

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 435 085**

51 Int. Cl.:

A01N 63/04 (2006.01)

A01P 3/00 (2006.01)

A01P 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2006 E 06848817 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.08.2013 EP 1965649**

54 Título: **Protección de plantas frente a sus agentes patógenos**

30 Prioridad:

21.12.2005 FR 0513050

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

18.12.2013

73 Titular/es:

**LESAFFRE ET COMPAGNIE (100.0%)
41, RUE ETIENNE MARCEL
75001 PARIS, FR**

72 Inventor/es:

PUJOS, PHILIPPE

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 435 085 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).

DESCRIPCION

Protección de plantas frente a sus agentes patógenos

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a métodos para proteger las plantas contra diversos agentes patógenos tales como hongos, virus y bacterias. La invención es utilizable por lo tanto, sola o en alternancia y/o en combinación con otros medios de protección de plantas, y está adaptada al tratamiento de múltiples variedades vegetales.

Entre los agentes patógenos, los hongos, responsables de las enfermedades fúngicas o criptogámicas, son los que tienen el mayor impacto económico. Cada especie vegetal es sensible a una o varias enfermedades principales, susceptibles de reducir fuertemente su vigor, su crecimiento y finalmente la cantidad y/o la calidad de la cosecha.

10 Diversos parámetros influyen en el desarrollo de las enfermedades como las condiciones del suelo y la fertilización, la sensibilidad varietal, el modo de conducta (rotación, trabajo del suelo, número de plantas o plantones por hectáreas, sistema de poda, etc), o sobre todo las condiciones climáticas. Pero actuar sobre algunos de estos parámetros no basta generalmente para limitar suficientemente los daños ocasionados por las enfermedades. También, para prevenir, el técnico que desee optimizar y asegurar su rendimiento, tratará su cultivo en el momento oportuno con un producto fitosanitario, a menudo preventivo. Más habitualmente los productos utilizados son productos químicos, la mayoría muy eficaces, pero pudiendo presentar riesgos sanitarios para las personas que los manipulan y generadores de residuos sobre las producciones tratadas, en los suelos y las aguas. Además, la utilización repetida de ciertas materias activas fungicidas que actúan sobre el mismo sitio metabólico, selecciona cepas resistentes a estos fungicidas.

20 Para tratar de remediarlo, es necesario limitar el número de utilizaciones anuales de productos químicos de la misma familia, alternar las familias químicas con modos de acción diferentes, y utilizar cualquier otro medio desfavorable al agente patógeno.

25 En este contexto, existe por lo tanto una necesidad real e importante de soluciones alternativas contra las enfermedades de las plantas. Idealmente, estas soluciones deben actuar de manera diferente de la de los fungicidas químicos existentes, no generar residuos químicos en las cosechas y en el medioambiente, y ser más seguros y sanos para los operadores. Tales tratamientos podrían utilizarse, solos o en alternancia y/o en combinación con los tratamientos químicos actuales o cualquier otro tratamiento, para impedir la aparición o limitar el desarrollo de estos patógenos, y sus cepas resistentes, sobre los vegetales, y limitar los riesgos para el hombre y el medioambiente.

Resumen de la invención

30 La presente invención proporciona nuevos métodos para el tratamiento o la protección de las plantas contra agentes patógenos. Más particularmente, la invención reside en poner de manifiesto que, de manera inesperada, las paredes o cortezas de levaduras poseen la capacidad de proteger eficazmente las plantas contra la infección por agentes patógenos. Este efecto se obtiene por simple contacto de las paredes o cortezas con la planta, por medio de una pulverización por ejemplo.

35 Los resultados obtenidos muestran que el tratamiento por medio de paredes o cortezas de levaduras confiere una protección no solamente a los órganos o partes de plantas tratadas (acción directa en el punto de contacto), sino igualmente a los órganos aparecidos posteriormente. Ya que las paredes o cortezas no pueden penetrar en la planta por estar vehiculizadas por la savia, no se trata de una sistemía. Por el contrario, tal resultado sugiere un efecto inductor de mecanismos de defensa naturales de la planta, y permite por lo tanto prever una larga duración de protección, igual o superior a un mes, y una acción polivalente de las composiciones y métodos de la invención.

Un objetivo de la invención reside por lo tanto en la utilización de paredes o cortezas de levadura(s) como materia activa, para el tratamiento o la protección de las plantas contra las enfermedades producidas o provocadas por agentes patógenos, principalmente fúngicos, bacterianos o virales.

45 Otro objetivo de la invención reside en la utilización de paredes o cortezas de levadura(s) para la inducción o la estimulación en una planta de defensas naturales contra agentes patógenos.

La invención se refiere igualmente a la utilización para el tratamiento o la protección de las plantas contra las enfermedades producidas o provocadas por los agentes patógenos, principalmente fúngicos, bacterianos o virales, que comprenden la aplicación sobre la planta o una de sus partes de paredes o cortezas de levadura(s).

50 La invención tiene además por objetivo la utilización para la inducción o la estimulación en una planta de defensas naturales (contra agentes patógenos), comprendiendo la aplicación sobre la planta o una de sus partes de paredes o cortezas de levadura(s).

Como será descrito más en detalle a continuación en el texto, la invención es aplicable a todo tipo de planta, y principalmente a las gramíneas y dicotiledóneas, a las plantas anuales, bisanuales y perennes, a las verduras, a los

cereales de los cuales el trigo, la cebada y el arroz, al maíz, sorgo, mijo, a las oleaginosas, a las proteaginosas, a las patatas, remolachas, caña de azúcar, tabaco, a las plantas leñosas, a los árboles, frutales o no, a las viñas. A los vegetales de decoración, etc. Además, el agente patógeno puede ser de naturaleza diversa, como un hongo, una bacteria, un virus, un micoplasma, un spiroplasma o un viroide.

- 5 Las paredes o cortezas de levadura(s) utilizadas en la invención pueden provenir de cualquier especie de levaduras, en particular de levaduras del género *Saccharomyces*, principalmente *S.cerevisiae*, y pueden obtenerse o prepararse según técnicas conocidas por el experto en la técnica, que serán descritas a continuación en el texto, principalmente por autólisis, separación, concentración, etc.

- 10 Se describe igualmente una composición (fitofarmacéutica) que comprende paredes o cortezas de levadura, pudiendo administrarse o aplicarse sobre una planta, o ponerla en contacto con ella, o algunos de sus órganos solamente, cualesquiera que sean, elegidos principalmente entre las hojas, flores, frutos, tallo, tronco o las raíces. Tal composición puede calificarse de preparación fitofarmacéutica.

- 15 Dicha composición puede estar en forma líquida, concentrada o no, polvo, mojable o no, granulados, dispersables u otros, o de cualquier otra manera adaptada a poner en contacto paredes o cortezas de levaduras con el o los órganos de la planta a los que apunta el tratamiento, por ejemplo, pulverización después de dilución, suspensión u otro, en agua o en otro vehículo, sobre las partes aéreas del vegetal, aporte al suelo o por solución nutritiva, a nivel de las raíces de la planta, etc.

En modos de realización preferidos, las composiciones de la invención pueden comprender además agentes de formulación, dispersantes, estabilizantes, tensioactivos, etc.

- 20 Se describe igualmente una composición (fitofarmacéutica) que comprende paredes o cortezas de levadura en combinación con un agente fungicida, antiviral o antibacteriano, con vista a una aplicación simultánea, separada o espaciada en el tiempo.

- 25 Además otro objetivo de la invención reside en la utilización para luchar contra las enfermedades provocadas por agentes patógenos en vegetales, que comprende la aplicación sobre una planta de cortezas o paredes de levadura(s), eventualmente en alternancia o en combinación con otro tratamiento activo contra dicho agente patógeno.

- 30 Otro objetivo de la invención reside en la utilización para prevenir o frenar el desarrollo de patógenos resistentes a una familia de sustancias activas, caracterizado por que la planta es tratada con cortezas o paredes de levadura(s), con vista a reducir la presión selección de las cepas resistentes a dicha familia de sustancias activas, o por que el(los) tratamiento(s) de la planta con una sustancia de dicha familia de sustancias activas se alterna(n) o combina(n) con un tratamiento(s) de dicha planta con cortezas o paredes de levadura(s), o una composición que comprende cortezas o paredes de levadura(s).

- 35 Se describe además la utilización de una composición que comprende cortezas o paredes de levadura(s), para aumentar la eficacia del conjunto de la protección fitosanitaria, por disminución del nivel de infección y/o la reducción de la emisión de inóculo.

Se describe también la utilización de una composición que comprende cortezas o paredes de levadura(s), para obtener una protección fitosanitaria parcial o completa, de larga duración, por ejemplo de un mes y medio al menos.

- 40 La invención describe un procedimiento para limitar la cantidad de residuos de productos agroquímicos en o sobre los productos consumibles, en los suelos y las aguas durante el tratamiento de cultivos o de una planta, comprendiendo el procedimiento un tratamiento(s) de dicho cultivo o planta por cortezas o paredes de levadura(s), o una composición que comprende cortezas o paredes de levadura(s).

La invención describe la utilización de cortezas o paredes de levadura(s), o una composición que comprende cortezas o paredes de levadura(s), para la prevención o el tratamiento de enfermedades en agricultura biológica o ecológica.

45 **Descripción detallada de la invención**

Como se ha indicado anteriormente, la invención se refiere a la utilización de productos para luchar, a título preventivo o curativo, contra los agentes patógenos de los vegetales. La invención reposa principalmente en poner de manifiesto las propiedades ventajosas e inesperadas de paredes y cortezas de levadura, y propone su utilización en la lucha contra las enfermedades provocadas por agentes patógenos en las plantas.

- 50 La presente invención deriva, principalmente, del descubrimiento de que las cortezas y/o las paredes de levaduras son capaces de proteger los órganos o partes de la planta tratados directamente por las composiciones de la invención (es decir que ejercen una acción directa en el sitio de contacto), y también los órganos o partes de planta que aparecen después del tratamiento. Ya que las paredes o cortezas no pueden penetrar en la planta, por ser vehiculizados por la savia, no se trata de una sistemía. Por el contrario, esta propagación de la protección a la planta

- 5 entera y a los órganos formados nuevamente sugiere un mecanismo de inducción o de estimulación de defensas naturales, como los ya conocidos con el ácido b-aminobutírico, ácido 2,6-dicloroisonicotínico, acibenzolar-s-metilo, o ciertos extractos de algas (patentes o solicitudes de patente nº FR2 868 253; WO 03/092384; WO 97/14310 y WO 99/53761) o también con los oligo $\beta(1-3)$ glucanos (WO 99/03346) o la quitina o el quitosano (Ozereskovskaya O.L. et al. (Russian Journal of Plant Physiology, 43(5), 1996, 648-655) y permite prever una larga duración de protección, igual o superior a un mes, y una acción polivalente de las composiciones de la invención.
- Además, las paredes o cortezas de levadura según la invención que no tienen a priori efecto directo sobre los agentes patógenos, son menos susceptibles de provocar fenómenos de resistencia.
- 10 Los resultados presentados en la invención son particularmente sorprendentes ya que muestran que no es necesario emplear moléculas purificadas, sino que las paredes o cortezas de levadura enteras son activas sin que sus componentes hayan sido previamente aislados o separados. Además, no es necesario proceder a modificaciones químicas posteriores de las cortezas o paredes de levadura.
- La invención se refiere por lo tanto a la utilización de paredes o cortezas de levadura(s) como materia activa, para la protección de las plantas contra las enfermedades provocadas por agentes patógenos.
- 15 La invención se refiere igualmente a utilización de paredes o cortezas de levadura(s) como materia activa, para la inducción o la estimulación en una planta de las defensas naturales contra los agentes patógenos.
- La invención se refiere igualmente a la utilización para la inducción o estimulación en una planta de defensas naturales contra los agentes patógenos, que comprende la aplicación sobre la planta o una de sus partes de paredes o cortezas de levadura(s).
- 20 Las paredes y cortezas de levadura utilizadas en la presente invención pueden producirse a partir de diferentes tipos de levaduras, eventualmente en mezcla(s). La levadura es preferiblemente una levadura de panadería. Una levadura de panadería es una levadura que pertenece al género *Saccharomyces*, esencialmente producida por multiplicación o cultivo aerobio como se muestra en el capítulo 6 "Backer's yeast production" de la obra de referencia "Yeast technology". La levadura puede ser igualmente una levadura de cervecería, una levadura enológica o una levadura de destilería. Otros tipos de levadura son utilizables dentro del marco de la presente invención como por ejemplo las levaduras del género *Kluyveromyces* spp, *Pichia* spp, *Metschnikowia* spp o *Candida* spp.
- 25 Una levadura es una célula, esquemáticamente compuesta por un envoltorio y un contenido. El envoltorio se denomina "corteza" o "pared".
- 30 Los productos industriales denominados "paredes" o "cortezas" de levaduras pueden producirse de diferentes maneras, a partir de diferentes tipos de levadura(s), eventualmente en mezcla(s), siguiendo protocolos que son conocidos por el experto en la técnica.
- 35 En un modo de realización particular, las cortezas o paredes de levadura(s) son susceptibles de ser producidas por lisis (autólisis o heterólisis) de células de levaduras, por ejemplo de *Saccharomyces cerevisiae*, seguido de una separación de las partes solubles e insolubles, por ejemplo por medios físicos, como la centrifugación, y recuperación de la parte insoluble. La parte insoluble se recupera así típicamente por eliminación de la parte soluble por centrifugación. La parte insoluble se denomina "cortezas de levaduras" o "paredes de levaduras". La parte soluble resultante de este procedimiento, de color claro y de baja turbidez, se denomina "extracto de levadura".
- 40 La autólisis de levaduras es una hidrólisis del contenido celular de la levadura, por sus propias enzimas. Se obtiene típicamente poniendo una suspensión de levadura(s) en ciertas condiciones físicas de medio y/o en contacto con activadores que provocan la muerte de las levaduras y la liberación de sus enzimas en el cuerpo celular. La hidrólisis del contenido celular produce compuestos solubles. Separada y recuperada esta fracción soluble constituye el "extracto de levadura". La fracción insoluble recuperada derivada de dicha separación constituye el producto denominado "cortezas de levaduras" o "paredes de levadura". Este producto comprende el citoesqueleto de las levaduras, y las membranas y componentes no solubilizados por la autólisis o heterólisis. La fracción insoluble se recupera generalmente en forma de una suspensión acuosa de cortezas de levaduras, cuya concentración en materia seca es típicamente de 10 a 15% (peso/volumen). Las cortezas corresponden aproximadamente a 25 a 45% del peso seco de las células enteras de levaduras, de media aproximadamente 35%.
- 45 Se pueden utilizar cortezas o paredes que hayan sido sometidas a tratamientos químicos suplementarios, de extracción o de funcionalización por ejemplo, como una delipidación. En un modo de realización preferido de la invención, se utilizan cortezas o paredes de levaduras no modificadas, es decir principalmente no sometidas a tales tratamientos.
- 50 Para la realización de la presente invención, se pueden utilizar las paredes o cortezas de levadura(s) o toda composición que comprenda paredes o cortezas de levadura(s) que procedan de un mismo tipo de levadura o de varios tipos o especies diferentes.

Tales productos están disponibles igualmente en el comercio, como principalmente Springcell 8001 0 PW de Biospringer SA (F-94 Maison-Alfort) o Pronady de Prodesa (Bra.Valinhos).

5 Para la realización de la invención, se puede utilizar como materia prima toda preparación que comprenda paredes o cortezas de levaduras, más o menos deshidratadas. En un modo de realización preferido, se utiliza una suspensión acuosa de cortezas o paredes de levaduras, preferiblemente concentrada a menos de 20% de materia seca, preferiblemente a menos de 17% o incluso 14% de materia seca. En otro modo de realización preferido, se utilizan preparaciones derivadas del secado de la suspensión líquida, por ejemplo por atomización, y que contiene preferiblemente más de 80% de materia seca, preferiblemente más de 85, 90, 93 ó 95%.

10 En un modo particular de realización de la invención, se preparan composiciones (o preparaciones) fitosanitarias (o fitofarmacéuticas) más o menos concentradas, destinadas a ser mezcladas para su aplicación con un vehículo líquido o sólido, y que comprende, como materia activa, cortezas y/o paredes de levadura(s) tal como se ha definido anteriormente. La agricultura profesional utiliza a menudo preparaciones fitosanitarias concentradas que se diluyen en agua para pulverización, o mezcladas con un fertilizante o abono para aporte del suelo. En un modo particular, la composición de la invención es por lo tanto una composición fitosanitaria concentrada, de formulación seca o líquida.

15 Según otro modo de realización particular de la invención, se preparan composiciones listas para el uso, que pueden estar en forma líquida o sólida. En una preparación lista para el uso, la materia activa (que comprende las cortezas o paredes de levadura(s)) ya está mezclada con un vehículo adaptado a una utilización en las plantas, como por ejemplo un líquido para rellenar un pulverizador de tipo espray, un fertilizante, un sustrato de cultivo bajo invernadero, etc.

20 Tales preparaciones o composiciones pueden comprender, además de la materia activa, cualquier agente de formulación adaptado.

Así, se puede utilizar según la invención toda composición, principalmente de tipo fitofarmacéutico o fitosanitario, que comprenda paredes o cortezas de levadura.

25 Según una primera variante de realización, la composición es una composición en forma seca, por ejemplo polvo o granulado.

Según otra variante de realización, la composición es una composición en forma líquida, preferiblemente en forma líquida acuosa. Puede tratarse principalmente de una suspensión, un gel, una crema, una pasta, etc.

30 En un modo de realización preferido, las composiciones comprenden además uno o varios agentes de formulación. De una manera general, las composiciones según la invención comprenden de 0,1% a 99,9% (en peso) aproximadamente de materia activa y uno o varios agentes de formulación, sólidos o líquidos.

35 El o los agentes de formulación pueden estar constituido(s) por cualquier compuesto o cualquier materia inerte que permita hacer posible, facilitar, u optimizar el transporte, el almacenamiento, la manipulación, y/o la aplicación de la materia activa sobre la planta o partes de ella. Tales agentes están adaptados al objetivo buscado: conservación de los agentes activos, mantenimiento en suspensión de las paredes o cortezas u otras sustancias activas durante el almacenamiento o durante la utilización en la preparación de la papilla de tratamiento, antiespumante, antipolvo, adhesión al vegetal, y otros. Este o estos agentes pueden ser sólido(s), líquido(s), solos o mezclados.

El o los agentes de formulación, y principalmente aquellos adaptados a la pulverización, pueden elegirse principalmente entre todos los agentes tensioactivos, dispersantes, conservantes, humectantes, emulsionantes, agentes de adhesión, tampón pH, etc., solos o mezclados.

40 En un modo de realización particular, la composición comprende además otro agente activo, preferiblemente un agente fungicida, antibacteriano o antiviral. El agente fungicida puede elegirse por ejemplo entre los fungicidas agroquímicos orgánicos, o los fungicidas minerales inorgánicos a base de azufre y/o de cobre por ejemplo.

45 Ejemplos de fungicidas agroquímicos orgánicos actualmente disponibles son principalmente los cloronitrilos entre los cuales el clorotalonilo, carbamatos entre los cuales ditiocarbamatos como el mancozeb, ftalimidas entre las cuales el captano, sulfamidas, guanidinas, quinonas, quinoleínas, tiadiazinas, anilidas, hidroxianilidas, y fenilamidas, imidazolinonas, oxazolinedionas, estrobilurinas, cianoimidazoles, fluazinam, diconap, sitiofam, dicarboximidas, fludioxonil, organofosforados, propamocarb HCl, difenilamina, piridilaminas, inhibidores de la biosíntesis de esteroides (IBS), entre los cuales imidazoles, pirimidinas, hidroxipirimidinas, anilinoimidazoles, triazoles, espiroxamina, morfolinas y piperidinas, fenhexamida, himexazol, zoxamida, dietofencarb, bencimidazoles, pencicuron, quinoxifeno, iprovalicarb, cimoxanilo, dimetomorfo, fosfonatos, triazinas, etc.

50 La invención puede utilizarse en alternancia, asociación o combinación con uno o varios compuestos elicitadores de defensas en las plantas, como por ejemplo el ácido b-aminobutírico, ácido 2,6-dicloroisonicotínico, acibenzolar-s-metilo, o ciertos extractos de algas (patentes o solicitudes de patente nº FR2 868 253; WO 03/092384; WO 97/14310 y WO 99/53761). Ejemplos de tales compuestos son principalmente la laminarina y los ulvanos.

Los productos o composiciones utilizados según la invención pueden aplicarse de diferentes maneras y según diferentes protocolos o programas de tratamientos.

En un modo preferido de realización, los productos o composiciones se aplican por pulverización, principalmente pulverización foliar o en el suelo.

- 5 En una variante, es posible aplicar los productos o composiciones en forma de mezcla con fertilizantes, soporte de cultivo, en el agua de riego, u otros. La composición puede administrarse así en las raíces por pulverización en el suelo, incorporación mecánica, mezclado con fertilizantes, abonos, en premezcla, u otros.

10 Así la invención describe toda composición, principalmente de tipo fitofarmacéutico (o fitosanitario) o lista para su uso, que comprende paredes o cortezas de levadura como materia activa. Tales composiciones comprenden ventajosamente uno o excipientes adaptados a una aplicación sobre vegetales, como por ejemplo en forma de pulverización, de espray, o de polvo, principalmente para utilización doméstica o de jardinería. Tales composiciones pueden comprender además uno o varios agentes activos suplementarios, tales como por ejemplo un agente fungicida, antiviral, o uno o fertilizantes, con vista a su aplicación simultánea, separada o secuencial sobre vegetales. Otras composiciones listas para su uso por ejemplo mezcladas con un fertilizante para aporte al suelo, o un soporte de cultivo son utilizables.

15 Los productos o composiciones utilizados según la invención pueden aplicarse sobre toda la planta o sobre una o partes solamente de ella, tal como por ejemplo las hojas, los tallos, las flores, los frutos, el tronco y/o las raíces. Se pueden utilizar igualmente sobre el material de propagación de los vegetales, como por ejemplo las semillas, los granos o las plantas, en briquetas o no. Teniendo en cuenta su modo de acción propuesto, los productos de la invención deben permitir proteger eficazmente los vegetales contra los agentes patógenos durante un periodo de tiempo importante, pudiendo sobrepasar un mes. Por supuesto, una aplicación repetida puede verse, a intervalos a definir por el usuario.

20 La cantidad aplicada se define por el experto en la técnica, en función principalmente el agente patógeno a tratar, del tipo de vegetal, combinaciones utilizadas, etc. La cantidad aplicada es preferiblemente suficiente para proteger la planta contra un agente patógeno, o para limitar o suprimir el desarrollo y los efectos del agente patógeno presente. Esta cantidad puede determinarse por ejemplo con ensayos sobre el terreno.

25 Según la invención, la composición se aplica o se utiliza a una dosis de uso eficaz superior a 1 mg/l de cortezas o paredes de levadura cuando el producto se aplica por pulverización hasta el límite de escurrimiento, o superior a 1 g/ha en el caso de pulverización con bajo volumen de agua. Preferiblemente, la dosis eficaz está comprendida entre 1 y 1000 mg/l de cortezas o paredes de levadura cuando el producto se aplica por pulverización hasta el límite de escurrimiento, o también entre 1 y 1000 g/ha en otros casos.

30 En un modo de realización particular, la composición se aplica o se utiliza a una dosis de uso eficaz comprendido entre 1 y 250 mg/l de cortezas o paredes de levadura, preferiblemente entre 2,5 mg y 25 mg/l, cuando el producto se aplica por pulverización hasta el límite de escurrimiento, o también entre 1 y 250 g/ha, preferiblemente entre 2,5 y 25 g/ha en otros casos, como por ejemplo en el caso de pulverización con bajo volumen de agua. Independientemente de la dosis empleada, la composición puede producirse, transportarse y/o venderse en diversas concentraciones. Así, cuando la preparación está en forma seca, puede contener por ejemplo 96% en peso de paredes o cortezas de levaduras. Una preparación líquida puede estar en forma de suspensión que comprenda por ejemplo 13% de paredes o cortezas de levaduras en materia seca. La preparación puede estar igualmente lista para uso, es decir por ejemplo comprender paredes o cortezas de levaduras a una concentración de 25 mg/l aproximadamente. Se entiende que la concentración en materia activa en las preparaciones de la invención o durante su aplicación puede adaptarse por el experto en la técnica, y que las dosis superiores a las mencionadas anteriormente pueden utilizarse.

35 Además, como se ha indicado anteriormente, los productos y composiciones de la invención pueden utilizarse en alternancia y/o en combinación con uno o varios otros tratamientos.

40 Un objetivo particular de la invención reside en una utilización para luchar contra las enfermedades provocadas por hongos en los vegetales, que comprende la aplicación sobre una planta de cortezas o paredes de levadura(s), en alternancia o en combinación con un tratamiento antifúngico.

45 Otro objetivo de la invención reside en una utilización para luchar contra las enfermedades provocadas por bacterias en los vegetales, que comprende la aplicación sobre una planta de cortezas o paredes de levadura(s), en alternancia o en combinación con un tratamiento antibacteriano.

50 Otro objetivo de la invención reside en una utilización para prevenir o frenar el desarrollo de cepas de hongos resistentes a una familia de agentes fungicidas, caracterizado por que la planta es tratada con cortezas o paredes de levadura(s), o una composición que comprende cortezas o paredes de levadura(s), con vista a reducir la presión de selección de las cepas resistentes a dicha familia de agentes fungicidas, o por que el(los) tratamiento(s) de la planta con una sustancia de dicha familia de agentes fungicidas es (son) alternado(s) o combinado(s) con un tratamiento(s)

de dicha planta con cortezas o paredes de levadura(s), o una composición que comprende cortezas o paredes de levadura(s).

5 Otro objetivo de la invención reside en una utilización para prevenir o frenar el desarrollo de cepas de bacterias resistentes a una familia de agentes antibacterianos, caracterizado por que la planta es tratada con cortezas o paredes de levadura(s), o una composición que comprende cortezas o paredes de levadura(s), con vista a reducir la presión de selección de las cepas resistentes a dicha familia de agentes antibacterianos, o por que el(los) tratamiento(s) de la planta con dicho familia e agente antibacteriano es (son) alternado(s) o combinado(s) con un tratamiento(s) de dicha planta con cortezas o paredes de levadura(s), o una composición que comprende cortezas o paredes de levadura(s).

10 La invención es aplicable al tratamiento de todo tipo de planta, en el campo, huerto, bosque, invernadero o plantas de interior o de jardín. La invención es aplicable así principalmente a las gramíneas y dicotiledóneas, a plantas anuales, bisanuales y perennes, a plantas leguminosas, a cereales como el trigo, la cebada y el arroz, al maíz, sorgo, mijo, a las oleaginosas, a las proteaginosas, a las patatas, remolachas, caña de azúcar, tabaco, a las plantas leñosas, a los árboles, frutales o no, a las viñas, a los vegetales de decoración, etc.

15 En un primer modo de realización particular, la planta es un árbol frutal, por ejemplo un árbol frutal a pepitas en particular elegido entre los manzanos, perales y cítricos.

En otro modo de realización particular, la planta se elige entre la viña, cereales principalmente trigo, colza, remolacha, patata, judía, tomate, pepino, lechuga o también fresa.

20 Se entiende que la invención no estará limitada a un tipo particular de planta, sino que puede utilizarse sobre todos los vegetales.

La invención puede aplicarse a la lucha contra todo tipo de agentes patógenos, y principalmente hongos, virus, bacterias, micoplasmas, spiroplasmas o viroides. A título de ejemplos particulares de agentes patógenos, se pueden citar principalmente los hongos de los géneros *Alternaria* spp por ejemplo *A. solani*, *Ascochyta* spp por ejemplo *A. fabae* o *A. pinodella*, *Botrytis* spp por ejemplo *B. cinerea*, *Bremia* spp por ejemplo *B. lactucae*, *Cercospora* spp por ejemplo *C. beticola*, *Cladosporium* spp por ejemplo *C. allii-cepae*, *Colletotrichum* spp por ejemplo *C. graminicola*, *Erysiphe* spp por ejemplo *E. graminis*, *Fusarium* spp por ejemplo *F. oxysporum* y *F. roseum*, *Glocosporium* spp por ejemplo *G. fructigenum*, *Guignardia* spp por ejemplo *G. bidwellii*, *Helminthosporium* spp por ejemplo *H. tritici-repentis*, *Marssonina* spp por ejemplo *M. rosae*, *Monilia* spp por ejemplo *M. fructigena*, *Mycosphaerella* spp por ejemplo *M. brassicicola*, *Penicillium* spp por ejemplo *P. expansum* o *P. digitatum*, *Peronospora* spp por ejemplo *P. parasitica*, *Pezicula* spp *Phragmidium* spp por ejemplo *P. rubi-idaei* *Phytophthora* spp de las cuales *P. infestans*, *Plasmopara* spp de las cuales *P. viticola*, *Podosphaera* spp por ejemplo *P. leucotricha*, *Pseudocercospora* spp de las cuales *P. brassicae*, *Pseudoperonospora* spp por ejemplo *P. cubensis*, *Pseudopeziza* spp por ejemplo *P. medicaginis*, *Puccinia* spp *P. graminis*, *Pythium* spp, *Ramularia* spp de los cuales *R. betae*, *Rhizoctonia* spp por ejemplo *R. solani*, *Rhizopus* spp por ejemplo *R. nigricans*, *Rynchosporium* spp como *R. secalis*, *Sclerotinia* spp como *S. sclerotiorum*, *Septoria* spp por ejemplo *S. nodorum* o *S. tritici*, *Sphaerotheca* spp como *S. macularis*, *Taphrina* spp por ejemplo *T. pruni*, *Uncinula* spp por ejemplo *U. necator*, *Ustilago* spp por ejemplo *U. tritici* y *Venturia* spp por ejemplo *V. inaequalis*.

Un agente patógeno particular es *Venturia inaequalis*, que es responsable de la sarna de los manzanos.

40 Ejemplos de bacterias que afectan los cultivos incluyen principalmente los géneros *Corynebacterium*, *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Erwinia* spp y particularmente *E. amylovora*, *E. carotovora*, *E. chrysanthemi*. Ejemplos de virus que afectan a los cultivos son por ejemplo los virus del mosaico del tabaco, o el virus Y de la patata.

45 Un objetivo particular de la presente solicitud se refiere a la utilización de paredes o cortezas de levadura(s) como materia activa, para el tratamiento de la sarna, principalmente en los árboles frutales, principalmente la sarna del manzano. Otro objetivo de la invención se refiere a un procedimiento para el tratamiento de la sarna, principalmente en árboles frutales, principalmente del manzano, que comprende la aplicación sobre la planta de paredes o cortezas de levadura(s), o de una composición que comprenda paredes o cortezas de levadura(s).

50 La invención se refiere a la inducción o la estimulación de las defensas naturales de una planta contra la sarna, principalmente en los árboles frutales, que comprende la aplicación sobre dicha plante o una de sus partes de paredes o cortezas de levadura(s), o de una composición que comprenda paredes o cortezas de levadura(s).

55 La invención se refiere a la prevención o el frenado del desarrollo de cepas de *Venturia* resistentes a un agente fungicida, caracterizado por que el (los) tratamiento(s) de la planta con dicho agente fungicida es (son) alternado(s) o combinado(s) con un tratamiento(s) de dicha planta con cortezas o paredes de levadura(s), o una composición que comprenda cortezas o paredes de levadura(s). En un modo específico, el procedimiento se utiliza para frenar el desarrollo de cepas resistentes de *Venturia inaequalis* y/o *Venturia pirina*.

Se describe la utilización de cortezas o paredes de levadura(s), o de una composición que comprenda cortezas o paredes de levadura(s), para la prevención o el tratamiento de la sarna en la agricultura biológica o ecológica.

5 La presente solicitud describe la utilización de paredes o cortezas de levadura(s), o una composición que comprenda paredes o cortezas de levadura(s), para el tratamiento de la cercosporiosis, principalmente en la remolacha. Otro objetivo de la invención se refiere a un procedimiento para el tratamiento de la cercosporiosis, principalmente en la remolacha, que comprende la aplicación sobre la planta de paredes o cortezas de levadura(s), o de una composición que comprenda cortezas o paredes de levadura.

10 La invención describe un procedimiento para inducir o estimular las defensas naturales de una planta con la cercosporiosis, principalmente en la remolacha, que comprende la aplicación sobre dicha planta o una de sus partes de paredes o cortezas de levadura(s), o de una composición que comprenda cortezas o paredes de levadura(s).

Otro objetivo de la invención reside en la utilización de cortezas o paredes de levadura(s) como materia activa, para la prevención o el tratamiento de la cercosporiosis en la agricultura biológica o ecológica.

Otros aspectos y ventajas de la presente invención aparecerán con la lectura de los ejemplos que siguen, que deben considerarse como ilustrativos y no limitativos.

15 Ejemplos

Ejemplo 1: ensayo de eficacia contra la sarna del manzano de composiciones que comprenden cortezas de levaduras.

La sarna constituye la enfermedad principal de los árboles frutales con pepitas. Sobre el manzano, el agente responsable es *Venturia inaequalis*.

20 En ausencia de tratamiento, la sarna ocasionaría pérdidas en los rendimientos y la calidad de las cosechas pudiendo alcanzar hasta el 70% del valor de la cosecha, lo que conduce al arboricultor a proteger su huerto al precio de 10 a 15 tratamientos fitosanitarios a lo largo de la temporada. Las consecuencias económicas y medioambientales son muy duras.

25 Las cantidades de materias activas así aportadas representan por ellas mismas más de la mitad de los aportes de materias activas agroquímicas globalmente aplicadas sobre los manzanos, uno de los cultivos más consumidores de productos fitosanitarios. Tales aportes generan importantes cantidades de residuos en los suelos, las aguas, y sobre los mismos frutos.

Los tratamientos actuales disponibles contra la v pueden reagruparse en cuatro familias de productos:

30 Los productos de contacto, no penetrantes, y por lo tanto sensibles al lavado por la lluvia, no móviles y por lo tanto dejando sin protección los órganos aparecidos después del tratamiento, lo que implica volver a tratar en cuanto hayan brotado nuevos órganos (hojas, frutos) o engordado.

Las anilinoimidinas, parcialmente penetrantes, pero que no protegen tampoco los órganos aparecidos después del tratamiento, y seleccionan cepas resistentes de *Venturia*.

Las estrobilurinas, ligeramente móvil en la planta, y desarrollan cepas resistentes.

35 Los inhibidores de la síntesis de esteroides (IBS) son sistémicos: se difunden por la savia. Protegen así los órganos que se desarrollan después del tratamiento. Estos productos también están sujetos al desarrollo de resistencias.

Limitar las resistencias impone limitar a 2 o 3 la repetición de tratamientos a base de productos agroquímicos de la misma familia, y alternar las familias.

40 En este contexto, la disposición de una nueva composición que actúa diferentemente, produciendo un efecto duradero, y no aportando residuos químicos, sería una ventaja real para el arboricultor, el consumidor y el medioambiente.

Este primer ejemplo demuestra la eficacia de cortezas y paredes de levaduras para la protección de manzanos contra la sarna.

Material y métodos

45 En ensayo se lleva a cabo bajo invernadero en condiciones controladas, sobre jóvenes manzanos provenientes de semillero.

Se pone a germinar una población de pepitas provenientes de una polinización abierta a 4°C en placas Petri rellenas de arena y humedecidas hasta saturación durante 90 a 120 días.

La humectación de la arena se realiza cada 15 días.

5 Desde la germinación de las primeras pepitas, se efectúa una siembra de todas las pepitas en terrinas de plástico de 40 x 30 x 15 cm, a razón de sesenta pepitas por terrina, de las cuales solamente serán retenidas 50 para el ensayo. Las pepitas se depositan en pastillas de turba rehidratada sobre un lecho de mantillo (CombiTree B MG de la marca DCM) que contiene una mezcla de fertilizantes (NPK 7-7-10 a 2 kg/m³ y NPK 15-8-12 de difusión lenta, a 2 kg/m³).

Las terrinas se recubren de mantillo, se humedecen y se ponen a una temperatura próxima a 10°C durante una semana antes de ponerlas en invernadero a 18°C. Llegado el caso, se asegura una protección insecticida durante el ensayo.

10 Las plántulas se tratan a partir del estadio 3-4 hojas desplegadas, a razón de dos tratamientos sucesivos, separados por una semana. El patógeno (*Venturia inaequalis*) es inoculado tres días después del segundo tratamiento. Las anotaciones se efectúan 14 días y 21 días después de la inoculación.

El dispositivo estadístico es de 3 repeticiones, correspondiendo cada una a una terrina de 50 plántulas.

El ensayo compara 3 dosis de una suspensión acuosa (agua desmineralizada) OY de cortezas de levaduras que aportan respectivamente 2,5 mg/l, 25 mg/l y 250 mg/l de cortezas) a un testigo tratado con agua desmineralizada.

15 Las cortezas utilizadas aquí corresponden al producto Springcell 8001 de Biospringer SAS, (Maisons-Alfort, Francia), compuesto de cortezas a 96% de materia seca.

Tabla 1

Objetos	Productos	Concentraciones (mg/l)
OY1	Cortezas	250
OY2	Cortezas	25
OY3	Cortezas	2,5
Testigo no tratado	Agua	-

20 El tratamiento se hace por pulverización después de agitación, con un pulverizador manual de 500 ml (marca BIRCHMEIER). Se interrumpe la pulverización en el límite del escurrimiento. La última hoja desplegada en el día precedente al tratamiento se denomina "F1", y se localiza por un lazo fijado en el peciolo.

25 La hoja formada nuevamente o desplegada después del tratamiento, y que no ha recibido la composición de tratamiento, se denomina "F0". Cuando esta hoja se forma pero no se despliega durante el tratamiento, se enmascara durante la pulverización. Al ocurrir la inoculación 3 días después del tratamiento, F0 está al menos parcialmente desplegada durante esta operación.

El inóculo de *Venturia inaequalis* se prepara como sigue.

30 Se han recogido hojas sarnosas durante el verano en diferentes huertos. Después de secado durante 20 días, las hojas se ponen en bolsitas de plástico y se conservan en el congelador a -18°C. El día de la utilización, se sitúan estas hojas en una botella de 1 litro, que contiene 200 ml de agua de lluvia, luego se agita manualmente durante 10 minutos. La suspensión se filtra con etamina, y se mide el volumen obtenido.

Se cuentan las conidias al microscopio sobre un hematocímetro de Bürker, a razón de 2 conteos de 2x144 cuadrados, haciendo la media. Este número de conidias se multiplica por la constante de Bürker (250000), y, para obtener un número de conidias viables, corregido con un coeficiente de germinación de las conidias, el mismo resultado de un ensayo efectuado el día anterior.

35 Sobre esta base, la suspensión de esporas se diluye hasta obtener 150000 conidias viables por ml. Hace falta entonces aproximadamente 1 litro de suspensión para inocular 1000 plantones.

Los plantones se inoculan por pulverización manual, con una suspensión de 150000 conidias viables de *Venturia* por ml, y se transfieren a una cámara húmeda de saturación durante 48 horas.

40 Las anotaciones se refieren a F1 y F0. Expresan la superficie de hoja esporulante, en porcentaje de la superficie de la hoja.

La media de los 50 plantones se calcula para cada repetición. La media de las 3 repeticiones de cada objeto (o modalidad) conduce a la media por objeto. Finalmente, la eficacia según Abott se calcula, según la fórmula:

Eficacia = [(Anotación “agua”) – (Anotación objeto ensayado)] / (Anotación “agua”)

Resultados

Los resultados se presentan en la tabla 2 a continuación

Tabla 2

Notaciones	Superficie esporulante / hoja (%)		Eficacia (%)	
	F1	F0	F1	F0
Objetos				
Agua	41,46	15,83	0	0
OY1	17,75	10,39	57,2	34,4
OY2	14,59	7,6	64,8	52,0
OY3	16,9	8,9	59,2	43,8

5

Los resultados obtenidos muestran que los productos según la invención son capaces de inducir una disminución significativa de la superficie esporulante, tanto sobre hojas tratadas F1, como sobre las hojas F0 formadas después del tratamiento.

10

En este último caso, ya que las paredes o cortezas no pueden penetrar en la planta para ser vehiculizadas por la savia, no se trata probablemente de una sistemía. Por el contrario, tal resultado sugiere un efecto inductor de mecanismo de defensas naturales de la planta.

Ejemplo 2: ensayo de eficacia contra la sarna de composiciones que comprenden cortezas de levaduras.

15

El ensayo se llevó a cabo sobre plántones injertados, en macetas. Se utilizaron tres variedades: “Reinette des Capucins”, “Jonagold”, y “Reinette de Waleffe”, injertadas sobre porta-injerto M9. El crecimiento de las variedades bajo túnel de plástico se desplaza de manera a que los plántones estuvieran todos en el mismo estadio durante el ensayo. Reinette de Waleffe, luego 15 días más tarde, Reinette des Capucins, luego 1 semana más tarde, Jonagold.

Los plántones se etiquetaron con el nombre de la variedad y el número del tratamiento que recibirán antes de la inoculación.

20

Los métodos de tratamiento, de preparación del inóculo, de inoculación y de anotación son similares a los descritos en el ejemplo 1.

Los plántones se trataron a razón de dos tratamientos sucesivos, separados por 10 días. Al día siguiente del segundo tratamiento, se localiza la última hoja desplegada “f1”.

25

Dos días después del segundo tratamiento, el patógeno (*Venturia inaequalis*) se inocula a la dosis de $1,5 \cdot 10^5$ conidias/ml, directamente en cámara húmeda. La inoculación es seguida de una incubación de 48 horas en cámara húmeda a 18°C, luego los plántones se mantienen en los cubículos acondicionados a $18^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ y $80 \pm 10\%$ de H.R.

El dispositivo estudiado es el siguiente (tabla 3):

Tabla 3

Variedades	Objetos	Productos	Concentraciones (mg/l)
Jonagold	OY2	Cortezas	25
Jonagold	BABA	Ácido β-aminobutírico	2000
Jonagold	Testigo	Agua	-
Waleffe	OY2	Cortezas	25
Waleffe	BABA	Ácido β-aminobutírico	2000
Waleffe	Testigo	Agua	-

ES 2 435 085 T3

Variedades	Objetos	Productos	Concentraciones (mg/l)
Capucins	OY2	Cortezas	25
Capucins	BABA	Ácido β-aminobutírico	2000
Capucins	Testigo	Agua	-

Las cortezas de levaduras OY2 corresponden a una suspensión acuosa a 25 mg/l del producto Springcell 8001 de Biospringer SAS, (Maisons-Alfort), Francia), ella compuesta de cortezas al 96% de materia seca.

- 5 Las anotaciones se efectuaron el veintiún día después de inoculación sobre las 2 últimas hojas tratadas (F2 y F1) y la hoja neoformada después del tratamiento F0, sobre aproximadamente 25 brotes por objeto. El conjunto de los resultados se muestra a continuación, tabla 4.

Tabla 4

		Superficie esporulante / hoja (%)			Eficacia (%)				
Variedades	Objetos	F2	F1	F0	F2	F1	F0	H tratadas	Todas H
Capucins	Agua	17,5	19,8	7,8	-	-	-	-	-
Capucins	Baba	4,2	8,0	4,3	75,8	59,8	45,3	67,8	60,3
Capucins	OY2	3,2	7,1	4,2	81,6	64,4	46,7	73,0	64,2
Jonagold	Agua	40,3	36,1	22,4	-	-	-	-	-
Jonagold	Baba	6,0	17,9	13,9	85,1	50,5	38,0	67,8	57,9
Jonagold	OY2	13,6	12,7	13,7	66,2	64,8	38,8	65,5	56,6
Waleffe	Agua	31,1	31,4	23,3	-	-	-	-	-
Waleffe	Baba	18,6	20,4	20,9	40,3	35,2	10,3	37,8	28,6
Waleffe	OY2	5,5	14,5	10,7	82,2	54,0	54,1	68,1	63,4
Todas	Agua	29,6	29,1	17,8	-	-	-	-	-
Todas	Baba	9,6	15,4	13,0	67,6	47,1	27,0	57,4	47,2
Todas	OY2	7,5	11,4	9,5	74,8	60,8	46,6	67,8	60,8

- 10 Todas las variedades y todas las hojas confundidas, la eficacia es de media: 60,8%. De media es de 68,8% sobre las hojas tratadas F2 y F1, y de 46,6% sobre las hojas F0 neoformadas.

Esta eficacia es próxima, pero siempre superior a la obtenida con el BABA en el mismo periodo.

Una anotación a 41 días después de tratamiento da los resultados siguientes:

Tabla 5

Variedades	Objetos	F2	F1	F0	F-1	F-2	Hojas tratadas	Hojas neoformadas	Todas las hojas
Capucins	Agua	90,00	33,55	36,13	22,57	4,33	-	-	-
Capucins	Baba	4,00	10,62	14,07	9,95	4,00	88,2	55,5	77,1
Capucins	OY2	1,80	7,76	15,69	11,07	1,92	92,3	54,5	79,5
Jonagold	Agua	50,73	67,69	64,92	51,54	22,44	-	-	-
Jonagold	Baba	10,57	27,57	37,79	29,57	3,43	67,8	49,0	57,7
Jonagold	OY2	20,42	35,71	52,19	32,56	12,29	52,6	30,1	40,5
Waleffe	Agua	50,00	54,30	61,35	56,06	20,18	-	-	-
Waleffe	Baba	15,55	42,00	41,05	45,16	18,42	44,8	24,0	33,0
Waleffe	OY2	0,50	15,40	18,59	17,31	8,07	84,8	68,0	75,2
Todas	Agua	63,6	51,8	54,1	43,4	15,7	-	-	-
Todas	Baba	10,1	26,7	31,0	28,2	8,6	68,1	40,1	54,2
Todas	OY2	7,6	19,6	28,8	20,3	7,4	76,4	50,0	63,4

En esta fecha, se desplegaron nuevas hojas: F-1 y F-2, y la enfermedad progresó por contaminación natural, sin una nueva inoculación.

- 5 Todas las variedades y todas las hojas confundidas, la eficacia es de media: 63,4%. De media es de 76% sobre las hojas tratadas, F2 y F1, y de 50% sobre las hojas neoformadas: F0, F-1 y F-2.

De nuevo, esta eficacia es próxima, pero siempre superior a la obtenida con el BABA en el mismo periodo.

Se notará la muy larga persistencia del efecto fungicida, muy superior al de los productos agroquímicos (del orden de 7 a 15 días).

- 10 Ejemplo 3: ensayo de protección contra la cercosporiosis de la remolacha

Se llevó a cabo un ensayo a pequeña escala en invernadero para la cercosporiosis de la remolacha. Esta enfermedad fúngica está provocada por *Cercospora beticola*.

- 15 Se sembraron granos de la variedad de remolacha FORTIS reconocida como sensible a la cercosporiosis en germinadores. Al salir, las jóvenes plántulas se plantaron en macetas mantenidas en invernadero a 24°C, bajo un fotoperiodo de 16 horas de luz por día. El dispositivo experimental comprendía 2 bloques (2 repeticiones) de 8 plantas por modalidad (u objeto).

Los plantones fueron tratados una sola vez, en el estadio de 4 hojas por pulverización sobre las hojas de preparaciones que contenían cortezas de levaduras.

- 20 Las preparaciones, codificadas OY, estaban compuestas por cortezas de levaduras (Springcell 8001 de Biospringer SAS, compuesta de cortezas al 96% de materia seca) en suspensión acuosa.

El tratamiento consistía en pulverizar después de agitación las preparaciones obtenidas, con ayuda de un pulverizador manual. El tratamiento, efectuado en el estadio de 4 hojas de la remolacha, apuntaba a las 2 primeras hojas completamente desarrolladas y aseguraba una cobertura de las 2 caras foliares hasta el límite de escurrimiento.

5 Las plantas tratadas se mantuvieron en un recinto bajo atmósfera mantenida húmeda por riego regular del sustrato.

Los plantones fueron inoculados 1 semana más tarde, en el estadio de 6 hojas, por pulverización de una suspensión de conidias de *C. beticola* cepa 524, a 20000 esporas por ml, sobre las dos caras foliares, hasta el límite de escurrimiento, luego las plantas se mantuvieron bajo atmósfera húmeda.

10 La cepa 524 de *Cercospora beticola* proporcionada por la Unidad de Fitopatología de la Facultad Universitaria de Gembloux (Bélgica) se eligió por su agresividad. La cepa se cultivó en placas Petri sobre medio V8 en forma de colonias individualizadas. Al cabo de 5 días de incubación en la oscuridad en una cámara de cultivo a temperatura de 24°C, las colonias individualizadas se recuperaron en un tubo estéril que contenía 3 ml de agua destilada estéril. La preparación así obtenida se agitaba entonces con vortex para liberar las conidias del patógeno. La suspensión de conidias se utilizó luego para sembrar nuevas placas Petri que contenían el medio V8 recién preparado. Los cultivos así preparados se incubaron a 24°C en una cámara de cultivo donde el fotoperiodo fue de 16 horas de luz. Al cabo de una semana de incubación, el cultivo se recuperó y se preparó una suspensión de conidias por raspado superficial del cultivo en el agua destilada utilizando una lama de Scalpel. Se procedió entonces a un recuento del número de conidias en la suspensión de conidias utilizando la célula de Bürker, y la suspensión se ajustó a 20000 conidias por mililitro en agua destilada.

15 Las plantas así inoculadas se mantuvieron en estas condiciones de fuerte humedad.

La importancia de los síntomas se evaluó un mes más tarde con ayuda de la escala visual utilizada por el Instituto Real Belga para la Mejora de la Remolacha (IRBAB), que comprende 10 valores de 0 a 9, sobre la cual el valor 9 corresponde a 100% de superficie foliar sana (no cubierta por lesiones), y el valor 0 a 0% de superficie foliar sana (no cubierta por lesiones).

20 El tratamiento se efectuó por medio de una suspensión de cortezas codificada OY, con diferentes concentraciones, OY1, OY2, OY3, descritas en la tabla 6 a continuación.

Tabla 6

Objetos	Productos	Concentraciones (mg/l)
OY1	Cortezas	250
OY2	Cortezas	25
OY3	Cortezas	2,5
Testigo no tratado	Agua	-

La nota obtenida para cada objeto, en media de dos repeticiones queda recogida en la tabla 7 a continuación.

30

Tabla 7

Objetos	Nota media	Superficie sana en %	Calificativo IRBAB
Testigo no tratado	3,94	85	Insuficiente
OY1	4,69	91	Aceptable
OY2	6,34	97,5	Muy aceptable
OY3	6,22	97,1	Muy aceptable

En este ejemplo 3, las cortezas permiten pasar de una apreciación media de daño calificado de insuficiente a una apreciación calificada de muy aceptable.

Ejemplo 4: ensayo de protección de trigo contra la septoriosis

La septoriosis (*Septoria nodorum*, y/o *Septoria tritici*) es la principal enfermedad foliar del trigo en Europa, ocasionando todavía pérdidas de rendimientos que pueden llegar hasta el 40% de la cosecha. La lucha química consiste generalmente en un tratamiento sistemático en el estadio 2-3 nudos que puede estar seguido de un tratamiento en el estadio de espiga.

5

Este ensayo muestra que el aporte precoz de una preparación a base de paredes o cortezas de levaduras permite retardar la aparición de la enfermedad, y reemplazar el primer tratamiento químico. Lo que se traduce en beneficios sobre los planes toxicológicos para el operador y el consumidor (residuos) y sobre el plan medioambiental.

Material y métodos

10 El ensayo se llevó a cabo en Francia, en pleno campo, sobre un cultivo de trigo tierno de invierno de la variedad Orvantis, sembrado el 06.10.2005.

El ensayo se condujo según el método CEB N° M189 (Comisión de Ensayos Biológicos, de la Asociación Francesa para la Protección de las Plantas, Paris), y respetando las Buenas Prácticas Experimentales.

15 El dispositivo estadístico consiste en bloques de Fisher aleatorizados. Cada modalidad cuenta con 4 repeticiones, correspondiendo cada una a una parcela elemental de 8x 2,5 cm (20 m²).

El ensayo consiste en comparar el efecto de las cortezas de levaduras utilizadas en suspensión acuosa (Springcell 8001 de Biospringer SAS, compuesto de cortezas al 96% de materia seca), codificadas OY, cuando se utilizan al inicio de un programa de tratamiento contra la septoriosis.

La referencia química utilizada aquí es Opus (epoxiconazol 125 g/L, BASF Agro) utilizado a 1 L/ha.

20 El tratamiento se llevó a cabo a razón de 200 L/ha con ayuda de una carretilla pulverizadora equipada con una rampa de pulverización de 2,50 m.

Siguiendo las modalidades, el programa de tratamiento varía como se indica en la tabla siguiente. Todas las modalidades reciben Opus a 1L/ha 40 días después del primer tratamiento.

Tabla 8

<u>Nº de modalidad</u>	T en el estadio "fin de macollamiento/espiga a 1 cm"	T + 7 días	Estadio "2-3 nudos"	2º tratamiento a T + 40 días
1	Testigo seco no tratado	-	-	OPUS 1 L/ha
2	Testigo tratado con agua	-	-	OPUS 1 L/ha
3	-	-	Opus 1 L/ha	OPUS 1 L/ha
4	OY a 2,5 g/ha	-	-	OPUS 1 L/ha
5	OY a 25 g/ha	-	-	OPUS 1 L/ha
6	OY a 250 g/ha	-	-	OPUS 1 L/ha
7	OY a 50 g/ha	-	-	OPUS 1 L/ha
8	OY a 25 g/ha	OY a 25 g/ha	-	OPUS 1 L/ha

25

Se realizaron 5 anotaciones sobre el periodo de ensayo con el fin de evaluar la frecuencia y la intensidad de ataque de la septoriosis:

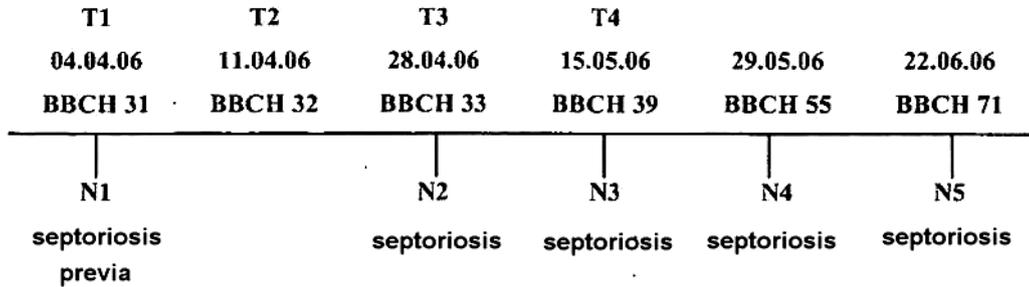
- Anotación 1: el 04.04.06 a T1 (BBCH 31) estadio espiga a 1 cm.
- Anotación 2: el 28.04.06 a T3 (BBCH 32) estadio segundo nudo;
- Anotación 3: el 15.05.06 a T4 (BBCH 39) estadio última hoja desplegada.
- Anotación 4: el 29.05.06 a T4 + 15 días (BBCH 55) estadio semi espiga

30

ES 2 435 085 T3

- Anotación 5: el 22.06.06 a BBCH 72 estadio grano acuoso.

El calendario de realización del ensayo es por lo tanto el siguiente (N= anotación):



5 Para cada anotación, la frecuencia y la intensidad fueron estimadas sobre 3 estadios foliares (F1, F2, F3), designando F1 la última hoja visible enteramente desarrollada, sobre 25 pies seleccionados al azar.

La frecuencia corresponde a un porcentaje de hojas afectadas por las septoriosis.

La intensidad corresponde a un porcentaje medio de superficie foliar alcanzada por la enfermedad.

La media de los 25 pies se calcula para cada repetición. La media de las 4 repeticiones para cada modalidad conduce a la media por modalidad. Finalmente, la eficacia se calcula según Abott.

10 Resultados

Durante las 4 primeras anotaciones, la intensidad de la enfermedad se mantuvo baja (<3 % en el testigo no tratado). La eficacia de las modalidades OY no aparece estadísticamente significativa. En la 5ª anotación, la enfermedad se declara y la intensidad superior a 95% en el testigo no tratado sobre la hoja F3.

En esta fecha, los resultados, significación de las diferencias, y porcentajes de eficacia son los siguientes:

15

Tabla 9

% superficie foliar afectada	Hoja F1 = % eficacia	Hoja F2 = % eficacia	Med F1 + F2 = % eficacia	Hoja F3 = % eficacia
1. Testigo seco	13,5 A -	45,2 A -	29,35 A -	96,3 AB -
2. Testigo tratado con agua	12,7 A -	33,6 B -	23,15 A -	96,1 AB -
3. Opus 1 L/ha	3,4 B 74,80%	13 C 71,20%	8,2 B 73,00%	87,5 AB 9,10%
4. OY a 2,5 g/ha	4,4 B 67,40%	13,3 C 70,60%	8,85 B 69,00%	98,2 A -2,00%
5. OY a 25 g/ha	4,7 B 65,20%	15,3 C 66,10%	10 B 65,65%	95,6 AB 0,70%
6. OY a 250 g/ha	3,7 B 72,60%	13,9 C 69,20%	8,8 B 70,90%	84,8 AB 11,90%
7. OY a 50 g/ha	3,2 B 76,30%	15,4 C 65,90%	9,3 B 71,10%	92,9 AB 3,50%
8. OY a 25 g/ha + OY a 25 g/ha	3,6 B 73,30%	9,7 C 78,50%	6,65 B 75,90%	90,2 AB 6,30%

20

Los resultados muestran una disminución significativa de la intensidad de la enfermedad sobre F1 y F2, 80 días después de la aplicación en primer tratamiento, y eso cualquiera que sea la dosis ensayada de OY. Mejor aún, las eficacias obtenidas en media sobre F1 y F2 con OY son todas estadísticamente equivalentes a la obtenida con la referencia química Opus.

Ejemplo 5: ensayo de protección del guisante proteaginoso contra la antracnosis.

La antracnosis es una de las principales enfermedades foliares del guisante y penaliza fuertemente el rendimiento en grano. Está provocada por un hongo *Ascochyta pisi*.

Material y métodos

El ensayo se llevó a cabo en Francia, en pleno campo, sobre un cultivo de guisante proteaginoso de primavera de la variedad Lumina. El cultivo se sembró el 22 de marzo.

5 El ensayo se llevó a cabo según el método CEB Nº M215 (Comisión de Ensayos Biológicos, de la Asociación Francesa para la Protección de las Plantas, Paris), y respetando las Buenas Prácticas Experimentales).

El dispositivo estadístico consiste en bloques de Fisher aleatorizados. Cada modalidad cuenta con 4 repeticiones, correspondiendo cada una a una parcela elemental de 8x 2,5 m (20 m²).

El ensayo comprende:

- 2 testigos: 1 seco y uno tratado con agua: modalidades 1 y 2

10 - 1 referencia química (Dithane Neotec: Mancozeb 75%, Dow Agroscience) aplicada dos veces: modalidad 3

- 3 modalidades de cortezas de levaduras, utilizadas en suspensión acuosa a diferentes concentraciones (Springcell 8001 de Biospringer SAS, compuesta de cortezas al 96% de materia seca), codificada OY, modalidades 4 a 6:

o Modalidad 4: 25 g/ha

o Modalidad 5: 250 g/ha

15 o Modalidad 6: dos tratamientos espaciados por una semana, a 25 g/ha luego a 25 g/ha

El tratamiento se llevó a cabo a razón de 200 L/ha con ayuda de una carretilla pulverizadora equipada con una rampa de 2,50 m.

Las primeras aplicaciones se realizaron el 17.05.2006 en el estadio de 7-8 hojas.

20 Se practicó una contaminación artificial el 19.05.06 con ayuda de micelio y esporas frescas de *Ascochyta pisi* sobre granos de cebada (20 kg de granos/1000 m²), proporcionados por la sociedad ARBIOTECH.

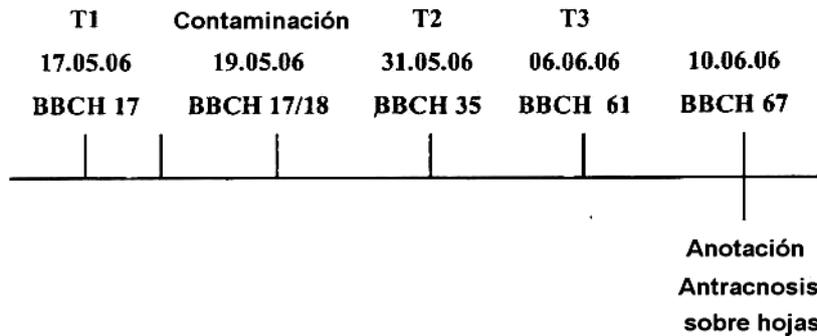
El posicionamiento de los tratamientos es el siguiente:

Tabla 10

Nº de modalidad	T: 1ª hoja trifoliada	T + 7 días	Floración
1	Testigo	-	-
2	Testigo agua	-	-
3	Dithane Neotec (2,1 kg/ha)	-	Dithane Neotec (2,1 kg/ha)
4	OY a 25 g/ha	-	-
5	OY a 250 g/ha	-	-
6	OY a 25 g/ha	OY a 25 g/ha	-

25 La anotación se realizó el 10.06.06 en el estadio BBCH 67 (estadio de floración), con el fin de evaluar la frecuencia y la intensidad de ataque de la antracnosis sobre las hojas.

El calendario de realización del ensayo es por lo tanto el siguiente:



Durante la anotación, la frecuencia y la intensidad se estimaron sobre 3 estadios foliares (bajo-medio-alto) sobre 25 pies por parcela elemental.

La frecuencia corresponde a un porcentaje de hojas afectadas por la enfermedad.

5 La intensidad corresponde a un porcentaje medio de superficie foliar alcanzada.

La media de los 25 pies se calcula para cada repetición. La media de las 4 repeticiones para cada modalidad conduce a la media por modalidad. Finalmente, la eficacia se calcula según Abott.

10 Se efectuó un análisis de varianza, así como un ensayo de Neuman y Keuls, con el fin de evaluar la significación de las diferencias entre modalidades (mismas letras: resultados no diferentes al riesgo de 5%; letras diferentes: resultados diferentes al riesgo de 5%).

Resultados

A pesar de la contaminación artificial, las infecciones de antracnosis fueron de un nivel bastante bajo (intensidad < 8% en el testigo no tratado).

En la anotación, los resultados y los porcentajes de eficacia son los siguientes.

15 Tabla 11: Intensidad de ataques de antracnosis sobre hojas y eficacia

Intensidad de ataques de antracnosis sobre hojas en % (10.06.2006 BBCH 67) y eficacia (Ef)							
Nº	Tratamientos	Estadio bajo	Ef	Estadio medio	Ef	Media baja + media	Estadio alto
1	Testigo seco	6,20 A	-	3,35 A	-	--	0,07 B
2	Testigo tratado con agua	5,83 AB	-	3,31 A	-	-	0,2 B
3	Dithane Neotec (2,1 kg/ha)(2 veces)	4,35 C	30%	2,07 BC	38%	34%	0 B
4	OY a 25 g/ha	4,72 C	24%	2,25 BC	33%	29%	0,038 A
5	OY a 250 g/ha	4,87 CB	21%	1,52 C	54%	38%	0,02 B
6	OY a 25 g/ha + OY a 25 g/ha	4,33 C	30%	2,45 B	27%	29%	0,07 B

Al no estar atacada la parte alta todavía, la evaluación se hace en la parte baja y media. Todas las dosis ensayadas de OY muestran una eficacia equivalente a la de referencia química.

Ejemplo 6: ensayo de protección de la viña contra el oídio (*Erysiphe necator*).

El oídio (*Uncinula necator*, *Erysiphe necator*) es una enfermedad fúngica de la viña presente en todos los viñedos con intensidades diferentes según las regiones y las cepas. Es la enfermedad de la viña más extendida en el mundo. El oídio ataca todos los órganos de la viña y puede ocasionar pérdidas de producción muy importantes.

5 Material y métodos

El ensayo se realizó bajo invernadero, en macetas, sobre plantas jóvenes de la cepa Cinsaut. Las condiciones estaban controladas, y la contaminación artificial.

Los plantones se produjeron en invernadero a partir de esquejes de un ojo, y se constituyeron lotes homogéneos.

10 El dispositivo estadístico comprendía 6 repeticiones de una maceta cada una. La repetición que diera el resultado más alejado de la media era eliminada durante el análisis.

Los tratamientos se efectuaron con un banco de pulverización de chorro proyectado y presión constante sobre el conjunto del vegetal, y las plantas de un mismo lote se trataron simultáneamente. El banco está constituido por un carro pulverizador, que se desplaza sobre un rail con velocidad constante y que comprende 5 bocas (2 de cada lado y una por encima del vegetal). El volumen de tratamiento era equivalente a 600 litros por ha.

15 Durante el tratamiento, los niveles foliares se marcaron con un lazo de color fijo bajo la 3ª hoja desplegada de manera a poder observar el efecto del tratamiento sobre las hojas neoformadas (formadas después del tratamiento).

Los tratamientos se aplicaron 14 y 7 días antes de la contaminación artificial. Un lote de plantas fue tratado dos veces, es decir 14 luego 7 días antes de la contaminación.

20 Los productos ensayados fueron cortezas de levaduras utilizadas en suspensión acuosa (Springcell 8001 de Biospringer SAS, compuesto de cortezas a 96% de materia seca), codificadas OY.

Se ensayaron 4 dosis:

- Dosis N/10: 2,5 g/ha
- Dosis N: 25 g/ha
- Dosis 2N: 50 g/ha
- Dosis 10N: 250 g/ha

25

Las dosis fueron ensayadas siguiendo el calendario siguiente:

Tabla 12

Nº de modalidad	Número de días entre tratamiento e inoculación	
	T 14 d antes de inoculación	T 7 d antes de inoculación
1	Testigo no tratado	-
2	OY N (25 g/ha)	-
3	-	Testigo no tratado
4	-	OY N/10 (2,5 g/ha)
5	-	OY N (25 g/ha)
6	-	OY 2N (50 g/ha)
7	-	OY 10N (250 g/ha)
8	OY N (25 g/ha)	OY N (25 g/ha)

30 El material fúngico estaba constituido por un conjunto de conidias provenientes de una cepa de sensibilidad normal a los fungicidas.

Todas las plantas del ensayo fueron contaminadas por espolvoreamiento en seco de esporas por encima de las plantas situadas en el interior de una torre de inoculación en plexiglás.

- 5 El material fúngico utilizado está constituido por un conjunto de esporas de una cepa de oídium multiplicada anteriormente en gran cantidad sobre hojas sobrevivientes o sobre plantas. El inóculo utilizado tiene 12 a 14 días para el oídium de la viña. La calidad del inóculo se verificó por medio de una célula de Malassez situada a nivel de las plantas en el interior de la torre de inoculación. Se utilizó una densidad de 800 a 1000 esporas por cm².

Todas las plantas se pusieron en incubación después de su contaminación en una sala aclimatada a 21 ± 2°C e iluminada 14 horas por día. Cada condición de ensayo está perfectamente aislada de las otras en pequeños recintos.

- 10 Las plantas se mantuvieron en esas condiciones durante 14 días. Al término de este periodo, se realizó una anotación de los daños de los hongos.

Anotaciones

- 15 Se señalaron las hojas de los niveles foliares superiores F2, F1 y F0 (nivel formado después del tratamiento). Cada hoja es señalada para una observación visual. La frecuencia (porcentaje de hojas afectadas por la enfermedad) no se señala ya que es igual a 100. La intensidad (porcentaje medio de superficie foliar afectada) se evaluó según una escala de 1 a 100.

La eficacia según Abott se calcula sobre las intensidades medias, y se efectúa un análisis de varianza. Un ensayo de Neuman y Keuls permite evaluar la significación de las diferencias entre modalidades (mismas letras: resultados no diferentes al riesgo de 5%; letras diferentes: resultados diferentes al riesgo de 5%).

- 20 Resultados

Tabla 13: tasa de daños sobre las plantas tratadas en diferentes fechas (14 y 7 días antes de inoculación por *E. necator*) con la especialidad codificada OY (Springcell 8001 de Biospringer SAS). Observación sobre hojas sensibles F2, F1, F0:

Modalidad	Número de días entre el tratamiento y la infección	Intensidad de ataque (%)	Eficacia
Testigo	14 días	47,4 AB	-
N	14 días	48,0 AB	0
Testigo	7 días	61,3 A	-
N	7 días	40,1 AB	34,6
N/10	7 días	32,7 ABC	46,7
2N	7 días	23,3 BC	62
10N	7 días	21,3 BC	65,3
N + N	14 días + 7 días	14,1 C	70,3

- 25 Una única aplicación 14 días antes de la inoculación no ha permitido proteger las hojas.

A la inversa las aplicaciones efectuadas 7 días antes de contaminación producen un efecto de protección contra el oídium. Las dosis más fuertes (2N o sea 50 g/ha y 10N, es decir 250 g/ha) tienen un efecto más significativo.

Una aplicación de 25 g/ha (dosis N) 14 días antes de la inoculación, seguida de una idéntica, 7 días antes de la inoculación, da un excelente resultado.

- 30 Ejemplo 7: ensayo de protección de la viña contra el mildiú (*Plasmopora viticola*).

El mildiú se debe a un hongo (*Plasmopora viticola*). Presente en grados diversos en la mayoría de los viñedos del mundo, daña el rendimiento y la calidad de la cosecha, al punto de poder aniquilarla en ausencia de tratamiento.

Material y métodos

El ensayo se realizó bajo invernadero, en macetas, sobre plantas jóvenes de la cepa Cabernet-Sauvignon. Las condiciones estaban controladas, y la contaminación artificial.

Los plantones se produjeron en invernadero a partir de esquejes de un ojo, y se constituyeron lotes homogéneos.

- 5 El dispositivo estadístico comprendía 6 repeticiones de 1 maceta cada una. La repetición que diera el resultado más alejado de la media fue eliminada durante el análisis.

- 10 Los tratamientos se efectuaron con un banco de pulverización de chorro proyectado y presión constante sobre el conjunto del vegetal, y las plantas de un mismo lote se trataron simultáneamente. El banco está constituido por un carro pulverizador, que se desplaza sobre un rail con velocidad constante y que comprende 5 bocas (2 de cada lado y una por encima del vegetal). El volumen de tratamiento era equivalente a 600 litros por ha.

Durante el tratamiento, los niveles foliares se marcaron por un lazo de color fijo bajo la 3ª hoja desplegada de manera a poder observar el efecto del tratamiento sobre las hojas neoformadas (formadas después del tratamiento).

Los tratamientos se aplicaron 14 y 7 días antes de la contaminación artificial. Un lote de plantas fue tratado dos veces, es decir 14 luego 7 días antes de la contaminación.

- 15 Los productos ensayados fueron cortezas de levaduras utilizadas en suspensión acuosa (Springcell 8001 de Biospringer SAS, compuesto de cortezas a 96% de materia seca), codificadas OY.

Se ensayaron 4 dosis:

- Dosis N/10: 2,5 g/ha
- Dosis N: 25 g/ha
- 20 - Dosis 2N: 50 g/ha
- Dosis 10N: 250 g/ha

Las dosis fueron ensayadas siguiendo el calendario siguiente:

Tabla 14

Nº de modalidad	Número de días entre tratamiento e inoculación	
	T 14 d antes de inoculación	T 7 d antes de inoculación
1	-	-
2	-	OY N/10 (2,5 g/ha)
3	-	OY N (25 g/ha)
4	-	OY 10N (250 g/ha)
5	-	OY 2N (50 g/ha)
6	OY N (25 g/ha)	OY N (25 g/ha)
7	OY N (25 g/ha)	-

- 25 Las plantas fueron inoculadas simultáneamente por pulverización de una suspensión de esporófitos provenientes de una cepa de *Plasmopora viticola* normalmente sensible a los fungicidas.

La suspensión de esporófitos se preparó justo antes de la contaminación. Las esporulaciones del hongo se recuperaron por lavado de hojas infectadas con el agua permutada. Una valoración se realizó con ayuda de una célula Malassez. La concentración utilizada fue de 50000 esporas/ml.

- 30 Se pulverizaron 10 ml de suspensión de esporas por planta, sobre la cara inferior de las hojas. Cada planta fue contaminada individualmente, en todos los niveles de hojas presentes.

Las plantas se reagruparon luego por modalidad, y las modalidades se aislaron las unas de las otras por recintos cerrados.

5 Las plantas se mantuvieron luego bajo nebulización para favorecer el desarrollo de la enfermedad, a una temperatura de 21°C, y 14 horas de iluminación por día, durante 8 días. Al término de esta duración, se efectuaron las anotaciones.

Anotaciones

Cada hoja se señala para observación visual. La frecuencia (porcentaje de hojas afectadas por la enfermedad) no es anotada ya que es igual a 100.

La intensidad (porcentaje medio de superficie foliar afectada) se evaluó según una escala de 1 a 100.

10 La eficacia según Abott se calculó sobre las intensidades medias.

Resultados

Los resultados de intensidad y las eficacias se reagruparon según se trataba de hojas tratadas o de hojas neoformadas, por lo tanto no tratadas.

Tabla 15

Modalidad	Número de días entre el tratamiento y la infección	Hojas tratadas		Hojas neoformadas	
		Intensidad de ataque (%)	Eficacia (%)	Intensidad de ataque (%)	Eficacia (%)
Testigo	14 días	68,0	-	67,3	-
N	14 días	31,3	54	45,0	33,1
Testigo	7 días	82,0	-	48,1	-
N/10	7 días	62,7	23,5	40,5	15,8
N	7 días	54,7	33,3	23,6	50,9
2N	7 días	50,0	39	23,5	51,1
10N	7 días	42,7	47,9	28,0	41,8
N + N	14 días + 7 días	25,4	62,6	40,7	39,5

15 Todas las dosis de cortezas ensayadas tuvieron una eficacia sobre el mildiú de las hojas tratadas o neoformadas, cualquiera que fuera el plazo que separa el tratamiento de la contaminación. La eficacia tiende a crecer con la dosis.

Ejemplo 8: ensayo en pleno campo de protección de la viña contra el mildiú.

Material y métodos

20 El ensayo se realizó en Francia, cerca de Burdeos, en pleno campo, sobre viña de la variedad Cabernet-Sauvignon. El ensayo se llevó a cabo respetando las Buenas Prácticas Experimentales.

La instalación de parcelas para ensayo y las primeras aplicaciones se realizaron el 25.05.2006 en el estadio BBCH 55. El dispositivo estadístico consiste en bloques de Fisher aleatorizados. Cada modalidad cuenta con 4 repeticiones correspondiendo cada una a una parcela elemental de 10 cepas. El ensayo comprende:

- 25
- 1 testigo no tratado;
 - 2 modalidades OY en suspensión acuosa (Springcell 8001 de Biospringer SAS, compuesto de cortezas a 96% de materia seca).

El tratamiento se llevó a cabo a razón de 1000 L/ha con ayuda de un atomizador de la marca Solo.

El posicionamiento de los tratamientos consiste en una aplicación semanal desde el 25 de mayo (estadio BBCH55).

Tabla 16

Modalidad Nº	Tratamiento semanal
1	No tratado
2	OY 4N (100 g/ha)
3	OY 10N (250 g/ha)

La anotación se efectuó antes de la aplicación. Al llegar tarde la enfermedad, la anotación se efectuó el 18.08.2006.

5 La frecuencia y la intensidad sobre las hojas se estimaron sobre 50 hojas tomadas al azar, por parcela elemental, es decir 5 hojas por pie de viña.

La frecuencia corresponde a un porcentaje de hojas afectadas por la enfermedad.

La intensidad corresponde a un porcentaje medio de superficie foliar afectada.

La media de las 50 hojas se calculó para cada repetición. La media de las 4 repeticiones por cada modalidad condujo a la media por modalidad.

10 Finalmente, la eficacia según Abott se calculó sobre las intensidades medias.

Resultados

Los resultados y los porcentajes de eficacia son los siguientes.

Tabla 17: Anotación mildiú sobre hojas del 18 de Agosto – BBCH 83

Nº	Tratamientos	Frecuencia/hojas (%)	Intensidad/hojas	Eficacia (%)
1	Testigo no tratado	48,8	13,3	-
2	OY4N (100g/ha)	53,0	9,9	25,56
3	OY10N (250g/ha)	45,5	5,5	58,64

15 Se observó una eficacia del producto a las 2 dosis ensayadas, es decir 100 y 250 g/ha.

REIVINDICACIONES

1. Utilización de paredes o cortezas de levadura(s) como materia activa, para el tratamiento o la protección de las plantas contra las enfermedades provocadas por agentes patógenos o para la inducción o la estimulación en una planta de defensas naturales contra agentes patógenos.
- 5 2. Utilización según la reivindicación 1, caracterizada por que la planta se elige entre las gramíneas y dicotiledóneas, plantas anuales, bisanuales y perennes, las verduras, cereales oleaginosas, proteaginosas, las patatas, remolachas, cañas de azúcar, tabaco, las plantas leñosas, los árboles, frutales o no, las viñas y los vegetales para decoración.
3. Utilización según la reivindicación 1 ó 2, caracterizada por que la planta es un árbol frutal.
- 10 4. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que el agente patógeno es un hongo, un virus, una bacteria, un micoplasma, un spiroplasma o un viroide.
5. Utilización según la reivindicación 4, caracterizada por que el agente patógeno se elige entre los hongos de los géneros *Alternaria* spp, *Ascochyta* spp, *Botrytis* spp, *Bremia* spp, *Cercospora* spp, *Cladosporium* spp, *Colletotrichum* spp, *Erysiphe* spp, *Fusarium* spp, *Glocosporium* spp, *Guignardia* spp, *Helminthosporium* spp, *Marssonina* spp, *Monilia* spp, *Mycosphaerella* spp, *Penicilium* spp, *Peronospora* spp, *Pezicula* spp, *Phragmidium* spp, *Phytophthora* spp, *Plasmopara* spp, *Podosphaera* spp, *Pseudocercospora* spp, *Pseudoperonospora* spp, *Pseudopeziza* spp, *Puccinia* spp, *Pythium* spp, *Ramularia* spp, *Rhizoctonia* spp, *Rhizopus* spp, *Rynchosporium* spp, *Sclerotinia* spp, *Septoria* spp, *Sphaerotheca* spp, *Taphrina* spp, *Uncinula* spp, *Ustilago* spp y *Venturia* spp.
- 15 6. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levadura(s) son del género *Saccharomyces*.
7. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levadura son susceptibles de obtenerse por lisis de células de levaduras, separación de las partes solubles e insolubles, luego recuperación de la parte insoluble.
- 25 8. Utilización según la reivindicación 7, caracterizada por que la parte insoluble se recupera por eliminación de la parte soluble por centrifugación.
9. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levaduras están delipidadas.
- 30 10. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levaduras están asociadas además con uno o varios agentes de formulación.
11. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levaduras están asociadas además a un agente fungicida, antiviral o antibacteriano.
12. Utilización según la reivindicación 11, en la que el agente fungicida se elige entre los fungicidas agroquímicos orgánicos o los fungicidas minerales inorgánicos a base de azufre y/o cobre.
- 35 13. Utilización según la reivindicación 12, en la que los agentes fungicidas agroquímicos orgánicos se eligen entre cloronitrilos, carbamatos, ftalimidias, sulfamidias, guanidinas, quinonas, quinoleínas, tiadiazinas, anilidas, hidroxianilidas, fenilamidias, imidazoliononas, oxazolidinedionas, estrobilurinas, cianoimidazoles, fluazinam, diconap, sitiofam, dicarboximidias, fludioxonil, organofosforados, propamocarb HCl, difenilamina, piridilaminas, inhibidores de la biosíntesis de esteroides (IBS), imidazoles, pirimidinas, hidroxipirimidinas, anilopirimidinas, triazoles, espiroxamina, morfolinias y piperidinas, fenhexamida, himexazol, zoxamida, dietofencarb, bencimidazoles, pencicuron, quinoxifeno, iprovalicarb, cimoxanilo, dimetomorfo, fosfonatos, y triazinas.
- 40 14. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levaduras están asociadas además con uno o varios compuestos elicidores de defensas en las plantas elegidos entre el ácido b-aminobutírico, ácido 2,6-dicloroisocotínico, acibenzolar-s-metilo, o ciertos extractos de algas.
- 45 15. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levaduras están en una composición fitosanitaria concentrada, de formulación seca o líquida.
- 50 16. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levaduras son una composición lista para el uso.

17. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levaduras se administran por pulverización foliar o en el suelo.
- 5 18. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levaduras se administran en las raíces por pulverización en el suelo, incorporación mecánica, en mezcla con fertilizantes, abonos, en premezcla, u otros.
19. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levaduras se administran sobre toda o una parte de la planta, elegida entre las hojas, los tallos, las flores, los frutos, el tronco o las raíces.
- 10 20. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levaduras se aplican o se utilizan a una dosis eficaz superior a 1 mg/l de cortezas o paredes de levadura cuando el producto se aplica por pulverización hasta el límite de escurrimiento, o superior a 1 g/ha en el caso de pulverización con bajo volumen de agua.
- 15 21. Utilización según la reivindicación precedente, caracterizada por que las paredes o cortezas de levaduras se aplican o se utilizan a una dosis eficaz comprendida entre 1 y 250 mg/l de cortezas o paredes de levaduras cuando el producto se aplica por pulverización hasta el límite de escurrimiento, o entre 1 y 250 g/ha en el caso de pulverización con bajo volumen de agua.
22. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levaduras se utilizan alternadamente y/o en combinación con uno o varios otros tratamientos.
- 20 23. Utilización según la reivindicación 1, para prevenir o frenar el desarrollo de patógenos resistentes a una familias de sustancias activas, caracterizada por que la planta es tratada por las cortezas o paredes de levadura(s) con vista a reducir la presión de selección de las cepas resistentes a dicha familia de sustancias activas, o por que el(los) tratamiento(s) de la planta con una sustancia de dicha familia de sustancias activas se alterna(n) o combina(n) con un tratamiento(s) de dicha planta con cortezas o paredes de levadura(s).
- 25 24. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, caracterizada por que las paredes o cortezas de levadura(s) derivan de *Saccharomyces cerevisiae*.