

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 496 978**

51 Int. Cl.:

A01N 59/14 (2006.01)

A01N 25/04 (2006.01)

A01P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.12.2008 E 08866196 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.06.2014 EP 2348867**

54 Título: **Composición y procedimiento para el tratamiento de la cercosporiosis del banano**

30 Prioridad:

31.12.2007 EP 07291647

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

22.09.2014

73 Titular/es:

**TOTAL MARKETING SERVICES (100.0%)
24, Cours Michelet
92800 Puteaux , FR**

72 Inventor/es:

**BLACKMAN, GORDON;
BOELS, GAUTHIER y
BUREAU, ERIC**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 496 978 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

Composición y procedimiento para el tratamiento de la cercosporiosis del banano

Campo técnico

5 La invención se refiere a una composición para el tratamiento de las enfermedades criptogámicas de las plantas, a un procedimiento de tratamiento con y para la utilización de dicha composición, a título preventivo y curativo de las enfermedades criptogámicas. En particular, la invención se refiere al tratamiento de las cercosporiosis de los bananos y de los plátanos.

Descripción del estado de la técnica

10 La cercosporiosis negra o enfermedad de las rayas negras del banano causada por el hongo ascomiceto *Mycosphaerella fijiensis* y la cercosporiosis amarilla causada por el hongo ascomiceto *Mycosphaerella musicola* son las enfermedades foliares más destructoras del cultivo bananero. Los ataques reducen la fotosíntesis y, si el número de hojas funcionales es insuficiente entre la floración y la cosecha, el racimo madura en la planta prematuramente, privando así al productor de su comercialización.

15 El control de la enfermedad puede efectuarse utilizando diversos tipos de fungicidas. Los fungicidas de contacto actúan cuando están en contacto con el hongo. Los fungicidas sistémicos deben ser absorbidos por la planta para actuar. El uso de fungicidas permite también luchar eficazmente contra las cercosporiosis en las plantaciones comerciales, pero sus efectos sobre el medio ambiente son preocupantes. Aunque es posible reducir sustancialmente el número de los tratamientos si éstos se practican en el marco de una lucha razonada sobre aviso, las cepas de *Mycosphaerella fijiensis* y de *M. musicola* han desarrollado una resistencia a la mayoría de estos productos en todas las regiones de producción del mundo (bien en América latina, en el Caribe, en África y en Asia).

20 Estos fungicidas sistémicos se aplican en general en combinación con un agente adyuvante, que puede ser un compuesto hidrocarbonado, siendo la mezcla aplicada en forma de emulsión por vaporización sobre las hojas. Aquí, el problema de los compuestos hidrocarbonados es el de la fitotoxicidad de estos compuestos con respecto a los vegetales, pero también la facultad de estos hidrocarburos para dejar pasar suficientemente luz para que el mecanismo de la fotosíntesis no sea perturbado.

25 El modo de activación de *Mycosphaerella fijiensis* comprende la producción de una enzima de degradación de las paredes celulares vegetales, que conlleva la degradación de los tejidos. Esta degradación libera el contenido celular, que sirve de sustrato al desarrollo del microorganismo, permitiendo así el desarrollo de la enfermedad. Se conoce por el documento WO 03/073858 un procedimiento de lucha contra las enfermedades de los vegetales por inhibición de las enzimas extracelulares de los microorganismos contaminantes. Este documento muestra la eficacia del boro, en forma de ácido bórico, en la inhibición de las enzimas degradativas extracelulares. Sin embargo, la composición descrita, obtenida en forma de polvo poco soluble, se aplica en el estado de una solución o de una suspensión acuosa que se pulveriza sobre los vegetales o en la que se los sumerge. Sin embargo, tales soluciones o suspensiones acuosas no convienen por lo tanto para el esparcimiento aéreo en solución. Además, esta composición resultó ser fitotóxica con respecto a algunos vegetales (calabacines) a las concentraciones eficaces. Unos ensayos han mostrado, en efecto, que para obtener el efecto deseado, eran necesarias unas dosis de 530 g/ha, por medio de una solución a 30 g/l de ácido bórico, y que estas dosis tenían por otra parte un efecto negativo sobre el vegetal. Finalmente, su eficacia frente a la cercosporiosis negra no ha sido demostrada.

30 Se conoce por el documento WO 2005/074687 un procedimiento de tratamiento de las enfermedades del banano mediante la aplicación de un antibiótico polieno, preferiblemente la natamicina. Este antibiótico se pone en solución acuosa y después se pulveriza sobre los vegetales o éstos se bañan en la misma. La utilización repetida de tal antibiótico presenta un riesgo de aparición de resistencias y, por lo tanto, es un peligro para los ecosistemas.

35 Se conoce por los documentos EP0263702, EP0263704 y EP0263706 introducir unos complejos metálicos en unos aceites minerales, actuando estos complejos como aditivo dispersante en la composición de aceites lubricantes para motor o en un fuel; sin embargo, estos aceites son de viscosidad demasiado elevada, de 2,5 a 12 cts a 100°C, es decir mucho más allá de 15 cts a 40°C, y de naturaleza demasiado tóxica para ser utilizados en el ámbito de la presente invención.

40 Existe por lo tanto la necesidad de una composición de tratamiento de las enfermedades criptogámicas de las plantas, en particular de las cercosporiosis, que sea fácil a esparcir, sea cual sea el modo de esparcimiento por avión o por sistema de aspersión terrestre, y que no disminuya los mecanismos de la fotosíntesis, que prolongue la duración de acción del principio activo de dicha composición, que no cree resistencia, que sea eficaz a dosis reducida, y que no sea tóxico para el usuario, el vegetal o para el medio ambiente. En particular, existe la necesidad de una composición de tratamiento de las enfermedades criptogámicas de las plantas que presente la eficacia del ácido bórico sin presentar sus efectos fitotóxicos.

Resumen de la invención

La presente invención pretende proporcionar una composición para el tratamiento de las cercosporiosis del banano que no provoque desarrollos de resistencia por parte del hongo que causa la enfermedad. Se refiere también al procedimiento de tratamiento y a la utilización de la composición sobre las hojas de la planta en pre-cosecha y sobre el cojinete de las manos de plátanos. Se entiende por cojinete, la cicatriz dejada después de la separación de las bananas del tronco del racimo.

Según un primer aspecto, la invención se refiere a una composición de tratamiento de las enfermedades criptogámicas de las plantas, aplicable directamente sobre el vegetal, estando esta composición, de manera preferida, adaptada a la cercosporiosis de los bananos y plátanos, tal como la cercosporiosis negra o la cercosporiosis amarilla.

La composición comprende una suspensión en un aceite mineral de viscosidad que varía de 7 a 15 cst a 40°C de un componente activo contra la enfermedad, que comprende un quelato de boro y/o un complejo de boro. Se mide la viscosidad según la norma NF EN ISO 3104 fechada en agosto de 1996. Esta norma prescribe un método de determinación de la viscosidad cinemática de los productos petroleros líquidos opacos y transparentes, mediante la medición del tiempo de flujo de un volumen de producto bajo la acción de su propio peso a través de un viscosímetro capilar de vidrio, y la viscosidad dinámica de este mismo líquido. Estas mediciones son realizadas a diferentes temperaturas y la medida se da en mm²/s o centistokes (cst).

La composición comprende preferiblemente del 0,1 al 50% en volumen del componente activo. Las composiciones según la invención pueden constituir una papilla vaporizable que, cuando se deposita en la superficie de las hojas, constituye una película. Esta película, debido a su viscosidad adaptada, permanece un tiempo suficientemente largo en la superficie de los vegetales tratados, lo que permite al principio activo que contiene penetrar en los vegetales. Se ha constatado incluso que favorecía esta penetración incluso si el propio aceite mineral no penetraba en los vegetales. Además, debido a esta viscosidad adaptada, la película no constituía un filtro que disminuya el proceso de fotosíntesis necesario para el desarrollo normal de los vegetales.

El aceite mineral según la invención es una mezcla de hidrocarburos procedente de un corte petrolífero obtenido por destilación (ASTM D1160, 10 mmHg), para el cual el intervalo de temperatura en el que el 10-90% del aceite se destila es inferior o igual a 50°C y el punto de destilación media al que el 50% del aceite se destila está comprendido entre 170°C y 240°C. La norma ASTM D1160 prescribe un método de destilación al vacío de 10 mm de Hg a fin de establecer la curva de destilación de las mezclas de hidrocarburos petroleros que sean representativas, repetibles y reproducibles.

Una composición preferida según la invención comprenderá del 10 al 25% en volumen del componente activo en la composición. El aceite se seleccionará desprovisto de derivados hidrocarbonados aromáticos, es decir contendrá menos del 0,1% en peso, lo que permitirá utilizar tal composición según la invención en todos los tipos de agricultura, incluso en la agricultura biológica, según las normas en vigor en cada país.

De manera preferida, el aceite mineral es una mezcla de hidrocarburos que comprende más del 50% en peso de parafinas de 15 a 30 átomos de carbono. Más particularmente, está compuesta de más del 50% en peso de parafinas, que comprenden de 19 a 26 átomos de carbono.

Por parafinas, se entienden las parafinas normales y las isoparafinas. En un modo preferido, el aceite mineral según la invención está compuesto también de más del 20% en peso de nafteno.

En la composición según la invención, el componente activo contra la enfermedad comprende preferentemente uno o más constituyentes seleccionados entre el grupo constituido por un quelato de boro, un complejo de boro, el EDTA, las enzimas antifúngicas, un quitosano y el 4-FPBA (ácido 4-formil-fenil-borónico) y sus mezclas en suspensión en agua o en aceite o en solución acuosa.

Un quelato es un complejo organometálico cíclico estable y no ionizado entre un ión metálico (catión) y un agente quelante (o quelador). El quelato se distingue del complejo simple por el hecho de que el metal puede fijarse al agente quelador por al menos dos enlaces de coordinación, en forma de una pinza. Gracias a estos enlaces múltiples, los quelatos son unos complejos particularmente estables. Un agente quelante es un reactivo orgánico que forma unos compuestos de coordinación poco solubles y que contienen al menos dos grupos funcionales. Cada uno de estos grupos es capaz de unirse con un catión mediante la puesta en común de un par de electrones. Estos grupos forman unos anillos de 5 o 6 átomos.

El quelato de boro puede ser obtenido mediante una reacción de quelación del ácido bórico con un agente quelante seleccionado entre el EDTA, el DTPA, el EDDHA, el HEDTA, el EDDHMA, el EDDCHA, el ácido nitriloacético, las poliaminas, los polioles y sus mezclas. Los agentes quelantes preferidos utilizados en la composición de la invención para quelar el boro pueden ser:

- el ácido etilendiamina-tetraacético: EDTA (C₁₀H₁₆O₈N₂)

- el ácido dietilentriammina-pentaacético: DTPA ($C_{14}H_{23}O_{10}N_3$)
 - el ácido etilendiamina-di(o-hidroxifenil acético): EDDHA ($C_{18}H_{20}O_6N_2$)
 - el ácido hidroxí-2-etilendiamina-triacético: HEDTA ($C_{10}H_{18}O_7N_2$)
 - el ácido etildiamina-di(o-hidroxí-p-metilfenil)acético: EDDHMA ($C_{20}H_{24}N_2O_6$)
- 5 - el ácido etilendiamina-di(5-carboxi-2-hidroxifenil)acético: EDDCHA ($C_{20}H_{20}O_{10}N_2$)
- el ácido nitrilotriacético (NTA)
 - las poliaminas
 - los polioles ($C_nH_{2n+2}O_n$) que tienen preferentemente un índice n de 5 ó 6, y
 - las mezclas de estos compuestos.
- 10 El agente quelante es ventajosamente un poliol, preferentemente de C6 o de C5, preferentemente el sorbitol, el manitol, el alcohol furfúrico, o sus mezclas.
- La composición puede comprender unas enzimas antifúngicas seleccionadas entre el grupo constituido por las proteasas, las carbohidrasas, tales como las alfa-amilasas, las β -glucanasas y las xilanasas, y las fosfolipasas, y sus mezclas.
- 15 La composición puede también comprender un quitosano, compuesto por la distribución aleatoria de D-glucosamina unida por β -(1-4) (unidad desacetilada) y N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilada).
- El quitosano puede ser producido por desacetilación química (en medio alcalino) o enzimática de la quitina, componente del caparazón (exoesqueleto) de los crustáceos y de la pared de los hongos. En particular, el de los hongos preferidos es el *Agaricus bisporus*.
- 20 El complejo de boro se puede obtener por una reacción de complejación del ácido bórico con un agente de complejación seleccionado entre las alcanolaminas, preferiblemente la etanolamina, la metanolamina, la propanolamina, y sus mezclas.
- Las alcanolaminas son unos compuestos de fórmula general $OH\text{-}\{CH_2\}_n\text{-}NH_2$. En la presente invención, las alcanolaminas utilizadas son preferiblemente la etanolamina (n=2) o las alcanolaminas que tienen un índice n comprendido entre 1 y 6.
- 25 La composición comprende ventajosamente de 0,05 g/l a 100 g/l de boro. Los solicitantes han observado que, de manera inesperada, tal concentración de boro en la composición era eficaz, sin ser, sin embargo, fitotóxica a las dosis eficaces. El aporte de boro en forma quelatada o complejada permite una mejor estabilización del boro en la planta, una mejor penetración del componente activo y de su transporte en la planta.
- 30 De manera preferida, la composición según la invención comprende también un surfactante. Este surfactante se puede seleccionar entre los surfactantes no iónicos, tales como los etoxilatos de alquilfenol, por ejemplo los etoxilatos de octilfenol, preferentemente el Triton X45.
- Según otro aspecto, la invención se refiere a un procedimiento de aplicación de la composición según la invención para el tratamiento de las enfermedades criptogámicas de las plantas y de los vegetales, más particularmente de la
- 35 *cerosporiosis* de los bananos y de los plátanos.
- Este procedimiento según la invención comprende la pulverización de la composición sobre las hojas y/o sobre los frutos, o el remojo del vegetal o de sus frutos en esta composición.
- El esparcimiento de dicha composición puede llevarse a cabo por vía aérea o terrestre sobre los vegetales en pre-cosecha, o también por vaporización o remojo, sobre las partes sensibles a la contaminación de los vegetales o de los frutos, por ejemplo sobre los cojinetes de racimos de plátanos en la post-cosecha.
- 40 Esta composición y este procedimiento según la invención pueden además ser utilizados tanto en agricultura tradicional como en agricultura biológica, estando el aceite mineral desprovisto de compuestos aromáticos (inferior al 0,1% en peso en la composición) y presentando una ecotoxicidad aceptable.
- 45 Para permitir tales esparcimientos, la composición se obtiene mediante la puesta en emulsión del componente activo contra la enfermedad con el aceite mineral, siendo esta acción realizada antes del esparcimiento.
- Otro objeto de la invención es utilizar el aceite mineral contenido en dicha composición según la invención como vector de transferencia de componentes activos en los vegetales para el tratamiento de las enfermedades criptogámicas de las plantas y de los frutos y/o de las enzimas.

Así, las características del aceite mineral utilizado, en particular su viscosidad y su bajo contenido en hidrocarburos aromáticos hacen de él un elemento determinante en el tratamiento de la enfermedad, ya que favorece el aumento del tiempo de contacto entre el componente activo y el vegetal enfermo, no penetra en el vegetal y no limita haciendo un escudo para los fenómenos de fotosíntesis necesarios para el desarrollo de los vegetales. Así, el aceite mineral se selecciona entre las mezclas de hidrocarburos de viscosidad a 40°C que varía de 7 a 15 cst y preferentemente de 8 a 10 cst, que comprende más del 50% en peso de parafinas de 15 a 30 átomos de carbono y menos del 0,1% en peso de hidrocarburos aromáticos. Los aceites minerales preferidos son los que contienen más del 50% en peso de parafinas que comprenden de 19 a 26 átomos de carbono, permaneciendo el porcentaje de naftenos superior o igual al 20% en peso.

La viscosidad equilibrada del aceite mineral significa también una baja volatilidad. Su tensión superficial explica la mayor persistencia de la capa oleosa sobre las hojas. Se evita por tanto el fenómeno de lavado, que es responsable del consumo excesivo de los fungicidas. La duración óptima de contacto se debe a una evaporación homogénea asociada a un intervalo de destilación estrecho (menos de 50°C). La penetración rápida del componente activo está facilitada por el elevado contenido en parafina del aceite mineral. La estructura molecular de este aceite mineral permite una disolución rápida en la cutícula que protege las hojas.

Sus funciones son, en particular, permitir una distribución uniforme sobre el objetivo (los cigarrillos y las hojas abiertas), aumentar el tiempo de contacto y la penetración del componente activo en la hoja, así como una mejor distribución durante la aplicación, y retrasar el desarrollo de la enfermedad aumentando el tiempo de incubación del hongo. La baja viscosidad de este aceite facilita la aplicación del producto. Se forma una película adhesiva sobre las hojas, lo que permite un buen contacto entre el componente activo contenido en el adyuvante y el hongo, evitando al mismo tiempo el lavado del producto por las lluvias o el riego. No se opone ningún escudo que limite los mecanismos de la fotosíntesis.

Se discutirán otros aspectos y ventajas de formas de ejecución de la invención en referencia a las figuras y a la descripción detallada de las formas de ejecución preferidas.

Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es una fotografía de cajas de Petri al final de un ensayo de seis días de crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis*.

La figura 2 representa el consumo de O₂ en medio acuoso, en mg/l, en unas botellas que contienen una solución inoculada con *Mycosphaerella fijiensis* y tratadas con una composición del estado de la técnica y varias composiciones según la invención.

La figura 3 representa el estado de evolución de la enfermedad (EE) a lo largo del tiempo, para cuatro ensayos efectuados en el campo.

Las figuras 4 y 5 representan respectivamente la hoja necrosada más joven (PJFN) y la hoja atacada más joven (PJFT) a lo largo del tiempo, para los mismos cuatro ensayos efectuados en el campo.

La figura 6 es un gráfico que representa el crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis* en cuatro series de cajas de Petri, respectivamente solo, en presencia de aceite mineral solamente, en presencia de un complejo quelatado de boro solo, y finalmente de una composición según la invención.

La figura 7 representa el consumo de O₂ en medio acuoso, en mg/l, en unas botellas que contienen una solución inoculada con *Mycosphaerella fijiensis* y tratadas con varias composiciones.

Descripción detallada de la invención

Ejemplo 1

Se efectuó una primera serie de ensayos en laboratorio para seleccionar los inhibidores de enzimas extracelulares utilizables para esta aplicación. Se realizó un ensayo en cajas de Petri con el objetivo de seguir el desarrollo del hongo *Mycosphaerella fijiensis*. Se prepara una composición A que contiene 105 g/l de boro complejado por 180 g/l de una alcanolamina y quelatado por 180 g/l de polioles y una composición B que contiene 100 g/l de boro complejado por 360 g/l de etanolamina. Se prepara por otro lado un aceite mineral constituido del 56% de parafinas y del 44% de naftenos. Este aceite mineral tiene una viscosidad a 40°C de 8,7 cst medida según la norma NF EN ISO 3104 de agosto de 1996, y está constituido de un corte petrolífero obtenido por destilación, para el cual el intervalo de temperaturas al que el 10 al 90% se destila es de 16°C y el punto de destilación media al que el 50% del aceite se destila es de 197°C.

La composición 1 según la invención comprende el 30% en volumen de composición A y el 70% en volumen de aceite mineral.

La composición 2 según la invención comprende el 30% en volumen de composición B y el 70% en volumen de aceite mineral.

Los polioles utilizados son preferentemente unos polioles de C6 o de C5, y de manera preferida estos polioles son el sorbitol, el manitol, y sus mezclas. El polirol utilizado es, por ejemplo, una mezcla de polioles a base de sorbitol y de manitol.

5 El ensayo se efectuó en las condiciones siguientes. Se transfieren diez fragmentos de micelio a un tubo de ensayo que contiene 10 ml de agua destilada estéril y se agitan en un vórtice durante un minuto para fragmentarlos. Se extrae 1 ml de esta suspensión y se extiende uniformemente en unas cajas de Petri que contienen un medio de cultivo V8. Los cultivos se mantienen a una temperatura comprendida entre 20 y 25°C con un ciclo luminoso 12/12. La preparación del medio de cultivo se realiza de la siguiente manera:

* agar (20 g/l);

10 * jugo de verdura V8 (100 ml/l de jugo de verdura);

* CaCO₃ (0,2 g/l);

* agua desmineralizada (900 ml).

15 El medio se lleva después a 80°C con la ayuda de una placa calentadora a fin de disolver el agar. Se deja enfriar el medio y después se lleva a pH 6 con la ayuda de sosa si es necesario. El medio se pasa después en autoclave durante 20 minutos a 120°C. Se añaden 40 mg/l de estreptomycin y 60 mg/l de penicilina cuando el medio se ha enfriado.

20 Se preparan quince cajas. Antes de la adición del medio de crecimiento, se añade un 1% en volumen de la composición 1 según la invención para cinco de ellas y se añade un 1% en volumen de la composición 2 según la invención para otras cinco de ellas. Las cinco últimas se utilizan como referencia. Se inocula después cada caja mediante una muestra de *Mycosphaerella fijiensis*, soportada en un pedazo de agar. El crecimiento del hongo se observa visualmente a 25°C en fotoperiodos 12/12.

25 Los resultados de los ensayos sobre cajas de Petri se indican en la figura 1. A la izquierda, se observan dos de las cinco cajas de Petri de referencia, y a la derecha se observan dos de las cajas de Petri en las que se han añadido cada una de las composiciones 1 y 2, después de seis días. En la caja de la parte superior a la derecha de la figura 1, se ha añadido la composición 1, y en la caja de la parte inferior a la derecha de la figura 1, se ha añadido la composición 2. El resultado es claro. En las cajas que contienen los inhibidores, no se observa ningún desarrollo del hongo, mientras que en las cajas de referencia, el microorganismo coloniza el medio de cultivo. La presencia de cada una de las dos composiciones 1 y 2 según la invención previene por lo tanto el crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis* en el medio de crecimiento.

30 Ejemplo 2

35 El segundo ensayo, en medio líquido, se efectúa con el mismo medio de crecimiento, pero sin agar. Este medio se esteriliza en autoclave, y se añade un 1% en volumen de las composiciones 1 ó 2 según la invención utilizadas en el ejemplo 1 respectivamente en las muestras tratadas. Se prepara un tercer tratamiento añadiendo al medio un 1% en volumen de la composición 1 y 1 g/l de EDTA (composición 3). Este medio se dispone en unas botellas esterilizadas cerradas provistas de un dispositivo manométrico electrónico (OXITOP EC100). Se utilizan dos botellas para cada tratamiento y dos botellas sirven de referencia, es decir que no están tratadas. Todas las botellas son inoculadas con *Mycosphaerella fijiensis* y puestas en incubación a 25°C en fotoperiodos 12/12. El dispositivo manométrico permite medir el consumo de oxígeno en las botellas. Este consumo puede ser directamente relacionado con el crecimiento del microorganismo.

40 Los resultados de ensayos en medio líquido son indicados en la figura 2 que representa el consumo de O₂ en mg/l a lo largo del tiempo en horas, para las botellas que contienen diversas composiciones. En esta figura, el ensayo de referencia (sin tratamiento) se indica por un cuadro inclinado a 45°.

La figura 2 representa un ensayo comparativo del efecto de las composiciones siguientes sobre el crecimiento del microorganismo:

45 Cuadrados: composición 1 (1%);

Triángulos: composición 2 (1%);

Cruz: composición 3 = composición 1 (1%) con EDTA (1 g/l);

50 Durante las cien primeras horas, el crecimiento es similar en las cuatro muestras. Después de este periodo, el *Mycosphaerella fijiensis* se desarrolla mucho más en el tratamiento de referencia. La presencia de las composiciones según la invención inhibe por lo tanto el crecimiento del microorganismo en una solución líquida de nutrimento.

Ejemplo 3

Se han realizado también unos ensayos de campo en Camerún. Estos ensayos se efectuaron durante un periodo de 4 meses, sobre una superficie de 0,5 ha, con 130 bananos por ensayo. Los tratamientos se aplicaron a un ritmo de 10 días de intervalo. El cultivo de banano utilizado es el Gran enano (Cavendish, AAA) que es muy sensible a la cercosporiosis negra. Este ensayo permitió comparar la acción de una composición de la invención con una referencia negativa (sin tratamiento) y dos referencias positivas (dos fungicidas clásicos). Se utilizaron como referencias positivas el fungicida de contacto PENNCOZEB 75 DG (Mancoceb): (ditiocarbamato) y el fungicida sistémico IMPULSE 800 EC (espiroxamina) (espirocetalaminas).

La composición 4 según la invención contiene un 1% en volumen de la composición A del ejemplo 1, es decir una composición que contiene 105 g/l de boro complejado por 180 g/l de una alcanolamina y quelatado por 180 g/l de polioles, el 98% en volumen de aceite mineral del ejemplo 1 y el 1% en volumen de Triton X45. El aceite mineral es el utilizado en los ejemplos 1 y 2. Tiene una viscosidad a 40°C de 8,7 cst. Está constituida por un 56% de parafinas y un 44% de naftenos.

Tratamientos aplicados:

* T1: no tratado;

* T2: referencia 1: PENNCOZEB 75 DG (Mancoceb) 2kg/ha (1.6 kg m.a./ha) + agua (20 l/ha);

* T3: composición 4 según la invención;

* T4: referencia 2: IMPULSE 800 EC (Espiroxamina), 0,4 l/ha (320 g m.a/ha) + aceite mineral (19,6 l/ha).

Los tratamientos son aplicados mediante un atomizador llevado en la espalda de un hombre (atomizador STIHL o SOLO), a 20 l/ha. La superficie total fue de 0,5 ha e incluía 805 bananos, siendo utilizados 130 bananos para cada uno de los tratamientos. Los tratamientos no se repitieron, y se aplicaron de manera aleatoria en el campo. En cada uno de los grupos, diez plantas fueron objeto de una observación detallada.

En los bananos observados, se determinaron los valores de los tres parámetros siguientes cada semana:

* el estado de la evolución de la enfermedad,

* la hoja atacada más joven, y

* la hoja más joven necrosada.

El estado de la evolución de la enfermedad (EE, o Disease Development en inglés DD) corresponde al nivel de infestación y está basado en el número total de hojas, la altura del cigarro, el nivel de desarrollo de la enfermedad para las hojas II, III, IV. Calculado según la observación de las hojas: la relación "número de hojas" - "estado de la enfermedad" da un coeficiente como se indica en la tabla siguiente:

Tabla 1

Estado de la enfermedad		Hoja número		
		II	III	IV
1	-	60	40	20
	+	100	80	60
2	-	100	80	60
	+	140	120	100
3	-	140	120	100
	+	180	160	140
4	-	180	160	140
	+	200	200	180
5	-	220	200	180
	+	260	240	220
6	-	260	240	220
	+	300	280	260

El estado de evolución de la enfermedad (EE) se da mediante la expresión:

$$EE = SEV \times REFi$$

5 en la que SEV = SB - CE, en la que CE es el correctivo del estado cigarro (hojas en curso de desarrollo) y SB es la suma de los coeficientes para cada hoja observada, y

en la que REFi es el ritmo de emisión foliar (Foliar Emission Rhythm), es decir el número de hojas emitidas entre dos series de observaciones, generalmente 7 días (media efectuada sobre los 10 bananos).

10 La hoja más joven atacada ((PJFT, en inglés Youngest Leaf Attacked YLA) es la hoja más joven que presenta la fase 1 de la enfermedad, y la hoja más joven necrosada (PJFN, en inglés Youngest Leaf Spotted YLS) es la hoja más joven que presenta la fase 4, 5 ó 6 de la enfermedad. Estos dos últimos parámetros aumentan cuando las condiciones sanitarias en el campo se mejoran.

Los ensayos se efectuaron durante un periodo de 4 meses. Los tratamientos se efectuaron de la siguiente manera:

Tabla 2

Tratamiento	Días entre dos tratamientos
1	0
2	11
3	14
4	7
5	14
6	8
7	12
8	8
9	9
10	5

15 En el caso de ensayos efectuados en el campo, el experimentador no domina las condiciones del ensayo, y sus resultados deben por lo tanto ser interpretados a la luz de las condiciones efectivas del ensayo (condiciones climáticas, presión de la enfermedad). Para estos ensayos efectuados en el campo, representados en las figuras 3 a 5, los resultados para los cuatro tratamientos aplicados, T1 a T4, son muy similares hasta la semana 7 o incluso a la semana 12. Esto se debe a una baja presión de la enfermedad durante este periodo. Las medias de los resultados
 20 recogidos durante este primer periodo de ensayo no muestran diferencia significativa entre los tratamientos. Pero como los resultados de las primeras semanas no muestran ninguna tendencia, y muestran incluso la referencia negativa (T1 - no tratado) como el mejor tratamiento durante las cuatro primeras semanas, se debe de tener cuidado con una interpretación completa de los resultados. Se ha observado que la presión de la enfermedad aumentó a partir de la semana 12 cuando el desarrollo de la enfermedad se volvió significativo. Este periodo, durante el cual
 25 prevaleció una fuerte presión de la enfermedad, es más representativo del efecto de los tratamientos. Se pueden observar entonces unas tendencias: tanto para el parámetro EE (figura 3) como para los parámetros PJFT y PJFN (figuras 4 y 5), se observa que las plantas tratadas por medio de la composición a ensayar indican una reducción del desarrollo de la enfermedad en comparación con la referencia negativa (T1). Además, la curva relativa al tratamiento T3 efectuado con la composición 4 según la invención es similar a la relativa al fungicida sistémico IMPULSE +
 30 aceite mineral (T4) y superior a la del fungicida de contacto PENNCOZEB + agua (T2). La composición según la invención constituye por lo tanto una alternativa a los productos conocidos, también eficaz, pero que no presenta los inconvenientes de éstos.

35 Este análisis aparece más claramente en las tablas siguientes. Si se observa todo el periodo cubierto por los ensayos, las diferencias entre tratamientos son escasas, y los resultados observados para el tratamiento T3 con la composición 4 según la invención no son mejores. Sin embargo, si se observan los resultados durante el último mes de los ensayos, aparecen diferencias, y los resultados de la composición a ensayar se aproximan a las observaciones de la figura 3. La tabla 3 siguiente representa las medias de los tres parámetros estudiados (EE, PJFT, PJFN), efectuadas durante toda la duración del ensayo.

Tabla 3

Tratamiento	EE	PJFN	PJFT
T1 - Referencia no tratada	2410	6,1	3,1
T2 - PENNCOZEB	1480	6,5	3,2
T3 - Composición 4 (invención)	1759	6,2	3,0
T4 - IMPULSE	1269	7,0	3,3

La tabla 4 siguiente representa las medias de los tres mismos parámetros estudiados, efectuadas durante el último mes de los ensayos. Se observa una diferencia significativa entre las plantas tratadas y la referencia no tratada.

5

Tabla 4

Tratamiento	EE	PJFN	PJFT
T1 - Referencia no tratada	4692	4,4	2,3
T2 - PENNCOZEB	2992	5,7	2,7
T3 - Composición 4 (invención)	2235	6,4	2,6
T4 - IMPULSE	1957	7,0	2,8

10

Los ensayos en laboratorio muestran claramente la aplicabilidad y el potencial de la utilización de una formulación según la invención para el control de las cercosporiosis. En efecto, estos ensayos muestran la inhibición del organismo patógeno *Mycosphaerella fijiensis*. Los resultados de los ensayos de campo muestran un efecto con respecto a la referencia negativa, y unos resultados parecidos a los de los fungicidas clásicos. Además, los ensayos relativos a la formulación según la invención se efectuaron en unas parcelas cerca de otros ensayos que incluyen una inoculación por *Mycosphaerella fijiensis*. Esta inoculación pudo crear, por contaminación aérea, una presión de la enfermedad más importante sobre las zonas tratadas con la composición 4 según la invención.

15

Los ensayos efectuados muestran por lo tanto una cierta eficacia. Esta eficacia es valorizable ya que la formulación según la invención se presenta como un medio de lucha alternativo destinado a ser integrado en un programa de lucha completa, y no como un medio de sustitución a los tratamientos actuales. Permite aportar una solución nueva y disminuir la presión de los tratamientos fungicidas clásicos. Además, presenta unas ventajas importantes con respecto a estos tratamientos. En efecto, la formulación según la invención limita el desarrollo de la enfermedad actuando sobre las enzimas extracelulares producidas por los microorganismos patógenos y no sobre el propio microorganismo. Este modo de acción lo diferencia de los fungicidas clásicos, que actúan matando al hongo. La ventaja de este método es que va a permitir evitar el desarrollo de resistencia de los hongos con respecto a los tratamientos aplicados. Este desarrollo de resistencia es un problema principal de los cultivos actuales y es particularmente evidente en el cultivo del banano. En efecto, *Mycosphaerella fijiensis* ha desarrollado unas resistencias a la casi totalidad de los fungicidas sistémicos que existen en el mercado.

25

Por otra parte, además de un modo de aplicación simple e idéntico a las técnicas actualmente utilizadas, la formulación según la invención presenta otras ventajas importantes con respecto a los tratamientos clásicos: la ausencia de toxicidad para los usuarios y para el medio ambiente. La formulación es no tóxica, no fitotóxica, biodegradable y sin remanencia en el medio ambiente. Es utilizable, entre otras, en agricultura biológica según las normas europeas. Un tratamiento de las plantas con esta formulación presenta una mayor seguridad para el usuario y el medio ambiente con respecto a un fungicida clásico.

30

Ejemplo 4

En este ejemplo, se han realizado unos ensayos de dos tipos para mostrar el desarrollo del *Mycosphaerella fijiensis*; los primeros sobre cajas de Petri al aire, los segundos en las botellas cerradas para medir el consumo de oxígeno en medio cerrado.

35

Para los ensayos realizados sobre cajas de Petri, se prepara una composición A y un aceite mineral tales como se describen en el ejemplo 1. La composición 5 según la invención comprende un 50% en volumen de composición A y un 50% en volumen de aceite mineral.

40

El primer tipo de ensayo se efectuó en las condiciones descritas en el ejemplo 1. Se prepararon ocho cajas de ensayo. Antes de la adición del medio de crecimiento, se añade un 0,5% en volumen de la composición 5 según la invención para dos de ellas, un 0,25% en volumen de la composición A para otras dos de ellas y un 0,25% en

volumen de aceite mineral para otras dos de ellas. Las dos últimas se utilizan como referencia y contienen sólo la suspensión de micelio y el medio de crecimiento. El crecimiento del hongo se sigue a 25°C en fotoperiodos 12/12. Después de 14 días, se efectúa un recuento de los puntos de desarrollo del micelio para cada caja de Petri y se calcula la media para cada tratamiento. Los resultados de los ensayos se indican en la figura 6.

- 5 Las cajas que contienen el aceite mineral presentan de media un desarrollo de micelios elevado (87,5 puntos de desarrollos) y próximo a la referencia (91). Las cajas que contienen la composición A presentan de media un desarrollo más bajo (22). Finalmente, las cajas que contienen la composición 5 según la invención presentan el desarrollo del micelio más bajo (4,5). El efecto de inhibición de este último tratamiento es superior a la suma de los efectos de los tratamientos anteriores, demostrando un efecto sinérgico de la mezcla de la composición A y del aceite mineral.
- 10

- El segundo tipo de ensayo, en medio líquido, se efectúa con el mismo medio de crecimiento, pero en ausencia de agar. Este medio es esterilizado en autoclave y guardado en unas botellas esterilizadas provistas de un dispositivo manométrico electrónico (OXITOP EC100), dos botellas para cada tratamiento. Los diferentes tratamientos son idénticos al experimento anterior sobre caja de Petri. La dosificación de las composiciones A y del aceite mineral son cada una de 0,75% en volumen, la dosificación de la composición 5 según la invención del 1,5% en volumen. Todas las botellas son inoculadas con *Mycosphaerella fijiensis* y puestas en incubación a 25°C en fotoperiodos 12/12. El dispositivo manométrico permite medir el consumo de oxígeno en las botellas. Este consumo puede relacionarse directamente con el crecimiento de microorganismo. Los resultados de los ensayos en medio líquido son indicados en la figura 7.
- 15

- 20 La inhibición del crecimiento del hongo más marcada se obtiene para la composición 5 según la invención. El aceite mineral ralentiza sólo el inicio del crecimiento de *Mycosphaerella fijiensis*, mientras que la composición A provoca una inhibición ciertamente importante, pero claramente mejorada por la mezcla con el aceite.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición para el tratamiento de las enfermedades criptogámicas de las plantas, caracterizada por que comprende una suspensión en un aceite mineral de viscosidad medida según la norma NF EN ISO 3104 que varía de 7 a 15 cst a 40°C de un componente activo que comprende un quelato de boro y/o un complejo de boro, y por que el aceite mineral es una mezcla de hidrocarburos procedente de un corte petrolífero obtenido por destilación (ASTM D160, 10 mmHg), para el cual el intervalo de temperatura al que el 10% al 90% del aceite se destila es inferior o igual a 50°C y el punto de destilación media al que el 50% del aceite se destila está comprendido entre 170 y 240°C, comprendiendo dicho aceite mineral menos del 0,1% en peso de compuestos aromáticos.
- 10 2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que contiene del 0,1 al 50% en volumen del componente activo.
3. Composición según la reivindicación 2, caracterizada por que contiene del 10 al 25% en volumen del componente activo.
- 15 4. Composición según una de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que el aceite mineral es una mezcla de hidrocarburos que comprende más del 50% en peso de parafinas de 15 a 30 átomos de carbono, y menos del 0,1% en peso de derivados hidrocarbonados aromáticos.
5. Composición según una de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que el aceite mineral está compuesto de más del 50% en peso de parafinas que comprenden de 19 a 26 átomos de carbono.
- 20 6. Composición según una de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizada por que el componente activo comprende uno o varios constituyentes seleccionados entre el grupo constituido por un quelato de boro, un complejo de boro, el EDTA, una enzima antifúngica, el quitosano, el 4-FPBA, y sus mezclas.
7. Composición según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada por que la composición comprende de 0,05 a 100 g/l de boro.
- 25 8. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 7, caracterizada por que el quelato de boro es susceptible de ser obtenido por una reacción de quelatación del ácido bórico con un agente quelante seleccionado entre EDTA, DTPA, EDDHA, HEDTA, EDDHMA, EDDCHA, el ácido nitrilotriacético, las poliaminas, los polioles, y sus mezclas.
9. Composición según la reivindicación 8, caracterizada por que el agente quelante es un polioliol, preferentemente de C6 o de C5, preferentemente el sorbitol, el manitol, el alcohol furfúrico, y sus mezclas.
- 30 10. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada por que el complejo de boro es susceptible de ser obtenido por una reacción de complejación del ácido bórico con un agente complejante, dicho agente complejante es una alcanolamina seleccionada preferiblemente entre la etanolamina, la metanolamina, la propanolamina, y sus mezclas.
- 35 11. Composición según la reivindicación 10, caracterizada por que las enzimas antifúngicas se seleccionan entre el grupo constituido por las proteasas, las carbohidrasas, tales como las alfa-amilasas, las β -glucanasas y las xilanasas, y las fosfolipasas, y sus mezclas.
12. Composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizada por que comprende un surfactante no iónico, preferentemente dicho surfactante no iónico es un etoxilato de octilfenol.
- 40 13. Procedimiento de aplicación sobre los vegetales de la composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, para el tratamiento de las enfermedades criptogámicas de las plantas.
14. Procedimiento según la reivindicación 13, caracterizado por que comprende la pulverización de la composición sobre las hojas y/o sobre los frutos, o el remojo del vegetal o de sus frutos en dicha composición.
- 45 15. Utilización de la composición según una de las reivindicaciones 1 a 12, para la agricultura biológica.
16. Utilización del aceite mineral de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, como vector de transferencia del componente activo en los vegetales para el tratamiento de las enfermedades criptogámicas de las plantas y de los frutos y/o de enzimas.

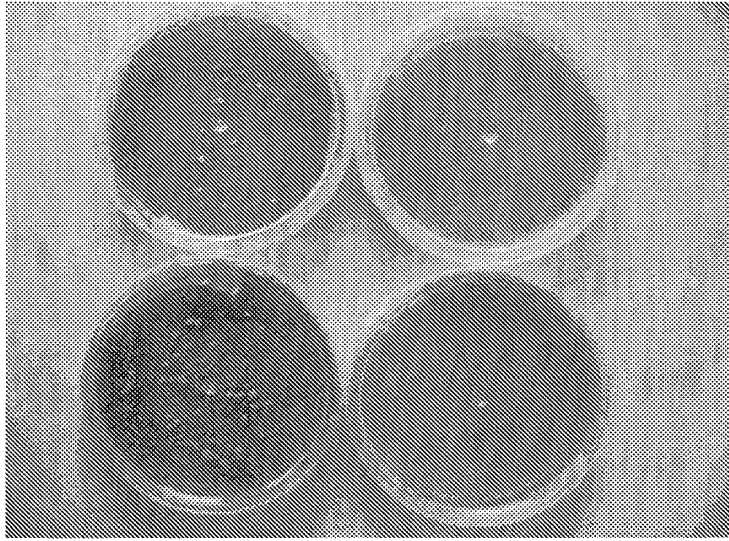


FIG. 1

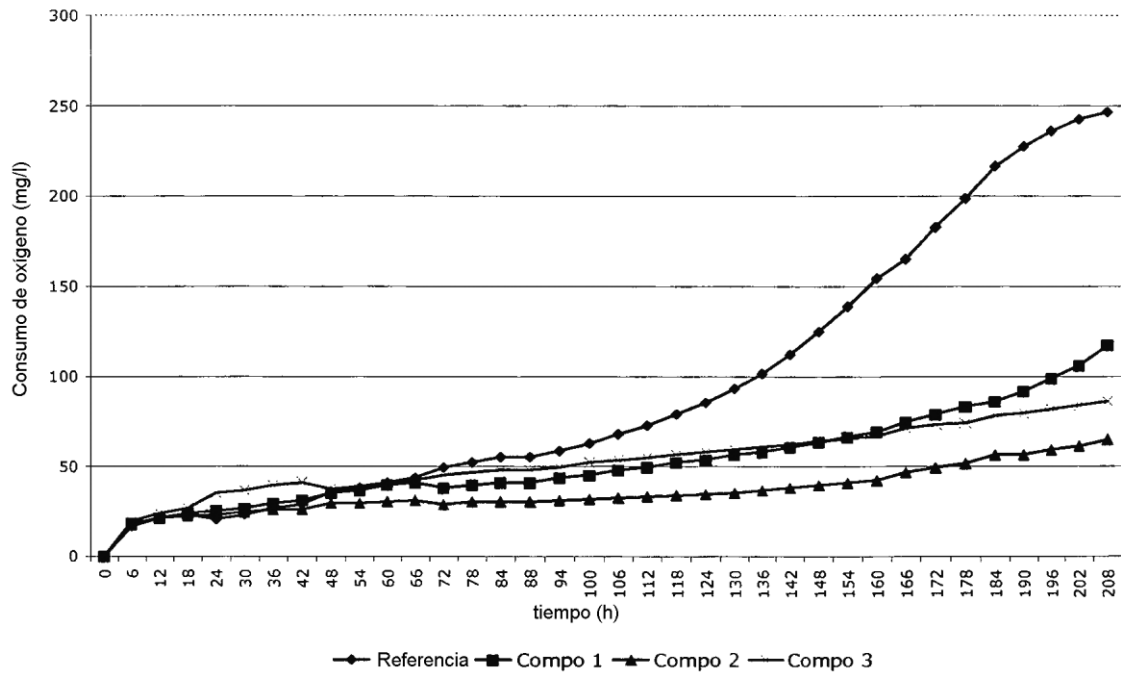


FIG. 2

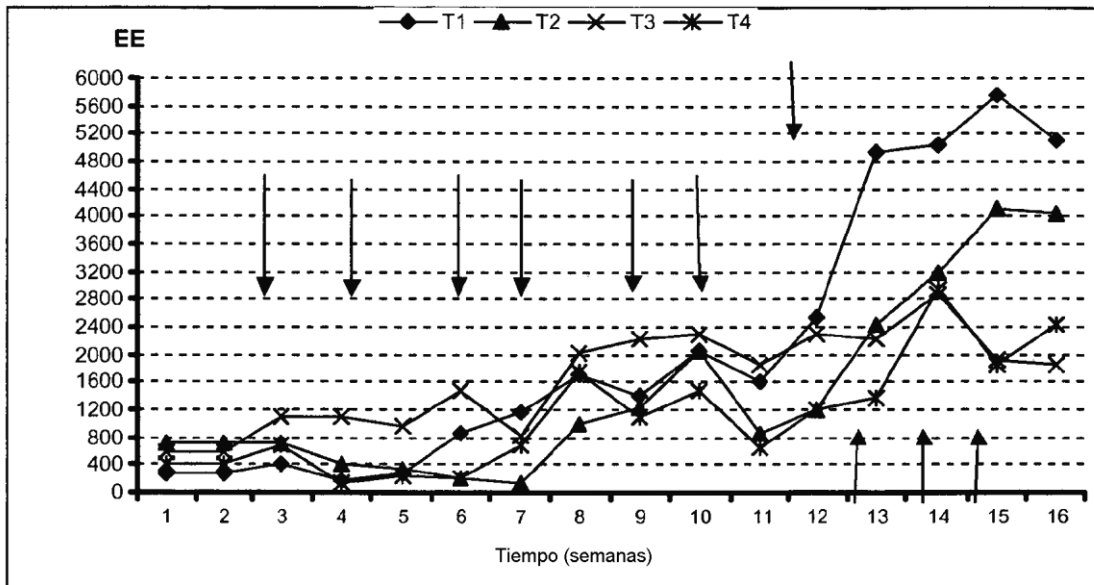


FIG. 3

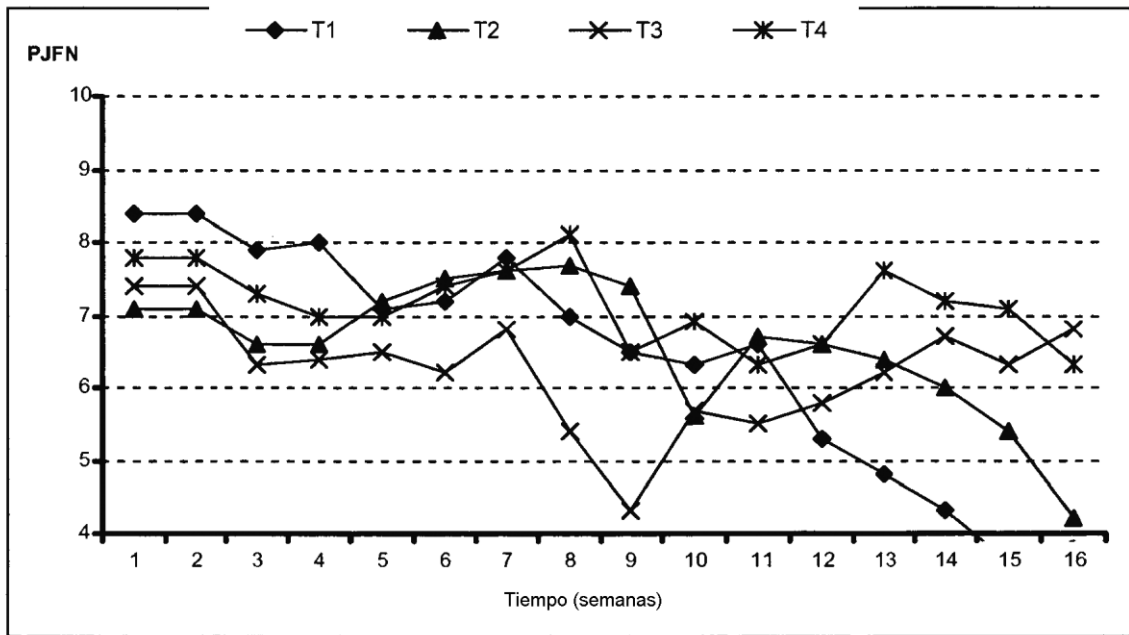


FIG. 4

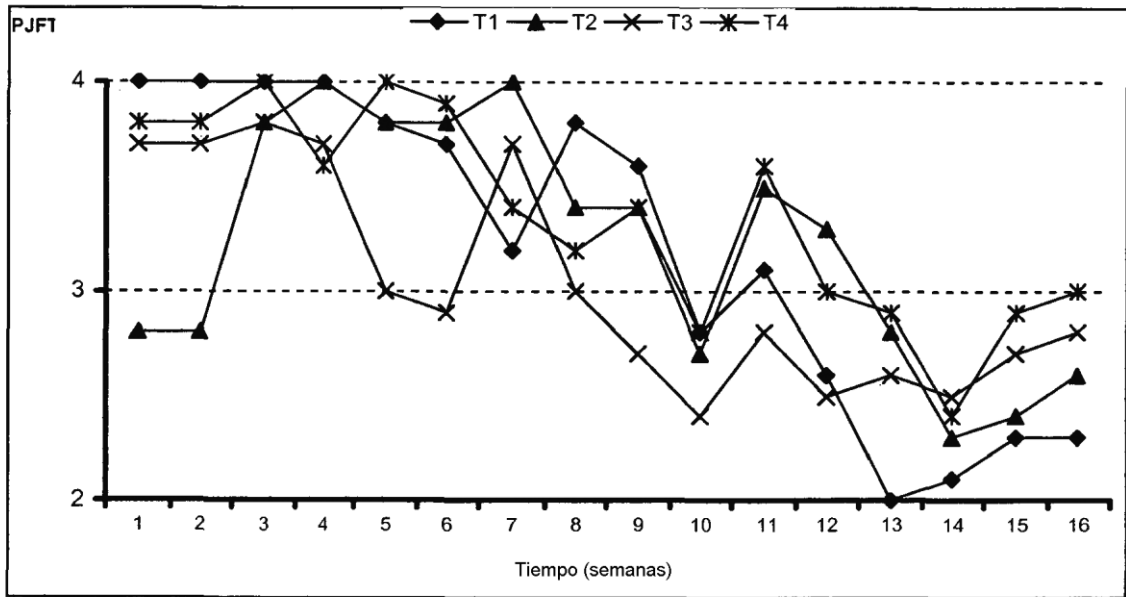


FIG. 5

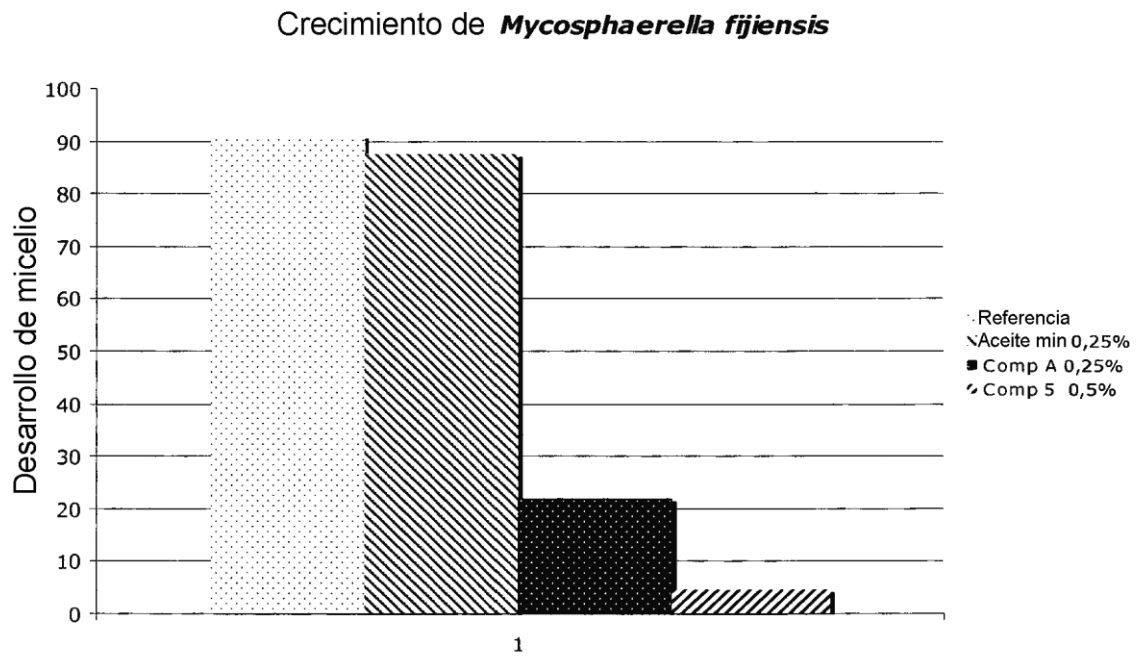


FIG. 6

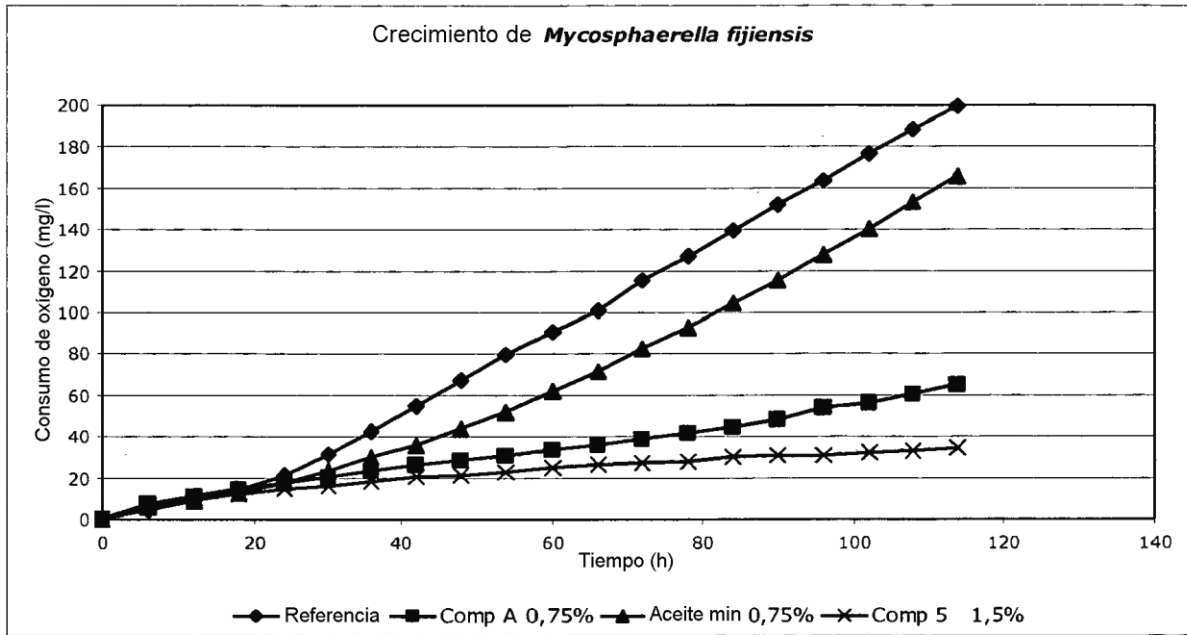


FIG. 7