SINERGIA ENTRE MEZCLAS DE ISOTIOCIANATOS Y FUNGICIDAS COMERCIALES

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a mezclas fungicidas de derivados de isotiocianato y fungicidas comerciales, y a composiciones que comprenden tales mezclas y métodos para usar tales mezclas como fungicidas.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La población humana aumenta cada año y está a punto de alcanzar los 8,600 millones en 2030, Para mantener altos niveles de producción de alimentos, los agricultores tienen que utilizar tratamientos externos, como: 1) pesticidas químicos que tienen alta eficiencia y costos accesibles, pero que tienen un impacto negativo en el medio ambiente y la salud humana; 2) pesticidas biológicos que no tienen ningún efecto nocivo sobre el medio ambiente, pero que muestran una baja eficiencia (menos del 60%, en comparación con los pesticidas químicos existentes) y altos costos. Esto hace que los pesticidas biológicos no sean accesibles para muchos países y abre posibilidades para desarrollar y llevar al mercado tratamientos orgánicos novedosos que revelen alta eficiencia y costos accesibles y sean amigables con el medio ambiente.

En las últimas décadas, se desarrollaron algunos enfoques biológicos para prevenir B. cinerea en el campo, por ejemplo, la aplicación de Bacillus subtilis y Trichoderma harzanium, pero se utilizan poco en agricultura debido a su baja eficiencia.

En la agricultura de Europa occidental, los fungicidas biopreventivos más utilizados son el cobre y el azufre. Estos fungicidas son costosos de aplicar debido a la necesidad de reaplicarlos después de cada precipitación. Además, las altas concentraciones de estos metales en el suelo tienen impactos negativos en el medio ambiente.

En consecuencia, es crucial proporcionar una alternativa a estas técnicas, más respetuosa con el medio ambiente, así como un tratamiento preventivo contra hongos patógenos altamente eficaz.

Los hongos patógenos de las plantas son una de las amenazas agronómicas que provocan graves pérdidas de alimentos cada año. La eficacia de los hongos patógenos se debe a su fácil dispersión en la naturaleza, su rápida adhesión a la superficie del huésped y su rápido desarrollo del tubo germinativo que promueve la penetración en las plantas.

Las plantas, por otro lado, han desarrollado varios mecanismos de defensa contra hongos patógenos, por ejemplo, necrótrofos: a) prevención de la penetración de patógenos; b) mayores niveles de especies reactivas de oxígeno; c) inducción de hormonas de defensa, como jasmonato, etileno, ácido salicílico y abscísico. Además, algunas plantas sintetizan compuestos fungitóxicos que previenen el desarrollo de hongos en la superficie de la planta y detienen la formación de enfermedades. La identificación de compuestos vegetales con fuerte actividad antifúngica puede conducir al desarrollo de nuevos fungicidas biológicos que, potencialmente, pueden reemplazar los tratamientos químicos existentes actualmente.

El orden de Brassicales está formado por plantas de importancia económica que se distribuyen ampliamente y se utilizan como fuente de alimento. Se demostró que este grupo de plantas tiene un conjunto único de metabolitos secundarios: los glucosinolatos. En las últimas décadas, se ha demostrado que los derivados de glucosinolatos tienen propiedades anticancerígenas, antiinflamatorias e insecticidas.

En CAROLINE MUELLER: “Role of glucosinolates in plant invasiveness”, REVISIONES DE FITOQUÍMICA, KLUWER ACADEMIC PUBLISHERS, DO, vol. 8, núm. 1, 28 de octubre de 2008 (28 de octubre de 2008), páginas 227-242, XP019686442, ISSN: 1572-980X, se revela que muchas plantas han sido introducidas intencional o accidentalmente en nuevos hábitats donde algunas de ellas ahora causan importantes amenazas ecológicas y económicas a los ecosistemas naturales y agrícolas. El potencial de volverse invasivo podría depender de las características de

la planta, así como de interacciones específicas con otros organismos que actúan como simbiontes o antagonistas, incluidas otras plantas, microbios, herbívoros o polinizadores. El potencial de invasión depende además de las condiciones abióticas del hábitat. Varias especies de Brassicaceae, bien conocidas por su sistema de defensa glucosinolato-mirosinasa, son especies invasoras. Aquí se revisan varios factores que podrían explicar por qué estas especies tuvieron tanto éxito en colonizar nuevas áreas. Se pone especial énfasis en el papel de los glucosinolatos y sus productos de hidrólisis en el potencial de invasión. Este sistema de defensa particular está involucrado específicamente en las interacciones planta-planta, planta-microbio y planta-insecto. La mayor parte de las investigaciones se han realizado sobre los mecanismos que subyacen al éxito de la invasión de Alliaria petiolata y Brassica spp., seguidas de Bunias orientalis y Lepidium draba. También se dan algunos ejemplos de plantas que no necesariamente se consideran invasoras, pero que fueron bien investigados con respecto a su potencial de interferencia con su entorno biótico. Para cada especie, lo más probable es que una combinación de diferentes características de las plantas mejorara las capacidades competitivas y condujera a diversos fenotipos invasores.

El documento WO 2018/204435 A1 (DOW AGROSCIENCES LLC [EE.UU.]) 8 de noviembre de 2018 (2018-11-08) describe una composición fungicida que contiene una cantidad fungicidamente eficaz de un compuesto de Fórmula I, (3-acetoxi-4-metoxipicolinoil)-L-alaninato de (S)-1,1-bis(4-fluorofenil)propan-2-ilo, y al menos un fungicida seleccionado del grupo que consiste en tebuconazol, protioconazol, difenconazol, epoxiconazol, mefentrifluconazol, benzovindiflupir, pentiopirad, fluxapiroxad, bixafeno, fluopiram, picoxistrobina, piraclostrobina, azoxistrobina, mancozeb y clorotalonil, proporciona un control sinérgico de los hongos seleccionados. El documento WO 2020/011750 A1 (UNIV LAUSANNE [CH]) se relaciona con el campo de los fungicidas biológicos con una amplia gama de actividad antifúngica provenientes de extractos de plantas del orden de Brassicales o moléculas que revelan una estructura química similar. En paritcular, los solicitantes proporcionaron

sorprendentemente un nuevo uso de una combinación de sulfonilo y sulfinilo que contienen glucosinolatos alifáticos sus subproductos y análogos sintéticos como compuestos antifúngicos eficientes con amplio espectro de actividad.

El control de las enfermedades de las plantas causadas por hongos patógenos es extremadamente importante para lograr una alta eficiencia de los cultivos. Los daños causados por enfermedades vegetales a cultivos ornamentales, hortalizas, agrícolas, cereales y frutales pueden provocar una reducción significativa de la productividad y, por tanto, dar lugar a mayores costes para el consumidor. Además de ser a menudo muy destructivas, las enfermedades de las plantas pueden ser difíciles de controlar y pueden desarrollar resistencia a los fungicidas comerciales. A menudo se utilizan combinaciones de fungicidas para facilitar el control de enfermedades, ampliar el espectro de control y retardar el desarrollo de resistencia. Además, ciertas combinaciones raras de fungicidas demuestran un efecto mayor que el aditivo (es decir, sinérgico) para proporcionar niveles comercialmente importantes de control de enfermedades de las plantas. Se reconoce en la técnica que las ventajas de combinaciones particulares de fungicidas varían, dependiendo de factores tales como la especie de planta particular y la enfermedad de la planta a tratar, y si las plantas se tratan antes o después de la infección con el patógeno vegetal fúngico.

En consecuencia, se necesitan nuevas combinaciones ventajosas para proporcionar una variedad de opciones para satisfacer mejor las necesidades particulares de control de enfermedades de las plantas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

En la presente invención, los solicitantes han identificado mezclas fungicidas de derivados de glucosinolatos, concretamente isotiocianatos (ITC) y fungicidas comerciales y composiciones sinérgicas que comprenden tales mezclas, así como métodos para utilizar dichas mezclas como fungicidas. Se observó un fuerte efecto fungitóxico sobre una amplia gama de patógenos fúngicos. Esta combinación de productos puede utilizarse como una nueva línea de fungicidas biológicos.

Uno de los objetivos de la presente invención es proporcionar una composición fungicida sinérgica que comprende:

(a) siendo al menos un componente la mezcla de 1-isotiocianato-8(metilsulfonil)-octano (8MSOOH) y 1-isotiocianato-8-(metilsulfinil)-octano (8MSOH); y

(b) al menos un componente fungicida sintético adicional seleccionado de Mancozeb, Dodina, Clorotalonil, Tebuconazol, Captan, Ciprodinilo, Fludioxonilo, Fluxipiroxad y Pirimetanilo, ácido fosforoso y sales de los mismos o mezclas de los mismos.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un método para controlar una enfermedad de las plantas causada por un patógeno fúngico de las plantas que comprende aplicar a la planta o a una parte de la misma o a la semilla de la planta, una cantidad fungicidamente eficaz de la composición fungicida sinérgica de la invención.

Un objetivo adicional de la invención es proporcionar el uso de una composición sinérgica que comprende la combinación de:

(a) siendo al menos un componente la mezcla de 1-isotiocianato metil sulfinil-octano (8MSOH) y 1-isotiocianato metilsulfonil-octano (8MSOOH); y

(b) al menos un componente fungicida sintético adicional seleccionado de Mancozeb, Dodina, Clorotalonil, Tebuconazol, Captan, Ciprodinilo, Fludioxonilo, Fluxipiroxad y Pirimetanilo, ácido fosforoso y sales de los mismos o mezclas de los mismos, en la prevención o tratamiento de hongos patógenos en plantas.

Otros objetivos y ventajas de la invención resultarán evidentes para los expertos en la técnica a partir de una revisión de la descripción detallada siguiente, que procede con referencia a los siguientes dibujos ilustrativos y las reivindicaciones adjuntas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: Resultados de la actividad fungitóxica (curativa) in vitro del ITC (8MSOH/8MSOOH) y fungicidas sintéticos (Dodina, Tebuconazol y Clorotalonil) solos y en combinación sobre Penicilium digitatum, incluyendo el índice de combinación más bajo para la sinergia. La línea normal representa el ajuste de los datos de ITC, la línea

discontinua el ajuste de los datos de fungicidas y la línea en negrita el ajuste de los datos combinados (fungicida + ITC).

Figura 2: Resultados de la actividad fungitóxica (curativa) in vitro del ITC (8MSOH/8MSOOH) y fungicidas sintéticos (Pirimetanilo, Clorotalonil y Tebuconazol) solos y en combinación con Rhizoctonia solani, incluido el índice de combinación más bajo para la sinergia. La línea normal representa el ajuste de los datos de ITC, la línea discontinua el ajuste de los datos de fungicidas y la línea en negrita el ajuste de los datos combinados (fungicida + ITC).

Figura 3: Resultados de la actividad fungitóxica (curativa) in vitro del ITC (8MSOH/8MSOOH) y fungicidas sintéticos (Dodina, Pirimetanilo y Tebuconazol) solo y en combinación con Alternaria radicina, incluido el índice de combinación más bajo para la sinergia. La línea normal representa el ajuste de los datos de ITC, la línea discontinua el ajuste de los datos de fungicidas y la línea en negrita el ajuste de los datos combinados (fungicida + ITC).

Figura 4: Resultados de la actividad fungitóxica (curativa) in vitro del ITC (8MSOH/8MSOOH) y fungicidas sintéticos (Tebuconazol y Dodina) solos y en combinación con Geotrichum candidum y Botrytis cinerea, incluido el índice de combinación más bajo para la sinergia. La línea normal representa el ajuste de los datos de ITC, la línea discontinua el ajuste de los datos de fungicidas y la línea en negrita el ajuste de los datos combinados (fungicida + ITC).

Figura 5: Resultados de la actividad fungitóxica (preventiva) in vitro del ITC (8MSOH/8MSOOH) y fungicidas sintéticos (Tebuconazol y Clorotalonil) solos y en combinación con Geotrichum candidum y Rhizoctonia solani, incluido el índice de combinación más bajo para la sinergia. La línea normal representa el ajuste de los datos de ITC, la línea discontinua el ajuste de los datos de fungicidas y la línea en negrita el ajuste de los datos combinados (fungicida + ITC).

Figura 6 Resultados de la actividad fungitóxica (curativa) in vitro del ITC (8MSOH/8MSOOH) y fungicidas sintéticos (Fluxypyroxad, Dodina y Tebuconazol) solos y en combinación con Lasiodiplodia pseudotheobromae, incluido el índice de

combinación más bajo para la sinergia. La línea normal representa el ajuste de los datos de ITC, la línea discontinua el ajuste de los datos de fungicidas y la línea en negrita el ajuste de los datos combinados (fungicida + ITC).

Figura 7: Resultados de la actividad fungitóxica (curativa) in vitro del ITC (8MSOH/8MSOOH) y fungicidas sintéticos (Cyprodinil y Fludioxonilo) solos y en combinación con Lasiodiplodia pseudotheobromae, incluido el índice de combinación más bajo para la sinergia. La línea normal representa el ajuste de los datos de ITC, la línea discontinua el ajuste de los datos de fungicidas y la línea en negrita el ajuste de los datos combinados (fungicida + ITC).

Figura 8: Resultados de la actividad fungitóxica (curativa) in vitro del ITC (8MSOH/8MSOOH) y fungicidas sintéticos (Captan y Tebuconazol) solos y en combinación con Fusarium verticilloides, incluido el índice de combinación más bajo para la sinergia. La línea normal representa el ajuste de los datos de ITC, la línea discontinua el ajuste de los datos de fungicidas y la línea en negrita el ajuste de los datos combinados (fungicida + ITC).

Figura 9 Resultados de actividad fungitóxica (curativa) in vitro del ITC (8MSOH/8MSOOH) y fungicida sintético (Clorotalonil) solos y en combinación con Colletotrichum acutatum, incluido el índice de combinación más bajo para la sinergia. La línea normal representa el ajuste de los datos de ITC, la línea discontinua el ajuste de los datos de fungicidas y la línea en negrita el ajuste de los datos combinados (fungicida + ITC).

Figura 10: Resultados de la actividad fungitóxica (curativa) in vitro del ITC (8MSOH/8MSOOH) y el fungicida sintético (Tebuconazol) solos y en combinación sobre Penicillium commune, incluido el índice de combinación más bajo para la sinergia. La línea normal representa el ajuste de los datos de ITC, la línea discontinua el ajuste de los datos de fungicidas y la línea en negrita el ajuste de los datos combinados (fungicida + ITC).

Figura 11: Resultados de la actividad fungitóxica (curativa) in vitro del ITC (8MSOH/8MSOOH) y fungicidas sintéticos (Mancozeb y Dodina) solo y en

combinación con Plectosphaerella cucumerina, incluido el índice de combinación más bajo para la sinergia. La línea normal representa el ajuste de los datos de ITC, la línea discontinua el ajuste de los datos de fungicidas y la línea en negrita el ajuste de los datos combinados (fungicida + ITC).

DESCRIPCIÓN DETALLADA LA INVENCIÓN

Aunque en la práctica o prueba de la presente invención se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. Todas las publicaciones, solicitudes de patente, patentes y otras referencias mencionadas en el presente documento se incorporan como referencia en su totalidad. Las publicaciones y aplicaciones analizadas en el presente documento se proporcionan únicamente para su descripción antes de la fecha de presentación de la presente solicitud. Nada de lo aquí contenido debe interpretarse como una admisión de que la presente invención no tiene derecho a ser anterior a tal publicación en virtud de una invención anterior. Además, los materiales, métodos y ejemplos son sólo ilustrativos y no pretenden ser limitantes.

En caso de conflicto, prevalecerá la presente especificación, incluidas las definiciones.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que entiende comúnmente un experto en la técnica a la que pertenece el tema del presente documento. Tal como se utilizan en el presente documento, se proporcionan las siguientes definiciones para facilitar la comprensión de la presente invención.

Tal como se utilizan en el presente documento, los términos “comprende”, “que comprende”, “incluye”, “incluido”, “tiene”, “que tiene”, “contiene” o “que contiene” o cualquier otra variación de los mismos, pretenden cubrir una inclusión no exclusiva y se utiliza en el sentido de incluir, es decir permitir la presencia de una o más características o componentes. Por ejemplo, una composición, proceso o método que

comprende una lista de elementos no se limita necesariamente solo a esos elementos, pero podrá incluir otros elementos no expresamente enumerados o inherentes a dicha composición, proceso, método.

Además, a menos que se indique expresamente lo contrario, “o” se refiere a un o inclusivo y no a un o exclusivo. Por ejemplo, una condición A o B se cumple mediante cualquiera de los siguientes: A es verdadera (o presente) y B es falsa (o no está presente), A es falsa (o no está presente) y B es verdadera (o está presente), y tanto A como B son verdaderas (o están presentes).

Además, los artículos indefinidos “un” y “una” que preceden a un elemento o componente de la invención no pretenden ser restrictivos con respecto al número de instancias (es decir, apariciones) del elemento o componente. Por lo tanto, se debe leer que “un” o “una” incluye uno o al menos uno, y la forma verbal singular del elemento o componente también incluye el plural, a menos que el número sea obviamente singular.

La presencia de palabras y frases ampliadoras como “uno o más”, “al menos”, “pero no limitado a” u otras frases similares en algunos casos no se interpretará en el sentido de que se pretende o requiere el caso más restringido”, en los casos en que tales frases ampliadoras puedan estar ausentes.

Un “hongo” es un eucariota que digiere los alimentos externamente y absorbe nutrientes directamente a través de sus paredes celulares. La mayoría de los hongos se reproducen por esporas y tienen un cuerpo (talo) compuesto por células tubulares microscópicas llamadas hifas. Los hongos son heterótrofos y, al igual que los animales, obtienen su carbono y energía de otros organismos. Algunos hongos obtienen sus nutrientes de un huésped vivo (planta o animal) y se denominan biotrofos; otros obtienen sus nutrientes de plantas o animales muertos y se denominan saprótrofos (saprófitos, saprobios). Algunos hongos infectan a un huésped vivo pero matan las células del huésped para obtener sus nutrientes; estos se llaman necrótrofos.

Los “hongos patógenos”, también denominados en el presente documento “fúngicos patógenos”, son hongos que causan enfermedades en plantas, humanos u otros organismos. Se sabe que aproximadamente 300 hongos son patógenos para los humanos. El estudio de los hongos patógenos para el ser humano se denomina “micología médica”. Aunque los hongos son eucariotas, muchos hongos patógenos son microorganismos. El estudio de los hongos y otros organismos patógenos de las plantas se denomina fitopatología.

Hay miles de especies de hongos fitopatógenos que en conjunto son responsables del 70% de todas las enfermedades conocidas de las plantas. Los hongos fitopatógenos son parásitos, pero no todos los hongos fitoparásitos son patógenos. Los hongos parásitos de las plantas obtienen nutrientes de una planta huésped viva, pero la planta huésped no necesariamente presenta ningún síntoma. Los hongos fitopatógenos son parásitos y causan enfermedades caracterizadas por síntomas.

Los “fungicidas” son compuestos químicos biocidas u organismos biológicos utilizados para matar hongos parásitos o sus esporas (definidos en el presente documento como fungitóxicos). Un fungistático inhibe su crecimiento. Los hongos pueden causar graves daños en la agricultura, provocando pérdidas críticas de rendimiento, calidad y beneficios. Los fungicidas se utilizan tanto en agricultura como en medicina para combatir infecciones fúngicas en animales o humanos. Los productos químicos utilizados para controlar los oomicetos, que no son hongos, también se denominan fungicidas, ya que los oomicetos utilizan los mismos mecanismos que los hongos para infectar las plantas. Los fungicidas pueden ser de contacto, translaminares o sistémicos. Los fungicidas de contacto no penetran en el tejido vegetal y solo protegen la planta donde se deposita el spray. Los fungicidas translaminares redistribuyen el fungicida desde la superficie superior de la hoja rociada hasta la superficie inferior sin rociar. Los fungicidas sistémicos se absorben y redistribuyen a través de los vasos del xilema. Pocos fungicidas llegan a todas las

partes de una planta. Algunos son localmente sistémicos y otros se mueven hacia arriba.

Los “fungistáticos” son agentes antifúngicos que inhiben el crecimiento de hongos (sin matarlos). El término fungistático puede utilizarse tanto como sustantivo como como adjetivo. Los fungistáticos tienen aplicaciones en la agricultura, la industria alimentaria, la industria de pinturas y la medicina.

Por “plantas” se entiende todas las plantas y poblaciones de plantas tales como plantas silvestres, cultivares y variedades de plantas deseables e indeseables (sea o no protegibles por variedades vegetales o derechos de obtentor). Los cultivares y variedades de plantas pueden ser plantas obtenidas mediante métodos convencionales de reproducción y reproducción que pueden ser asistidas o complementadas por uno o más métodos biotecnológicos, tales como mediante el uso de dobles haploides, fusión de protoplastos, mutagénesis aleatoria y dirigida, marcadores moleculares o genéticos o mediante métodos de bioingeniería e ingeniería genética. Por partes de plantas se entiende todas las partes y órganos de plantas que se encuentran por encima y por debajo del suelo, como brotes, hojas, flores y raíces, en donde se enumeran, por ejemplo, hojas, acículas, tallos, ramas, flores, cuerpos fructíferos, frutos y semillas, así como raíces, bulbos y rizomas. A las partes de las plantas también pertenecen los cultivos y el material de reproducción vegetativo y generativo, por ejemplo esquejes, bulbos, rizomas, estolones y semillas. Como se menciona en la presente descripción y reivindicaciones, “planta” incluye miembros del Reino Plantae, particularmente plantas con semillas (Spermatopsida), en todas las etapas de la vida, incluidas las plantas jóvenes (por ejemplo, semillas en germinación que se convierten en plántulas) y etapas reproductivas maduras (por ejemplo, plantas que producen flores y semillas). Algunas partes de las plantas incluyen miembros geotrópicos que normalmente crecen debajo de la superficie del medio de cultivo (por ejemplo, suelo), tales como raíces, tubérculos, bulbos y bulbos, y también miembros que crecen por encima del medio de cultivo, como follaje (incluidos tallos y hojas), flores, frutos y semillas.

Como se hace referencia en el presente documento, el término “plántula”, usado solo o en una combinación de palabras, significa una planta joven que se desarrolla a partir del embrión de una semilla o yema de una unidad de propagación vegetativa tal como un tubérculo, cormo o rizoma.

El ácido fosfórico y sus sales no se encuentran de forma natural, sino que están estrechamente relacionados con sustancias comunes que se encuentran en todo el medio ambiente. Los ingredientes activos son directamente tóxicos para los hongos objetivo y también parecen aumentar la eficacia de los mecanismos de defensa de las plantas.

Un experto en la técnica reconoce que debido a que en el medio ambiente y en condiciones fisiológicas las sales de los compuestos químicos están en equilibrio con sus correspondientes formas no salinas, las sales comparten la utilidad biológica de las formas no salinas. Cuando los compuestos que forman las presentes mezclas y composiciones contienen restos ácidos o básicos, se puede formar una amplia variedad de sales, y estas sales son útiles en las presentes mezclas y composiciones para controlar enfermedades de las plantas causadas por patógenos fúngicos de las plantas (es decir, son adecuadas desde el punto de vista agrícola). Cuando un compuesto contiene una fracción básica tal como una función amina, las sales incluyen sales de adición de ácidos con ácidos inorgánicos u orgánicos tales como bromhídrico, clorhídrico, nítrico, fosfórico, sulfúrico, acético, butírico, fumárico, láctico, maleico, ácidos malónico, oxálico, propiónico, salicílico, tartárico, 4-toluenosulfónico o valérico. Cuando un compuesto contiene una fracción ácida como un ácido carboxílico o un alcohol como el fenol, las sales incluyen aquellas formadas con bases orgánicas o inorgánicas, tales como piridina, trietilamina o amoniaco, oramidas, hidruros, hidróxidos o carbonatos de sodio, potasio, litio, calcio, magnesio o bario.

La composición de la invención es fungitóxica y/o fungistática en plantas y puede aplicarse a cultivos vegetales en campo o para su implementación in vitro.

Generalmente se acepta que la “sinergia” ocurre cuando la acción combinada de dos o más agentes es mayor que la suma de sus efectos individuales.

En otras palabras, se dice que ocurre sinergia cuando la acción combinada de dos o más agentes es mayor de lo que podría haberse predicho basándose en el desempeño de los agentes cuando se usan solos.

“Isotiocianato” es el grupo químico -N=C=S, formado sustituyendo el oxígeno en el grupo isocianato por azufre. Muchos isotiocianatos naturales de las plantas se producen mediante conversión enzimática de metabolitos llamados glucosinolatos. Estos isotiocianatos naturales, como el isotiocianato de alilo, también se conocen como aceites de mostaza. Se utiliza un isotiocianato artificial, el isotiocianato de fenilo, para la secuenciación de aminoácidos en la degradación de Edman. En el contexto de la presente invención, el término isotiocianato o ITC representa la mezcla de 1-isotiocianato metil sulfinil-octano (8MSOH) y 1-isotiocianatometilsulfoniloctano (8MSOOH).

Un objetivo de la presente invención es proporcionar una composición fungicida sinérgica que comprende:

(a) siendo al menos un componente la mezcla de 1-isotiocianato metil sulfiniloctano (8MSOH) y 1-isotiocianato metilsulfonil-octano (8MSOOH); y

(b) al menos un componente fungicida sintético adicional seleccionado entre Mancozeb, Dodina, Clorotalonil, Tebuconazol, Captan, Ciprodinilo, Fludioxonilo, Fluxipiroxad y Pirimetanilo, ácido fosforoso y sales de los mismos o mezclas de los mismos.

Preferiblemente, el componente (b) se selecciona de Pirimetanilo, tebuconazol, clorotalonil, dodina, Ciprodinilo, fluxapiroxad, captan, mancozeb y Fludioxonilo.

Aún más preferentemente, el componente (b) se selecciona entre tebuconazol, captan, Ciprodinilo y dodina.

De acuerdo con una modalidad de la invención, el componente (a) está presente en una relación 1-isotiocianato metil sulfinil-octano/1-isotiocianato metil sulfonil-octano de 50-50 vol./vol. Preferiblemente, la relación de 1-isotiocianato metil sulfiniloctano/1-isotiocianato metil sulfoniloctano es 99/1 vol./vol.

De acuerdo con otra modalidad, el componente (a), concretamente la mezcla de 1-isotiocianato-8-(metilsulfonil)-octano (8MSOOH) y 1-isotiocianato-8-(metilsulfinil)-octano (8MSOH) representa entre 0,5-7% en concentración de dicha combinación de dichos dos compuestos activos. Preferiblemente, entre 1-4% en concentración de la combinación de tales dos compuestos activos y lo más preferiblemente, entre 1-2% en concentración de la combinación de tales dos compuestos activos.

De acuerdo con una modalidad de la invención, la composición fungicida sinérgica comprende además al menos un componente adicional seleccionado del grupo que consiste en un tensioactivo, un diluyente sólido y/o un diluyente líquido.

De acuerdo con otra modalidad más, la relación en peso del componente (a) al componente (b) es de 1:5 a 3137:1.

En particular, la relación en peso del componente (a) a Pirimetanilo es de 6:1 a 980:1.

De acuerdo con otra modalidad, la relación en peso del componente (a) a tebuconazol es de 2:1 a 2500:1.

De acuerdo con otra modalidad, la relación en peso del componente (a) a clorotalonil es de 1:5 a 880:1.

De acuerdo con otra modalidad, la relación en peso del componente (a) a dodina es de 1:1 a 103:1.

De acuerdo con una modalidad adicional, la relación en peso del componente (a) a 15 mancozeb es de 1:1 a 10:1.

De acuerdo con otra modalidad más, la relación en peso del componente (a) al captan es de 1:1 a 2:1.

De acuerdo con otra modalidad más, la relación en peso del componente (a) a Ciprodinilo es de 22:1 a 207:1.

De acuerdo con una modalidad adicional, la relación en peso del componente (a) a Fludioxonilo es de 398:1 a 3137:1.

De acuerdo con otra modalidad más, la relación en peso del componente (a) a fluxapiroxad es de 4:1 a 31:1.

Otro objetivo de la invención es proporcionar un método para controlar una enfermedad de una planta causada por un patógeno fúngico de planta que comprende aplicar a la planta o a una parte de la misma, o a la semilla de la planta, una cantidad fungicida mente eficaz de la composición fungicida sinérgica de la invención como se define anteriormente.

Preferiblemente, el patógeno vegetal fúngico se selecciona del grupo que consiste en Fusarium spp., Geotrichum candidum, Botrytis cinerea, Rhizoctonia solani, Penicillium digitatum Alternaria radicina, Fusarium veritcilloides, Penicillium commune, Plectosphaerella cucumerina, Colletotrichum acutatum y Lasiodiplodia pseudotheobromae.

Otro objetivo más de la invención es proporcionar un uso de una composición sinérgica que comprende la combinación de:

(a) siendo al menos un componente la mezcla de 1-isotiocianato metil sulfinil-octano (8MSOH) y 1-isotiocianato metilsulfonil-octano (8MSOOH); y

(b) al menos un componente fungicida sintético adicional seleccionado de Mancozeb, Dodina, Clorotalonil, Tebuconazol, Captan, Ciprodinilo, Fludioxonilo, Fluxipiroxad y Pirimetanilo, ácido fosforoso y sales de los mismos o mezclas de los mismos, en la prevención o tratamiento de hongos patógenos en plantas.

De acuerdo con una modalidad de la invención, el componente (a) está presente en una relación 1-isotiocianato metil sulfinil-octano/1-isotiocianato metil sulfonilo-octano de 50-50 vol./vol. Preferiblemente, la relación de 1-isotiocianato metil sulfinil-octano/1-isotiocianato metil sulfonilo-octano es 99/1 vol./vol.

De acuerdo con otra modalidad de la invención, la composición sinérgica comprende además al menos un componente adicional seleccionado del grupo que consiste en un tensioactivo, un diluyente sólido y/o un diluyente líquido.

De acuerdo con una modalidad, la relación en peso del componente (a) al componente (b) es de 1:5 a 3137:1.

En particular, la relación en peso del componente (a) a Pirimetanilo es de 6:1 a 980:1.

De acuerdo con otra modalidad, la relación en peso del componente (a) a tebuconazol es de 2:1 a 2500:1.

De acuerdo con otra modalidad, la relación en peso del componente (a) a clorotalonil es de 1:5 a 880:1.

De acuerdo con otra modalidad, la relación en peso del componente (a) a dodina es de 1:1 a 103:1.

De acuerdo con una modalidad adicional, la relación en peso del componente (a) a 20 mancozeb es de 1:1 a 10:1.

De acuerdo con otra modalidad más, la relación en peso del componente (a) al captan es de 1:1 a 2:1.

De acuerdo con otra modalidad más, la relación en peso del componente (a) a Ciprodinilo es de 22:1 a 207:1.

De acuerdo con una modalidad adicional, la relación en peso del componente (a) a Fludioxonilo es de 398:1 a 3137:1.

De acuerdo con otra modalidad más, la relación en peso del componente (a) a fluxapiroxad es de 4:1 a 31:1.

Las composiciones fungicidas sinérgicas incluyen aquellas en las que el componente (a) y el componente (b) están presentes en una cantidad fungicidamente eficaz y la relación en peso del componente (a) al componente (b) es de 1:5 a 3137:1. Estas composiciones son particularmente efectivas para controlar enfermedades de las plantas causadas por Fusarium spp., Geotrichum candidum, Botrytis cinerea, Rhizoctonia solani, Penicillium digitatum Alternaria, radicina, Fusarium verticilloides, Penicillium commune, Plectosphaerella cucumerina, Colletotrichum acutatum y Lasiodiplodia pseudotheobromae, hongos fitopatógenos.

La mezcla de componentes de esta invención se usa generalmente para proporcionar ingredientes activos fungicidas en composiciones, es decir, formulaciones con al menos un componente adicional seleccionado del grupo que consiste en tensioactivos, diluyentes sólidos y diluyentes líquidos, formulantes y excipientes, que sirven como vehículo. Los ingredientes de la formulación o composición se

seleccionan para que sean consistentes con las propiedades físicas de los ingredientes activos, el modo de aplicación y los factores ambientales tales como el tipo de suelo, la humedad y la temperatura.

De acuerdo con una modalidad, el componente (a) y el componente (b) y uno o más compuestos o agentes biológicamente activos se pueden formular por separado y aplicarse por separado o aplicarse simultáneamente en una proporción de peso apropiada, por ejemplo, como una mezcla en tanque; o

(ii) el componente (a) y el componente (b) y/o uno o más compuestos o agentes biológicamente activos se pueden formular juntos en la proporción en peso adecuada.

Preferiblemente, los transportadores o diluyentes a usar en la presente invención son fitológicamente aceptables.

Como se usa en el presente documento, el término formulaciones “fitológicamente aceptables” se refiere a composiciones, diluyentes, excipientes y/o transportadores que son generalmente aplicables para su uso con cualquier parte de una planta durante cualquier parte de su ciclo de vida, incluyendo, entre otros, semillas, plántulas, células vegetales, plantas o flores. Las formulaciones se pueden preparar de acuerdo con procedimientos, métodos y fórmulas que son convencionales en las técnicas agrícolas. Siguiendo las enseñanzas de la presente invención, el experto en las técnicas agrícolas y/o químicas puede preparar fácilmente una composición deseada. Más comúnmente, la composición fungicida de la presente invención se puede formular para almacenarse y/o aplicarse como suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas preparadas puras o a partir de formulaciones concentradas de las composiciones. Las formulaciones solubles en agua, suspendibles en agua o emulsionables también se pueden convertir o formular como sólidos (por ejemplo, polvos humectables), que luego se puede diluir en una formulación final. En ciertas formulaciones, la composición fungicida sinérgica de la presente invención también se puede proporcionar en medios de crecimiento, por ejemplo, medios in vitro para el crecimiento de plantas u otros tipos de células, en

medios de crecimiento de plantas de laboratorio, en el suelo o para pulverizar sobre semillas, plántulas, raíces, tallos, tallos, hojas, flores o la planta entera.

Estas formulaciones fitológicamente aceptables se producen de manera conocida, por ejemplo mezclando la composición fungicida sinérgica de la invención con extensores, es decir, solventes líquidos, gases licuados a presión y/o transportadores sólidos, dado el caso con el uso de tensioactivos, es decir, emulsionantes y/o dispersantes y/o formadores de espuma. Si el diluyente utilizado es agua, también se pueden utilizar, por ejemplo, solventes orgánicos como solventes auxiliares. Esencialmente, los solventes líquidos adecuados incluyen: aromáticos tales como xileno, tolueno o alquilnaftalenos, aromáticos clorados o hidrocarburos alifáticos clorados como clorobencenos, cloroetilenos o cloruro de metileno, hidrocarburos alifáticos tales como ciclohexano o parafinas, por ejemplo fracciones de petróleo, alcoholes como butanol o glicol y sus éteres y ésteres, cetonas como acetona, metiletilcetona, metilisobutilcetona o ciclohexanona, solventes fuertemente polares como dimetilformamida y dimetilsulfóxido, o también agua. Por diluyentes o transportadores gaseosos licuados se entienden líquidos que son gaseosos a temperatura ambiente y bajo presión atmosférica, por ejemplo propulsores de aerosoles tales como butano, propano, nitrógeno y dióxido de carbono. Los transportadores sólidos adecuados son: por ejemplo minerales naturales molidos como caolines, arcillas, talco, tiza, cuarzo, atapulgita, montmorillonita o tierra de diatomeas, y minerales sintéticos molidos como sílice finamente dividida, alúmina y silicatos. Transportadores sólidos adecuados para el granulado son: por ejemplo rocas naturales trituradas y fraccionadas como calcita, mármol, piedra pómez, sepiolita y dolomita, o también gránulos sintéticos de harinas minerales y orgánicas, y gránulos de materia orgánica como aserrín, cáscaras de coco, mazorcas de maíz y tallos de tabaco. Emulsionantes y/o formadores de espuma adecuados son: por ejemplo, emulsionantes no iónicos y aniónicos, tales como ésteres de ácidos grasos de polioxietileno, éteres de alcoholes grasos de polioxietileno, por ejemplo alquilarilpoliglicoléteres, alquilsulfonatos, alquilsulfatos, arilsulfonatos, o también

hidrolizados de proteínas. Dispersantes adecuados son: por ejemplo licores residuales de sulfito de lignina, metilcelulosa, etilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa.

La composición fungicida sinérgica de acuerdo con la invención se puede utilizar en diversas formas tales como dispensador de aerosol, suspensión de cápsulas, concentrado de nebulización en frío, polvo para espolvorear, concentrado emulsionable, aceite en emulsión en agua, agua en emulsión en aceite, gránulo encapsulado, gránulo fino, concentrado fluido para tratamiento de semillas, gas (bajo presión), producto generador de gas, gránulo, concentrado de nebulización en caliente, macrogránulo, microgránulo, polvo dispersable en aceite, concentrado fluido miscible en aceite, líquido miscible en aceite, pasta, rodlets de plantas, polvo para el tratamiento de semillas secas, semillas recubiertas con un pesticida, concentrado soluble, polvo soluble, solución para el tratamiento de semillas, concentrado en suspensión (concentrado fluido), líquido de volumen ultrabajo (ULV), suspensión de volumen ultrabajo (ULV), gránulos o tabletas dispersables en agua, polvo dispersable en agua para tratamiento de lodos, gránulos o tabletas solubles en agua, polvo soluble en agua para tratamiento de semillas y polvo humectable. Estas composiciones incluyen no sólo composiciones que están listas para ser aplicadas a la planta o semilla a tratar mediante un dispositivo adecuado, como un dispositivo de pulverización o espolvoreado, pero también composiciones comerciales concentradas que deben diluirse antes de su aplicación al cultivo.

En una modalidad preferida de la invención, la composición fungicida sinérgica se puede aplicar específicamente sobre frutas y verduras en instalaciones de almacenamiento con un nebulizador ultrasónico. El nebulizador ultrasónico es un dispositivo que utiliza ondas sonoras ultrasónicas para romper el agua en gotas muy pequeñas (<10um) y la rocía en el aire como una densa niebla fría (es decir, que no resulta del agua hirviendo). Ejemplos de sistemas y nebulizadores ultrasónicos se describen, por ejemplo, en las siguientes Patentes Estadounidenses: Patente Estadounidense No. 4,042,016; Patente Estadounidense No. 4,058,253; Patente Estadounidense No. 4,118,945; Patente Estadounidense No. 4,564,375; Patente

Estadounidense No. 4,667,465; Patente Estadounidense No. 4,702,074; Patente Estadounidense No. 4,731,990; Patente Estadounidense No. 4,731,998; Patente Estadounidense No. 4,773,846; Patente Estadounidense No. 5,454,518; Patente Estadounidense No. 6,854,661. Normalmente, un nebulizador ultrasónico incluye: un cuerpo generalmente cilíndrico que tiene un orificio axial con una salida en una cara frontal del cuerpo; un suministro de gas y un suministro de líquido acoplados al orificio; al menos una parte de la cara frontal tiene un contorno convexo curvado, teniendo la cara frontal una región anular central plana que rodea la salida del orificio; y un resonador espaciado y opuesto al extremo de salida del orificio. Estos dispositivos se utilizan habitualmente para controlar el nivel de humedad en invernaderos, para suministrar nutrientes a las plantas en cultivos aeropónicos o para crear niveles óptimos de humedad en las casas.

Los solicitantes demostraron que esta técnica se puede utilizar para aplicar productos utilizados para prolongar la frescura de frutas y verduras en instalaciones de almacenamiento, por ejemplo, fungicidas naturales. Esta tecnología, permite tratar eficientemente frutas y verduras que, debido a su empaque, no son accesibles a los tratamientos aplicados por pulverización u otras aplicaciones (es decir, no se puede rociar fácilmente directamente porque las frutas y verduras se almacenan, por ejemplo, en contenedores o porque la pulverización podría dañar las frutas y verduras).

Las formulaciones útiles incluyen composiciones tanto líquidas como sólidas. Las composiciones líquidas incluyen soluciones (incluidos concentrados emulsionables), suspensiones, emulsiones (incluyendo microemulsiones y/o suspoemulsiones) y similares, que opcionalmente pueden espesarse para dar geles. Los tipos generales de composiciones líquidas acuosas son concentrado soluble, concentrado en suspensión, suspensión en cápsula, emulsión concentrada, microemulsión y suspoemulsión. Los tipos generales de composiciones líquidas no acuosas son concentrado emulsionable, concentrado microemulsionable, concentrado dispersable y dispersión en aceite.

Los tipos generales de composiciones sólidas son polvos, polvos, gránulos, pellets, perlas, pastillas, tabletas, películas cargadas (incluidos recubrimientos de semillas) y similares, que pueden ser dispersables en agua (“humectables”) o solubles en agua. Las películas y recubrimientos formados a partir de soluciones formadoras de películas o suspensiones fluidas son particularmente útiles para el tratamiento de semillas. El ingrediente activo puede encapsularse (micro) y formarse además en una suspensión o formulación sólida; alternativamente, se puede encapsular (o “recubrir”) toda la formulación del ingrediente activo. La encapsulación puede controlar o retrasar la liberación del ingrediente activo. Un gránulo emulsionable combina las ventajas de una formulación concentrada emulsionable y una formulación granular seca. Las composiciones de alta resistencia se utilizan principalmente como intermediarios para formulaciones posteriores.

Las formulaciones pulverizables normalmente se extienden en un medio adecuado antes de la pulverización. Estas formulaciones líquidas y sólidas se formulan para diluirse fácilmente en el medio de pulverización, normalmente agua. Los volúmenes de pulverización pueden variar desde aproximadamente uno hasta varios miles de litros por hectárea, pero lo más habitual es que oscilan entre diez y varios cientos de litros por hectárea. Las formulaciones pulverizables se pueden mezclar en tanque con agua u otro medio adecuado para tratamiento foliar mediante aplicación aérea o terrestre, o para aplicación al medio de cultivo de la planta. Las formulaciones líquidas y secas se pueden dosificar directamente en los sistemas de riego por goteo o en el surco durante la siembra. Se pueden aplicar formulaciones líquidas y sólidas sobre semillas de cultivos y otra vegetación deseable como tratamientos de semillas antes de plantar para proteger las raíces en desarrollo y otras partes y/o follaje de plantas subterráneas mediante absorción sistémica.

Las formulaciones normalmente contendrán cantidades efectivas de ingredientes activos, diluyente y tensioactivo dentro de los siguientes rangos aproximados conocidos por el experto, que suman hasta el 100 por ciento en peso.

La composición fungicida sinérgica de la invención presenta varias ventajas: revela

actividad fungitóxica y/o fungistática contra hongos patógenos ambientales, vegetales, de almacenamiento y médicos.

Se ha demostrado que la composición fungicida sinérgica utilizada en la presente invención extiende la vida útil en un mínimo de una semana para frutas, verduras y flores cortadas infectadas por hongos patógenos en instalaciones de almacenamiento. Se demostró que los compuestos utilizados (es decir, la mezcla de ITC) no son tóxicos para los insectos ni para los humanos. La composición de la invención es fácilmente aplicable con un impacto específico en la maduración de los alimentos perecederos y no requiere costes de instalación adicionales. La composición fungicida sinérgica de la invención es de interés para las empresas de almacenamiento (es decir, para reducir los costes de embalaje), la industria maderera, los jardineros y los agricultores.

Por tanto, la composición fungicida sinérgica de la invención se va a utilizar como fungitóxico y/o como agente fungistático en plantas. La composición fungicida sinérgica de la invención para usarse como fungicida ha demostrado una gran eficacia en el tratamiento de diversas plantas o familias de plantas (huéspedes). De hecho, la composición fungicida sinérgica de la invención se puede utilizar para tratar más de 1400 especies de cultivos o plantas de importancia agronómica. incluyendo orden de Solanales, Rosales, Vitales, Poales etc.

La composición fungicida sinérgica de la invención se puede usar con cualquier parte de una planta durante cualquier parte de su ciclo de vida, incluidas, entre otras, semillas, plántulas, células vegetales, plantas o flores.

De acuerdo con la invención se pueden tratar todas las plantas y partes de plantas.

Entre las plantas que pueden protegerse mediante la composición fungicida sinérgica de la invención, se pueden mencionar los principales cultivos extensivos como maíz, soja, algodón, semillas oleaginosas de Brassica tales como Brassica napus (por ejemplo, canola), Brassica rapa, B. juncea (por ejemplo, mostaza) y Brassica carinata, arroz, trigo, remolacha azucarera, caña de azúcar, avena, centeno,

cebada, mijo, triticale, lino, vid y diversas frutas y hortalizas de diversos taxones botánicos como Rosaceae sp. (por ejemplo, frutas de pepita, como manzanas y peras, pero también frutas de hueso, como albaricoques, cerezas, almendras y melocotones, bayas como, por ejemplo, fresas), Ribesioidae sp., Juglandaceae sp., Betulaceae sp., Anacardiaceae sp., Fagaceae sp., Moraceae sp., Oleaceae sp., Actinidaceae sp., Lauraceae sp., Musaceae sp. (por ejemplo, plátanos y plantaciones), Rubiáceas sp. (por ejemplo café), Theaceae sp., Sterculiceae sp., Rutaceae sp. (por ejemplo limones, naranjas y pomelos); Solanáceas sp. (por ejemplo tomates, patatas, pimientos, berenjenas), Liliaceae sp., Compositiae sp. (por ejemplo, lechuga, alcachofa y achicoria, incluidas las raíces de achicoria, la escarola o la achicoria común), Umbelíferas sp. (por ejemplo zanahoria, perejil, apio y apio nabo), Cucurbitaceae sp. (por ejemplo, pepino, incluido el pepino encurtido, la calabaza, la sandía, las calabazas y los melones), Alliáceas sp. (por ejemplo cebollas y puerros), Crucíferas sp. (por ejemplo, col blanca, lombarda, brócoli, coliflor, coles de Bruselas, pak choi, colinabo, rábano, rábano picante, berro, col china), Leguminosae sp. (por ejemplo, cacahuetes, guisantes y judías, como judías trepadoras y habas), Quenopodiáceas sp. (por ejemplo, acelgas, espinacas, remolachas), malváceas (por ejemplo, okra), Asparagaceae (por ejemplo espárragos); cultivos hortícolas y forestales; plantas y flores ornamentales, incluidas flores cortadas; césped, es decir, campos de golf, césped, así como homólogos genéticamente modificados de estos cultivos.

Por ejemplo, la composición fungicida sinérgica de la presente invención se puede usar para controlar enfermedades fúngicas comunes tales como mildiú polvoriento, roya, mildiú velloso y antracnosis en cultivos de campo, árboles frutales y hortalizas.

Además, la composición fungicida sinérgica de la invención se puede utilizar para el tratamiento de enfermedades resistentes, principalmente para el control del mildiú polvoriento del trigo, el tizón del arroz, el carbón del arroz, el mildiú polvoriento del melón, oídio del tomate, roya de la manzana, antracnosis de la sandía y oídio de las flores. Además, la composición fungicida sinérgica tiene muy buenos efectos de

control contra el mildiú del pepino, el mildiú de la uva, la sarna, ántrax y defoliación manchada.

En una modalidad particular de la invención, la composición fungicida sinérgica de la invención se utilizará en el tratamiento o prevención de enfermedades de los árboles, causada por hongos patógenos, por ejemplo, enfermedad de Panamá del banano, muerte regresiva del fresno.

Además, la composición fungicida sinérgica de la invención se puede utilizar directamente en el campo en cultivos de plantas pero también in vitro, por ejemplo para su implementación en cultivos de plantas.

Las composiciones del componente (a) junto con el componente (b) se pueden mezclar además con uno o más compuestos o agentes biológicamente activos, incluidos insecticidas, nematocidas, bactericidas, acaricidas, herbicidas, protectores de herbicidas, reguladores del crecimiento tales como inhibidores de la muda de insectos y estimulantes del enraizamiento, quimioesterilizantes, semioquímicos, repelentes, atrayentes, feromonas, estimulantes de la alimentación, nutrientes vegetales, otros compuestos biológicamente activos o bacterias entomopatógenas, virus u hongos para formar un pesticida multicomponente que brinda un espectro aún más amplio de protección agrícola. Por tanto, la presente invención también se refiere a una composición que comprende una cantidad fungicidamente eficaz de una mezcla de componentes (a) junto con el componente (b) y una cantidad biológicamente eficaz de al menos un compuesto o agente biológicamente activo adicional y puede comprender además al menos uno de un tensioactivo, un diluyente sólido o un diluyente líquido. Los otros compuestos o agentes biológicamente activos también se pueden formular por separado en composiciones que comprenden al menos uno de un tensioactivo, un diluyente sólido o líquido. Para las composiciones de la presente invención, se pueden formular uno o más compuestos o agentes biológicamente activos junto con los componentes (a) y (b) para formar una premezcla o uno o más compuestos o agentes biológicamente activos pueden formularse por separado de los componentes (a) y (b) y las formulaciones se combinan entre sí antes de la aplicación (por ejemplo, en un

tanque de pulverización) o, alternativamente, se aplican en sucesión.

Ejemplos de tales compuestos o agentes biológicamente activos con los que se pueden formular composiciones del componente (a) con el componente (b) son: insecticidas tales como abamectina, acefato, acetamiprid, acetoprol, aldicarb, amidoflumet, amitraz, avermectina, azadiractina, azinfos-metilo, bifentrina, bifenazato, bistriflurón, buprofezina, carbofurano, cartap, quinometionato, clorfenapir, clorfluazurón, clorantraniliprol, 3-bromo-1-(3-cloro-2-piridinil)-N-[4-ciano-2-metil-6-[[(1-metiletil)amino]carbonil]fenil]-1H-pirazol-5-carboxamida, 3-bromo-1-(3-cloro-2-piridinil)-N-[4-ciano-2-metil-6-[(metilamino)carbonil]fenil]-1H-pirazol-5-3-cloro-1-(3-cloro-2-piridinil)-N-[4-ciano-2-metil-6-carboxamida, [(metilamino)carbonil]fenil]-1H-pirazol-5-carboxamida, 3-cloro-1-(3-cloro-2-piridinil)-N-[4-ciano-2-metil-6-[[(1-metiletil)amino]carbonil]fenil]-1H-pirazol-5-cromafenozida, carboxamida, clorpirifos, clorpirifos-metilo, clorobencilato, clotianidina, ciflumetofeno, ciflutrina, beta-ciflutrina, cihalotrina, gamma-cialotrina, lambda-cihalotrina, cihexatina, cipermetrina, ciromazina, deltametrina, diafentiurón, diazinón, dicofol, dieldrín, dienocloro, diflubenzurón, dimeflutrina, dimetoato, dinotefurano, diofenolan, emamectina, endosulfán, esfenvalerato, etiprol, etoxazol, fenamifos, fenazaquina, óxido de fenbutatina, fenotiocarb, fenoxicarb, fenpropatrina, fenpiroximato, fenvalerato, fipronil, flonicamid, flubendiamida, flucitrinato, tau-fluvalinato, flufenerim, flufenoxurón, fonofos, halofenozida, hexaflumurón, hexitiazox, hidrametilnon, imicyafos, imidacloprid, indoxacarb, isofenfos, lufenurón, malatión, metaflumizona, metaldehído, metamidofos, metidatión, metomilo, metopreno, metoxicloro, metoxifenozida, metoflutrina, monocrotofos, nitenpiram, nitiazina, novalurón, noviflumurón, oxamilo, paratión, paratión-metilo, permetrina, forato, fosalona, fosmet, fosfamidón, pirimicarb, profenofos, proflutrina, propargita, protrifenbuto, pimetrozina, pirafluprol, piretrina, piridabeno, piridalilo, pirifluquinazona, piriprol, piriproxifeno, rotenona, rianodina, espinetoram, spinosad, espiridiclofeno, espiromesifeno, espirotetramato, sulprofos, tebufenozida, tebufenpirad, teflubenzurón, teflutrina, terbufos, tetraclorvinfos, tiacloprid, tiametoxam, tiodicarb, tiosultap-sódico, tolfenpirad, tralometrina, triazamato, triclorfón,

triflumurón; nematocidas tales como aldicarb, imicyafos, oxamilo y fenamifos; bactericidas como la estreptomicina; acaricidas como amitraz, quinometionato, clorobencilato, cienopirafeno, cihexatina, dicofol, dienocloro, etoxazol, fenazaquina, óxido de fenbutatina, fenpropatrina, fenpiroximato, hexitiazox, propargita, piridabeno y tebufenpirad; y agentes biológicos, incluidas bacterias entomopatógenas, como Bacillus thuringiensis sub sp. aizawai, Bacillus thuringiensis sub sp. kurstaki y las delta-endotoxinas encapsuladas de Bacillus thuringiensis (por ejemplo, Cellcap, MPV, MPVII); hongos entomopatógenos, tales como el hongo muscardina verde; y virus entomopatógenos incluyendo baculovirus, virus nucleopoliedro (NPV) tales como HzNPV, AfNPV; y virus de la granulosis (GV) tal como CpGV.

Las mezclas de esta invención y sus composiciones se pueden aplicar a plantas transformadas genéticamente para expresar proteínas tóxicas para plagas de invertebrados (tales como deltaendotoxinas de Bacillus thuringiensis). El efecto de las mezclas fungicidas aplicadas exógenamente de esta invención puede ser sinérgico con las proteínas de las toxinas expresadas.

Las referencias generales para protectores agrícolas (es decir, insecticidas, fungicidas, nematocidas, acaricidas, herbicidas y agentes biológicos) incluyen The Pesticide Manual, 13ª edición, C. D. S. Tomlin, Ed., British Crop Protection Council, Farnham, Surrey, Reino Unido, 2003 y The BioPesticide Manual, 2da. edición, L. G. Copping, Ed., Consejo Británico de Protección de Cultivos, Farnham, Surrey, Reino Unido, 2001.

Para modalidades en las que se utilizan uno o más de estos diversos compañeros de mezcla, la relación en peso de estos diversos compañeros de mezcla (en total) con respecto a la mezcla del componente (a) con el componente (b) está típicamente entre 1:100 y 3000:1. Es de destacar las relaciones de peso entre 1:30 y 300:1 (por ejemplo, relaciones entre 1:1 y 30:1). Será evidente que incluir estos componentes adicionales puede ampliar el espectro de enfermedades controladas más allá del espectro controlado por una mezcla del componente (a) con el componente (b).

Las composiciones de esta invención son útiles como agentes de control de enfermedades de plantas. Por lo tanto, la presente invención comprende además un método para controlar enfermedades de plantas causadas por patógenos fúngicos de plantas que comprende aplicar a la planta o parte de la misma a proteger, o a la semilla de planta o unidad de propagación vegetativa a proteger, una cantidad eficaz de una mezcla de la invención o una composición fungicida que comprende dicha mezcla.

El control de enfermedades de las plantas normalmente se logra aplicando una cantidad eficaz de una mezcla de esta invención, típicamente como una composición formulada, ya sea antes o después de la infección, en la parte de la planta que se va a proteger, como raíces, tallos, follaje, frutos, semillas, tubérculos o bulbos, o al medio (tierra o arena) en donde crecen las plantas a proteger. Las mezclas también se pueden aplicar a semillas para proteger las semillas y las plántulas que se desarrollan a partir de las semillas. Las mezclas también se pueden aplicar a través del agua de riego para tratar las plantas.

Las tasas de aplicación de estas mezclas y composiciones de esta invención pueden verse influenciadas por muchos factores del medio ambiente y deben determinarse en condiciones de uso reales. Normalmente, el follaje se puede proteger cuando se trata a una dosis de menos de aproximadamente 1 g/ha a aproximadamente 5,000 g/ha de ingredientes activos. Las semillas y las plántulas normalmente pueden protegerse cuando las semillas se tratan a una tasa de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10g por kilogramo de semilla; y las unidades de propagación vegetativa (por ejemplo, esquejes y tubérculos) normalmente pueden protegerse cuando la unidad de propagación se trata a una tasa de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 g por kilogramo de unidad de propagación.

Las mezclas y/o composiciones de esta invención proporcionan control de enfermedades causadas por un amplio espectro de patógenos fúngicos de plantas en las clases de Basidiomicetos, Ascomicetos, Oomicetos y Deuteromicetos. Son

eficaces en el control de un amplio espectro de enfermedades de las plantas, patógenos foliares de cultivos que incluyen: cultivos de cereales como trigo, cebada, avena, centeno, triticale, arroz, maíz, sorgo y mijo; cultivos de vid como uvas de mesa y de vinificación; cultivos extensivos como colza (canola), girasol; remolacha azucarera, caña de azúcar, soja, maní, tabaco, alfafa, trébol, lespedeza, trébol y arveja; frutas de pepita como manzana, pera, manzano silvestre, níspero, mayhaw y membrillo; frutas de hueso como melocotones, cerezas, ciruelas, albaricoques, nectarinas y almendras; frutas cítricas como limones, limas, naranjas, pomelos, mandarinas (mandarinas) y kumquat; hortalizas de raíz y tubérculos y cultivos extensivos (y su follaje) como alcachofas, remolachas azucareras y de huerta, zanahorias, yuca, jengibre, ginseng, rábano picante, chirivía, patata, rábano, colinabo, boniato, nabo y ñame; hortalizas de bulbo como ajo, puerro, cebolla y chalota; verduras de hoja como la rúcula (roqueta), apio, apio, berro, escarola (escarola), hinojo, lechuga arrepollada y de hoja, perejil, achicoria (achicoria roja), ruibarbo, espinacas y acelgas; Brassica (cole) verduras de hoja como brócoli, brócoli raab (rapini), coles de Bruselas, repollo, bok choy, coliflor, coles, col rizada, colinabo, mostaza y verduras; legumbres (suculentas o secas) como altramuces, judías (Phaseolus spp.) (incluidas las judías verdes, las judías rojas, las habas, las judías blancas, las judías pintas, frijol, habichuela, frijol tepary y frijol cera), frijol (Vigna spp.) (incluidos el frijol adzuki, el frijol espárrago, el guisante de ojo negro, el catjang, frijol largo chino, caupí, guisante crowder, frijol polilla, frijol mungo, frijol de arroz, guisante del sur, frijol urd y frijol de yarda), haba, garbanzo, guar, jackbean, lablab, lenteja y guisante (Pisum spp.) (incluidos los guisantes enanos, los guisantes de vaina comestible, los guisantes ingleses, los guisantes silvestres, los guisantes de jardín, los guisantes verdes, tirabeques, tirabeques, gandules y soja); hortalizas de fruto como berenjenas, cereza molida (Physalis spp.), pepino y pimiento (incluidos pimiento morrón, ají, pimiento para cocinar, pimiento, pimiento dulce; tomatillo y tomate); cucurbitáceas como el chayote (fruta), calabaza china (melón chino en conserva), melón cidra, pepino, pepinillo, calabaza comestible (incluidas hyotan, cucuzza,

hechima y okra china), Momordica spp. (incluidos bálsamo de manzana, pera balsámica, melón amargo y pepino chino), melón (incluidos melón y calabaza), calabazas de verano e invierno (incluidas calabazas, calabaza, calabaza hubbard, calabaza bellota, calabaza espagueti) y sandía; bayas como mora (incluidas bingle berry, boysenberry, dewberry, low berry, Marion berry, olallieberry y youngberry), arándano, arándano rojo, grosella, saúco, grosella espinosa, arándano, arándano, frambuesa y fresa; frutos secos como almendras, hayas, nuez de Brasil, nuez moscada, anacardo, castaña, chinquapin, avellana, nuez de nogal americano, nuez de macadamia, nuez pecana y nuez; frutas tropicales y otros cultivos como bananos, plátanos, mangos, cocos, papaya, guayaba, aguacate, lichi, agave, café, cacao, caña de azúcar, palma aceitera, sésamo, caucho y especias; cultivos de fibras como algodón, lino y cáñamo; céspedes (incluidos céspedes de estaciones cálidas y frías) como pasto doblado, pasto azul de Kentucky, pasto de San Agustín, festuca alta y pasto Bermuda.

Estos patógenos incluyen: Oomicetos, incluidas enfermedades de Phytophthora como Phytophthora infestans, Phytophthora megasperma, Phytophthora parasiitca, Phytophthora cinnamomi y Phytophthora capsici. enfermedades por Pythium como Pythium aphanidermatum, y enfermedades de la familia Peronosporaceae como Plasmopara viitcola, Peronospora spp. (incluidas Peronospora tabacina y Peronospora parasitica), Pseudoperonosporaspp. (incluida Pseudoperonospora cubensis) y Bremia lactucae; Ascomicetos, incluidas enfermedades por alternaria como Alternaria solani y Alternaria brassicae, enfermedades de Guignardia tales como Guignardia bidwelli, enfermedades de Venturia tales como Venturia inaequalis, enfermedades de Septoria tales como Septoria nodorum y Septoria tritici, enfermedades del mildiú polvoriento como Erysiphespp. (incluidas Erysiphe graminis y Erysiphe polygoni), Uncinula necatur, Sphaerotheca fuligena y Podosphaera leucotricha, Pseudocercosporella herpotrichoides, Enfermedades de Botrytis como Botrytis cinerea, Monilinia frutícola, Enfermedades de Sclerotinia como Sclerotinia sclerotiorum, Magnaporthe grisea,

Phomopsis viticola, Helminthosporium enfermedades como Helminthosporium tritici repentis, Pyrenophora teres, enfermedades antracnosis como Glomerella o Colletotrichum spp. (como Colletotrichum graminicola y Colletotrichum orbiculare) y Gaeumannomyces graminis; Basidiomicetos, incluidas las royas causadas por Puccinia spp. (como Puccinia recondita, Puccinia striiformis, Puccinia hordei, Puccinia graminis y Puccinia arachidis), Hemileia vastatrix y Phakopsora pachyrhizi; otros patógenos incluyendo Rhizoctonia spp. (tales como Rhizoctonia solani y Rhizoctonia oryzae); enfermedades por Fusarium tales como Fusarium roseum, Fusarium graminearum y Fusarium oxysporum; Veritcillium dahliae; Sclerotium rolfsii; Rynchosporium secalis; Cercosporidium personatum, Cercospora arachidicola y Cercospora beitcola; Rutstroemia floccosum (también conocida como Sclerontina homeeocarpa); y otros géneros y especies estrechamente relacionados con estos patógenos. Además de su actividad fungicida, las composiciones o combinaciones también tienen actividad contra bacterias tales como Erwinia amylovora, Xanthomonas campestris, Pseudomonas syringae y otras especies relacionadas.

Las mezclas de fungicidas pueden proporcionar un control de enfermedades significativamente mejor de lo que podría predecirse basándose en la actividad de los componentes individuales. Esta sinergia ha sido descrita como “the cooperative action of two components of a mixture, such that the total effect is greater or more prolonged than the sum of the effects of the two (or more) taken independently” (véase Tames, P. M. L., Neth. J. Plant Pathology, (1964), 70, 73-80).

Luego se estimaron las actividades fungitóxicas sinérgicas con el software CompuSyn (Chou et al. 2005, Chou 2006). Se utilizó para determinar el índice de combinación (IC) para combinaciones de fungicidas y, por lo tanto, la presencia de sinergismo (CI<1; con valores entre 0,1-0,3 considerados como sinergismo fuerte y valores <0,1 como sinergismo muy fuerte; Chou 2008).

Se proporcionan composiciones de acuerdo con esta invención que comprenden proporciones del componente (a) y del componente (b) que son especialmente útiles para controlar enfermedades fúngicas particulares. Estas

composiciones se consideran especialmente útiles para controlar Fusarium spp., Geotrichum candidum, Botrytis cinerea, Rhizoctonia solani, Penicillium digitatum Alternaria radicina, Fusarium verticilloides, Penicillium commune, Plectosphaerella cucumerina, Colletotrichum acutatum y Lasiodiplodia pseudotheobromae.

La dosis de la composición fungicida sinérgica habitualmente aplicada en el tratamiento de acuerdo con la invención es general y ventajosamente de 10 a 800 g/ha, preferentemente de 50 a 300 g/ha para aplicaciones en tratamiento foliar. La dosis de composición fungicida aplicada es general y ventajosamente de 2 a 200 g por 100 kg de semilla, preferiblemente de 3 a 150 g por 100 kg de semilla en el caso de tratamiento de semillas.

Se entiende claramente que las dosis indicadas en el presente documento se dan como ejemplos ilustrativos del método de tratamiento de acuerdo con la invención. Un experto en la materia sabrá adaptar las dosis de aplicación, en particular en función de la naturaleza de la planta o del cultivo a tratar.

Los expertos en la técnica apreciarán que la invención aquí descrita es susceptible a variaciones y modificaciones distintas a las específicamente descritas. Debe entenderse que la invención incluye todas esas variaciones y modificaciones sin apartarse del espíritu o de las características esenciales de la misma. La invención también incluye todos los pasos, características, composiciones y compuestos mencionados o indicados en esta especificación individual o colectivamente, y todas y cada una de las combinaciones o dos o más de dichos pasos o características. Por lo tanto, la presente descripción debe considerarse ilustrada y no restrictiva en todos los aspectos, estando indicado el alcance de la invención en las reivindicaciones adjuntas y todos los cambios que entran dentro del significado y alcance de la equivalencia, están destinados a ser incluidos en el mismo.

La descripción anterior se entenderá más completamente con referencia a los siguientes ejemplos. En los siguientes ejemplos, todos los porcentajes son en peso. Sin más detalles, se cree que un experto en la técnica que utilice la descripción anterior puede utilizar la presente invención en toda su extensión. Por lo tanto, los

siguientes ejemplos deben interpretarse como meramente ilustrativos y no limitativos de la descripción de ninguna manera. Los porcentajes son en peso salvo que se indique lo contrario.

Ejemplo 1:

Los solicitantes probaron la sinergia entre una mezcla de (i) dos moléculas de isotiocianatos (a saber, 1-isotiocianato metil sulfinil-octano (8MSOH) y 1-isotiocianato metil sulfonil-octano (8MSOOH), a una relación 8MSOH/8MSOOH 99/1 vol./vol.; esta mezcla se llama “ITC”) y (ii) varios fungicidas comerciales (llamados “fungicida”; Clorotanlonil, Dodina, Pirimetanilo, tebuconazol) que se utilizan ampliamente en la agricultura. La mezcla de (i) y (ii) se llama “combo”.

Los solicitantes seleccionaron cinco hongos patógenos diferentes (ver tabla 1) que son responsables de pérdidas importantes en la agricultura y que están genéticamente distantes, es decir, de diferentes órdenes y géneros con el fin de resaltar la versatilidad de nuestro enfoque consistente en mezclar fungicidas sintéticos con ingredientes activos naturales (8MSOH/8MSOOH).

Tabla 1: Lista de hongos patógenos utilizados en este ejemplo:

Especie	**Familia**	**Orden**	**Clase**
Altameria radicina	Pleosporaceae	Pleosporales	Dothideomycetes
Geotrichum candidum	Dipodascaceae	Saccharomycetales	Saccharomycetes
Botrytis Cinerea	Sclerotiniaceae	Helotiales	Leotiomycetes
Rhizoctonia solani	Ceratobasidiaceae	Canthareilales	Agaricomycetes
Penicillium digitatum	Trichocomaceae	Eurotiales	Eurotiomycetes

Tabla 1

Todos los experimentos se realizaron de la misma forma, con pequeñas diferencias entre los casos curativos y preventivos. En placas de 48 pocillos, cada pocillo se llenó con un volumen de 180 µL de ITC, el fungicida o una combinación de

ambos en varias concentraciones y se rellenó con 180 µL de Agar Papa Dextrosa (PDA). Se utilizaron tres pocillos por concentración para una mayor precisión. Después de la solidificación del pocillo, se colocó en cada pocillo un tapón de 2x2 mm de hongos cultivados (caso curativo) o 20 µL de una solución de esporas (~1E5 esporas/mL, caso preventivo) y la placa de 48 pocillos se selló con parafilm. Después de 7 días de incubación a 20°C en una cámara de crecimiento controlado, se midió el crecimiento fúngico y se calculó la CE50 con una regresión logística de 4 parámetros en XLSTAT.

Posteriormente, se determinó una concentración de fungicidas a la que los hongos no crecen (es decir, por debajo de la CE50). Los solicitantes repitieron el experimento de 48 pocillos llenando el pocillo con una mezcla de ITC y fungicidas; la concentración de fungicida se mantuvo constante a la concentración determinada mencionada anteriormente y se varió la concentración de ITC. Como antes, se midió el crecimiento fúngico después de 7 días de incubación. Para calcular las propiedades sinérgicas del combo ITC + fungicidas, se calculó el Índice de Combinación (IC) descrito por Chou (2006) utilizando el software CompuSyn.

Conclusión: Los resultados demostraron claramente efectos sinérgicos entre el ITC (8MSOH/8MSOOH) y los fungicidas sintéticos cuando se usan en combinación. Los fuertes sinergismos se ilustran con un índice de combinación inferior a 0,170 (Tabla 2 y Figuras 1-5).

Hongo	**Fungicida**	**Caso**	**EC50 ITC [µM]**	**Fungicida EC50 [µM]**	**Combo EC50 [µM]**	**Conc. de fungicida fijo [µM]**	**Rango de concentración ITC [µM]**	**IC**
Altameria radicina	Pirimetanilo	Curativo	260	3	137	1,2	0-1000	0,043
Altameria radicina	Tebuconazol	Curativo	260	30	142	15	0-1000	0,043
Altameria	Dodina	Cura	260	110	70	30	0-1000	0,049

Radicina		tivo						
Botrytis Cinerea	Dodina	Curativo	433	189	306	70	0-2000	0,074
Geotrichum candidum	Tebuconazol	Curativo	617	27	485	15	0-2000	0,049
Geotrichum candidum	Dodina	Curativo	617	156	252	70	0-2000	0,031
Penicillium digitatum	Tebuconazol	Curativo	135	1	77	0,3	0-1000	0,114
Penicillium Digitatum	Clorotalonil	Curativo	135	NA	52	250	0-1000	0,147
Penicillium Digitatum	Dodina	Curativo	135	92	48	35	0-1000	0,084
Rhizoctonia solani	Pirimetanilo	Curativo	276	28	189	35	0-1000	0,038
Rhizoctonia Solani	Tebuconazol	Curativo	276	18	168	5	0-1000	0,061
Rhizoctonia Solani	Clorotalonil	Curativo	276	29	50	70	0-1000	0,015
Geotrichum Candidum	Tebuconazol	Preventivo	663	25	468	15	0-2000	0,031
Rhizoctonia solani	Clorotalonil	Preventivo	102	2	46	1	0-1000	0,169

Tabla 2

Tabla 2: Hongo patógeno probado en modo curativo y/o preventivo, CE50 del ITC (8MSOH/8MSOOH) y fungicidas sintéticos (Clorotanlonil, Dodina, Pyrimetanil, Tebuconazol) solo y en combinación, concentración fija del fungicida sintético utilizado en la combinación, rango de concentración del ITC utilizado en la combinación y efecto sinérgico (índice de combinación más bajo; IC).

Tabla 3: Resumen de las relaciones de peso mínima y máxima ITC: fungicida para los ejemplos utilizados en la Tabla 2.

Hongo	**Fungicida**	**Caso**	**Relación de peso mínima**	**Relación de peso máxima**
Altameria radicina	Pirimetanilo	Curativo	134:1	977:1
Altameria radicina	Tebuconazol	Curativo	7:1	51:1
Altameria Radicina	Dodina	Curativo	2:1	27:1
Botrytis Cinerea	Dodina	Curativo	4:1	23:1
Geotrichum candidum	Tebuconazol	Curativo	25:1	101:1
Geotrichum candidum	Dodina	Curativo	3:1	23:1
Penicillium digitatum	Tebuconazol	Curativo	195:1	2529:1
Penicillium Digitatum	Clorotalonil	Curativo	1:5	4:1
Penicillium Digitatum	Dodina	Curativo	1:1	23:1
Rhizoctonia solani	Pirimetanilo	Curativo	6:1	33:1
Rhizoctonia Solani	Tebuconazol	Curativo	25:1	152:1
Rhizoctonia Solani	Clorotalonil	Curativo	1:1	13:1
Geotrichum Candidum	Tebuconazol	Preventivo	24:1	101:1
Rhizoctonia solani	Clorotalonil	Preventivo	40:1	878:1

Tabla 3

La relación en peso mínima y máxima para cada combinación ITC: fungicida se calculó de la siguiente manera. Se eligió la concentración mínima de ITC como la

CE50 del combo (ITC + fungicida), y la máxima como la mayor concentración de ITC probada. Como la concentración de fungicida se mantuvo fija para un hongo determinado, solo varió la concentración de ITC. Estas concentraciones molares se multiplicaron por el peso molecular de los compuestos para obtener concentraciones másicas. Finalmente, la relación en peso ITC: fungicida se obtuvo dividiendo la concentración másica de ITC por la concentración másica de los fungicidas, tanto para la concentración mínima como para la máxima.

Tabla 4: Relación de peso mínima y máxima que se calcularon respecto de los 4 siguientes fungicidas:

Fungicida	Relación de peso mínima	Relación de peso máxima
Pirimetanilo	6:1	980:1
Tebuconazol	7:1	2500:1
Dodina	1:1	27:1
Clorotalonil	1:5	880:1

Tabla 4

La relación de concentración mínima y máxima para cada combinación ITC: fungicida se calculó de la siguiente manera. La concentración mínima del ITC se eligió como la CE50 del combo (ITC + fungicida), y el máximo como la mayor concentración de ITC analizadas. Como la concentración de fungicida se mantuvo fija para un hongo determinado, solo varió la concentración de ITC. La relación de concentración del fungicida ITC se obtuvo dividiendo la concentración molar del ITC por la concentración molar de los fungicidas, tanto para la concentración mínima como para la máxima de ITC.

Tabla 5: Relación de concentración mínima y máxima que se calcularon respecto de los 4 siguientes fungicidas:

Fungicida	Relación de concentración mínima	Relación de concentración máxima
Pirimetanilo	5:1	830:1

Tebuconazol	9:1	3300:1
Dodina	1:1	33:1
Clorotalonil	1:4	1000:1

Tabla 5

Ejemplo 2

Los solicitantes probaron la sinergia entre una mezcla de (i) dos moléculas de isotiocianatos (a saber, 1-isotiocianato metil sulfinil-octano (8MSOH) y 1-isotiocianato metil sulfonil-octano (8MSOOH), a una relación 8MSOH/8MSOOH 99/1 vol./vol.; esta mezcla se denomina “ITC”) y (ii) varios fungicidas comerciales (denominados en el presente documento “fungicida”; Captan, Ciprodinilo, Fludioxonilo, Fluxapiroxad, Clorotalonil, Dodina, Tebuconazol, Mancozeb) que se utilizan ampliamente en la agricultura. La mezcla de (i) y (ii) se denomina “combo”.

Los solicitantes seleccionaron cinco hongos patógenos diferentes (ver **Tabla** 1) que son responsables de pérdidas importantes en la agricultura y que son genéticamente distantes, es decir, de diferentes órdenes y géneros, para resaltar la versatilidad de nuestro enfoque consistente en mezclar fungicidas sintéticos con ingredientes activos naturales (8MSOH/8MSOOH).

Especie	**Familia**	**Orden**	**Clase**
Fusarium verticilloides	Netriaceae	Hyprocreales	Sordariomycetes
Penicillium commune	Trichocomaceae	Eurotiales	Eurotiomycetes
Plectosphaerella cucumerina	Plectosphaerellaceae	Xylariales	Sordariomycetes
Colletotrichum acutatum	Glomerellaceae	Glomerellales	Sordariomycetes
Lasiodiplodia pseudotheobrame	Botriosphaeraceae	Botryosphaeriales	Dothideomycetes

Tabla 6

Todos los experimentos se realizaron de la misma manera. En placas de 48 pocillos, cada pocillo se llenó con un volumen de 180 µL de ITC, el fungicida o una combinación de ambos en varias concentraciones y se rellenó con 180 µL de Agar

Papa Dextrosa (PDA). Se utilizaron dos o tres pocillos por concentración para una mayor precisión. Después de la solidificación del pocillo, se colocó en cada pocillo un tapón de 2x2 mm de hongos cultivados y se selló la placa de 48 pocillos con parafilm. Después de 7 días de incubación a temperatura ambiente, se midió el crecimiento fúngico y se calculó la CE50 con una regresión logística de 4 parámetros en XLSTAT. Posteriormente, se determinó una concentración de fungicidas a la que los hongos no crecen (es decir, por debajo de la CE50). Los solicitantes repitieron el experimento de 48 pocillos llenando el pocillo con una mezcla de ITC y fungicidas; la concentración de fungicida se mantuvo constante a la concentración determinada mencionada anteriormente y se varió la concentración de ITC. Como antes, se midió el crecimiento fúngico después de 7 días de incubación. Para calcular las propiedades sinérgicas del combo ITC + fungicidas, el Índice de Combinación (IC) descrito por Chou (2006) se calculó utilizando el software CompuSyn.

Conclusión: Los resultados demostraron claramente efectos sinérgicos entre el ITC (8MSOH/8MSOOH) y los fungicidas sintéticos cuando se usan en combinación. Los fuertes sinergismos se ilustran con un índice de combinación inferior a 0,170 (Tabla 7 y Figuras 6 a 11).

Hongo	**Fungicida**	**EC50 ITC [µM]**	**Fungicida EC50 [µM]**	**Combo EC 50 [µM]**	**Conc. de fungicida fijo [µM]**	**Rango de concentración ITC [µM]**	**IC**
C. acutatum	Clorotalonil	788	52	573	35	0-1000	0,03202
F. verticilloides	Tebuconazol	533	6	370	5	0-1000	0,01101
F. verticilloides	Captan	533	424	182	370	0-1000	0,000186
L. pseudotheobrame	Dodina	352	476	120	125	0-1000	0,00244

L. pseudothe obrame	Tebuconazol	352	300	221	75	0-1000	0,009 78
L. pseudothe obrame	Fluxapiroxad	352	35	132	20	0-1000	0,110 14
L. pseudothe obrame	Fludioxonilo	352	1	127	0,3	0-1000	0,018 88
L. pseudothe obrame	Ciprodinilo	352	9	108	5	0-1000	0,005 28
P. commune	Tebuconazol	536	179	490	100	0-1000	3.76E -04
P. cucumerin a	Mancozeb	522	459	277	80	0-1900	0,117 76
P. cucumerin a	Dodina	522	93	467	15	0-1900	0,176 64

Tabla 7

Tabla 7: Hongo patógeno probado en curativo, EC50 del ITC (8MSOH/8MSOOH) y fungicidas sintéticos) solo y en combinación, concentración fija del fungicida sintético utilizado en la combinación, rango de concentración del ITC utilizado en la combinación y efecto sinérgico (índice de combinación más bajo; IC).

Tabla 8: Resumen de las proporciones de peso mínimas y máximas del fungicida ITC para los ejemplos utilizados en la Tabla 7.

Hongo	**Fungicida**	**Relación de peso mínima**	**Relación de peso máxima**
C. acutatum	Clorotalonil	14:1	25:1
F. verticilloides	Tebuconazol	56:1	152:1
F. verticilloides	Captan	1:1	2:1

L. pseudotheobrame	Dodina	1:1	6:1
L. pseudotheobrame	Tebuconazol	2:1	10:1
L. pseudotheobrame	Fluxapiroxad	4:1	31:1
L. pseudotheobrame	Fludioxonilo	398:1	3137:1
L. pseudotheobrame	Ciprodinilo	22:1	207:1
P. commune	Tebuconazol	4:1	8:1
P. cucumerina	Mancozeb	1:1	10:1
P. cucumerina	Dodina	25:1	103:1

Tabla 8

La relación en peso mínima y máxima para cada combinación de fungicida ITC 10 se calculó de la siguiente manera. La concentración mínima del ITC se eligió como la CE50 del combo (ITC + fungicida), y el máximo como la mayor concentración de ITC analizadas. Como la concentración de fungicida se mantuvo fija para un hongo determinado, solo varió la concentración de ITC. Estas concentraciones molares se multiplicaron por el peso molecular de los compuestos para obtener concentraciones másicas. Finalmente, la relación en peso del fungicida ITC se obtuvo dividiendo la concentración en masa del ITC por la concentración en masa de los fungicidas, tanto para la concentración mínima como para la máxima.

Tabla 9: Relación de peso mínima y máxima que se calcularon con respecto a los 8 siguientes fungicidas:

Fungicida	**Relación de concentración mínima**	**Relación de concentración máxima**
Clorotalonil	14:1	25:1
Tebuconazol	2:1	152:1

Captan	1:1	2:1
Dodina	1:1	103:1
Fluxapiroxad	4:1	31:1
Fludioxonilo	398:1	3137:1
Ciprodinilo	22:	207:1
Mancozeb	1:1	10:1

Tabla 9

La relación de concentración mínima y máxima para cada combinación ITC: fungicida se calculó de la siguiente manera. La concentración mínima del ITC se eligió como la CE50 del combo (ITC + fungicida), y el máximo como la mayor concentración de ITC analizadas. Como la concentración de fungicida se mantuvo fija para un hongo determinado, solo varió la concentración de ITC. La relación de concentración del fungicida ITC se obtuvo dividiendo la concentración molar del ITC por la concentración molar de los fungicidas, tanto para la concentración mínima como para la máxima de ITC.

Tabla 10: Relación de concentración mínima y máxima que se calcularon respecto de los 8 siguientes fungicidas:

Fungicida	**Relación de concentración mínima**	**Relación de concentración máxima**
Clorotalonil	16:1	29:1
Tebuconazol	3:1	200:1
Captan	1:1	3:1
Dodina	1:1	127:1
Fluxapiroxad	7:1	50:1
Fludioxonilo	423:1	3333:1
Ciprodinilo	22:1	200:1
Mancozeb	3:1	24:1

Tabla 10

REFERENCIAS

Chou, T.C., Martin, N., 2005. CompuSyn for drug combinations: PC software and user's guide: A Computer Program for quantitation of synergism and antagonism in drug combinations, and the determination of IC50 and ED50 and LD50 values. ComboSyn Inc, Paramus, NJ.

Chou, T.C., 2006. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies. Pharmacol Rev. 58, 621-81.

Chou, T.C., 2008. Preclinical versus clinical drug combination studies. Leuk Lymph. 49, 2059-2080.