

MÉTODO DE CONTROL DE HONGOS FITOPATÓGENOS UTILIZANDO

JAWSAMICINA

La presente invención se refiere a un método para controlar hongos fitopatógenos utilizando jawsamicina.

5

Antecedentes

La jawsamicina es un compuesto natural, indicado como FR-900848, que se produce por las bacterias de los géneros *Streptovercillium* o *Streptomyces*. El compuesto fue descubierto por primera vez en 1990 por Yoshida et al (1990),
10 J. of Antibiotics, págs. 748-754. Yoshida et al. (1990) desvelan que el compuesto fue activo contra *Aspergillus niger*, *Mucor rouxianus*, *Aureobasidium*, *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia arachidis* y especies de *Trichophyton*.

15

En el documento JP2101006 se desvela que la jawsamicina fue activa contra la mancha foliar del manzano causada por *Alternaria* y contra el moho gris del pepino causado por *Botrytis*.

20

Fu et. al. (2020), Nature Communications 11-3387, desvelan que la jawsamicina fue activa contra algunas levaduras, hongos, tales como *Aspergillus sp.*, *Fusarium oxysporum*, *Scedosporium sp* y algunos hongos del orden Mucorales. Fu et al. (1990) sugieren que la jawsamicina tendría una actividad fungicida de espectro óctuple, sin
25 embargo, no existe ninguna enseñanza ni sugerencia sobre qué

hongos se ven afectados, ni sobre en qué plantas sería activa la jawsamicina desde un punto de vista fungicida.

Debido al desarrollo de resistencia de los hongos fitopatógenos frente a plaguicidas conocidos, a las regulaciones gubernamentales y a la presión social, existe una necesidad continua de productos o compuestos mejorados de origen biológico que tengan actividad contra hongos fitopatógenos.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un método para controlar o prevenir hongos fitopatógenos pertenecientes a *Glomerella lagenarium*, *Magnaporthe grisea*, *Mycosphaerella arachidis*, *Phaeosphaeria nodorum*, *Pyrenophora teres*, *Venturia inaequalis*, *Botrytis elliptica*, *Botrytis tulipae*, *Corynespora cassiicola*, *Cercospora kikuchii*, y/o *Cercospora sojina*, en una planta o en material de propagación vegetal de esta, comprendiendo el método aplicar a la planta, al material de propagación vegetal o al emplazamiento de esta, una composición que comprenda jawsamicina.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de la jawsamicina para el control o la prevención de hongos fitopatógenos, en donde el hongo se selecciona de *Glomerella lagenarium*, *Magnaporthe grisea*, *Mycosphaerella arachidis*, *Phaeosphaeria nodorum*, *Pyrenophora teres*, *Venturia equalis*,

Botrytis eliptica, *Botrytis tulipae*, *Corynespora cassiicola*, *Cercospora kikuchii*, y *Cercospora sojina*.

Descripción detallada

Un método para controlar o prevenir hongos fitopatógenos pertenecientes a *Glomerella lagenarium*, *Magnaporthe grisea*, *Mycosphaerella arachidis*, *Phaeosphaeria nodorum*, *Pyrenophora teres*, *Venturia inaequalis*, *Botrytis eliptica*, *Botrytis tulipae*, *Corynespora cassiicola*, *Cercospora kikuchii*, y/o *Cercospora sojina*, en una planta o en material de propagación vegetal de esta, comprendiendo el método aplicar a la planta, al material de propagación vegetal o emplazamiento de esta, una composición que comprenda jawsamicina, preferentemente una cantidad eficaz como fungicida de jawsamicina.

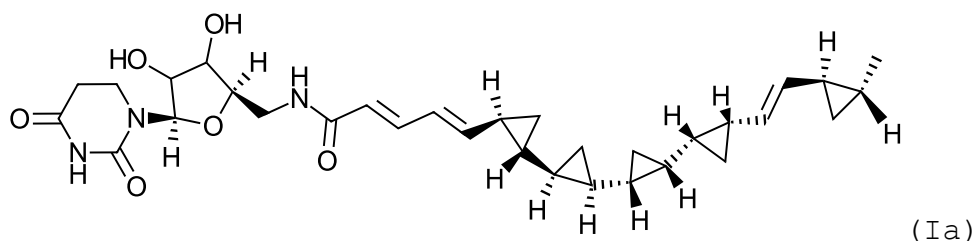
Cuando se utiliza la expresión "cantidad eficaz como fungicida", significa la cantidad de dicho compuesto o combinación de dichos compuestos, que es capaz de producir un efecto sobre el crecimiento de hongos. Los efectos de control o modificación incluyen cualquier desviación del desarrollo natural, tal como destrucción, ralentización y similares, y la prevención incluye la formación de barreras u otras defensas en o sobre una planta para prevenir una infección fúngica. Controlar o prevenir significa reducir la infestación por hongos fitopatógenos a un nivel tal que se demuestre una mejora. Una cantidad eficaz como fungicida de

jawsamicina comprende de 0.1 a 500 ppm, preferentemente de 0.5 a 250 ppm de jawsamicina.

Sorprendentemente, se descubrió que la jawsamicina era sorprendentemente eficaz para controlar los hongos *Glomerella lagenarium*, *Magnaporthe grisea*, *Mycosphaerella arachidis*, *Phaeosphaeria nodorum* (sin. *Parastagonospora nodorum*), *Pyrenophora teres*, *Venturia inaequalis*, *Botrytis elliptica*, *Botrytis tulipae*, *Corynespora cassiicola*, *Cercospora kikuchii*, y/o *Cercospora sojina*. Por consiguiente, la jawsamicina tiene una actividad fungicida sorprendente contra estos hongos.

Por el contrario, se descubrió que la jawsamicina mostró muy poca o ninguna actividad contra oomicetos, tales como *Phytophthora infestans*, *Pythium ultimum* y *Plasmopara viticola*, basidiomicetos, tales como *Puccinia recondita* y *Rhizoctonia solani* (sin. *Thanatephorus cucumeris*) y los ascomicetos *Blumeria graminis* y *Uncinula necator*. Por consiguiente, parece que la enseñanza de Fu, Y. et al. en Nat Commun 11, 3387 (2020), no puede aplicarse a todos los hongos.

La jawsamicina es un compuesto conocido y tiene una fórmula estructural de acuerdo con la Fórmula (Ia)



5 La jawsamicina de fórmula (Ia) es un producto natural
que contiene oligociclopropilo, también mencionado como FR-
900848. La jawsamicina es un policétido que comprende una 5'-
amino-5'-desoxi-3,4,5,6-tetrahidrouridina en la que uno de
los hidrógenos del grupo amino está sustituido por un grupo
10 (1E,3E)-1-[(1R,1'R,1''R,1'''R,2S,2'R,2''R,2'''S)-2'''-{(E)-2-
[(1R,2R)-2-metilciclopropil]etenil}[1,1':2',1'':2'',1'''-
cuater(ciclopropan)]-2-il]-5-oxopenta-1,3-dien-5-ilo.

La estructura de la jawsamicina es $C_{32}H_{43}N_3O_6$, que
comprende una 5'-amino-5'-desoxi-5,6-dihidrouridina con un
15 ácido graso insaturado que comprende cuatro anillos de
ciclopropano en serie y uno aislado.

El nombre IUPAC de la jawsamicina es (2E,4E)-N-
[[(2R,3S,4R,5R)-5-(2,4-dioxo-1,3-diazinan-1-il)-3,4-
dihidroxioxolan-2-il]metil]-5-[(1S,2R)-2-[(1R,2R)-2-[(1R,2R)-
2-[(1R,2S)-2-[(E)-2-[(1R,2R)-2-
20 metilciclopropil]etenil]ciclopropil]ciclopropil]ciclopropil]c
iclopropil]penta-2,4-dienamida.

Aunque la síntesis total de la jawsamicina, titulada
"agente antifúngico pentaciclopropano FR-900848" ha sido
desvelada por A. Barrett et al., J. Am. Chem. Soc. 1996, 118,
25

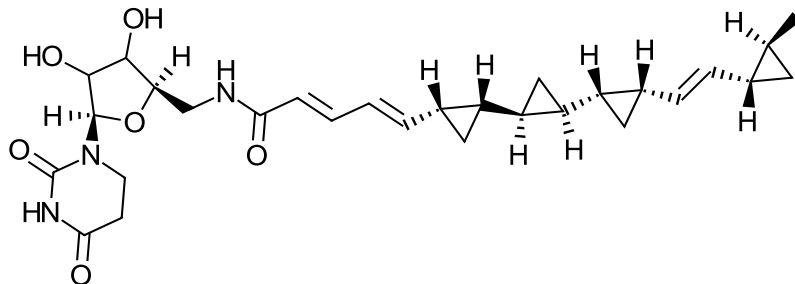
45, 11030-11037, el compuesto es preferentemente accesible, y empleado, como el metabolito obtenido de bacterias del género *Streptovercillium* o *Streptomyces* o aislado de dichas bacterias.

5 Un microorganismo que expresa un compuesto de acuerdo con la fórmula (Ia) puede ser uno del género *Streptovercillium* y/o *Streptomyces*, preferentemente la especie *Streptovercillium fervens*, y/o *Streptomyces luteovercillatus*, o sus esporas, ya que estos
10 microorganismos expresan los compuestos de fórmula (Ia) como metabolitos.

Una vía particularmente adecuada para producir jawsamicina puede ser mediante el cultivo de *Streptovercillium fervens* y el aislamiento de jawsamicina,
15 por ejemplo, según los métodos desvelados en Masaru et al, The Journal of Antibiotics, 1990, volumen 43, número 7, páginas 748-754.

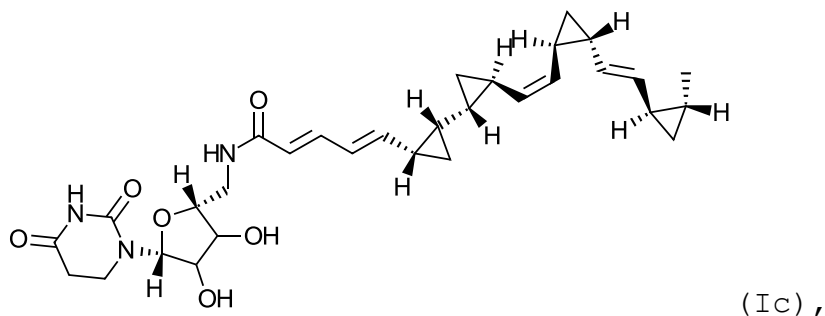
Los congéneres de la jawsamicina son los compuestos Ib y Ic de acuerdo con las siguientes fórmulas:

20



(Ib); y

25



Estos congéneres de acuerdo con la fórmula Ib) y Ic) son expresados por los cultivos microbianos anteriores en cantidades variables, pero normalmente pequeñas o insignificantes.

El método de acuerdo con la presente invención comprende aplicar una composición que comprende jawsamicina a una planta, a material de propagación vegetal o al emplazamiento de esta. La aplicación de jawsamicina a una planta puede realizarse mediante pulverización, espolvoreo o cualquier otro medio adecuado.

Un método adecuado de control o prevención de una infestación de plantas de cultivo por *Glomerella lagenarium*, *Magnaporthe grisea*, *Mycosphaerella arachidis*, *Phaeosphaeria nodorum*, *Pyrenophora teres*, *Venturia inaequalis*, *Botrytis eliptica*, *Botrytis tulipae*, *Corynespora cassiicola*, *Cercospora kikuchii*, y/o *Cercospora sojina*, comprende la aplicación de una composición agroquímica que comprende jawsamicina mediante aplicación foliar. La frecuencia de aplicación y la tasa de aplicación dependerán del riesgo de infestación por el hongo fitopatógeno. Sin embargo, la

jawsamicina también puede penetrar en la planta a través de las raíces desde el suelo, mediante el empapado del emplazamiento de la planta con una formulación líquida, o mediante la aplicación de los compuestos en forma sólida al
5 suelo, p. ej., en forma granular (aplicación al suelo).

Puede ser posible utilizar una composición que comprenda jawsamicina como agentes de revestimiento para el tratamiento del material de propagación vegetal, p. ej., semillas, tales como frutos, tubérculos o granos, o esquejes vegetales, para
10 la protección contra infecciones por *Glomerella lagenarium*, *Magnaporthe grisea*, *Mycosphaerella arachidis*, *Phaeosphaeria nodorum*, *Pyrenophora teres*, *Venturia inaequalis*, *Botrytis eliptica*, *Botrytis tulipae*, *Corynespora cassiicola*, *Cercospora kikuchii*, y/o *Cercospora sojina*. El material de
15 propagación puede tratarse con una composición que comprenda jawsamicina antes de plantarlo: la semilla, p. ej., puede revestirse antes de sembrarla. La jawsamicina también puede aplicarse a los granos (recubrimiento), ya sea impregnando las semillas en una formulación líquida o recubriéndolas con
20 una formulación sólida. La composición también puede aplicarse al lugar de siembra cuando se está plantando el material de propagación, por ejemplo, en el surco de la semilla durante la siembra.

El método de acuerdo con la presente invención comprende
25 aplicar composiciones, en donde la composición puede

emplearse en cualquier forma convencional, por ejemplo en forma de envase doble, un polvo para el tratamiento de semillas en seco (DS), una emulsión para el tratamiento de semillas (ES), un concentrado fluido para el tratamiento de semillas (FS), una solución para el tratamiento de semillas (LS), un polvo dispersable en agua para el tratamiento de semillas (WS), una suspensión en cápsulas para el tratamiento de semillas (CF), un gel para el tratamiento de semillas (GF), un concentrado en emulsión (EC), un concentrado en suspensión (SC), una suspoemulsión (SE), una suspensión en cápsulas (CS), un gránulo dispersable en agua (WG), un gránulo emulsionable (EG), una emulsión, agua en aceite (EO), una emulsión, aceite en agua (EW), una microemulsión (ME), una dispersión en aceite (OD), un fluido miscible en aceite (OF), un líquido miscible en aceite (OL), un concentrado soluble (SL), una suspensión de ultra bajo volumen (SU), un líquido de ultra bajo volumen (UL), un concentrado técnico (TK), un concentrado dispersable (DC), un polvo humectable (WP) o cualquier formulación técnicamente factible junto con adyuvantes agrícolas aceptables. Dichas composiciones pueden producirse de manera convencional, p. ej., mezclando los principios activos con al menos un adyuvante de formulación inerte apropiado (por ejemplo, diluyentes, disolventes, cargas y, opcionalmente, otros ingredientes de formulación tales como tensioactivos, biocidas,

anticongelantes, adhesivos, espesantes y compuestos que proporcionen efectos adyuvantes). Asimismo, pueden emplearse formulaciones convencionales de liberación lenta cuando se pretende una eficacia de larga duración. En particular, las formulaciones que se van a aplicar en formas de pulverización, tales como los concentrados dispersables en agua (p. ej., EC, SC, DC, OD, SE, EW, EO y similares), gránulos y polvos humectables, pueden contener tensioactivos tales como agentes humectantes y dispersantes y otros compuestos que proporcionen efectos adyuvantes, p. ej., el producto de condensación del formaldehído con naftalenosulfonato, un alquilarilsulfonato, un ligninosulfonato, un sulfato de alquilo graso, alquilfenol etoxilado y un alcohol graso etoxilado.

Cualquier planta adecuada puede tratarse para prevenir o controlar la infestación por *Glomerella lagenarium*, *Magnaporthe grisea*, *Mycosphaerella arachidis*, *Phaeosphaeria nodorum*, *Pyrenophora teres*, *enturiainia inaequalis*, *Botrytis eliptica*, *Botrytis tulipae*, *Corynespora cassiicola*, *Cercospora kikuchii*, y/o *Cercospora sojina*. Una planta adecuada incluye plantas ornamentales, tales como árboles, arbustos, flores y plantas de interior, y también frutas, hortalizas, hierbas y cultivos forrajeros. Preferentemente, en donde la planta se selecciona de hortalizas, tales como pepino, tomate, frutas, tales como manzana, pera, uvas,

cereales, tales como cebada, trigo, maíz, cacahuete, arroz y soja.

Una planta en el método desvelado en el presente documento para el control o la prevención de la infestación por *Glomerella lagenarium* comprende o es pepino. *Glomerella lagenarium* se controló de forma eficaz con una cantidad eficaz como fungicida de jawsamicina de 0.1 a 500 ppm, preferentemente de 0.2 a 300 ppm, preferentemente de 0.3 a 200 ppm.

Una planta en el método desvelado en el presente documento para el control o la prevención de la infestación por *Magnaporthe grisea* comprende o es arroz. Sorprendentemente, *Magnaporthe grisea* se controló de forma eficaz con una cantidad eficaz como fungicida de jawsamicina de 1 a 500 ppm, preferentemente de 2 a 300 ppm, preferentemente de 5 a 200 ppm.

Una planta en el método desvelado en el presente documento para el control o la prevención de la infestación por *Mycosphaerella arachidis* comprende o es cacahuete. Sorprendentemente, *Mycosphaerella arachidis* se controló de forma eficaz en la planta con una cantidad eficaz como fungicida de jawsamicina de 20 a 500 ppm, preferentemente de 30 a 300 ppm, preferentemente de 40 a 250 ppm.

Una planta en el método desvelado en el presente documento para el control o la prevención de la infestación

por *Pyrenophora teres* comprende o es cebada. Sorprendentemente, *Pyrenophora teres* se controló de forma eficaz con una cantidad eficaz como fungicida de jawsamicina de 0.5 a 500 ppm, preferentemente de 1 a 300 ppm, preferentemente de 2 a 200 ppm.

Una planta en el método desvelado en el presente documento para el control o la prevención de la infestación por *Venturia inaequalis* comprende o es una fruta, preferentemente manzana. Sorprendentemente, *Venturia inaequalis* se controló de forma eficaz con una cantidad eficaz como fungicida de jawsamicina de 0.1 a 500 ppm, preferentemente de 0.2 a 300 ppm, preferentemente de 0.3 a 200 ppm.

Una planta en el método desvelado en el presente documento para el control o la prevención de la infestación por *Phaeosphaeria nodorum* comprende o es trigo. *Phaeosphaeria nodorum* se controla de forma eficaz con una cantidad eficaz como fungicida de jawsamicina de 50 a 500 ppm, preferentemente de 60 a 400 ppm.

El término "plantas" se refiere a todas las partes físicas de una planta, incluyendo semillas, plántulas, plantones, raíces, tubérculos, tallos, espigas, follaje y frutos.

Una planta, como se utiliza en el presente documento, también incluye plantas útiles. Debe entenderse que la

expresión "plantas útiles" también incluye plantas útiles que se han modificado para que sean tolerantes a herbicidas.

Debe entenderse que la expresión "plantas útiles" también incluye plantas útiles que se han transformado mediante el uso de técnicas de ADN recombinante de tal manera que son capaces de sintetizar una o más toxinas de acción selectiva, como las conocidas, por ejemplo, de bacterias productoras de toxinas, especialmente las del género *Bacillus*.

La expresión "material de propagación vegetal" se entiende que representa partes generativas de la planta, tal como semillas, que pueden utilizarse para la multiplicación de esta última, y material vegetativo, tal como esquejes o tubérculos, por ejemplo, patatas. Pueden mencionarse, por ejemplo, semillas (en sentido estricto), raíces, frutos, tubérculos, bulbos, rizomas y partes de plantas. También pueden mencionarse plantas germinadas y plantas jóvenes que van a trasplantarse después de la germinación o tras la emergencia del suelo. Estas plantas jóvenes pueden protegerse antes de trasplantarlas mediante un tratamiento total o parcial por inmersión. Preferentemente, por "material de propagación vegetal" se entiende las semillas.

En una realización, una composición que comprende jawsamicina es una composición agrícolamente aceptable.

El término "emplazamiento", como se utiliza en el presente documento, se refiere a los campos en los que las plantas están creciendo o sobre los que crecen, o donde se siembran semillas de plantas cultivadas, o donde se depositarán semillas en el suelo. Esto incluye el suelo, las semillas y las plántulas, así como la vegetación establecida.

A lo largo del presente documento, el término "composición" se refiere a las diversas mezclas o combinaciones de jawsamicina, por ejemplo, en una forma única de "mezcla lista para usar" (*ready-mix*), en una mezcla de pulverización combinada compuesta a partir de formulaciones separadas de los componentes ingredientes activos individuales, tal como una "mezcla en tanque" (*tank-mix*), y en un uso combinado de los ingredientes activos individuales cuando se aplican de manera secuencial, es decir, uno tras otro con un periodo de tiempo razonablemente corto, tal como algunas horas o días.

La composición que comprende jawsamicina en un método de acuerdo con la presente invención es preferentemente una composición agrícolamente aceptable. Preferentemente, la composición comprende además al menos un portador, aditivo, adyuvante de formulación y/o un tensioactivo agrícolamente aceptable.

Los portadores y adyuvantes adecuados, p. ej., para uso agrícola, pueden ser sólidos o líquidos y son sustancias

útiles en la tecnología de formulación, p. ej., sustancias minerales naturales o regeneradas, disolventes, dispersantes, agentes humectantes, adherentes, espesantes, aglutinantes o fertilizantes.

5 En otra realización, la composición comprende uno o más compuestos biológicamente activos adicionales, preferentemente uno o más plaguicidas adicionales, tales como fungicidas, insecticidas o herbicidas.

10 Dichos uno o más componentes plaguicidas adicionales son conocidos y en el presente documento se mencionan por su nombre común ISO (*International Organization for Standardization*, Organización Internacional de Normalización) o su nombre IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*, Unión Internacional de Química Pura y Aplicada).

15 Los componentes plaguicidas habituales se incluyen en el Pesticide Manual Online ("E-pesticide Manual") del British Crop Production Council y en el Compendium of Pesticide Common Names de Alan Wood.

20 En una realización del método de acuerdo con la presente invención, la jawsamicina se aplica a una tasa de 5 a 2000 g de p.a./ha, particularmente de 1 g de p.a./ha a 1000 g de p.a. /ha, preferentemente a una tasa de 5 g de p.a./ha a 500 g de p.a./ha, preferentemente a una tasa de 1 g de p.a./ha a 250 g de p.a./ha. Como se utiliza en el presente

documento, la abreviatura "p.a." significa "principio activo", y el principio activo comprende o es jawsamicina,

5 En otra realización del método de acuerdo con la presente invención, la jawsamicina se aplica a una tasa de 0.001 a 50 g de p.a. por kg de material de propagación vegetal, en particular por kg de semillas. Preferentemente, la jawsamicina se aplica a una tasa de 0.01 a 40 g, preferentemente a una tasa de 0.1 a 30 g de p.a. por kg de material de propagación vegetal.

10 La presente invención también se refiere al uso de la jawsamicina para el control o la prevención de hongos fitopatógenos, en donde el hongo se selecciona de *Glomerella lagenarium*, *Magnaporthe grisea*, *Mycosphaerella arachidis*, *Phaeosphaeria nodorum*, *Pyrenophora teres*, *Venturia inaequalis*, *Botrytis elliptica*, *Botrytis tulipae*, *Corynespora cassiicola*, *Cercospora kikuchii* y *Cercospora sojina*.

15 Preferentemente, el uso de la jawsamicina para el control o la prevención de hongos fitopatógenos, es en una planta o en material de propagación vegetal. El método y uso de la presente invención excluye métodos y usos para el tratamiento del cuerpo humano o animal mediante cirugía o terapia.

Ejemplos

Materiales y métodos

La jawsamicina empleada en los ejemplos se produjo cultivando *Streptoverticillium fervens* y aislando la jawsamicina de acuerdo con los métodos desvelados en Masaru et al, The Journal of Antibiotics, 1990, volumen 43, número 7, páginas 748-754.

Ejemplo 1. Ensayos de cultivo líquido *in vitro*.

Los conidios o fragmentos miceliales de los hongos/oomicetos enumerados en la Tabla 1 se mezclaron en caldo nutritivo (caldo de patata y dextrosa (PDB, *potato dextrose broth*)/medio mínimo de Vogel (Microbial Genetics Bulletin 13:42-43, 1956)). Antes de añadir 90 µl del caldo nutritivo al pocillo que contenía los conidios o fragmentos miceliales, se dispensó una solución de 10 µl de jawsamicina en DMSO en un pocillo de una placa de microtitulación de 96 pocillos. La placa de ensayo se incubó después a 24 °C y se evaluó fotométricamente a 620 nm después de 2 a 7 días de incubación. La eficacia de la jawsamicina se evaluó comparando los pocillos de ensayo con los pocillos inoculados no tratados y los pocillos no inoculados, y asignando la eficacia en una escala de 0-100 %.

Los resultados de la Tabla 1 muestran que *Botrytis eliptica*, *Botrytis tulipae*, *Corynespora cassiicola*, *Cercospora kikuchii*, *Cercospora sojina*, *Glomerella*

lagenarium, y *Mycosphaerella arachidis* se controlaron eficazmente con jawsamciina en ensayos de cultivo líquido. Sin embargo, la jawsamicina no afectó al crecimiento de *Pythium ultimum* ni de *Rhizoctonia solani*.

Tabla 1. Eficacia (%) de la jawsamicina contra especies de hongos y oomicetos a diferentes concentraciones en ensayos de cultivo líquido

Tasa (ppm)	<i>Mycosphaerella arachidis</i>	<i>Pythium ultimum</i>	<i>Glomerella lagenarium</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Corynespora cassiicola</i>	<i>Cercospora kikuchii</i>	<i>Cercospora sojina</i>	Tasa (ppm)	<i>Botrytis eliptica</i>	<i>Botrytis tulipae</i>
20	100	0	100	0	90	100	100	25	100	93
2.2	100	0	100	0	70	50	100	12.5	100	77
0.2	70	0	100	0	20	0	0	6.25	100	83

Ejemplo 2. Eficacia de la jawsamicina contra hongos y oomicetos en ensayos de disco foliar

Ensayos en disco foliar

La eficacia en discos foliares se evaluó en una escala de 0-100 % comparando los discos de ensayo con discos foliares inoculados, no tratados, que representan un 0 % de

control y con discos foliares tratados con un estándar conocido que controla completamente el patógeno, que representa un 100 % de control.

***Phytophthora infestans* (tizón tardío de la patata/tomate):**

5 Discos foliares de tomate se colocaron sobre agar y agua en placas multipocillo (formato de 24 pocillos) y se pulverizaron con las soluciones de ensayo. Después del secado, los discos foliares se inocularon con una suspensión de esporas del hongo. Después de una incubación adecuada, la
10 actividad de un compuesto se evaluó 4 ddi (días después de la inoculación) como actividad fungicida preventiva. Intervalo de dosis: 200-22 ppm.

***Plasmopara viticola* (mildiu velloso de la vid):**

15 Discos foliares de vid se colocaron sobre agar en placas multipocillo (formato de 24 pocillos) y se pulverizaron con las soluciones de ensayo. Después del secado, los discos foliares se inocularon con una suspensión de esporas del hongo. Después de una incubación adecuada, la actividad de un compuesto se evaluó 7 ddi (días después de la inoculación)
20 como actividad fungicida preventiva. Intervalo de dosis: 200-22 ppm.

***Blumeria graminis f.sp. tritici* (oídio del trigo):**

25 Segmentos foliares de cebada se colocaron sobre agar en placas multipocillo (formato de 24 pocillos) y se pulverizaron con las soluciones de ensayo. Después del

secado, los discos foliares se inocularon con esporas del hongo. Después de una incubación adecuada, la actividad de un compuesto se evaluó 7 ddi (días después de la inoculación) como actividad fungicida preventiva. Intervalo de dosis: 66-22 ppm.

***Pyrenophora teres* (mancha reticular):**

Segmentos foliares de cebada se colocaron sobre agar en placas multipocillo (formato de 24 pocillos) y se pulverizaron con las soluciones de ensayo. Después del secado, los discos foliares se inocularon con una suspensión de esporas del hongo. Después de una incubación adecuada, la actividad de un compuesto se evaluó 4 ddi (días después de la inoculación) como actividad fungicida preventiva. Intervalo de dosis: 200-22 ppm.

***Puccinia recondita* (roya parda):**

Segmentos foliares de trigo se colocaron sobre agar en placas multipocillo (formato de 24 pocillos) y se pulverizaron con las soluciones de ensayo. Después del secado, los discos foliares se inocularon con una suspensión de esporas del hongo. Después de una incubación adecuada, la actividad de un compuesto se evaluó 8 ddi (días después de la inoculación) como actividad fungicida preventiva. Intervalo de dosis: 200-22 ppm.

***Phaeosphaeria nodorum* (sin. *Parastagonospora nodorum*, mancha de la gluma):**

Segmentos foliares de trigo se colocaron sobre agar en placas multipocillo (formato de 24 pocillos) y se pulverizaron con las soluciones de ensayo. Después del secado, los discos foliares se inocularon con una suspensión de esporas del hongo. Después de una incubación adecuada, la actividad de un compuesto se evaluó 4 ddi (días después de la inoculación) como actividad fungicida preventiva. Intervalo de dosis: 200-22 ppm.

***Magnaporthe oryzae* (piriculariosis del arroz):**

Segmentos foliares de arroz se colocaron sobre agar en placas multipocillo (formato de 24 pocillos) y se pulverizaron con las soluciones de ensayo. Después del secado, los discos foliares se inocularon con una suspensión de esporas del hongo. Después de una incubación adecuada, la actividad de un compuesto se evaluó 5 ddi (días después de la inoculación) como actividad fungicida preventiva. Intervalo de dosis: 200-22 ppm.

Los resultados de la Tabla 2 muestran que la jawsamicina mostró actividad en el ensayo de discos foliares contra los ascomicetos *Pyrenophora teres*, *Phaeosphaeria nodorum* y *Magnaporthe grisea*, pero no mostró actividad contra el ascomiceto *Blumeria graminis* y el basidiomiceto *Puccinia recondita*, ni contra oomicetos.

Tabla 2. Eficacia (%) de jawsamicina contra diversos hongos y oomicetos en el ensayo de disco foliar

	Eficacia (%)							
	Hongo u oomiceto	<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Plasmopara viticola</i>	<i>Blumeria graminis</i>	<i>Puccinia recondita</i>	<i>Phaeosphaeria nodorum</i>	<i>Pyrenophora teres</i>	<i>Magnaporthe grisea</i>
	Tasa (ppm)	Tomate	Uva	Cebada	Cebada	Trigo	Cebada	Arroz
5								
10								
15	200	0	0	/	0	70	100	100
	66.6	0	0	0	0	0	0	100
	22.2	0	0	0	0	0	20	0

Ejemplo 3. Eficacia de la jawsamicina contra hongos y oomicetos en plantas

Ensayos en planta completa

La eficacia frente a la enfermedad en planta completa se evaluó comparando la cobertura de síntomas en la planta y asignando una puntuación en una escala de 0-100 %. Las plantas se compararon con una planta de control no tratada y

con plantas tratadas con un estándar que tiene control completo que actúa como ejemplo de una cobertura del 100 %.

***Blumeria graminis* f. sp. *tritici* (*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) en trigo con una aplicación preventiva.**

5 Plantas de trigo de 1 semana, cv. Arina, se pulverizaron en una cámara de pulverización con el compuesto de ensayo formulado diluido en agua. Dos días después de la aplicación, las plantas de ensayo se inocularon esparciendo sobre ellas esporas de oídio en una cámara de inoculación. Las plantas de
10 ensayo inoculadas se incubaron en un invernadero a 20 °C/18 °C (día/noche) y 60 % de hr y cuando apareció un nivel adecuado de enfermedad en las plantas de control no tratadas (7-9 días después de la aplicación) se evaluó el porcentaje de superficie foliar cubierta por la enfermedad.

15 ***Glomerella lagenarium* (*Colletotrichum lagenarium*) en pepino con una aplicación preventiva.**

 Plantas de pepino de 1 semana, cv. Wisconsin, se pulverizaron en una cámara de pulverización con el compuesto de ensayo formulado diluido en agua. Un día después de la
20 aplicación, las plantas de ensayo se inocularon pulverizándolas con una suspensión de esporas. Después de un período de incubación de 30 h en oscuridad a 23 °C y 100 % de hr, las plantas de ensayo inoculadas se mantuvieron en un invernadero a 23 °C/21 °C (día/noche) y 70 % de hr. Cuando
25 apareció un nivel adecuado de enfermedad en las plantas de

control no tratadas (6-8 días después de la aplicación), se evaluó el porcentaje de superficie foliar cubierta por la enfermedad.

***Magnaporthe grisea (Pyricularia oryzae)* en arroz con una aplicación preventiva.**

Plantas de arroz de 3 semanas, cv. Koshihikari, se pulverizaron en una cámara de pulverización con el compuesto de ensayo formulado diluido en agua. Dos días después de la aplicación, las plantas de ensayo se inocularon pulverizándolas con una suspensión de esporas. Las plantas de ensayo inoculadas se incubaron a 25 °C y 95 % de hr, y cuando apareció un nivel adecuado de enfermedad en las plantas de control no tratadas (7-9 días después de la aplicación), se evaluó el porcentaje de superficie foliar cubierta por la enfermedad.

***Mycosphaerella arachidis (Cercospora arachidicola)* en cacahuete con una aplicación preventiva**

Plantas de cacahuete de 3 semanas, cv. Georgia Green, se pulverizaron en una cámara de pulverización con el compuesto de ensayo formulado diluido en agua. Un día después de la aplicación, las plantas de ensayo se inocularon pulverizándolas con una suspensión de esporas sobre la superficie inferior de las hojas. Después de un periodo de incubación de 4 días bajo una campana de plástico a 23 °C y 100 % de hr, las plantas de ensayo inoculadas se mantuvieron

en un invernadero a 23 °C/20 °C (día/noche) y 70 % de hr. Cuando apareció un nivel adecuado de enfermedad en las plantas de control no tratadas (12-14 días después de la aplicación), se evaluó el porcentaje de superficie foliar cubierta por la enfermedad.

***Phytophthora infestans* en patata con una aplicación preventiva.**

Plantas de patata de 2 semanas, cv. Bintje, se pulverizaron en una cámara de pulverización con el compuesto de ensayo formulado diluido en agua. Dos días después de la aplicación, las plantas de ensayo se inocularon pulverizándolas con una suspensión de esporangios. Las plantas de ensayo inoculadas se incubaron a 18 °C con 14 h de luz/día y 100 % de hr en una cámara de crecimiento y cuando apareció un nivel adecuado de enfermedad en las plantas de control no tratadas (5-7 días después de la aplicación), se evaluó el porcentaje de superficie foliar cubierta por la enfermedad.

***Plasmopara viticola* en uva con una aplicación preventiva.**

Plántulas de vid de 5 semanas, cv. Gutedel, se pulverizaron en una cámara de pulverización con el compuesto de ensayo formulado diluido en agua. Un día después de la aplicación, las plantas de ensayo se inocularon pulverizándolas con una suspensión de esporangios sobre la superficie inferior de las hojas. Las plantas de ensayo

inoculadas se incubaron en un invernadero a 22 °C y 100 % de hr y cuando apareció un nivel adecuado de enfermedad en las plantas de control no tratadas (6-8 días después de la aplicación), se evaluó el porcentaje de superficie foliar cubierta por la enfermedad.

***Puccinia recondita* f. sp. *tritici* en trigo con una aplicación preventiva.**

Plantas de trigo de 2 semanas, cv. Arina, se pulverizaron en una cámara de pulverización con el compuesto de ensayo formulado diluido en agua. Un día después de la aplicación, las plantas de ensayo se inocularon pulverizándolas con una suspensión de esporas. Después de un periodo de incubación de 1 día a 20 °C y 95 % de hr, las plantas de ensayo inoculadas se mantuvieron en un invernadero a 20 °C/18 °C (día/noche) y 60 % de hr. Cuando apareció un nivel adecuado de enfermedad en las plantas de control no tratadas (12-14 días después de la aplicación), se evaluó el porcentaje de superficie foliar cubierta por la enfermedad.

***Pyrenophora teres* (*Helminthosporium teres*) en cebada con una aplicación preventiva.**

Plantas de cebada de 1 semana, cv. Regina, se pulverizaron en una cámara de pulverización con el compuesto de ensayo formulado diluido en agua. Dos días después de la aplicación, las plantas de ensayo se inocularon pulverizándolas con una suspensión de esporas. Las plantas de

ensayo inoculadas se incubaron a 20 °C y 95 % de hr, y cuando apareció un nivel adecuado de enfermedad en las plantas de control no tratadas (5-7 días después de la aplicación), se evaluó el porcentaje de superficie foliar cubierta por la enfermedad.

***Venturia inaequalis* en manzano con una aplicación preventiva.**

Plántulas de manzano de 3 semanas se pulverizaron en una cámara de pulverización con el compuesto de ensayo formulado diluido en agua. Un día después de la aplicación, las plantas de ensayo se inocularon pulverizándolas con una suspensión de esporas. Después de un período de incubación de 2 días a 20 °C y 95 % de hr, las plantas de ensayo inoculadas se mantuvieron a 20 °C/19 °C (día/noche) y 60 % de hr en un invernadero. Cuando apareció un nivel adecuado de enfermedad en las plantas de control no tratadas (11-13 días después de la aplicación), se evaluó el porcentaje de superficie foliar cubierta por la enfermedad.

***Uncinula necator* en uva con una aplicación preventiva.**

Plántulas de vid de 5 semanas, cv. Gutedel, se pulverizaron en una cámara de pulverización con el compuesto de ensayo formulado diluido en agua. Un día después de la aplicación, las plantas de ensayo se inocularon sacudiendo sobre ellas plantas infectadas con oídio de la vid. Las plantas de ensayo inoculadas se incubaron a 24/22 °C (día/noche) y 70 % de hr, bajo un régimen de luz de 14/10 h

(luz/oscuridad) y cuando apareció un nivel adecuado de enfermedad en las plantas de control no tratadas (7-9 días después de la aplicación), se evaluó el porcentaje de superficie foliar cubierta por la enfermedad.

5 Los resultados de la Tabla 3 muestran que la jawsamicina mostró una actividad fungicida sorprendentemente eficaz contra *Pyrenophora teres*, *Mycosphaerella arachidis* *Venturia inaequalis* *Glomerella lagenarium* *Magnaporthe grisea* en las plantas indicadas, pero no se encontró actividad contra el
10 ascomiceto *Blumeria graminis* y *Uncinula necator* ni el basidiomiceto *Puccinia recondita* ni los oomicetos *Phytophthora infestans*, *Plasmopara viticola*.

Tabla 3. Eficacia (%) de la jawsamicina contra hongos y oomicetos

15		Hongo u oomiceto	<i>Phytophthora infestans</i>	<i>Plasmopara viticola</i>	<i>Blumeria graminis</i>	<i>Puccinia recondita</i>	<i>Pyrenophora teres</i>	<i>Mycosphaerella arachidis</i>	<i>Venturia inaequalis</i>	<i>Glomerella lagenarium</i>	<i>Magnaporthe grisea</i>	<i>Uncinula necator</i>
20	Tasa (ppm)	Planta	Patata	Uva	Trigo	Trigo	Cebada	Cacahuate	Manzana	Pepino	Arroz	Uva
25	200		0	0	0	0	93.8	71.4	/	/	/	0

5

60		0	0	0	0	93. 8	35.7	100	97. 4	73. 2	0
20		0	0	0	0	87. 5	0	91.1	95. 5	19. 6	0
6		0	0	0	0	81. 3	0	88.1	92. 3	46. 4	0
2		0	0	0	0	50	0	98.8	80. 8	1.8	0
0.6		/	/	/	/	/	/	100	67. 9	0	/

10

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.

15

20

25