan-2-ol, (1.052) 2-[2-cloro-4-(4-clorofenoxi)fenil]-1-(1H-1,2,4-triazol-1-
 il)butan-2-ol, (1.053) 2-[4-(4-clorofenoxi)-2-(trifluorometil)fenil]-1-(1H-1,2,4-
 triazol-1-il)butan-2-ol, (1.054) 2-[4-(4-clorofenoxi)-2-(trifluorometil)fenil]-1-(1H-
 1,2,4-triazol-1-il)pentan-2-ol, (1.055) mefentrifluconazol, (1.056) 2-[[3-(2-
 clorofenil)-2-(2,4-difluorofenil)oxiran-2-il]metil]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-

tiona, (1.057) 2-[[rel(2R,3R)-3-(2-clorofenil)-2-(2,4-difluorofenil)oxiran-2-il]metil]-
 2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiona, (1.058) 2-[[rel(2R,3S)-3-(2-clorofenil)-2-(2,4-
 difluoro-fenil)-oxiran-2-il]metil]-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazol-3-tiona, (1.059) 5-(4-
 clorobencil)-2-(cloro-metil)-2-metil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-ilmetil)ciclopentanol,
 (1.060) 5-(alil-sulfanil)-1-[[3-(2-clorofenil)-2-(2,4-difluorofenil)oxiran-2-il]metil]-
 1H-1,2,4-triazol, (1.061) 5-(alilsulfanil)-1-[[rel(2R,3R)-3-(2-clorofenil)-2-(2,4-
 difluorofenil)oxiran-2-il]-metil]-1H-1,2,4-triazol, (1.062) 5-(alilsulfanil)-1-
 [[rel(2R,3S)-3-(2-clorofenil)-2-(2,4-difluorofenil)oxiran-2-il]metil]-1H-1,2,4-triazol,
 (1.063) N'-(2,5-dimetil-4-[[3-(1,1,2,2-tetrafluoroetoxi)fenil]sulfanil}fenil)-N-etil-N-
 metilimidoformamida, (1.064) N'-(2,5-dimetil-4-[[3-(2,2,2-
 trifluoroetoxi)fenil]sulfanil}fenil)-N-etil-N-metilimido-form-amida, (1.065) N'-(2,5-
 dimetil-4-[[3-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxi)fenil]sulfanil}fenil)-N-etil-N-
 metilimidoformamida, (1.066) N'-(2,5-dimetil-4-[[3-(pentafluoroetoxi)-fenil]-
 sulfanil}fenil)-N-etil-N-metilimidoformamida, (1.067) N'-(2,5-dimetil-4-{3-
 [(1,1,2,2-tetrafluoroetil)sulfanil]fenoxi}fenil)-N-etil-N-metilimidoformamida,
 (1.068) N'-(2,5-dimetil-4-{3-[(2,2,2-trifluoroetil)sulfanil]fenoxi}fenil)-N-etil-N-
 metilimido-form-amida, (1.069) N'-(2,5-dimetil-4-{3-[(2,2,3,3-
 tetrafluoropropil)sulfanil]fenoxi}fenil)-N-etil-N-metilimidoformamida, (1.070) N'-
 (2,5-dimetil-4-{3-[(pentafluoroetil)-sulfanil]-fenoxi}fenil)-N-etil-N-
 metilimidoformamida, (1.071) N'-(2,5-dimetil-4-fenoxi-fenil)-N-etil-N-
 metilimidoformamida, (1.072) N'-(4-[[3-(difluorometoxi)-fenil]-sulfanil]-2,5-
 dimetilfenil)-N-etil-N-metilimidoformamida, (1.073) N'-(4-{3-[(difluoro-
 metil)sulfanil]fenoxi}-2,5-dimetilfenil)-N-etil-N-metilimidoformamida, (1.074) N'-
 [5-bromo-6-(2,3-dihidro-1H-inden-2-iloxi)-2-metilpiridin-3-il]-N-etil-N-metilimido-
 formamida, (1.075) N'-(4-[(4,5-dicloro-1,3-tiazol-2-il)oxi]-2,5-dimetilfenil)-N-etil-

N-metilimidoformamida, (1.076) N'-{5-bromo-6-[(1R)-1-(3,5-difluorofenil)etoxi]-2-metilpiridin-3-il}-N-etil-N-metilimidoformamida, (1.077) N'-{5-bromo-6-[(1S)-1-(3,5-difluorofenil)etoxi]-2-metilpiridin-3-il}-N-etil-N-metilimidoformamida, (1.078) N'-{5-bromo-6-[(cis-4-isopropilciclohexil)oxi]-2-metilpiridin-3-il}-N-etil-N-metilimido-formamida, (1.079) N'-{5-bromo-6-[(trans-4-isopropilciclohexil)oxi]-2-metilpiridin-3-il}-N-etil-N-metilimidoformamida, (1.080) N'-{5-bromo-6-[1-(3,5-difluorofenil)etoxi]-2-metilpiridin-3-il}-N-etil-N-metilimidoformamida, (1.081) Ipfentrifluconazol.

(2) Inhibidores de la cadena respiratoria en el complejo I o II, por ejemplo, (2.001) benzovindiflupir, (2.002) bixafen, (2.003) boscalid, (2.004) carboxina, (2.005) fluopiram, (2.006) flutolanil, (2.007) fluxapiroxad, (2.008) furametpir, (2.009) Isofetamida, (2.010) isopirazam (enantiómero anti-epimérico 1R,4S,9S), (2.011) isopirazam (enantiómero anti-epimérico 1S,4R,9R), (2.012) isopirazam (racemato anti-epimérico 1RS,4SR,9SR), (2.013) isopirazam (mezcla del racemato sin-epimérico 1RS,4SR,9RS y el racemato anti-epimérico 1RS,4SR,9SR), (2.014) isopirazam (enantiómero sin-epimérico 1R,4S,9R), (2.015) isopirazam (enantiómero sin-epimérico 1S,4R,9S), (2.016) isopirazam (racemato sin-epimérico 1RS,4SR,9RS), (2.017) penflufeno, (2.018) pentiopirad, (2.019) pidiflumetofeno, (2.020) piraziflumid, (2.021) sedaxano, (2.022) 1,3-dimetil-N-(1,1,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-inden-4-il)-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.023) 1,3-dimetil-N-[(3R)-1,1,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-inden-4-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.024) 1,3-dimetil-N-[(3S)-1,1,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-inden-4-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.025) 1-metil-3-(trifluorometil)-N-[2'-(trifluorometil)bifenil-2-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.026) 2-fluoro-6-(trifluorometil)-N-(1,1,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-inden-4-il)benzamida,

(2.027) 3-(difluorometil)-1-metil-N-(1,1,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-inden-4-il)-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.028) 3-(difluorometil)-1-metil-N-[(3R)-1,1,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-inden-4-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.029) 3-(difluorometil)-1-metil-N-[(3S)-1,1,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-inden-4-il]-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.030) fluindapir, (2.031) 3-(difluorometil)-N-[(3R)-7-fluoro-1,1,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-inden-4-il]-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.032) 3-(difluorometil)-N-[(3S)-7-fluoro-1,1,3-trimetil-2,3-dihidro-1H-inden-4-il]-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.033) 5,8-difluoro-N-[2-(2-fluoro-4-[(4-(trifluorometil)piridin-2-il]oxi)-fenil]etil]quinazolin-4-amina, (2.034) N-(2-ciclopentil-5-fluorobencil)-N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.035) N-(2-terbutil-5-metilbencil)-N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.036) N-(2-terbutilbencil)-N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.037) N-(5-cloro-2-etilbencil)-N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.038) isoflucipram, (2.039) N-[(1R,4S)-9-(diclorometilen)-1,2,3,4-tetrahidro-1,4-metanonaftalen-5-il]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.040) N-[(1S,4R)-9-(diclorometilen)-1,2,3,4-tetrahidro-1,4-metanonaftalen-5-il]-3-(difluoro-metil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.041) N-[1-(2,4-diclorofenil)-1-metoxipropan-2-il]-3-(difluorometil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.042) N-[2-cloro-6-(trifluorometil)bencil]-N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.043) N-[3-cloro-2-fluoro-6-(trifluorometil)bencil]-N-ciclo-propil-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.044) N-[5-cloro-2-(trifluorometil)bencil]-N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.045) N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-N-[5-

metil-2-(trifluorometil)bencil]-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.046) N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-N-(2-fluoro-6-isopropilbencil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.047) N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-N-(2-isopropil-5-metil-bencil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.048) N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-N-(2-isopropilbencil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.049) N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-N-(2-isopropilbencil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.050) N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-N-(5-fluoro-2-isopropilbencil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.051) N-ciclopropil-3-(difluorometil)-N-(2-etil-4,5-dimetilbencil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.052) N-ciclopropil-3-(difluorometil)-N-(2-etil-5-fluorobencil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.053) N-ciclopropil-3-(difluorometil)-N-(2-etil-5-metilbencil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.054) N-ciclopropil-N-(2-ciclopropil-5-fluorobencil)-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.055) N-ciclopropil-N-(2-ciclopropil-5-metilbencil)-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.056) N-ciclopropil-N-(2-ciclopropilbencil)-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida, (2.057) pirapropoína.

(3) Inhibidores de la cadena respiratoria en el complejo III, por ejemplo, (3.001) ametotradina, (3.002) amisulbrom, (3.003) azoxistrobina, (3.004) coumetoxistrobina, (3.005) coumoxistrobina, (3.006) ciazofamida, (3.007) dimoxistrobina, (3.008) enoxastrobina, (3.009) famoxadona, (3.010) fenamidona, (3.011) flufenoxistrobina, (3.012) fluoxastrobina, (3.013) kresoxim-metilo, (3.014) metominostrobin, (3.015) orysastrobina, (3.016) picoxistrobina, (3.017) piraclostrobina, (3.018) pirametostrobin, (3.019) piraoxistrobina, (3.020) trifloxistrobina, (3.021) (2E)-2-{2-[[[(1E)-1-(3-{[(E)-1-fluoro-2-

fenilvinil]oxi}fenil)etilidano]amino}oxi)metil]fenil}-2-(metoxi-imino)-N-metilacetamida, (3.022) (2E,3Z)-5-{{1-(4-clorofenil)-1H-pirazol-3-il]oxi}-2-(metoxiimino)-N,3-dimetilpent-3-enamida, (3.023) (2R)-2-{2-[(2,5-dimetilfenoxi)metil]fenil}-2-metoxi-N-metilacetamida, (3.024) (2S)-2-{2-[(2,5-dimetilfenoxi)metil]fenil}-2-metoxi-N-metilacetamida, (3.025) 2-metilpropanoato de (3S,6S,7R,8R)-8-bencil-3-[(3-[(isobutiriloxi)metoxi]-4-metoxipiridin-2-il]carbonil)amino]-6-metil-4,9-dioxo-1,5-dioxonan-7-ilo, (3.026) mandestrobina, (3.027) N-(3-etil-3,5,5-trimetilciclohexil)-3-formamido-2-hidroxibenzamida, (3.028) (2E,3Z)-5-{{1-(4-cloro-2-fluorofenil)-1H-pirazol-3-il]oxi}-2-(metoxiimino)-N,3-dimetilpent-3-enamida, (3.029) {5-[3-(2,4-dimetilfenil)-1H-pirazol-1-il]-2-metilbencil}carbamato de metilo, (3.030) metiltetraprol, (3.031) florilpicoxamid.

(4) Inhibidores de la mitosis y la división celular, por ejemplo, (4.001) carbendazim, (4.002) dietofencarb, (4.003) etaboxam, (4.004) fluopicolida, (4.005) pencicurón, (4.006) tiabendazol, (4.007) tiofanato-metilo, (4.008) zoxamida, (4.009) 3-cloro-4-(2,6-difluorofenil)-6-metil-5-fenilpiridazina, (4.010) 3-cloro-5-(4-clorofenil)-4-(2,6-difluorofenil)-6-metilpiridazina, (4.011) 3-cloro-5-(6-cloropiridin-3-il)-6-metil-4-(2,4,6-trifluorofenil)piridazina, (4.012) 4-(2-bromo-4-fluorofenil)-N-(2,6-difluorofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina, (4.013) 4-(2-bromo-4-fluorofenil)-N-(2-bromo-6-fluorofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina, (4.014) 4-(2-bromo-4-fluorofenil)-N-(2-bromofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina, (4.015) 4-(2-bromo-4-fluorofenil)-N-(2-cloro-6-fluorofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina, (4.016) 4-(2-bromo-4-fluorofenil)-N-(2-clorofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina, (4.017) 4-(2-bromo-4-fluorofenil)-N-(2-fluorofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina, (4.018) 4-(2-cloro-4-fluorofenil)-N-(2,6-difluorofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina, (4.019) 4-(2-cloro-4-fluorofenil)-N-(2-cloro-6-

fluorofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina, (4.020) 4-(2-cloro-4-fluoro-fenil)-N-(2-clorofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina, (4.021) 4-(2-cloro-4-fluoro-fenil)-N-(2-fluorofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina, (4.022) 4-(4-clorofenil)-5-(2,6-difluorofenil)-3,6-dimetilpiridazina, (4.023) N-(2-bromo-6-fluorofenil)-4-(2-cloro-4-fluorofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina, (4.024) N-(2-bromofenil)-4-(2-cloro-4-fluorofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina, (4.025) N-(4-cloro-2,6-difluorofenil)-4-(2-cloro-4-fluorofenil)-1,3-dimetil-1H-pirazol-5-amina.

(5) Compuestos con acción en múltiples sitios, por ejemplo, (5.001) mezcla de Bordeaux, (5.002) captafol, (5.003) captan, (5.004) clorotalonil, (5.005) hidróxido de cobre, (5.006) naftenato de cobre, (5.007) óxido de cobre, (5.008) oxicloruro de cobre, (5.009) sulfato de cobre(2+), (5.010) ditianon, (5.011) dodina, (5.012) folpet, (5.013) mancozeb, (5.014) maneb, (5.015) metiram, (5.016) metiram cinc, (5.017) oxina de cobre, (5.018) propinab, (5.019) azufre y preparaciones con azufre, incluyendo polisulfuro de calcio, (5.020) tiram, (5.021) zinab, (5.022) ziram, (5.023) 6-etil-5,7-dioxo-6,7-dihidro-5H-pirrolol[3',4':5,6][1,4]ditiino[2,3-c][1,2]tiazol-3-carbonitrilo.

(6) Compuestos que inducen una defensa en el huésped, por ejemplo, (6.001) acibenzolar-S-metilo, (6.002) isotianil, (6.003) probenazol, (6.004) tiadinil.

(7) Inhibidores de la biosíntesis de aminoácidos y/o proteínas, por ejemplo, (7.001) ciprodinil, (7.002) kasugamicina, (7.003) hidrato de clorhidrato de kasugamicina, (7.004) oxitetraciclina, (7.005) pirimetanil, (7.006) 3-(5-fluoro-3,3,4,4-tetrametil-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)quinolina.

(8) Inhibidores de la producción de ATP, por ejemplo, (8.001) siltiofam.

- (9) Inhibidores de la síntesis de paredes celulares, por ejemplo, (9.001) bentiavalicarb, (9.002) dimetomorf, (9.003) flumorf, (9.004) iprovalicarb, (9.005) mandipropamida, (9.006) pirimorf, (9.007) valifenalato, (9.008) (2E)-3-(4-terbutilfenil)-3-(2-cloropiridin-4-il)-1-(morfolin-4-il)prop-2-en-1-ona, (9.009) (2Z)-3-(4-terbutilfenil)-3-(2-cloropiridin-4-il)-1-(morfolin-4-il)prop-2-en-1-ona.
- (10) Inhibidores de la síntesis de lípidos y membranas, por ejemplo, (10.001) propamocarb, (10.002) clorhidrato de propamocarb, (10.003) tolclofos-metilo.
- (11) Inhibidores de la biosíntesis de melanina, por ejemplo, (11.001) triciclazol, (11.002) {3-metil-1-[(4-metilbenzoil)amino]butan-2-il}carbamato de 2,2,2-trifluoroetilo.
- (12) Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos, por ejemplo, (12.001) benalaxil, (12.002) benalaxil-M (kiralaxil), (12.003) metalaxil, (12.004) metalaxil-M (mefenoxam).
- (13) Inhibidores de la transducción de señales, por ejemplo, (13.001) fludioxonil, (13.002) iprodiona, (13.003) procimidona, (13.004) proquinazid, (13.005) quinoxifen, (13.006) vinclozolina.
- (14) Compuestos que actúan como desligantes, por ejemplo, (14.001) fluazinam, (14.002) meptildinocap.
- (15) Otros compuestos, por ejemplo, (15.001) ácido abscísico, (15.002) bentiazol, (15.003) betoxazina, (15.004) capsimicina, (15.005) carvona, (15.006) quinometionat, (15.007) cufraneb, (15.008) ciflufenamida, (15.009) cimoxanil, (15.010) ciprosulfamida, (15.011) flutianil, (15.012) fosetil-aluminio, (15.013) fosetil-calcio, (15.014) fosetil-sodio, (15.015) isotiocianato de metilo, (15.016) metrafenona, (15.017) mildiomicina, (15.018) natamicina, (15.019) dimetilditiocarbamato de níquel, (15.020) nitrotal-isopropilo, (15.021)

oxamocarb, (15.022) oxatiapirolina, (15.023) oxifentiina, (15.024) pentaclorofenol y sus sales, (15.025) ácido fosforoso y sus sales, (15.026) propamocarb-fosetilato, (15.027) piriofenona (clazafenona), (15.028) tebufloquina, (15.029) tecloftalam, (15.030) tolifenida, (15.031) 1-(4-{4-[(5R)-5-(2,6-difluorofenil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)-2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]etanona, (15.032) 1-(4-{4-[(5S)-5-(2,6-difluorofenil)-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)-2-[5-metil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il]etanona, (15.033) 2-(6-bencilpiridin-2-il)quinazolina, (15.034) dipimetitrona, (15.035) 2-[3,5-bis(difluorometil)-1H-pirazol-1-il]-1-[4-(4-{5-[2-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}-piperidin-1-il)etanona, (15.036) 2-[3,5-bis(difluorometil)-1H-pirazol-1-il]-1-[4-(4-{5-[2-cloro-6-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)etanona, (15.037) 2-[3,5-bis(difluorometil)-1H-pirazol-1-il]-1-[4-(4-{5-[2-fluoro-6-(prop-2-in-1-iloxi)fenil]-4,5-dihidro-1,2-oxazol-3-il]-1,3-tiazol-2-il}piperidin-1-il)etanona, (15.038) 2-[6-(3-fluoro-4-metoxifenil)-5-metilpiridin-2-il]quinazolina, (15.039) metanosulfonato de 2-[(5R)-3-[2-(1-{[3,5-bis(difluorometil)-1H-pirazol-1-il]acetil}piperidin-4-il)-1,3-tiazol-4-il]-4,5-dihidro-1,2-oxazol-5-il]-3-clorofenilo, (15.040) metanosulfonato de 2-[(5S)-3-[2-(1-{[3,5-bis(difluorometil)-1H-pirazol-1-il]acetil}piperidin-4-il)-1,3-tiazol-4-il]-4,5-dihidro-1,2-oxazol-5-il]-3-clorofenilo, (15.041) ipflufenoquina, (15.042) 2-{2-fluoro-6-[(8-fluoro-2-metilquinolin-3-il)oxi]fenil}propan-2-ol, (15.043) metanosulfonato de 2-{3-[2-(1-{[3,5-bis(difluorometil)-1H-pirazol-1-il]acetil}piperidin-4-il)-1,3-tiazol-4-il]-4,5-dihidro-1,2-oxazol-5-il]-3-clorofenilo, (15.044) metanosulfonato de 2-{3-[2-(1-{[3,5-bis(difluorometil)-1H-pirazol-1-il]acetil}piperidin-4-il)-1,3-tiazol-4-il]-4,5-dihidro-1,2-oxazol-5-il}fenilo, (15.045) 2-fenilfenol y sus sales, (15.046) 3-(4,4,5-

trifluoro-3,3-dimetil-3,4-dihidroisoquinolin-1-il)quinolina, (15.047) quinofumelina, (15.048) 4-amino-5-fluoropirimidin-2-ol (forma tautomérica: 4-amino-5-fluoropirimidin-2(1H)-ona), (15.049) ácido 4-oxo-4-[(2-feniletil)amino]butanoico, (15.050) 5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-tiol, (15.051) 5-cloro-N'-fenil-N'-(prop-2-in-1-il)tiofene-2-sulfonohidrazida, (15.052) 5-fluoro-2-[(4-fluorobencil)oxi]pirimidin-4-amina, (15.053) 5-fluoro-2-[(4-metilbencil)-oxi]-pirimidin-4-amina, (15.054) 9-fluoro-2,2-dimetil-5-(quinolin-3-il)-2,3-dihidro-1,4-benzoxazepina, (15.055) {6-[[[(Z)-(1-metil-1H-tetrazol-5-il)-(fenil)-metilene]amino]oxi]metil]piridin-2-il}carbamato de but-3-in-1-ilo, (15.056) (2Z)-3-amino-2-ciano-3-fenilacrilato de etil, (15.057) ácido fenazin-1-carboxílico, (15.058) 3,4,5-trihidroxibenzoato de propilo, (15.059) quinolin-8-ol, (15.060) sulfato de quinolin-8-ol (2:1), (15.061) {6-[[[(1-metil-1H-tetrazol-5-il)(fenil)metilene]amino]oxi]metil]piridin-2-il}-carbamato de terbutilo, (15.062) 5-fluoro-4-imino-3-metil-1-[(4-metilfenil)sulfonil]-3,4-dihidro-pirimidin-2(1H)-ona, (15.063) aminopirifeno.

[0059] Todos los componentes de mezcla de las clases (1) a (15) mencionadas pueden estar presentes como compuestos libres, y/o si sus grupos funcionales lo permiten, como sales agrícolamente aceptables.

[0060] Los agentes de control biológico que pueden aplicarse para controlar patógenos de plantas son fungicidas biológicos. Los ejemplos de estos fungicidas biológicos abarcan cualquiera de los descritos con anterioridad.

[0061] Los diversos aspectos de la invención podrán comprenderse más completamente a partir de los ejemplos experimentales más adelante.

[0062] Todos los métodos y las operaciones que se describen más adelante solamente se proveen a modo de ejemplo y corresponden a una elección realizada entre los diversos métodos disponibles para obtener resultados

idénticos. Esta elección no tiene efecto alguno sobre la calidad del resultado, por lo que aquellos versados en la técnica han de poder emplear cualquier método apropiado para obtener el mismo resultado. En particular, y a menos que se especifique lo contrario en los ejemplos, los abordajes de recombinación de ADN empleados se realizaron según los procedimientos convencionales descritos en Sambrook y Russel (2001, Molecular cloning: A laboratory manual, tercera edición, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY), Ausubel et al. (1994, Current Protocols in Molecular Biology, Current protocols, USA, volúmenes 1 y 2) y Brown (1998, Molecular Biology LabFax, segunda edición, Academic Press, Reino Unido). Se describen materiales y métodos convencionales en la biología molecular de plantas en Croy R.D.D. (1993, Plant Molecular Biology LabFax, BIOS Scientific Publications Ltd. (Reino Unido) y Blackwell Scientific Publications (Reino Unido)). También se describen materiales y métodos convencionales para PCR (reacción en cadena de la polimerasa) en Dieffenbach y Dveksler (1995, PCR Primer: A laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY) y McPherson et al. (2000, PCR – Basics: From background to bench, primera edición, Springer Verlag, Alemania).

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Efecto de la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus* sobre el oídio de la vid, *Erysiphe necator*, bajo condiciones de campo

Se realizaron estudios en viñedos seleccionados, bajo condiciones de infestación naturales por el oídio de la vid, *Erysiphe necator*. La aparición y el desarrollo naturales del oídio en los campos se monitorearon con una herramienta de detección basada en una qPCR con especificidad por *Erysiphe*

necator, según se describe en la Solicitud de Patente Internacional PCT WO2017/009251.

Se usó la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus* en su forma comercial, comercializada en Francia bajo la marca Sonata®.

Los estudios se realizaron en dos sitios diferentes, en viñedos sembrados con sendos cultivares de vid, ambos igualmente susceptibles al oídio.

Sitio 1: Goulth, sudeste de Francia. Cultivar de vid: Roussanne.

Sitio 2: Cuxac d'Aude, sur de Francia. Cultivar de vid: Chardonnay.

En los estudios, se usó la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus* en un programa de tratamiento donde también se emplearon otros productos fungicidas.

Se realizó un tratamiento comparativo usando un producto a base de azufre en lugar de la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus*.

Los controles no recibieron tratamiento alguno.

A continuación se ilustran los programas de tratamiento.

+7 días			+7 días	+7 días	+20 días	+14 días	+7 días	+7 días
Etapas del desarrollo de las hojas			Inflorescencias y flores			Etapas del desarrollo de los frutos		
QST 2808	QST 2808	QST 2808	LUNA SENSATION 0,2 L/ha ¹	ROCCA 0,5 L/ha ²		QST 2808	QST 2808	QST 2808
Azufre	Azufre	Azufre	LUNA SENSATION 0,2 L/ha ¹	ROCCA 0,5 L/ha ²		Azufre	Azufre	Azufre

Se aplicó un programa de tratamiento comparativo adicional (el programa “menos QST”), con QST2808 como los tres primeros tratamientos pero sin el primer tratamiento o los tres primeros tratamientos, con azufre como los últimos tres tratamientos del programa, según se ilustra a continuación.

QST 2808	QST 2808	QST 2808	LUNA SENSATION 0,2 L/ha ¹	ROCCA 0,5 L/ha ²	Azufre	Azufre	Azufre
-------------	-------------	-------------	--	--------------------------------	--------	--------	--------

¹El producto comercial Luna Sensation contiene el fungicida fluopiram como ingrediente activo.

²El producto comercial Rocca contiene los fungicidas difenoconazol y ciflufenamida como ingredientes activos.

En los dos sitios, los tratamientos se realizaron en las mismas etapas de desarrollo del viñedo.

El desarrollo de la enfermedad se evaluó por dos medios diferentes.

En primer lugar, se evaluó la infestación de *Erysiphe necator* a nivel molecular en las hojas en el momento del primer tratamiento, usando la herramienta de qPCR descrita en la Solicitud de Patente Internacional PCT WO2017/009251.

En este momento, no hubo síntomas visibles de la enfermedad.

En segundo lugar, se evaluó visualmente el desarrollo de los síntomas de la enfermedad en grupos completamente desarrollados, entre 3 y 4 semanas después del último tratamiento de los programas.

Las observaciones visuales de los síntomas en los racimos de uvas se realizaron muestreando aproximadamente cien racimos en la misma parcela experimental en varias plantas, determinando la cantidad de racimos infectados y calculando el porcentaje del área de racimos infectada.

Los resultados de las observaciones visuales de los síntomas se expresaron como porcentajes de eficacia del programa de tratamiento, con relación a controles sin tratar, según la siguiente fórmula.

$$((\text{síntomas en los controles} - \text{síntomas con el tratamiento}) / \text{síntomas en los controles}) \times 100$$

Detección por qPCR

Mediante los análisis de qPCR, se comprobó que *Erysiphe necator* ya estaba presente en el inicio del programa de tratamiento en el sitio en Goult (9 de cada 10 hojas analizadas presentaron niveles detectables de hongos), pero estaba mucho menos presente en el sitio en Cuxac d'Aude (no hubo hojas infectadas en el inicio del programa de tratamiento, hubo 3 hojas infectadas de cada 10 después del primer tratamiento y 1 hoja de cada 20 después del segundo tratamiento). En ausencia de síntomas visibles, la situación de infestación en el inicio del tratamiento fue diferente en los dos sitios experimentales.

Observación visual de los síntomas en los racimos de uvas

Las observaciones de los síntomas en los racimos de uvas se realizaron varias semanas después del final de los programas de tratamiento, en racimos completamente desarrollados. Estas observaciones se realizaron en ambos sitios.

Los resultados en el sitio en Goult se proveen en la tabla 1.

Tipo de programa	QST2808	Azufre	Menos QST ⁽¹⁾
% de eficacia	97, 4	99,1	99,1

⁽¹⁾Sin los tres primeros tratamientos con QST2808

En función de estas observaciones, se concluyó que los primeros tres tratamientos con QST2808 no tuvieron contribución alguna en los buenos niveles de eficacia observados para los tres programas de tratamiento.

Los resultados en el sitio en Cuxac d'Aude se proveen en la tabla 2.

Tipo de programa	QST2808	Azufre	Menos QST ⁽²⁾	Menos QST ⁽³⁾
% de eficacia	94,9	87 8	96,8	76,7

⁽²⁾Sin el primer tratamiento con QST2808

⁽³⁾Sin los tres primeros tratamientos con QST2808

En función de estas observaciones, se concluyó que los tratamientos tempranos con QST2808 tuvieron una contribución eficaz en los buenos niveles de eficacia observados para los programas de tratamiento. Cuando se suprimió más de uno de estos tratamientos tempranos antes de la floración, se redujo la eficacia general del programa de tratamiento.

En conjunto, a partir de los resultados obtenidos en los racimos de uvas en los dos sitios, en combinación con la información de qPCR obtenida en el inicio de los programas de tratamiento, se concluyó que los tratamientos tempranos con QST2808 no contribuyen en el control del desarrollo de *Erysiphe necator* cuando se los aplica una vez que el patógeno está presente en el campo de vid. Por otro lado, se determinó que los tratamientos tempranos con QST2808 contribuyen en el control del desarrollo de *Erysiphe necator* cuando se los aplica apenas puede detectarse ligeramente el patógeno (es decir, cuando la infestación en el campo está en el inicio del período de incubación).

Ejemplo 2. Efecto de un agente de control biológico que contiene COS y OGA sobre el oídio de la vid, *Erysiphe necator*, bajo condiciones de campo

Bajo condiciones idénticas, en los mismos sitios y simultáneamente con el experimento del ejemplo 1, se realizó un experimento donde se sustituyeron los tratamientos con la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus* por tratamientos con otro agente de control biológico que contenía una mezcla de quito-oligosacáridos (COS) y oligo-galacturónidos (OGA).

Este agente de control biológico se usó en su forma comercial, comercializado en Francia bajo la marca Bastid®.

Observación visual de los síntomas en los racimos de uvas

Las observaciones de los síntomas en los racimos de uvas se realizaron varias semanas después del final de los programas de tratamiento, en racimos completamente desarrollados. Estas observaciones se realizaron en ambos sitios.

Los resultados en el sitio en Goult se proveen en la tabla 3.

Tipo de programa	Bastid®	Azufre	Menos Bastid® ⁽¹⁾
% de eficacia	96,8	99,1	99,1

⁽¹⁾Sin los tres primeros tratamientos con Bastid®

En función de estas observaciones, se concluyó que los tres primeros tratamientos con Bastid® no contribuyeron en los buenos niveles de eficacia observados para los tres programas de tratamiento.

Los resultados en el sitio en Cuxac d'Aude se proveen en la tabla 4.

Tipo de programa	Bastid®	Azufre	Menos Bastid® ⁽²⁾
% de eficacia	95, 4	87,8	77

⁽²⁾Sin los tres primeros tratamientos con Bastid®.

En función de estas observaciones, se concluyó que los tratamientos tempranos con Bastid® tuvieron una contribución eficaz en los buenos niveles de eficacia observados para los programas de tratamiento. Cuando se eliminó más de uno de estos tratamientos tempranos antes de la floración, se redujo la eficacia general del programa de tratamiento.

En conjunto, a partir de los resultados obtenidos en los racimos de uvas en los dos sitios, en combinación con la información de qPCR obtenida en el inicio de

los programas de tratamiento, se concluyó que los primeros tratamientos con Bastid® no contribuyen en el control del desarrollo del *Erysiphe necator* cuando se los aplica una vez que el patógeno está presente en el campo de vid. Por otro lado, se determinó que los tratamientos tempranos con Bastid® contribuyen en el control del desarrollo de *Erysiphe necator* cuando se los aplica apenas puede detectarse ligeramente el patógeno (es decir, cuando la infestación en el campo está en el inicio del período de incubación).

REIVINDICACIONES

1. Un método para controlar una infestación en una planta de un patógeno fúngico de plantas que tiene un período de incubación prolongado con un agente de control biológico, CARACTERIZADO PORQUE comprende aplicar una cantidad eficaz del agente de control biológico sobre la planta cuando la infección del patógeno fúngico de plantas está en el inicio del período de incubación.
2. El método según la reivindicación 1, CARACTERIZADO PORQUE la planta es una planta de cultivo.
3. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, CARACTERIZADO PORQUE la planta de cultivo está en un campo de cultivo.
4. Un método para controlar una infestación de un patógeno fúngico con un período de incubación prolongado en una planta usando un agente de control biológico, CARACTERIZADO PORQUE comprende los siguientes pasos:
 - (a) determinar la etapa de infección del patógeno fúngico en la planta antes de la observación de cualquier síntoma visible usando un medio de detección apropiado para el patógeno fúngico en cuestión;
 - (b) si en el paso (a) se determina que la infección del patógeno fúngico de plantas está en el inicio del período de incubación, aplicar una cantidad eficaz del agente de control biológico sobre la planta.
5. Un método para controlar una infestación de un patógeno fúngico de plantas con un período de incubación prolongado en un campo de cultivo usando un agente de control biológico, CARACTERIZADO PORQUE comprende los siguientes pasos:

(a) determinar si el campo de cultivo está en riesgo de infección por el patógeno fúngico de plantas en función de parámetros asociados al desarrollo del patógeno fúngico de plantas, para luego usar la información resultante de esta determinación en el cálculo de la probabilidad de que el patógeno se desarrolle en el campo de cultivo;

(b) si mediante la determinación en el paso (a) se establece que el campo de cultivo está en riesgo, determinar la etapa de infección del patógeno fúngico de plantas en el campo antes de la observación de cualquier síntoma visible usando un medio de detección apropiado para el patógeno fúngico en cuestión;

(c) si mediante la determinación en el paso (a) se establece que la infección del patógeno fúngico de plantas está en el inicio del período de incubación, aplicar una cantidad eficaz del agente de control biológico sobre el campo.

6. El método según la reivindicación 5, CARACTERIZADO PORQUE la determinación en el paso (a) se realiza usando un medio digital que comprende uno o más programas informáticos útiles para calcular el riesgo de infección en un campo determinado, donde la información resultante de los parámetros evaluados es usada por estos medios digitales para realizar el cálculo.

7. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, CARACTERIZADO PORQUE el patógeno fúngico de plantas con un período de incubación prolongado es el hongo causante del oídio en la vid, *Erysiphe necator*, y la planta o el cultivo son la vid.

8. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, CARACTERIZADO PORQUE el agente de control biológico comprende la cepa QST2808 de *Bacillus pumilus*.

9. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, CARACTERIZADO PORQUE la determinación de que la infección del patógeno fúngico de plantas está en el inicio del período de incubación se realiza usando un medio de detección basado en una qPCR con especificidad por el patógeno fúngico de plantas.

10. El método según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, CARACTERIZADO PORQUE el agente de control biológico se aplica como parte de un programa de tratamiento.

MÉTODOS BIOLÓGICOS PARA CONTROLAR HONGOS FITOPATOGÉNICOS

RESUMEN

Métodos para controlar hongos fitopatógenicos usando agentes de control biológicos. Métodos para controlar hongos fitopatógenicos con un período de incubación prolongado. En particular, los métodos según la invención son apropiados para controlar el agente causal del oídio en la vid, el hongo *Erysiphe necator*.