

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 552 820**

51 Int. Cl.:

**A01P 3/00** (2006.01)

**A01N 37/24** (2006.01)

**A01N 43/24** (2006.01)

**A01N 61/00** (2006.01)

**A01N 43/40** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.05.2009 E 09767406 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.11.2015 EP 2296467**

54 Título: **Métodos para combatir patógenos fúngicos QoI-resistentes**

30 Prioridad:

**30.05.2008 US 130431 P**

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

**02.12.2015**

73 Titular/es:

**DOW AGROSCIENCES LLC (100.0%)  
9330 Zionsville Road  
Indianapolis, IN 46268-1054, US**

72 Inventor/es:

**CARSON, CHRIS;  
KLITTICH, CARLA;  
OWEN, WILLIAM, JOHN;  
SCHOBERT, CHRISTIAN y  
YOUNG, DAVID**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 552 820 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

Métodos para combatir patógenos fúngicos QoI-resistentes

### Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reclama el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional U.S. N° 61/130.431, presentada el 30 de Mayo de 2008, la cual está expresamente incorporada como referencia en la presente memoria.

### Campo de la invención

Esta invención se refiere a métodos adecuados para combatir patógenos vegetales fúngicos que son resistentes a inhibidores Qo.

### Antecedentes y compendio de la invención

10 Los fungicidas inhibidores Qo se usan de manera convencional para combatir un número de patógenos fúngicos en cultivos. Los inhibidores Qo generalmente funcionan inhibiendo la respiración al unirse a un centro de oxidación de ubihidroquinona de un complejo citocromo bc1 en mitocondria. Dicho centro de oxidación está localizado en el lado externo de la membrana mitocondrial interna. Un ejemplo principal del uso de los inhibidores Qo incluye el uso de, por ejemplo, estrobilurinas sobre trigo para combatir *Septoria tritici* (código Bayer: SEPTTR, también conocido como  
15 *Mycosphaerella graminicola*), que es la causa de la mancha de la hoja de trigo. Desafortunadamente, el uso extendido de tales inhibidores Qo ha dado como resultado la selección de patógenos mutantes, que contienen una única sustitución de residuo de aminoácidos en su complejo citocromo bc1, que son resistentes a inhibidores Qo. Véase, por ejemplo, Lucas, J., "Resistance to QoI fungicides: implications for cereal disease management in Europe", *Pestice Outlook* (2003), 14(6), 268-70 (el cual está expresamente incorporado por referencia en la presente memoria) y Fraaije, B.A. et al., "Role of ascospores in further spread of QoI-resistant cytochrome b alleles (G143A) in field populations of *Mycosphaerella graminicola*", *Phytopathology* (2005), 95(8), 933-41 (el cual está expresamente incorporado por referencia en la presente memoria). Por tanto, se desean nuevos métodos y composiciones para combatir las enfermedades inducidas por patógeno en cultivos que comprenden plantas sometidas a patógenos que son resistentes a inhibidores Qo.

25 Afortunadamente, la presente invención proporciona nuevos métodos de control de una enfermedad inducida por patógeno en una planta donde el patógeno es resistente a un inhibidor Qo. Los métodos inventivos comprenden poner en contacto una planta en riesgo de enfermar por un patógeno que es resistente a un inhibidor Qo con una composición que comprende una cantidad eficaz de inhibidor Qi. Los inhibidores Qi generalmente funcionan inhibiendo la respiración al unirse a un centro de oxidación de ubihidroquinona de un complejo citocromo bc1 en mitocondria, estando dicho centro de oxidación localizado en el lado interno de la membrana mitocondrial interna. Los inhibidores Qi adecuados incluyen los seleccionados a partir del grupo que consiste en antimicinas A y sus imitadores ("mimics") sintéticos, tales como las N-formilaminosalicilamidas (FSAs) descritas en el documento WO 9927783, la picolinamida UK2A que se da de manera natural tal como se describe en el *Journal of Antibiotics*, Ejemplar 49(7), páginas 639-643, 1996, picolinamidas sintéticas y semisintéticas tales como las descritas en los  
35 documentos WO 0114339 y WO 0105769, prodrogas, mezclas racémicas, óxidos, sales de adición, complejos de metal o metaloide y derivados de los mismos. En otra realización, un método adecuado de control de una enfermedad inducida por patógeno en un cultivo comprende primero identificar una o más plantas en el cultivo que estén en riesgo de enfermar por un patógeno resistente a un inhibidor Qo y a continuación poner en contacto el cultivo con una composición que comprende una cantidad eficaz de un inhibidor Qi. Las Composiciones adecuadas para combatir una enfermedad inducida por patógeno en un cultivo que comprende una o más plantas en riesgo de enfermar a partir de una población mezclada de patógenos resistentes a un inhibidor Qo y patógenos sensibles a un inhibidor Qo incluyen composiciones que comprenden una cantidad eficaz de un inhibidor Qo y una cantidad eficaz de un inhibidor Qi.

### Descripción detallada de la invención

45 Definiciones generales

"Composición", tal como se usa en la presente memoria, incluye una mezcla de materiales que comprende la composición, así como los productos de reacción y los productos de descomposición formados a partir de los ingredientes o materiales de la composición.

50 "Inhibidor Qo", tal como se usa en la presente memoria, incluye cualquier sustancia que es capaz de disminuir y/o inhibir la respiración al unirse a un centro de oxidación de ubihidroquinona de un complejo citocromo bc1 en mitocondria. El centro de oxidación generalmente está localizado en el lado externo de la membrana mitocondrial interna.

"Enfermedad inducida por patógeno", tal como se usa en la presente memoria, incluye cualquier estado anormal que daña una plata y reduce su productividad o utilidad para el hombre en donde dicho estado está causado por un

patógeno. Los síntomas típicos pueden incluir anomalías visibles tales como marchitamientos, pudrimentos y otros tipos de muerte de tejido, atrofia, crecimiento excesivo o color anormal.

5 “Inhibidor Qi”, tal como se usa en la presente memoria, incluye cualquier sustancia que es capaz de disminuir y/o inhibir la respiración al unirse a un centro de oxidación de ubihidroquinona de un complejo citocromo bc1 en mitocondria. El centro de oxidación generalmente está localizado en el lado interno de la membrana mitocondrial interna.

#### Procesos

10 La presente invención se refiere a métodos de control de una enfermedad o enfermedades inducidas por patógeno en una o más plantas. Los procesos de la presente invención con frecuencia son eficaces en combatir dichas enfermedades en plantas que son susceptibles a un patógeno fúngico que es al menos parcialmente resistente a un inhibidor Qo. No es particularmente importante cómo dicho patógeno vegetal desarrolló la resistencia al menos parcial a inhibidores Qo pero con frecuencia la resistencia se debe a una mutación tal como se describe en *Pest Management Science*, Ejemplar 58(7), páginas 649-662, 2002, por ejemplo, en el caso de *Septoria tritici* (SEPTTR) que causa la mancha de la hoja de trigo, una mutación G143A, en la cual una glicina en posición 143 de la secuencia de aminoácidos del citocromo b está reemplazada por una alanina, puede volver al SEPTTR al menos parcialmente resistente a un inhibidor Qo convencional. Otras de tales mutaciones en patógenos vegetales específicos incluyen, por ejemplo, una mutación F129L en la cual una fenilalanina en posición 129 está reemplazada por una leucina.

20 Los métodos inventivos comprenden poner en contacto una planta en riesgo de enfermar por un patógeno que es resistente a un inhibidor Qo con una composición que comprende una cantidad eficaz de un inhibidor Qi. Las plantas en riesgo de enfermar por un patógeno que es resistente a un inhibidor Qo se pueden identificar observando una capacidad disminuida para combatir el patógeno cuando se emplea un inhibidor Qo. Alternativamente, los patógenos inhibidor Qo resistentes se pueden identificar ensayando una mutación genética que afecta a la unión a un centro de oxidación de ubihidroquinona de un complejo citocromo bc1 en mitocondria en donde el centro de oxidación está localizado en el lado externo de la membrana mitocondrial interna. Tal ensayo puede consistir en la extracción de ADN del patógeno aislado y análisis de las mutaciones de sitio específico tales como G143A o F129L etc., usando técnicas de PCR a tiempo real y técnicas de secuenciación de genes.

25 Aunque sin estar obligados por ninguna teoría se cree que un inhibidor Qi puede combatir o ayudar a combatir un patógeno fúngico Qo resistente al disminuir y/o inhibir la respiración al unirse a un centro de oxidación de ubihidroquinona de un complejo citocromo bc1 en mitocondria. Sin embargo, a diferencia de los inhibidores Qo, el centro de oxidación del complejo citocromo bc1 al cual se unen los inhibidores Qi generalmente está localizado en el lado interno de la membrana mitocondrial interna. De esta manera, se controla o elimina el patógeno fúngico.

30 Los inhibidores Qi útiles pueden variar dependiendo del tipo de planta, el patógeno fúngico y las condiciones ambientales. Los inhibidores Qi típicos se seleccionan entre el grupo que consiste en antimicinas A y sus imitadores sintéticos, tales como las N-formilaminosalicilamidas (FSAs), la picolinamida UK2A que se da de manera natural, picolinamidas sintéticas y semisintéticas, y prodrogas, mezclas racémicas, óxidos, sales de adición, complejos de metal o metaloide y derivados de los mismos. Se ha encontrado que los inhibidores Qi anteriormente mencionados son útiles combatiendo patógenos tales como los seleccionados entre el grupo que consiste en basidomicetes, ascomicetes y oomicetes. Más específicamente, el patógeno a combatir es *Septoria tritici* (también conocido como *Mycosphaerella graminicola*).

35 Se ha encontrado al proceso inventivo particularmente eficaz para combatir una enfermedad inducida por patógeno causada por *Septoria tritici* en trigo.

40 La cantidad exacta de inhibidor Qi a emplear con frecuencia depende de, por ejemplo, el ingrediente activo específico a aplicar, la acción particular deseada, el tipo, número y fase de crecimiento de las plantas, el patógeno fúngico a combatir, las condiciones de aplicación y si la liberación está siendo dirigida al follaje, semillas o al suelo en el cual están creciendo las plantas. Por tanto, todos los fungicidas inhibidores Qi, y formulaciones que contienen los mismos, no pueden ser igualmente eficaces a concentraciones similares o frente a los mismos patógenos.

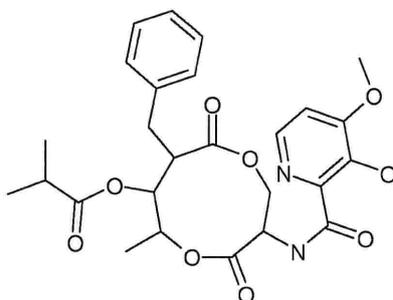
45 Generalmente, una planta en necesidad de protección, control o eliminación fúngica se pone en contacto con una cantidad de entre 0,1 a 2.500, preferiblemente de 1 a 750 ppm de un inhibidor Qi. La puesta en contacto puede ser de cualquier manera eficaz. Por ejemplo, cualquier parte expuesta de la planta, por ejemplo hojas o tallos, puede ser rociada con el inhibidor Qi. Igualmente, el inhibidor Qi se puede aplicar de una manera tal que las raíces, semillas o una u otras más partes no expuestas de la planta absorban el inhibidor Qi de modo que controla o elimina el patógeno fúngico. Como tratamiento fungicida foliar, la dilución y el índice de aplicación exactos dependerán del tipo de equipo empleado, la frecuencia de aplicación deseada y las enfermedades a combatir, pero la cantidad eficaz de un fungicida inhibidor Qi es normalmente de 0,05 a 2,5 y preferiblemente de 0,075 a 0,5 kg por hectárea.

50 Las composiciones que comprenden una cantidad eficaz de inhibidor Qi pueden estar mezcladas con uno u otros más ingredientes activos o inertes. Preferiblemente otros ingredientes activos pueden incluir un inhibidor Qo, tal como azoxistrobin, piraclostrobin, fluoxastrobin, trifloxistrobin o picoxistrobin, dimoxistrobin, metominostrobin,

orisastróbin, kresoxim-metil, enestrobin, famoxadona, fenamidona, piribencarb, un azol tal como epoxiconazol, protioconazol, miclobutanil, tebuconazol, propiconazol, ciproconazol o fenbuconazol o un inhibidor de sitio METII tal como boscalid, pentiopirad, bixafen, isopirazam, sedaxano, fluopiram o tfluzamida o combinaciones de los mismos. Al mezclar el inhibidor Qi con un inhibidor Qo, la composición puede combatir poblaciones mezcladas que comprenden patógenos fúngicos que están mutados para ser Qo resistentes, así como patógenos fúngicos que no están mutados y son susceptibles de ser controlados por inhibidores Qo. Otros ingredientes activos que se pueden incluir con una cantidad eficaz de inhibidor Qi con o sin un inhibidor Qo o fungicida a partir de un modo diferente de clase de acción, incluyen compuestos tales como insecticidas y agentes de control de malas hierbas.

Ejemplo 1- Sensibilidad de aislados de SEPTTR tipo silvestre y resistente a estrobilurina a picolinamidas y otros inhibidores Qi.

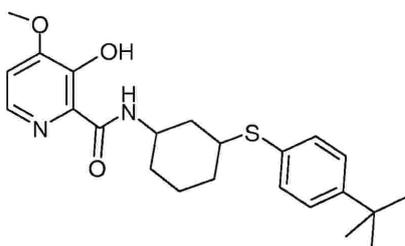
Se ensayaron la picolinamida UK2A que se da de manera natural, su derivado profungicida Compuesto 1, y otros 3 inhibidores Qi - antimicina A, Compuesto 2 (un miembro de la serie de N-formilaminosalicilamida (FSA)) y Compuesto 3 (un miembro de una serie de imitadores sintéticos de picolinamida de UK2A), para la fungitoxicidad *in vitro* hacia aislados de campo de SEPTTR LARS 15 y R2004-6 en un ensayo en microplaca (Tabla 1). Se incluyeron como patrones los inhibidores Qo azoxistrobin, kresoxim-metil y famoxadona. LARS 15 es sensible a estrobilurinas, mientras que R2004-6 contiene la mutación G143A en el citocromo b que confiere resistencia a estrobilurinas.



Compuesto 1



Compuesto 2



Compuesto 3

Los inhibidores Qo eran altamente activos frente la cepa LARS 15 pero mostraron poca o no actividad frente a la cepa R2004-6 Qol-resistente. Por el contrario, UK-2A, Compuesto 1 y los otros inhibidores Qi eran altamente activos frente a ambas cepas y en la mayoría de los casos mostraron ligeramente mayor actividad hacia la cepa R2004-6 resistente a estrobilurina.

Tabla 1: Sensibilidad de aislados de SEPTTR a picolinamidas

Compuesto	Sitio de acción	LARS 15 EC50 (ppm)	R2004-6 EC50 (ppm)
UK-2A	Qi	0,037	0,029
Compuesto1	Qi	0,169	0,122
Antimicina A	Qi	0,021	0,011
Compuesto 2	Qi	0,0006	<0,0005
Compuesto 3	Qi	0,049	0,059
Azoxistrobin	Qo	0,011	3,00
Kresoxim-metil	Qo	<0,005	>5
Famoxadona	Qo	0,136	>5

El Compuesto 1 prodroga UK-2A se usó para demostrar que un fungicida Qi puede combatir eficazmente un amplio rango de aislados de SEPTTR QoI-resistentes obtenidos de las muestras de campo de trigo.

- 5 Se usó un panel de 31 aislados de SEPTTR en experimentos de fungitoxicidad *in vitro*. La mayoría de los aislados usados se aislaron de trigo en UK desde 2001 a 2005. La Tabla 2 enumera valores de EC50 medios +/- SD para el Compuesto 1 para los 17 aislados QoI sensibles ("WT") y 14 aislados QoI-resistentes ("G143A") en comparación con azoxistrobin y epoxiconazol. Los resultados enumerados en la Tabla 2 muestran que, en un promedio, el inhibidor Qo azoxistrobin controla los aislados QoI sensibles 160 veces mejor que los aislados QoI-resistentes. También el azol, epoxiconazol, era 1,7 veces menos activo frente a los aislados QoI-resistentes. Por otro lado, el inhibidor Qi Compuesto 1 era 1,7 veces más activo frente a aislados QoI-resistentes.

Tabla 2: Fungitoxicidad de SEPTTR *in vitro* de Azoxistrobin, Epoxiconazol y Compuesto 1 (valores EC50 medios en mcg ml<sup>-1</sup> +/- SD)

	Azoxistrobin	Compuesto 1	Epoxiconazol
QoI sensible (n=17)	0,057	0,035	0,351
+/- SD	0,029	0,021	0,509
QoI-resistente (n=14)	9,077	0,021	0,589
+/- SD	4,941	0,012	0,871

- 15 Ejemplo 2- Eficacia del Compuesto 1 *in planta* frente a SEPTTR tipo silvestre y resistente a estrobilurina

El ensayo *in planta* se realizó en la segunda hoja unida de trigo de variedad cultivada Riband de 16 días de edad, altamente susceptible a SEPTTR. Se rociaron las hojas de trigo con una serie de dilución del Compuesto 1 (como formulación SC) o el fungicida Amistar que contiene azoxistrobin. Al día siguiente, las hojas tratadas se inocularon con o bien los aislados QoI sensibles (S27 o Lars 15-03) o los aislados QoI-resistentes (G3-03 o TwistB-02). La revisión visual 21 días después de la inoculación reveló control de Amistar de S27 y Lars 15-03 a 0,9 ppm y 2,8 ppm, respectivamente. No control era evidente para G3-03 y TwistB-02 a 25 ppm.

Los índices de ruptura ("breaking rates") para el control de los aislados QoI sensibles S27 y Lars 15-03 con el compuesto 1 eran de 0,3 ppm y 2,8 ppm, respectivamente. Los aislados QoI-resistentes G3-03 y TwistB-02 eran controlados a 0,9 ppm y 0,3 ppm.

- 25 La Tabla 3 resume los resultados para 5 cepas QoI sensibles y 6 QoI-resistentes. El control de Amistar (azoxistrobin) era evidente para los aislados QoI sensibles con índices de ruptura que oscilaban entre 0,1 ppm y 8,3 ppm. Amistar no controló ninguno de los aislados QoI-resistentes ensayados. Incluso al índice más alto usado (25 ppm) todas las hojas estaban infectadas con SEPTTR. Por otro lado, la formulación SC del Compuesto 1, controló tanto los aislados QoI sensibles como los QoI-resistentes con alta eficacia y los índices de ruptura oscilaron entre 0,3 ppm y 0,9 ppm.

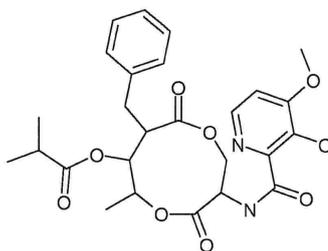
30

Tabla 3: Control *in planta* de aislados de SEPTTR Qol sensibles y Qol-resistentes mediante Amistar y Formulación SC que incluye el Compuesto 1. Los índices de ruptura (ppm) para el control de la infección de SEPTTR estaban basados en la revisión visual

<b>Qol</b>	<b>Aislado</b>	<b>Amistar</b>	<b>Form. SC w/Comp. 1</b>
S	Ctrl30-	2,8	0,9
S	Flu 1-02	8,3	0,3
S	IPO323	Entre 0,1 y 8,3	0,3
S	Lars15-03	Entre 0,9 y 2,8	Entre 0,3 y 2,8
S	S27	0,9	0,3
R	Flu4-02	>25	0,3
R	G3-03	>25	Entre 0,3 y 0,9
R	Lars11-03	>25	0,9
R	Lars8-03	>25	0,9
R	TwistAD5-02	>25	0,9
R	TwistB-02	>25	Entre 0,3 y 0,9

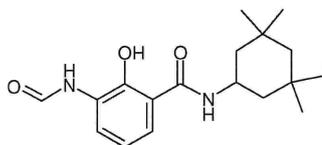
## REIVINDICACIONES

1. Un método de control de una enfermedad inducida por patógeno en un cultivo que comprende identificar una o más plantas en riesgo de enfermar por un patógeno resistente a un inhibidor Q<sub>0</sub> y poner en contacto dicha o dichas plantas con una composición que comprende una cantidad eficaz de un inhibidor Q<sub>i</sub>, en donde la enfermedad inducida por patógeno es *Septoria tritici*, también conocida como *Mycosphaerella graminicola*.
- 5 2. El método de la reivindicación 1, en donde los inhibidores Q<sub>i</sub> se seleccionan entre el grupo que consiste en antimicina A, imitadores sintéticos de la antimicina A, picolinamida UK2A que se da de manera natural, picolinamidas sintéticas, picolinamidas semisintéticas, prodrogas, mezclas racémicas, óxidos, sales de adición, complejos de metal, complejos de metaloide y derivados de los mismos.
- 10 3. El método de la reivindicación 1, en donde el cultivo es trigo.
4. El método de la reivindicación 3, en donde el cultivo se pone en contacto con entre 0,1 ppm y 2.500 ppm de un inhibidor Q<sub>i</sub>.
5. El método de la reivindicación 4, en donde el cultivo comprende hojas y la planta se pone en contacto con el inhibidor Q<sub>i</sub> al rociar dichas hojas.
- 15 6. El método de la reivindicación 1, en donde la composición comprende además un fungicida seleccionado entre el grupo que consiste en azoxistrobin, piraclostrobin, fluoxastrobin, trifloxistrobin, picoxistrobin, epoxiconazol, prothioconazol, miclobutanil, tebuconazol, propiconazol, ciproconazol, fenbuconazol, boscalid, pentiopirad, bixafen, isopirazam, sedaxano, fluopiram, tifulzamida o combinaciones de los mismos.
7. El método de la reivindicación 1, en donde la composición comprende además un insecticida.
- 20 8. El método de la reivindicación 1, en donde la composición comprende además un agente de control de malas hierbas.
9. El método de la reivindicación 1, en donde el inhibidor Q<sub>i</sub> es picolinamida UK-2A,

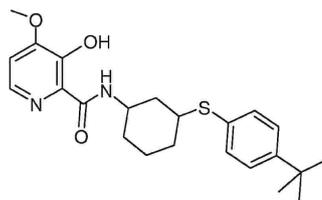


Compuesto 1,

25 Antimicina A,



Compuesto 2 o



Compuesto 3.

30