

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 401 915**

51 Int. Cl.:

A01N 43/60 (2006.01)

A01N 63/02 (2006.01)

A01P 13/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.04.2008 E 08745224 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2013 EP 2178374**

54 Título: **Métodos para controlar algas con taxtomina y composiciones de taxtomina**

30 Prioridad:

09.04.2007 US 910723 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

25.04.2013

73 Titular/es:

**NOVOZYMES BIOLOGICALS, INC. (100.0%)
5600 Corporate Circle
Salem, VA 24153 , US**

72 Inventor/es:

**KANG, YAOWEI;
SEMONES, SHAWN;
LEDER, JONATHAN y
TRAN, ANH**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 401 915 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

5 Métodos para controlar algas con taxtomina y composiciones de taxtomina

Referencia cruzada con solicitud relacionada

10 [0001] Esta solicitud reivindica prioridad o el beneficio de prioridad según 35 U.S.C. 119 de la solicitud provisional estadounidense nº 60/910.723 solicitada el 9 de abril de 2007.

Antecedentes

15 1. Campo técnico

[0002] Esta descripción se refiere a la inhibición del crecimiento de algas con una o más taxtominas. Los métodos son útiles para su aplicación en agua, tal como agua sin tratar, o superficies contaminadas con algas o equipamiento que necesita tratamiento para controlar, minimizar y/o eliminar algas.

20 2. Antecedentes

25 [0003] Muchas piscinas, estanques, lagos, tanques, estuarios y océanos contienen una población sustancial de algas suspendidas en la columna de agua del cuerpo de agua. Estas algas aportan al agua una apariencia verdosa y frecuentemente turbia que muchos observadores encuentran poco atractiva. Las aglomeraciones flotantes de algas filamentosas indeseables también se pueden dar. La proliferación de algas, en las que se encuentra una alta concentración de algas en un cuerpo de agua, provoca bajos niveles de oxígeno disuelto y afecta a las poblaciones acuáticas y de peces. En algunos casos, tales condiciones llevan a la muerte de los peces y a la reducción de la calidad global de un cuerpo de agua.

30 [0004] Los métodos utilizados actualmente para controlar el crecimiento de algas incluyen el tratamiento del agua con alguicidas. Por ejemplo, la patente de EEUU nº: 5.407.899 describe sulfato cúprico usado para el control de algas. Los agentes alguicidas conocidos matan las algas y devuelven al agua una apariencia más deseada de aguas claras o menos coloreadas. No obstante, los alguicidas conocidos plantean el problema de que pueden ser costosos y potencialmente tóxicos para el entorno. Por otra parte, después de que se hayan disipado los alguicidas, el uso de alguicidas no altera necesariamente las condiciones del agua, por lo que sigue siendo adecuada para que vuelvan a crecer algas y/o se reanude la contaminación.

35 [0005] El control de algas con herbicidas seleccionados también se conoce (véase la WO 01/56386), en particular con inhibidores de la síntesis de celulosa (véase J. Phycol. 35, 635-655 (1999)).

40 [0006] Las taxtominas son un grupo conocido de fitotoxinas, no obstante, aunque la taxtomina A y sus análogos muestran muchas de las propiedades biológicas deseables en herbicidas potenciales, son conocidas por falta de fitotoxicidad sistémica, fundamental para ofrecer un control de hierbajo fiable en el campo con índices bajos de herbicida. Véase, por ejemplo, Herbicidal Properties of the Thaxtomin Group of Phytotoxins, J. Agric. Food Chem., Vol. 49, No. 5, 2001. Las taxtominas también se conocen por inhibir la síntesis de celulosa en *Arabidopsis* (véase The Plan Cell, Vol. 15, 1781-1794, August 2003).

45 [0007] Tanto la contaminación con algas como el uso de alguicidas continúan siendo problemáticos. El retratamiento de entornos contaminados supone el coste global del tratamiento, y aumenta la posibilidad de acumulación tóxica del alguicida en el entorno. Así, existe una necesidad continua de alguicidas nuevos y métodos para utilizar y fabricar alguicidas y sus fórmulas. Por otra parte, existe una necesidad continua de identificar los alguicidas que se puedan fabricar fácilmente y/o que sean menos dañinos para el medio ambiente que los alguicidas conocidos.

Resumen

55 [0008] La presente divulgación proporciona uno o más alguicidas y métodos nuevos para inhibir el crecimiento de algas mediante la puesta en contacto de las algas con una cantidad eficaz de una o más taxtominas y/o análogos de las mismas. Las taxtominas adecuadas no limitativas incluyen taxtomina A, taxtomina B, taxtomina D y combinaciones de las mismas. En las formas de realización, solamente, la taxtomina A se usa conforme a la presente divulgación.

60 [0009] Los presentes métodos son adecuados para lugares en los que las algas están en un entorno líquido, tal como agua. Los ambientes líquidos adecuados incluyen piscinas, estanques, granjas de pescado, lagos, arroyos, arrozales, ríos, océanos, estuarios, acuarios de agua dulce, acuarios de agua salada, acuiculturas, tanques para acuicultura comercial, estanques para acuicultura comercial, estanques ornamentales, jardines de agua, corriente de escorrentía o acequias y combinaciones de los mismos. En formas de realización, las algas están en tierra o en un entorno fangoso.

En formas de realización, las algas están contaminando contenedores, tanques, biorreactores u otros aparatos usados para cultivar algas comercialmente, tales como algas cultivadas para biocombustible o fines de energía alternativa.

5 [0010] En formas de realización, la presente divulgación se refiere a un método para inhibir el crecimiento de algas que comprende, o que consiste en, la puesta en contacto de algas con una cantidad eficaz de una o más taxtominas. En formas de realización, una o más taxtominas incluyen compuestos que comprenden, o que consisten en, taxtomina A, taxtomina B, taxtomina D y combinaciones de las mismas. En formas de realización, una o más taxtominas sólo incluyen taxtomina A. En algunas formas de realización, las algas están en un entorno líquido, tal como agua. Por ejemplo, los ambientes líquidos adecuados incluyen una piscina, estanque, arrozal, lago, arroyo, río, océano, estuario, acuario de agua dulce, acuario de agua salada, tanque para acuicultura comercial, estanque para acuicultura comercial, estanque ornamental, jardín de agua, corriente de escorrentía y combinaciones de los mismos. En algunas formas de realización, las algas adecuadas para el tratamiento se encuentran en tierra o en un entorno fangoso. En formas de realización, los tratamientos incluyen la aplicación de una cantidad eficaz de taxtomina, tal como una cantidad en la que la concentración aplicada sea de 0,5 ppm a 100 ppm.

15 [0011] La presente divulgación proporciona un método de control del crecimiento de algas que comprende, o que consiste en, la puesta en contacto de las algas con una o más taxtominas.

20 [0012] En formas de realización, una o más taxtominas se aplican a una zona que precisa un control de algas, tal como un biorreactor, tanque, equipamiento de granja y combinaciones de los mismos. En algunas formas de realización, la taxtomina se mezcla con un portador para formar una solución que contiene taxtomina en una concentración de 0,05 ppm a 500 ppm. Tal solución se puede aplicar a una superficie contaminada que precisa descontaminación o reducción o eliminación de algas.

25 [0013] Como se utiliza en este caso, "algas" se refiere a cualquiera de los diversos organismos, principalmente acuáticos, eucariotas, fotosintéticos, que varían en tamaño desde formas unicelulares hasta el alga marina gigante. El término puede referirse además a protistas fotosintéticos responsables de gran parte de la fotosíntesis en la tierra. Como grupo, las algas son polifiléticas. Por consiguiente, el término puede referirse a cualquier protista considerado alga de los siguientes grupos: alveolados, clorarcniofitas, criptomónadas, euglenoides, glaucófitas, haptofitas, algas rojas tales como *Rhodophyta*, *Stramenopiles* y *Viridiaeplantae*. El término se refiere a las algas verdes, verde amarillentas, marrones y rojas de las eucariotas. El término también puede referirse a la cianobacteria de las procariotas. El término también se refiere a algas verdes, algas azules y algas rojas.

30 [0014] Como se utiliza en este caso, "alguicida" se refiere a uno o más agentes, compuestos y/o composiciones con actividad alguicida y/o algaestática.

[0015] Como se utiliza en este caso, "alguicida" significa la muerte de las algas.

35 [0016] Como se utiliza en este caso, "algaestático" se refiere a la inhibición de los medios el crecimiento de las algas, que pueden ser reversibles bajo ciertas condiciones.

40 [0017] Como se utiliza en este caso "alquilo inferior" se refiere al grupo alquilo acíclico de cadena lineal o ramificada que incluye de uno a aproximadamente dieciocho átomos de carbono. Los grupos alquilo ejemplares incluyen, entre otros, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, pentilo, isoamilo, hexilo, octilo, decilo y similares.

45 [0018] Como se utiliza en este caso, "hidroxi" se refiere a -OH.

[0019] Como se utiliza en este caso "H" se refiere a un átomo de hidrógeno.

50 [0020] Como se utiliza en este caso "ppm" se refiere para partes-por-millón.

Descripción detallada de las formas de realización preferidas

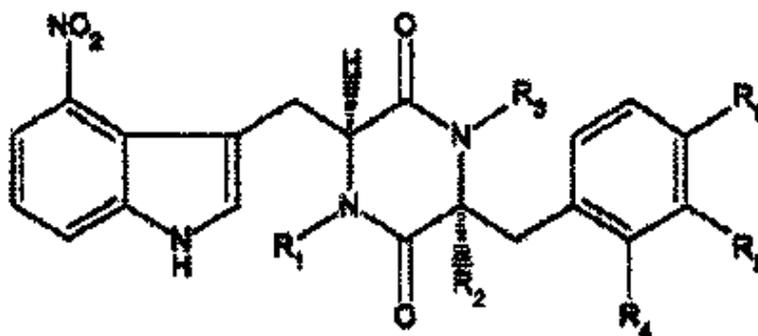
55 [0021] *Streptomyces scabies*, *S. acidiscabies* y *S. turgidiscabies* son los agentes que causan la enfermedad de la costra en una variedad de patatas subterráneas. Una clase de fitotoxinas, la taxtomina, se ha identificado que está implicada en la patogénesis. Se acaba de descubrir que las taxtominas son adecuadas para el control, reducción y/o eliminación de algas, incluidas las algas verdes, algas azules y algas rojas. Se ha descubierto que las taxtominas tienen actividad alguicida y algaestática.

60 [0022] La presente divulgación proporciona métodos y composiciones para la inhibición del crecimiento de algas. Los métodos incluyen la aplicación de una cantidad predeterminada de alguicida en un área que precisa control o tratamiento, tal como un área contaminadas de algas. El alguicida puede ser en solución y/o disuelto y dispuesto para matar, controlar y/o minimizar las algas. En formas de realización, el alguicida es en solución, de este modo puede penetrar en las algas de forma bioeficaz.

65

[0023] Los alguicidas adecuados para su uso según esta divulgación incluyen una o más taxtominas. Las taxtominas incluyen cualquiera del tipo perteneciente a una familia de dipéptidos cíclicos, tales como 2,5-dioxoperazinas conteniendo 4-nitroindol-3-ilo- comúnmente conocidas como taxtominas. Las taxtominas adecuadas incluyen agentes descritos como dipéptidos cíclicos que tienen la estructura básica ciclo-(L-4-nitrotriptofil-L-fenitalanil). En formas de realización, las fracciones de diquetopiperazina adecuadas pueden ser N-metiladas, e incluyen congéneres que portan fenilalanil α - y grupos hidroxilo de carbono de anillo. Ejemplos no limitativos de taxtominas adecuadas para su uso conforme a la presente divulgación incluyen taxtomina A, isómero orto de taxtomina A, taxtomina B y deoxitaxtomina B C-14 (taxtomina D). Las combinaciones de taxtominas y de derivados de las mismas también se adecuan para su uso conforme a la presente divulgación.

[0024] En formas de realización, las taxtominas purificadas son alguicidas adecuados para su uso conforme a la presente divulgación. Los compuestos químicos incluyen:



[0025] En formas de realización, R₁ es metilo o H.

[0026] En formas de realización, R₂ es hidroxilo o H.

[0027] En formas de realización, R₃ es metilo o H.

[0028] En formas de realización, R₄ es hidroxilo o H.

[0029] En formas de realización, R₅ es hidroxilo o H.

[0030] En formas de realización, R₆, hidroxilo o H.

[0031] En formas de realización, R₁ es metilo, R₂ es hidroxilo, R₃ es metilo, R₄ es H, R₅ es hidroxilo y R₆ es H.

[0032] En formas de realización, R₁ es metilo, R₂ es hidroxilo, R₃ es metilo, R₄ es hidroxilo, R₅ es H y R₆ es H.

[0033] En formas de realización, R₁ es metilo, R₂ es H, R₃ es H, R₄ es H, R₅ es H y R₆ es H.

[0034] En formas de realización, R₁ es metilo, R₂ es hidroxilo, R₃ es metilo, R₄ es H, R₅ es H y R₆ es H.

[0035] En formas de realización, R₁ es metilo, R₂ es H, R₃ es metilo, R₄ es H, R₅ es H y R₆ es H.

[0036] En formas de realización, R₁ es metilo, R₂ es hidroxilo, R₃ es H, R₄ es H, R₅ es H y R₆ es H.

[0037] En formas de realización, R₁ es metilo, R₂ es hidroxilo, R₃ es metilo, R₄ es H, R₅ es H y R₆ es hidroxilo.

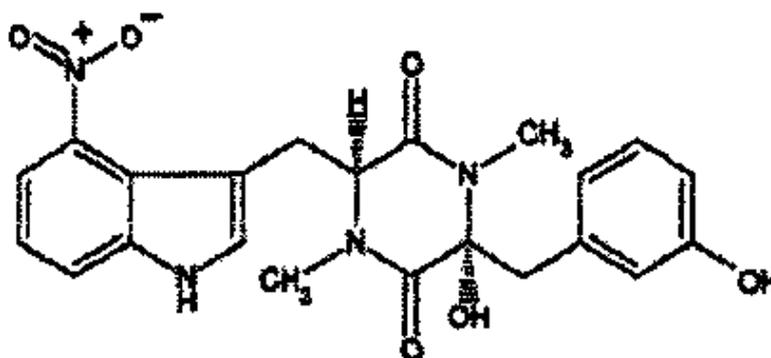
[0038] En formas de realización, R₁ es metilo, R₂ es hidroxilo, R₃ es metilo, R₄ es H, R₅ es hidroxilo y R₆ es hidroxilo.

[0039] En formas de realización, R₁ es metilo, R₂ es hidroxilo, R₃ es H, R₄ es H, R₅ es hidroxilo y R₆ es H.

[0040] En formas de realización, R₁ es H, R₂ es hidroxilo, R₃ es metilo, R₄ es H, R₅ es hidroxilo y R₆ es H.

[0041] En formas de realización, R₁ es H, R₂ es H, R₃ es H, R₄ es H, R₅ es H y R₆ es H.

[0042] En formas de realización, la taxtomina A purificada es un alguicida adecuado para su uso conforme a la presente divulgación. La taxtomina A es un compuesto amarillo compuesto por 2,5-dioxopiperazina conteniendo 4-nitroindol-3-ilo y es la taxtomina predominante producida por *Streptomyces scabies*, *Streptomyces acidiscabies* y *Streptomyces turgidiscabies*, con adición de *m*-anillo de fenilalanil y α -C hidroxilo. La composición química comprende, o consiste en:



5

[0043] El modo de acción de la taxtamina en las algas no se conoce. No obstante, sin querer estar limitado por la presente divulgación, se cree que las taxtominas, cuando entran en contacto con las algas, inhiben la biosíntesis de la celulosa.

10

[0044] En formas de realización, el sobrenadante no purificado de cultivos celulares tales como los cultivos celulares de *Streptomyces scabies*, *Streptomyces acidiscabies* y *Streptomyces turpidiscabie* que contienen una o más taxtominas es adecuado para el uso como alguicida conforme a la presente divulgación. Un técnico en la materia se daría cuenta fácilmente de que el sobrenadante se puede obtener fácilmente de cultivos celulares, tales como mediante centrifugado y recogida de la parte de líquido restante.

15

[0045] En formas de realización, una o más taxtominas se pueden aplicar a entornos contaminados con algas para controlar, minimizar y/o eliminar las algas indeseables. Como se utiliza en este caso, la palabra "tratar" o "tratamiento" se refieren al uso de las taxtominas de la presente divulgación para prevenir profilácticamente el brote de altas o proliferaciones de algas indeseables o para mejorar una contaminación de algas existente. Ahora son posibles varios tratamientos diferentes, que controlan, reducen y/o eliminan las algas.

20

[0046] Como se utiliza en este caso, "contaminación con algas" se refiere a cualquier manifestación de algas detectable provocada por una o más algas. Tales manifestaciones pueden estar provocadas por varios factores, tales como, por ejemplo, niveles de nutrientes de la columna de agua y/o otros estados ambientales disfuncionales o estresados. Ejemplos no limitativos de tales manifestaciones incluyen el desarrollo de crecimientos de algas, formación de escoria de algas, niveles bajos de oxígeno disuelto en un cuerpo de agua, estrés en poblaciones acuáticas y de peces y/o otras formas de calidad medioambiental reducida. Se entiende que las condiciones ambientales no son limitativas y que sólo se enumeran en este caso una parte de las condiciones ambientales adecuadas para el tratamiento conforme a la presente divulgación. Además, la contaminación con algas también puede referirse a las algas residuales que quedan sobre los aparatos y equipamiento para el crecimiento de algas, tales como los usados para hacer aceite de algas para la producción de energía alternativa. Ejemplos no limitativos de equipamiento y de diversos aparatos que se pueden limpiar conforme a la presente divulgación incluyen las unidades descritas en las patentes de EEUU nº: 5.088.231, 5.171.683, 4.978.505, 4.908.315. El equipamiento de granja y los biorreactores usados para cultivar algas para su uso comercial se pueden limpiar usando el alguicida conforme a la presente divulgación.

25

30

[0047] En formas de realización, las composiciones para su uso conforme a la presente divulgación contienen una o más taxtominas en una cantidad eficaz para mejorar las condiciones del agua. Como se utiliza en este caso, "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de taxtamina o compuesto(s) o composición(es) que contienen constituyentes de taxtamina según la presente divulgación en cantidad suficiente para inducir un beneficio positivo particular para las condiciones ambientales, tales como las condiciones del agua o las condiciones consideradas manchadas o contaminadas con algas. El beneficio positivo puede ser cosmético en sí, o estar relacionado con la salud o una combinación de los dos. En formas de realización, el beneficio positivo se consigue mediante la puesta en contacto de un entorno, área o aparato contaminado con una o más taxtominas y/o uno o más constituyentes de taxtamina para mejorar condiciones tales como la proliferación de algas o la contaminación con algas. Los tratamientos incluyen la puesta en contacto de los ambientes contaminados o los equipamiento sucios con una cantidad de taxtamina eficaz para que sea alguicida y/o algaestática.

35

40

[0048] La concentración de taxtamina particular que se aplica generalmente depende del propósito para el que se aplique la composición. Por ejemplo, la dosificación y la frecuencia de aplicación puede variar dependiendo del tipo y de la gravedad de la condición de las algas. En formas de realización, se aplica una o más taxtominas a un cuerpo de agua de manera que la concentración de taxtamina sea en una cantidad de 1 ppm a 5 ppm. En formas de realización, se aplica una o más taxtominas a un cuerpo de agua de manera que la concentración de taxtamina sea en una cantidad de 0,5 ppm a 100 ppm. En formas de realización, la taxtamina se mezcla con un portador (tal como agua) en una cantidad de 0,05 ppm a 500 ppm y se aplica a un área contaminada o equipamiento manchado de algas.

45

50

[0049] Los tratamientos conforme a la presente divulgación ponen en contacto áreas y/o equipamiento contaminados con algas con una o más taxtominas en una cantidad eficaz para mejorar las condiciones con respecto a las algas. En

5 formas de realización, las áreas que precisan tratamiento o control de algas tales como piscinas, estanques, arrozales, granjas de pescado, lagos, estuarios, océanos, acuarios de agua dulce, acuarios de agua salada, tanques para acuicultura comercial, estanques para acuicultura comercial, estanques ornamentales, jardines de agua, equipamiento o aparatos para la fabricación de combustible alternativo, fosos de escorrentía, revestimientos de casas y tablazones de cubierta se tratan mediante la aplicación sobre estas áreas de una o más composiciones de taxtomina. El ingrediente de taxtomina activo se aplica hasta que los objetivos del tratamiento se hayan alcanzado. No obstante, la duración del tratamiento puede variar dependiendo de la gravedad de la enfermedad. Por ejemplo, los tratamientos pueden durar desde unos días hasta semanas, dependiendo de si el objetivo del tratamiento es controlar, reducir y/o eliminar la contaminación de algas.

10 [0050] En formas de realización, las taxtominas se pueden combinar con un vehículo solvente para preparar una fórmula para el tratamiento de las algas en la que el ingrediente activo principal sea una o más taxtominas. En formas de realización, los ingredientes activos se proporcionan en suspensiones, formas secas y soluciones acuosas. La cantidad de taxtomina mezclada con el solvente variará dependiendo de diferentes factores, incluyendo, por ejemplo, la actividad de la taxtomina, el tipo de taxtomina seleccionada, la forma definitiva del producto y el solvente particular descrito empleado. Generalmente, el constituyente de taxtomina constituye de 1 a 95 por ciento en peso de la mezcla taxtomina/solvente. En formas de realización, la taxtomina constituye de 10,00 a 80 por ciento en peso de la mezcla taxtomina/solvente. Los solventes útiles para preparar las presentes composiciones de taxtomina incluyen cualquier solvente que sea capaz de solubilizar una o más taxtominas. Ejemplos no limitativos de tales solventes incluyen agua y/o soluciones acuosas.

15 [0051] En formas de realización, las taxtominas se pueden combinar con unos excipientes secos para preparar una fórmula para el tratamiento de las algas en la que el ingrediente activo principal sea una o más taxtominas. En formas de realización, los ingredientes activos se proporcionan en forma seca. El constituyente de taxtomina constituirá de 1 a 95 por ciento en peso de la fórmula seca de taxtomina. En formas de realización, la taxtomina constituye de 10,00 a 80 por ciento en peso de la fórmula seca de taxtomina.

20 [0052] Los siguientes ejemplos no limitativos ilustran más ampliamente las composiciones, métodos y tratamientos según la presente divulgación. Debe observarse que la divulgación no se limita a los detalles específicos concretados en los ejemplos.

Ejemplo 1

25 [0053] El sobrenadante de *Streptomyces acidiscabies* es eficaz para controlar o reducir las siguientes algas verdes: *Oedogonium foveolatum*, *Spirogyra spp.*, *Volvox aureus*, *Volvox globator*, *Closterium sp.*, *Chlamydomonas sp.* en una dilución tan baja como una de 100 veces.

30 [0054] Se cultivó *Streptomyces acidiscabies* en el medio líquido de caldo de harina de avena a temperatura ambiente durante 5 días. El cultivo celular se centrifugó y el sobrenadante se recogió, se filtró a través de un filtro de 0,45 µm y se guardó para un ensayo de bioactividad. El sobrenadante se evaluó contra a las algas anteriormente mencionadas en varias diluciones. Las algas se obtuvieron de *Carolina Biological Supply Company* y se cultivaron y mantuvieron según el manual suministrado. El medio de agua dulce Alga-Cro de *Carolina Biological Supply Company* se usó para cultivar algas. Se usó la dilución máxima para la inhibición (MDI) para medir la actividad del sobrenadante para las algas. El ensayo se desarrolló durante 3 semanas. El crecimiento de las algas se inhibió de forma visible mediante ese sobrenadante diluido. Se espera mayor inhibición utilizando soluciones más concentradas. Los resultados evaluados se resumen de la siguiente manera:

Tabla 1

50

ORGANISMO EVALUADO	Dilución máxima para la inhibición (MDI)
<i>Spirogyra sp.</i>	≥ 100 (dilución mayor de 100 veces)
<i>Oedogonium foveolatum</i>	≥100
<i>Closterium sp.</i>	≥50
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	≥10
<i>Volvox aureus</i>	≥10
<i>Navicula sp.</i>	≥0
<i>Oscillatoria sp.</i> (Alga filamentosa, verde azulada)	≥50

Ejemplo 2

[0055] El sobrenadante de *Streptomyces acidiscabies* resultó ser tóxico para las algas verde azuladas: las algas verde azuladas (*Oscillatoria sp*) se obtuvieron de *Carolina Biological Supply Company* y se cultivaron en un medio recomendado (medio de agua dulce Alga-Cro). El sobrenadante de *S. acidiscabies* se añadió al cultivo de algas en varias diluciones. El cultivo de algas tratadas se incubó a temperatura ambiente bajo luz ambiente normal. Tres semanas más tarde, se evaluó el crecimiento de las algas en cuanto a inhibición del crecimiento. Los resultados mostraron que la dilución máxima para la inhibición del crecimiento de estas algas azules es mayor de 50 veces.

Ejemplo 3

[0056] El sobrenadante de *Streptomyces acidiscabies* resultó ser tóxico para las algas rojas: *Batrachospermum sp.*, *Callithamnion sp.*, y *Rhodomenia sp.*, que se obtuvieron de *Carolina Biological Supply Company*. El cultivo y el mantenimiento de las algas fue según el manual suministrado. El protocolo usado para el ensayo biológico fue el mismo que el mencionado anteriormente. Los resultados de la siguiente tabla prueban que algunas algas rojas tales como *Batrachospermum spp.* y *Rhodomenia spp.* también fueron bastante sensibles al sobrenadante de taxtomina.

Tabla 2

Organismo evaluado	Dilución máxima para la inhibición (MDI)
<i>Batrachospermum spp.</i>	≥30
<i>Rhodomenia spp.</i>	≥10
<i>Callithamnion spp.</i>	≤10

Ejemplo 4

Streptomyces acidiscabies segregó taxtominas durante el cultivo bajo el medio de harina de salvado avena.

[0057] Para confirmar que las taxtominas están involucradas en la disposición de las algas, se obtuvo un mutante de producción de taxtomina negativo de la Universidad de Cornell y se usó como control negativo. Se cultivó la cepa de tipo salvaje y el mutante negativo en el medio líquido de salvado de avena a 25°C y sus sobrenadantes se usaron para el ensayo biológico contra algas de la Tabla 3. Los resultados muestran que las algas evaluadas fueron inhibidas inmensamente por el sobrenadante de la cepa de tipo salvaje en dilución de 10 a 100 veces. No obstante, el sobrenadante del mutante negativo de taxtomina no mostró ninguna inhibición visible para los organismos evaluados.

Tabla 3

Organismos evaluados	MDI de sobrenadante de tipo salvaje	MDI de sobrenadante mutante
<i>Oedogonium spp.</i>	≥100	0
<i>Spirogyra spp.</i>	≥100	0
<i>Oscillatoria spp.</i>	≥50	0
<i>Batrachospermum spp.</i>	≥30	0
<i>Rhodomenia spp.</i>	≥10	0

Ejemplo 5

[0058] Se usó taxtomina purificada para una prueba de ensayo biológico y se evaluó y comparó su eficacia con el sulfato de cobre, una sustancia activa para muchos alguicidas a base de cobre. El ensayo biológico se desarrolló durante dos semanas y se evaluó la inhibición del crecimiento de algas. Los resultados están en la tabla que aparece más adelante. Se concluyó que una cantidad tan baja como 1ppm de taxtomina purificada era eficaz para controlar y matar las algas evaluadas. No obstante, 2 ppm de sulfato cúprico (proporción comercial recomendada para sulfato cúprico) no era muy eficaz contra los organismos evaluados en nuestro sistema de ensayo.

Tabla 4: Bioactividad de taxtomina purificada contra CuSO4

Organismos evaluados	Taxtomina (1ppm)	CuSO4(2ppm)
<i>Oedogonium spp.</i>	±±	≈□
<i>Spirogyra spp.</i>	±±	±
<i>Oscillatoria spp.</i>	±	≈□
<i>Batrachospermum spp.</i>	±	≈□
<i>Rhodymenia spp.</i>	+	≈□
Nota; ++ = muerte visible; + = inhibición de crecimiento; ~ = inhibición de crecimiento no visible.		

Ejemplo 6

5

[0059] La taxtomina fue eficaz para controlar las algas en un ecosistema de mini estanque. Para demostrar la eficacia del uso de la taxtomina para controlar un problema de algas, se obtuvo un ecosistema de mini estanque de *Carolina Biological Supply Company* (13-1207). El sistema incluía una mezcla de algas (*Oedogonium*, *Volvox*, *Chlamydomonas*) y una mezcla de protozoo (*Amoeba*, *Paramecium*, *Euglena*, *Stentor*, *Volvox* y *Chilomonas*). Los ecosistemas de mini estanque se configuraron según el manual suministrado. Después, se aplicó una dilución de 20 veces de sobrenadante de taxtomina fermentado al sistema de estanque. Se aplicó una solución CuSO4 de 2 ppm y agua a sistemas idénticos como control positivo y control negativo respectivamente. Tres meses más tarde, se evaluó el crecimiento de algas. Los resultados se muestran en la tabla 5.

10

Tabla 5

15

Muestra	Resultados
Mezclas p/algas y protozoos en mini estanque tras 3 meses.	El estanque está marrón claro y tiene agua clara. No hay crecimiento de algas verdes visible en el sistema de estanque tratado con taxtomina.
Control positivo (solución de CUSO ₄) tras 3 meses.	Estanque verde oscuro con crecimiento razonable de algas verdes.
Control negativo (solución de agua) tras 3 meses.	Estanque verde brillante con gran cantidad de crecimiento de algas.

Ejemplo 7

20

[0060] Se demostró que la taxtomina posee una actividad altísima en baja concentración para el control del crecimiento de una amplia variedad de algas. La taxtomina se agregó a agua y algas en una probeta.

Tabla 6

	Constituyentes	Antes del tratamiento- Características del agua y mezcla de algas	Resultados (tras contacto con taxtomina)
Grupo de control	2 ml de agua y algas (mezcla)	Distintas algas verde brillante.	Sin cambios, distintas algas verde brillante suspendidas en la solución.
Tratamiento 1	Se añadió taxtomina a 2 ml de agua y mezcla de algas (concentración de taxtomina 0.5 ppm)	Distintas algas verde brillante.	Cambios significativos que incluyen la reducción visible de algas en la solución. La muerte de las algas dio como resultado la aparición de algas (muertas) amarillas y marrones. Se observó una reducción de algas de 10 veces. Aún había algunas algas verdes en la solución.
Tratamiento 2	10mMol (2,840 ppm) de Metolachlor aplicado a 2 ml de agua y mezcla de algas.	Distintas algas verde brillante.	Sin cambios, distintas algas verde brillante suspendidas en la solución.

5 [0061] Metolachlor (2-cloro-*N*-(6-etil-o-tolil)-*N*-[(1*RS*)-2-metoxi-1-metiletil]acetamida) es un conocido herbicida pre-emergente comúnmente usado para controlar las hierbas anuales y algunas latilofoliadas tales como la hierba mora negra oriental y el bledo. En concentraciones eficaces para el control de hierba terrestre (10mMol), Metolachlor no mostró ninguna actividad alguicida y/o algaestática. Al contrario, la taxtomina fue muy eficaz para el control de las algas verdes en una dosis de sólo 0,5 ppm, muy inferior a la concentración necesaria para controlar los herbajos terrestres (5-10ppm).

Ejemplo 8

10 [0062] La taxtomina mostró que posee una actividad altísima en concentraciones bajas para el control del crecimiento de varias algas. Además, se mostró un control selectivo de algas sin dañar las plantas acuáticas existentes.

15 [0063] El césped Mondo, la cebolla de agua y la cabomba se obtuvieron de una tienda de acuarios local y se plantaron en tres tanques de peces de 2,5L. Cada tanque se trató de la siguiente manera:

Tanque 1: se aplicó taxtomina en una concentración final de 20 ppm (45µMol).

20 Tanque 2: se aplicó glifosato (Roundup®) en una concentración de 169 ppm (1mM, la dosis normal usada para el control de hierba acuático).

Tanque 3: no se trató (tanque de control)

25 [0064] Los tanques 1, 2 y 3 se monitorizaron durante 3 semanas. Los resultados se muestran en la tabla 7 siguiente:

Tabla 7

	Descripción tras 3 semanas
Tanque 1	No se observó daño de plantas visible. Se controlaron las algas.
Tanque 2	La mayoría de las plantas murieron.
Tanque 3	No se observó daño de plantas visible.

30 [0065] Esta prueba demostró que la taxtomina muestra un control selectivo de las algas en una baja concentración que no tiene ningún efecto sobre las plantas acuáticas existentes.

Ejemplo 9

35 [0066] Un estanque de escurritia de residuos agrícolas tiene crecimiento de algas en todo el cuerpo de agua del estanque. Las algas son antiestéticas y poco atractivas. Una cantidad eficaz predeterminada de taxtomina A se añade al estanque para matar las algas. Se espera que las algas mueran y que el estanque quede más limpio.

Ejemplo 10

40 [0067] Un niño posee un acuario con peces tropicales. El acuario se contamina con algas que son visibles como una escoria en las paredes de vidrio del acuario. Se añaden una o más taxtominas al acuario para matar las algas. Se espera que las paredes se aclaren y que la contaminación de algas disminuya.

45 Ejemplo 11

[0068] Un acuario susceptible de presentar crecimiento de algas se trata profilácticamente añadiendo taxtominas al tanque. Se espera que la contaminación de algas se evite.

50 Ejemplo 12

[0069] La taxtomina y las composiciones de taxtomina según la presente divulgación se aplican al revestimiento y el tabazón de cubierta de una casa. Se espera que la contaminación de algas se evite durante 2-6 meses.

55 Ejemplo 13

[0070] Se aplican taxtomina y composiciones de taxtomina según la presente divulgación a aguas de granjas de peces. Se espera que la contaminación de algas se evite durante 2-6 meses.

Ejemplo 14

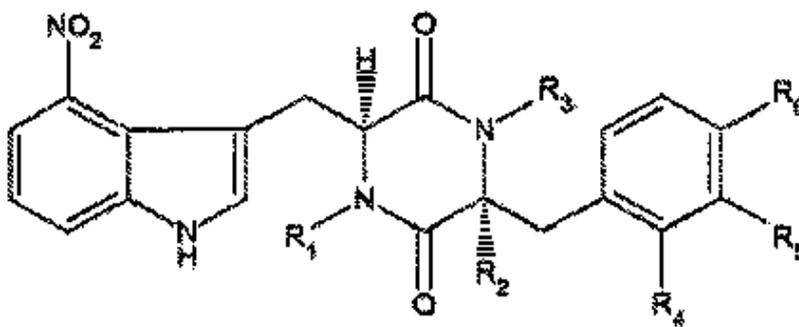
5 [0071] Se agrega taxtomina según la presente divulgación a una solución portadora de agua en una concentración de 100 ppm. La solución se pulveriza sobre biorreactores manchados con algas usados para crear algas para la producción de biocombustible. Se espera que los biorreactores se limpien y les desaparezcan las manchas.

Ejemplo 15

10 [0072] Se aplica taxtomina según la presente divulgación a un césped o campo de golf que está contaminado con crecimiento de algas. Se espera que el césped o campo de golf pierda la contaminación de algas, con poco o ningún daño para las hierbas existentes.

REIVINDICACIONES

1. Método para inhibir el crecimiento de algas que comprende la puesta en contacto de las algas con una cantidad eficaz de una o más taxtominas.
- 5 2. Método según la reivindicación 1, donde la o las taxtominas incluyen compuestos seleccionados del grupo que consiste en: taxtomina A, taxtomina B, taxtomina D y combinaciones de las mismas.
- 10 3. Método según la reivindicación 1, donde la o las taxtominas comprenden taxtomina A.
4. Método según la reivindicación 1, donde las algas están en un entorno líquido.
5. Método según la reivindicación 4 donde el entorno líquido es agua.
- 15 6. Método según la reivindicación 4 donde el entorno líquido es una piscina, un estanque, un arrozal, un lago, un arroyo, un río, un océano, un estuario, un acuario de agua dulce, un acuario de agua salada, un tanque para acuicultura comercial, un estanque para acuicultura comercial, un estanque ornamental, un jardín de agua y combinaciones de los mismos.
- 20 7. Método según la reivindicación 1, donde las algas están en tierra o en un entorno fangoso.
8. Método según la reivindicación 1, donde la cantidad eficaz es una cantidad donde la concentración aplicada es de 0,5 ppm a 100 ppm.
- 25 9. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la o las taxtominas tienen la siguiente composición:



- 30 donde R₁ es metilo o H, R₂ es hidroxilo o H, R₃ es metilo o H, R₄ es hidroxilo o H, R₅ es hidroxilo o H, R₆ es hidroxilo o H y combinaciones de los mismos.
10. Método según la reivindicación 9 donde R₁ es metilo, R₂ es hidroxilo, R₃ es metilo, R₄ es H, R₅ es hidroxilo y R₆ es H.
- 35 11. Método según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde la taxtomina se mezcla con un portador para formar una solución con taxtomina en una concentración de 0,05 ppm a 500 ppm.