

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 239**

51 Int. Cl.:

A01N 63/02 (2006.01)

A01N 65/00 (2009.01)

A01N 65/20 (2009.01)

A01N 65/08 (2009.01)

A01P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.07.2005 E 05764503 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.11.2015 EP 1765084**

54 Título: **Composiciones fungicidas**

30 Prioridad:

09.07.2004 NZ 53400704

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

18.02.2016

73 Titular/es:

**THE NEW ZEALAND INSTITUTE FOR PLANT AND
FOOD RESEARCH LIMITED (100.0%)
MT ALBERT RESEARCH CENTRE 120 MT
ALBERT ROAD
MT ALBERT, AUCKLAND, NZ**

72 Inventor/es:

**WURMS, KIRSTIN VERITY y
CHEE, ANNETTE AH**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 560 239 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

Composiciones fungicidas

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un método fungicida que emplea composiciones fungicidas que comprenden grasa de leche anhidra (AMF por sus siglas en inglés).

ANTECEDENTES

10 El mildiú polvoriento (PM por sus siglas en inglés) es una de las enfermedades globales más serias de las cucurbitáceas, manzana, rosa, uva y cultivos de cereales. La ubicua enfermedad crea considerables problemas porque reduce el área fotosintética de las hojas, que a su vez disminuye el rendimiento (50-100% en ausencia de control) y la calidad del producto.

15 Los costes a nivel mundial asociados con esta enfermedad se estiman por Dow AgroSciences que exceden los 100 millones de dólares americanos. Las serias limitaciones que existen con los controles, denominada resistencia fungicida DMI (inhibición a la demetilación por sus siglas en inglés), restricciones en el uso de azufre y bicarbonato sódico en sistemas orgánicos, la falta de actividad erradicativa, y la falta de alternativas orgánicas eficaces, conducen a la necesidad de nuevas alternativas de control.

20 Investigadores brasileños (1) y australianos (2) han descrito que la leche es eficaz como los fungicidas convencionales en el control del PM en cultivos de calabaza y uva respectivamente. Mientras la investigación del brasileño se llevó a cabo usando leche entera fresca, los australianos han descrito que la leche en polvo entera y desnatada, y el suero y las proteínas de suero en polvo son eficaces. Ningún grupo de investigadores ha descrito el(los) compuesto(s) responsable de la actividad fungicida o el modo de acción. Se ha planteado que un gran número de componentes de la leche incluido sales, proteínas, grasas, calcio, y radicales libres, contribuyen a la actividad fungicida y/o estimulan el control biológico.

25 Se ha descrito que los ácidos grasos son tóxicos para diversos hongos y bacterias (3-5). Se ha descrito la actividad fungicida de aceites vegetales (aceite de oliva, aceite de colza, aceite de maíz, aceite de semillas de uva, aceite de cacahuete, aceite de cártamo, aceite de soja y aceite de girasol) y aceites minerales (aceite JMS stylet) contra el mildiú polvoriento (6-8).

30 Los problemas asociados con el uso de productos de leche entera o desnatada como fungicidas incluyen el deterioro de la leche, el desarrollo de olores desagradables, dificultades en el manejo, problemas en la aplicación, poca durabilidad del control, y el crecimiento no deseado de otros organismos no objetivo, p.ej. moho de hollín. Los fungicidas que contienen ácidos grasos libres y/o aceites/grasas y/o aceites/grasas vegetales o animales pueden ser caros, bloquear el equipo pulverizador agrícola, proporcionar solamente un control variable de la enfermedad, tener efectos fitotóxicos y pueden ser productos restringidos en sistemas orgánicos.

35 En la técnica anterior, Bettiol, Crop Protection 18 (1999); 489-492 describe el uso de leche de vaca fresca para controlar el mildiú polvoriento en el calabacín. El documento CZ9300350 describe una composición fungicida que contiene lecitina y leche de vaca anhidra.

Por lo tanto es un objetivo de la invención proporcionar un fungicida que solvente o mejore uno o más de los problemas de los fungicidas de la técnica anterior, o al menos proporcione al público una elección útil.

Compendio de la invención

40 La invención proporciona un método (a) para prevenir o controlar una infección fúngica o (b) para inhibir la germinación de esporas fúngicas, que comprenda la aplicación de una composición fungicida a una planta que lo necesite,

donde la composición fungicida comprende

(a) grasa de leche anhidra (AMF), y

(b) uno o más vehículo aceptable agrícolamente, un emulsionante y un antioxidante.

45 Las características preferidas de la invención quedan establecidas en las reivindicaciones dependientes de este texto. En una realización la composición comprende:

(a) grasa de leche anhidra y opcionalmente uno o más aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco,

(b) un emulsionante, y

(c) uno o más de un vehículo aceptable agrícolamente y un antioxidante.

ES 2 560 239 T3

En una realización la composición comprende:

- (a) grasa de leche anhidra y opcionalmente uno o más aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco,
- b) un emulsionante, y agua y un antioxidante.

En una realización la composición es una composición acuosa que comprende:

- 5
- (a) grasa de leche anhidra y opcionalmente uno o más aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco,
 - (b) un emulsionante, y
 - (c) agua y opcionalmente un antioxidante.

En una realización la composición comprende:

- 10
- (a) grasa de leche anhidra y opcionalmente uno o más aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco,
 - (b) un emulsionante,
 - (c) un antioxidante, y
 - (d) agua.

En una realización la composición es una composición acuosa que comprende:

- 15
- (a) grasa de leche anhidra y opcionalmente uno o más aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco,
 - (b) un emulsionante,
 - (c) un antioxidante, y
 - (d) agua.

En una realización el vehículo aceptable agrícolamente comprende agua.

En una realización la composición es una composición acuosa.

- 20
- En una realización la composición es una composición líquida.

En una realización la composición es un concentrado líquido o sólido.

- 25
- En una realización la composición comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 g/L de AMF y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 10 a 20 g/L. En una realización la composición comprende de 1 g/L a 30 g/L de AMF. En una realización la composición comprende de 5 g/L a 20 g/L de AMF. En una realización la composición comprende de 5 g/L a 15 g/L de AMF. En una realización la composición comprende de 7 g/L a 14 g/L de AMF.

- 30
- En una realización la composición comprende al menos 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9 ó 3,0 % en peso por volumen (p/v) de AMF y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 1,0 a 2,0 % p/v. En una realización la composición comprende de 0,1 a 3,0 % p/v de AMF. En una realización la composición comprende de 0,5 a 2,0 % p/v de AMF. En una realización la composición comprende de 0,5 de 1,5 % p/v de AMF. En una realización la composición comprende de 0,7 de 1,4 % p/v de AMF.

- 35
- En una realización la composición comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 g/L de grasa de coco y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 10 a 20 g/L. En una realización la composición comprende de 1 g/L a 30 g/L de grasa de coco. En una realización la composición comprende de 5 g/L a 25 g/L de grasa de coco. En una realización la composición comprende de 7 g/L a 20 g/L de grasa de coco.

- 40
- En una realización la composición comprende al menos 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9 ó 3,0 % en peso por volumen (p/v) de grasa de coco y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 1,0 a 2,0 % p/v. En una realización la composición comprende de aproximadamente 0,1 a 3,0 % p/v de grasa de coco. En una realización la composición comprende de 0,5 a 2,5 % p/v de grasa de coco. En una realización la composición comprende de 0,7 a 2,0 % p/v de grasa de coco.

- 45
- En una realización la composición comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19,

20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 ml/L de aceite de oliva y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 10 a 20 ml/L. En una realización la composición comprende de 1 ml/L a 30 ml/L de aceite de oliva. En una realización la composición comprende de 5 ml/L a 25 ml/L de aceite de oliva. En una realización la composición comprende de 7 ml/L a 20 ml/L de aceite de oliva.

5 En una realización la composición comprende al menos 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9 ó 3,0 % en volumen (v/v) de aceite de oliva y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 1,0 a 2,0 % v/v. En una realización la composición comprende de 0,1 a 3,0 % v/v de aceite de oliva. En una realización la composición comprende de 0,5 a 2,5 % v/v de aceite de oliva. En una realización la composición comprende de 0,7 a 2,0 % v/v de aceite de oliva.

10 En una realización la composición comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 ó 40 ml/L de aceite de soja y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 10 a 20 ml/L. En una realización la composición comprende de 1 ml/L a 40 ml/L de aceite de soja. En una realización la composición comprende de aproximadamente 5 ml/L a 30 ml/L de aceite de soja. En una realización la composición comprende de 7 ml/L a 20 ml/L de aceite de soja.

15 En una realización la composición comprende al menos 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9, 3,0, 3,1, 3,2, 3,3, 3,4, 3,5, 3,6, 3,7, 3,8, 3,9 ó 4,0 % en volumen (v/v) de aceite de soja y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 1,0 a 2,0 % v/v. En una realización la composición comprende de 0,1 a 4,0 % v/v de aceite de soja. En una realización la composición comprende de 0,5 a 3,0 % v/v de aceite de soja. En una realización la composición comprende de 0,7 a 2,0 % v/v de aceite de soja.

20 En una realización el emulsionante se selecciona entre el grupo que comprende ésteres de glicerina de ácidos grasos (monoglicéridos, MG); mono- y di-glicéridos (MG & DG) (p.ej. Grindsted HV 40, Poem J-2021); monoglicéridos destilados; ésteres de MG de ácido cítrico (CMG por sus siglas en inglés) (p.ej. Grindsted Citrem N12 Veg™); ésteres de mono- y di-glicéridos de ácido diacetiltartárico (DATEMs por sus siglas en inglés) (p.ej. Panodan AL 10™); ésteres de poliglicerol de ácidos grasos (PGE por sus siglas en inglés) (p.ej. Grindsted PGE 20 Veg™); polirricinoleato de poliglicerol (PGPR por sus siglas en inglés) (p.ej. Grindsted PGPR 90™); ésteres de sorbitano de ácidos grasos (p.ej. Palsgaard 7463™); ésteres de sacarosa de ácidos grasos; lactilatos de estearoilo de calcio (p.ej. Grindsted CSL P 80™); lactilatos de estearoilo de sodio; lecitina (incluido lecitina digerida con enzima); y caseínatos (tales como caseínatos de sodio incluido Alanate 191™).

25 En otra realización el emulsionante se selecciona entre el grupo que comprende gomas, preferiblemente gomas de xantano, preferiblemente una goma de xantano de maíz; un polisorbato 80; una composición que comprenda óxido de polietileno y ácido oléico, preferiblemente que comprenda 90% de óxido de polietileno y 10% de ácido oléico (p.ej. Palsgaard 7463™); caseinato de sodio, preferiblemente 93% de caseinato de sodio (p.ej. Alanate 191™); y mono- y di-glicéridos de grado alimenticio derivados de grasas vegetales y animales pero sin adición de ácidos como ácido tartárico (Grindsted HV 40™).

30 En una realización el emulsionante se selecciona entre el grupo que comprende ésteres de MG de ácido cítrico (CMG); ésteres de mono- y di-glicéridos de ácido diacetiltartárico (DATEMs) (p.ej. Panodan AL 10™); ésteres de poliglicerol de ácidos grasos (PGE); polirricinoleato de poliglicerol (PGPR); lactilatos de estearoilo de calcio; y lecitina (incluido lecitina digerida con enzima);

35 En una realización la composición comprende al menos 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 ó 10 g/L de un emulsionante y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 5 g/L a 8 g/L. En una realización la composición comprende de 1 a 10 g/L de un emulsionante. En una realización la composición comprende de 3 g/L a 5 g/L de un emulsionante.

40 En una realización la composición comprende al menos 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25, 0,3, 0,35, 0,4, 0,45, 0,5, 0,55, 0,6, 0,65, 0,7, 0,75, 0,8, 0,85, 0,9, 0,95 ó 1,0 % peso por volumen (p/v) y un emulsionante y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 0,5 a 0,8 % p/v. En una realización la composición comprende de 0,1 a 1,0 % p/v de un emulsionante. En una realización la composición comprende de 0,3 a 0,5 % p/v de un emulsionante.

45 En una realización el antioxidante comprende uno o más agentes antioxidantes seleccionados entre el grupo que comprende palmitato de ascorbilo (p.ej. Grindox AP kosher™), tocoferol (p.ej. Grindox TOCO70™), alfa-tocoferol, extracto de romero, galato de propilo, terc-butilhidroquinona (TBHQ) (p.ej. Grindox 204™), hidroxianisol butilado (BHA por sus siglas en inglés), hidroxitolueno butilado (BHT por sus siglas en inglés) y agentes quelantes.

50 En otra realización el antioxidante se selecciona entre el grupo que comprende una composición que comprende galato de propilo y ésteres de monoglicéridos de ácido cítrico de grado alimenticio, preferiblemente 20% de galato de propilo y 80% de éster de monoglicérido de ácido cítrico de grado alimenticio (Grindox 122™); una composición que comprende BHA y aceite vegetal, preferiblemente 20% de BHA y 80% de aceite vegetal (Grindox 105™); y un

extracto de romero que comprende aproximadamente 5% de diterpenos fenólicos (es decir ácido carnósico y carnosol) de *Rosemarinus officinalis* y 95% de una mezcla que comprende polipropilenglicol, mono- y di-glicéridos de ácidos grasos, y ésteres de ácido acético de mono- y di-glicéridos de ácidos grasos (Guardian Rosemary Extract™).

5 En una realización la composición comprende al menos 0,1 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 ó 5,0 g/L de un antioxidante y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 0,5 g/L a 1,5 g/L. En una realización la composición comprende de 0,1 a 5 g/L de un antioxidante. En una realización la composición comprende aproximadamente 1 g/L de un antioxidante.

10 En una realización la composición comprende al menos 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,10, 0,11, 0,12, 0,13, 0,14, 0,15, 0,16, 0,17, 0,18, 0,19, 0,20, 0,25, 0,30, 0,35, 0,40, 0,45 ó 0,50 % peso por volumen (p/v) y un antioxidante y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 0,05 a 0,15 % p/v. En una realización la composición comprende de 0,01 a 0,5 % p/v de un antioxidante. En una realización la composición comprende aproximadamente 0,1 % p/v de un antioxidante.

15 En una realización la composición comprende de 1 g/L a 30 g/L de AMF, de 1 g/L a 10 g/L de un emulsionante, de 0,1 g/L a 5 g/L de un antioxidante y opcionalmente uno o más de aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco. En una realización la composición es una composición acuosa. En una realización la composición además comprende agua.

20 En una realización una composición de la invención comprende de 5 g/L a aproximadamente 15 g/L de AMF, de 2 g/L a 6 g/L de un emulsionante, de 0,5 g/L a 1,5 g/L de un antioxidante y opcionalmente uno o más de aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco. En una realización la composición es una composición acuosa. En una realización la composición además comprende agua.

25 En una realización una composición de la invención comprende de 7 g/L a 14 g/L de AMF, de 4 g/L a 5 g/L de un emulsionante, aproximadamente 1g/L de un antioxidante y opcionalmente uno o más de aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco. En una realización la composición es una composición acuosa. En una realización la composición además comprende agua.

En una realización la composición es de larga conservación.

En una realización la composición es pulverizable y opcionalmente comprende además uno o más adyuvantes de pulverización.

30 En una realización la composición de la invención se formula como una composición para inmersión, un atomizador o un concentrado.

En una realización la composición puede comprender además al menos un agente agrícola adicional. En una realización alternativa la composición puede formularse para administración por separado, simultáneamente o secuencialmente con al menos un agente agrícola adicional.

35 En una realización la composición puede comprender además al menos un fungicida adicional. En una realización alternativa la composición puede formularse para administración por separado, simultáneamente o secuencialmente con al menos un fungicida adicional.

Los fungicidas adicionales preferidos incluyen, pero no se limitan a fungicidas naturales, fungicidas orgánicos, fungicidas a base de azufre, fungicidas de cobre/calcio e inductores de las defensas de la planta huésped.

40 En una realización la composición es ligeramente fitotóxica y preferiblemente no es fitotóxica.

45 En una realización un método de la invención es capaz de prevenir una infección fúngica. En otra realización, un método de la invención es capaz de prevenir y controlar una infección fúngica. Preferiblemente un método de la invención es capaz de prevenir y controlar una infección causada por uno o más patógenos seleccionados entre el mildiú polvoriento (PM), moho de hollín, moho *Botrytis*, podredumbre ácida de la uva, y patógenos de las manchas de las hojas del banano.

50 En una realización, una composición de la invención es capaz de prevenir y controlar una infección causada por uno o más patógenos incluyendo pero no se limitan a patógenos del PM incluido patógenos *Sphaerotheca* tal como *Sphaerotheca fuliginea*, patógenos *Erysiphe* tal como *Erysiphe cichoracearum* (PM de las curcubitáceas), patógenos *Uncinula* tal como *Uncinula necator* (PM de la uva), patógenos *Erysiphe* tal como *Erysiphe graminis f. sp. Tritici* (PM del trigo), *Sphaerothecapathogens* tal como *Sphaerotheca pannosa var. rosae* (PM del rosal) y patógenos *Podosphaera* tal como *Podosphaera leucotricha* (PM del manzano); patógenos *Botrytis* incluido *Botrytis cinerea* (moho gris de la uva); patógenos del moho de hollín (incluido *Cladosporium cladosporioides*); patógenos de la podredumbre ácida de la uva (un complejo de hongos p.ej. *Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., levaduras (p.ej. *Candida krusei*), y bacterias de ácido acético (p.ej. *Acetobacter* spp.) que causan una podredumbre húmeda sobre

los racimos de uva); patógenos del mildiú vellosos incluidos patógenos *Plasmopara* tal como *Plasmopara viticola*; y patógenos de las manchas de las hojas del banano incluido patógenos *Mycosphaerella* tal como *Mycosphaerella fijiensis* (Sigatoka negra o enfermedad de las rayas negras), *Mycosphaerella musicola* (Sigatoka amarilla) y *Mycosphaerella musae* (moteado).

- 5 En una realización un método de la invención es capaz de inhibir la germinación de las esporas de hongos, preferiblemente esporas de uno o más *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, y *Monilinia fructicola*.

En una realización la composición puede aplicarse separadamente, simultáneamente o secuencialmente con al menos un agente agrícola adicional.

- 10 En una realización la composición puede aplicarse separadamente, simultáneamente o secuencialmente con al menos un fungicida adicional.

En una realización el sujeto comprende una planta, material vegetal o cualquier superficie que puede estar en contacto con las cosechas incluidos equipos de recolección, equipo de envasado y material de envasado.

- 15 En una realización del método de la invención la composición se aplica al menos cada 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 60, 90, 120, 150 ó 180 días. En una realización la composición se aplica cada 1 a cada 7 días, cada 1 a cada 14 días, cada 1 a cada 21 días, aproximadamente cada 1 a cada 28 días o cada 1 a cada 35 días. En una realización la composición se aplica cada 1 a cada 30 días, cada 1 a cada 60 días o cada 1 a cada 90 días. En una realización la composición se aplica cada 1 a cada 7 días, cada 7 a cada 14 días, cada 14 a cada 21 días, cada 21 a cada 28 días o cada 28 a cada 35 días.

- 20 La expresión "que comprende" significa "que consiste al menos en parte en"; quiere decir, cuando los enunciados de interpretación en esta especificación y las reivindicaciones incluyen esta expresión, las características precedidas por este término en cada enunciado necesitan estar todas presentes pero también pueden estar presentes otras características.

- 25 La expresión "peso por volumen" (p/v) se refiere a la masa (en gramos) de una sustancia disuelta en o mezclada con 100 mililitros de solución o mezcla. De este modo 1% p/v es igual a 1 gramo por decilitro (g/dL) ó 10 gramos por litro (g/L).

- 30 Se entiende que la referencia a un intervalo de números descritos en este texto (por ejemplo, 1 a 10) también incorpora la referencia a todos los números racionales dentro de este intervalo (por ejemplo, 1, 1,1, 2, 3, 3,9, 4, 5, 6, 6,5, 7, 8, 9 y 10) y también cualquier intervalo de números racionales dentro de este intervalo (por ejemplo, 2 a 8, 1,5 a 5,5 y 3,1 a 4,7) y, por lo tanto, todos los sub-intervalos de todos los intervalos descritos expresamente en este texto están descritos de este modo expresamente. Estos son solamente ejemplos de lo que se entiende específicamente y se consideran como expresamente manifestadas todas las combinaciones posibles de valores numéricos entre el valor más bajo y el valor más alto enumerado en esta aplicación de una manera similar.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra diagramas del área estándar de las hojas con mildiú polvoriento según Spencer (9).

- 35 La Figura 2 muestra los efectos de la aplicación del tratamiento del Ensayo 1 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre las hojas de calabaza 'Delica', seis semanas después de la aplicación del tratamiento inicial. Los datos requirieron una transformación por raíz cuadrada (SQRT por sus siglas en inglés) para satisfacer los supuestos requeridos por ANOVA (distribución normal y homogeneidad de varianzas.) Los valores no transformados correspondientes por cada dato se dan entre paréntesis.

- 40 La Figura 3 muestra los efectos de la aplicación del tratamiento del Ensayo 1 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre las hojas de calabacín 'Black Jack', seis semanas después de la aplicación del tratamiento inicial. El análisis ANOVA necesitó una transformación de los datos por raíz cuadrada (SQRT). Los valores no transformados correspondientes por cada dato se dan entre paréntesis.

- 45 La Figura 4 muestra los efectos de los tratamientos principales del Ensayo 2 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre hojas de calabaza 'Delica' no inoculadas (infectadas de forma natural) después de seis semanas de la aplicación del tratamiento.

La Figura 5 muestra la actividad de algunos de los tratamientos principales del Ensayo 2 con el tiempo sobre infecciones de PM sobre hojas de calabaza 'Delica' inoculadas.

- 50 La Figura 6 muestra los efectos de los tratamientos principales del Ensayo 3 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre hojas de calabaza 'Delica' no inoculadas después de siete semanas de la aplicación del tratamiento.

La Figura 7 muestra los efectos de los tratamientos adicionales del Ensayo 3 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre hojas de calabaza 'Delica' no inoculadas con el tiempo.

La Figura 8 muestra los efectos de los tratamientos adicionales del Ensayo 3 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre hojas de calabaza 'Delica' inoculadas con el tiempo.

5 La Figura 9 muestra el porcentaje del área del follaje de las vides 'Chardonnay' en el Ensayo 5 infectadas por el PM, evaluadas después de un programa de pulverización de 4 meses. Se inspeccionaron cincuenta hojas por parcela para ver la incidencia del mildiú (porcentaje de hojas infectadas) y severidad (porcentaje del área de la hoja cubierta por el mildiú), calculando el porcentaje del total del follaje infectado como el producto de la incidencia de la enfermedad y la severidad media.

La Figura 10 muestra el total del rendimiento de los granos de uva 'Chardonnay' (kg) por vid en el Ensayo 5.

La Figura 11 muestra los diagramas del área estándar de las hojas con PM para usar en el trigo, según James (11).

10 La Figura 12 muestra la severidad de la enfermedad del PM sobre las plantas de trigo 'Endeavour' del Ensayo 6 a Tiempo= 0 semanas, es decir antes de cualquier aplicación de tratamiento. La barra LSD (Mínima Diferencia Significativa por sus siglas en inglés) se aplica a las comparaciones entre columnas solamente, debido a la naturaleza jerárquica del diseño anidado.

15 La Figura 13 muestra la severidad de la enfermedad del PM sobre las plantas de trigo 'Endeavour' del Ensayo 6 a Tiempo= 7 semanas, es decir después de 7 semanas de la aplicación del tratamiento. La barra LSD se aplica a las comparaciones entre columnas solamente, debido a la naturaleza jerárquica del diseño anidado.

La Figura 14 muestra los efectos de la aplicación del tratamiento del Ensayo 7 sobre la severidad de la enfermedad del PM en hojas de calabaza 'Delica', después de 6 semanas de la aplicación del tratamiento.

20 La Figura 15 muestra los efectos de la aplicación del tratamiento del Ensayo 8 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre arbustos de rosa 'Sahara', después de 6 semanas de la aplicación del tratamiento.

La Figura 16 muestra los efectos de la aplicación del tratamiento del Ensayo 9 sobre la severidad de la enfermedad del PM en hojas de plántones de manzano "Royal Gala", después de 7 semanas de la aplicación del tratamiento.

La Figura 17 muestra los efectos de la aplicación del tratamiento del Ensayo 9 sobre la incidencia de la enfermedad del PM en hojas de plántones de manzano "Royal Gala", después de 7 semanas de la aplicación del tratamiento.

25 La Figura 18 muestra los efectos de la aplicación del tratamiento del Ensayo 9 sobre el peso seco de plántones de manzano 'Royal Gala', después de 7 semanas de la aplicación del tratamiento.

30 La Figura 19 muestra los efectos de la aplicación del tratamiento del Ensayo 9 sobre las alturas de plántones de manzano 'Royal Gala', después de 7 semanas de la aplicación del tratamiento. Los datos requirieron una transformación loge para satisfacer los supuestos requeridos por ANOVA (distribución normal y homogeneidad de varianzas). Los valores no transformados correspondientes por cada dato se dan entre paréntesis.

La Figura 20 muestra los efectos de la modificación media del Ensayo 10 sobre el número de colonias de *Mycosphaerella fijiensis*. El análisis ANOVA necesitó una transformación de datos por raíz cuadrada (SQRT). Los valores no transformados correspondientes por cada dato se dan entre paréntesis.

35 La Figura 21 muestra los efectos de la modificación media del Ensayo 10 sobre el diámetro de las colonias de *Mycosphaerella fijiensis*.

La Figura 22 muestra el efecto de los tratamientos del Ensayo 11 sobre el porcentaje de cultivo de fruta de uvas 'Chardonnay' infectadas con *Botrytis cinerea*, evaluado después de un programa de pulverización de 4 meses.

La Figura 23 muestra el efecto de los tratamientos del Ensayo 11 sobre el porcentaje de quemadura de la hoja en el follaje de las vides 'Chardonnay', evaluado después de un programa de pulverización de 4 meses.

40 La Figura 24 muestra el rendimiento total de granos de uva 'Chardonnay' (kg/m) en el Ensayo 11.

Descripción detallada de la invención

45 Tal como se ha discutido anteriormente, la presente invención se refiere a un método (a) para prevenir o controlar una infección fúngica o (b) para inhibir la germinación de las esporas de los hongos, que comprenden la aplicación de una composición fungicida a una planta que lo necesita, donde la composición fungicida comprende grasa de leche anhidra (AMF) y opcionalmente uno más de aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco; y uno o más vehículo aceptable agrícola, un emulsionante y un antioxidante.

La expresión "grasa de leche anhidra " (AMF) tal como se usa en este texto se entiende que significa una composición sustancialmente anhidra que comprende al menos 99,8 ó 99,9% de grasa de leche en peso, y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores.

50 En una realización la AMF se produce por separación e inversión de fases de la crema.

En una realización la AMF se produce por concentración de la crema de 70 a 80 % de la grasa de leche al someter la crema a una separación centrífuga. La emulsión resultante de aceite-en-agua se somete luego a la inversión de fases. La inversión de fases se lleva a cabo para producir una emulsión de agua-en-aceite usando un dispositivo capaz de cizallar mecánicamente membranas de grasa.

- 5 En una realización la emulsión de agua-en-aceite se somete a una etapa de centrifugación para producir una composición que comprende 95 a 99 % de grasa de leche.

En una realización la composición de grasa de leche de 95 a 99% se somete a una etapa de centrifugación para producir la composición que comprende 99 a 99,5 % de grasa de leche.

- 10 En una realización la composición de grasa de leche de 99 a 99,5 % se deshidrata a vacío para producir una composición de AMF que comprende aproximadamente 99,8 % de grasa.

De acuerdo con esto, la referencia a "grasa de leche anhidra" (AMF) en este texto se entiende que incluye composiciones de grasa de leche producidas durante el curso de la producción de AMF ("precursores de AMF").

- 15 Las composiciones útiles de la invención, en varias realizaciones, son pulverizables y pueden pulverizarse sobre un sujeto que lo necesite, o formularse como un concentrado que es pulverizable además de vehículos aceptables agrícolamente y/o adyuvantes de pulverización. Las composiciones preferidas son de larga conservación. La expresión "de larga conservación" se entiende que significa que una composición no se separa en fases separadas, desarrolla olores desagradables y/o desarrolla crecimiento microbiano.

- 20 La expresión "vehículo aceptable agrícolamente" se entiende que incluye cualquier material que facilita la aplicación de una composición de la invención sobre el sujeto al que va destinado, que puede ser por ejemplo una planta, material vegetal o equipo para planta, o que facilita el almacenamiento, transporte o manejo. Los vehículos usados en las composiciones para su aplicación sobre plantas y material vegetal son preferiblemente no fitotóxicos o solamente ligeramente fitotóxicos. Un vehículo adecuado puede ser un sólido, líquido o gas dependiendo de la formulación deseada. En una realización los vehículos preferidos incluyen vehículos líquidos polares como agua, aceites minerales o aceites vegetales.

- 25 Los ejemplos de vehículos líquidos incluyen pero no se limitan a agua; alcoholes, particularmente butanol o glicol, al igual que éteres o ésteres, particularmente acetato de metilglicol; cetonas, particularmente acetona, ciclohexanona, metiletilcetona, metilisobutilcetona, o isoprona; fracciones de petróleo como hidrocarburos parafínicos o aromáticos, particularmente xilenos o alquilnaftalenos; aceites minerales o vegetales; hidrocarburos alifáticos clorados, particularmente tricloroetano o cloruro de metileno; hidrocarburos aromáticos clorados, particularmente
30 clorobencenos; disolventes solubles en agua o fuertemente polares como la dimetilformamida, dimetilsulfóxido, o N-metilpirrolidona; gases licuados; o similares o una de sus mezclas.

Los ejemplos de vehículos sólidos incluyen pero no se limitan a cargas como caolín, bentonita, dolomita, carbonato de calcio, talco, magnesia en polvo, tierra de Fuller, yeso, tierras diatomeas y arcilla china.

- 35 Un vehículo que se prevé para una liberación lenta o retardada de un compuesto útil en la invención, puede incluirse también en una composición.

- Las composiciones útiles en la invención, en varias realizaciones, preferiblemente mitigan, mejoran o evitan al menos un problema asociado con los fungicidas existentes como el deterioro de productos basados en la leche entera o desnatada, desarrollo de olores desagradables, dificultades de manejo, problemas en la aplicación, poca durabilidad del control, y el crecimiento no deseado de otros organismos no objetivo tal como moho de hollín, costo, variabilidad en el control de la enfermedad, fitotoxicidad y restricciones regulatorias.

- 40 En una realización, un método de la invención es capaz de prevenir una infección fúngica. En otra realización, un método de la invención es capaz de prevenir y controlar una infección fúngica. Preferiblemente un método de la invención es capaz de prevenir, o prevenir y controlar una infección causada por uno o más patógenos seleccionados entre el mildiú polvoriento (PM), moho de hollín, moho Botrytis, podredumbre ácida de la uva, y patógenos de las manchas de las hojas del banano.

- 45 Tal como se usa en este texto, la expresión "control de la infección fúngica" se entiende que significa al menos mantener, preferiblemente mantener o reducir, y más preferiblemente reducir, el grado de infección por un patógeno que incluye pero no se limita a los patógenos listados a continuación. En una realización, "control de la infección fúngica" preferiblemente significa que la composición es capaz de erradicar sustancialmente una infección fúngica existente por un patógeno que incluye pero no se limita a los patógenos listados a continuación.

- 50 Tal como se usa en este texto, el término "sujeto" se entiende que incluye cualquier superficie diana sobre la que se puede aplicar un compuesto o composición de la invención, por ejemplo a una planta, material vegetal que incluye raíces, bulbos, tubérculos, cormos, hojas, flores, semillas, tallos, callos, frutos secos, granos, fruta, esquejes, rizomas, injertos, cosechas que incluyen raíces, bulbos, tubérculos, cormos, hojas, flores, semillas, tallos, callos,
55 frutos secos, granos, fruta, esquejes, rizomas, injertos, o cualquier superficie que pueda estar en contacto con el

equipo de recolección, equipo de envasado y material de envasado.

5 En una realización el sujeto comprende una planta, material vegetal o cualquier superficie que puede ponerse en contacto con las cosechas incluidos el equipo de recolección, equipo de envasado y material de envasado. Para superficies como el equipo de recolección, equipo de envasado y material de envasado, preferiblemente una composición de la invención se aplica inmediatamente antes del uso del equipo de recolección, equipo de envasado o material de envasado.

10 Cuando se formula una composición útil para la invención que contiene un agente agrícola adicional tal como un fungicida adicional o se planea la distribución de una composición de la invención separadamente, simultáneamente o secuencialmente con un agente agrícola adicional tal como un fungicida adicional, puede ser deseable evaluar el grado de fitotoxicidad resultante de la aplicación de las composiciones sobre un material vegetal con el tiempo.

Esto puede evaluarse según la metodología presentada en los ejemplos siguientes. La evaluación de una composición útil en la invención o una composición útil en la invención que incluye o se administra con un agente agrícola adicional tal como un fungicida adicional puede incluir la evaluación de:

15 (1) Grado de control de los microbios diana sin estimular el crecimiento de microbios no objetivo no deseados o dañar organismos beneficiosos.

(2) Durabilidad del control.

(3) Grado de fitotoxicidad y efectos sobre el desarrollo de las plantas cuando se usa repetidamente durante parte o durante toda la estación de crecimiento.

(4) Compatibilidad con otros productos de control usados en la industria.

20 En una realización, la composición comprende al menos 1 g/L, preferiblemente de 1 g/L a 30 g/L, y más preferiblemente 5 g/L a 20 g/L de AMF. En una realización altamente preferida, la composición comprende 7 g/L a 14 g/L de of AMF.

25 En una realización, la composición comprende al menos 1 g/L, preferiblemente de 1 g/L a 30 g/L, y más preferiblemente 5 g/L a 25 g/L de grasa de coco. En una realización altamente preferida, la composición comprende 7 g/L a 20 g/L de grasa de coco.

En una realización, la composición comprende al menos 1 ml/L, preferiblemente de 1 ml/L a 30 ml/L, y más preferiblemente 5 ml/L a 25 ml/L de aceite de oliva. En una realización altamente preferida, la composición comprende 7 ml/L a 20 ml/L de aceite de oliva.

30 En una realización, la composición comprende al menos 1 ml/L, preferiblemente de 1 ml/L a 40 ml/L, y más preferiblemente 5 ml/L a 30 ml/L de aceite de soja. En una realización altamente preferida, la composición comprende 7 ml/L a 20 ml/L de aceite de soja.

35 Los emulsionantes preferidos incluyen ésteres de mono- y di-glicéridos de ácido diacetiltartárico (DATEMs) que son emulsionantes GRAS (generalmente considerados con sanos por la FDA o EEC) para productos alimenticios. Los DATEMs se forman haciendo reaccionar anhídrido diacetiltartárico con glicéridos parciales de aceites comestibles, grasas o ácidos grasos que forman grasas. Las fuentes de glicéridos para la producción de DATEMs incluyen aceite de soja, aceite de palma, aceite de girasol, sebo de bovino y monoglicéridos. Los DATEMs pueden obtenerse comercialmente de, por ejemplo, Danisco Ingredients.

40 Los DATEMs están fabricados usando técnicas estándares bien conocidas en la técnica (véase por ejemplo, Schuster y Adams, Rev. Fr. Corps Gras, 29(9):357-365, 1981) y aquellos producidos a partir de glicéridos de grasas comestibles o ácidos grasos pueden existir en una variedad de formas isoméricas (véase por ejemplo, Food Emulsions, Segunda Edición, Revised and Expanded, ed. By Larsson y Friberg, Marcel Dekker, Inc., New York, 1990).

45 Un DATEM altamente preferido, Panodan AL 10™ comprende ésteres mono- y di-glicéridos de ácido diacetiltartárico de derivados de triglicéridos vegetales y/o animales de grado alimenticio, preferiblemente triglicéridos de aceite de soja y pueden incluir glicéridos que comprenden ácidos láurico, palmítico, esteárico, oleico, linoleico y/o linoléico.

En una realización, la composición comprende al menos 0,5 g/L, preferiblemente 1 a 10 g/L y más preferiblemente 3 g/L a 5 g/L de emulsionante.

En una realización, la composición comprende al menos 0,1 g/L, preferiblemente 0,1 a 5 g/L y más preferiblemente aproximadamente 1 g/L de antioxidante.

50 En una realización, la composición comprende preferiblemente de 5 a 20 g/L de AMF, aproximadamente 5 g/L de emulsionante, aproximadamente 1 g/L de antioxidante y opcionalmente uno o más de aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco.

En una realización una composición de la invención es una composición acuosa.

En una realización una composición de la invención es una composición líquida.

5 La formulación de una composición líquida útil en la invención que comprende AMF y opcionalmente grasa de coco preferiblemente comprende fundir la grasa, preferiblemente calentando a aproximadamente 40 °C, combinar un emulsionante con la grasa fundida luego mezclar la grasa fundida emulsionada con agua, preferiblemente agua que está de 40 a 90 °C, bajo condiciones de cizalla para producir una emulsión aceite-en-agua.

10 La formulación de una composición líquida útil en la invención que comprende aceite de soja preferiblemente comprende calentar el aceite, preferiblemente a aproximadamente 40 °C, combinar un emulsionante con el aceite calentado luego se mezcla el aceite emulsionado con agua, preferiblemente agua que está de 40 a 90 °C, bajo condiciones de cizalla para producir una emulsión aceite-en-agua.

En una realización una composición de la invención es una composición sólida.

La formulación de una composición sólida preferiblemente comprende el secado por pulverización o liofilización de una composición o adsorción de una composición en un adsorbente.

15 En una realización una composición útil en la invención es un concentrado, preferiblemente un concentrado líquido (incluido pero no se limita a un concentrado acuoso) o concentrado sólido.

Se puede proporcionar un sobre soluble en agua que comprende una composición útil en la invención, preferiblemente un concentrado.

20 En una realización una composición útil en la invención comprende al menos 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 g/L de al menos un agente agrícola adicional, preferiblemente al menos un fungicida adicional y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 10 a 20 g/L.

25 En una realización una composición útil en la invención comprende al menos 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,06, 0,07, 0,08, 0,09, 0,10, 0,11, 0,12, 0,13, 0,14, 0,15, 0,16, 0,17, 0,18, 0,19, 0,20, 0,25, 0,30, 0,35, 0,40, 0,45, 0,50, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,1, 2,2, 2,3, 2,4, 2,5, 2,6, 2,7, 2,8, 2,9 ó 3,0 % peso por volumen (p/v) de al menos un agente agrícola adicional, preferiblemente al menos un fungicida adicional y los intervalos útiles pueden seleccionarse entre cualquiera de los valores anteriores, por ejemplo, de 1,0 a 2,0 % p/v.

30 Un concentrado útil en la invención puede incluir un vehículo aceptable agrícola, puede requerir la adición de un vehículo aceptable agrícola o puede requerir la adición de una cantidad adicional de vehículo aceptable agrícola que está ya presente en el concentrado en una cantidad menor.

En una realización el concentrado se formula de modo que cuando el concentrado se diluye para su uso la composición resultante proporciona un emulsionante AMF y/o concentrado antioxidante seleccionado entre las concentraciones listadas anteriormente.

35 En una realización el concentrado comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 g de AMF.

En una realización el concentrado comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 g de grasa de coco.

En una realización el concentrado comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 ml de aceite de oliva.

40 En una realización el concentrado comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 ó 40 ml de aceite de soja.

En una realización el concentrado comprende al menos 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 ó 10 g de un emulsionante.

45 En una realización el concentrado comprende al menos 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 ó 5,0 g de un antioxidante.

En una realización el concentrado comprende al menos 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5, 5,0, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 g de al menos un agente agrícola adicional, preferiblemente al menos un fungicida adicional.

50 Tal como se usa en este texto, la expresión "ligeramente fitotóxico" se entiende que significa que el nivel de

- fitotoxicidad no logra sustancialmente el rendimiento o la calidad de la planta y preferiblemente significa que una composición de la invención puede causar pequeñas imperfecciones (5-15 mm²) sobre las hojas de la planta, y puede causar manchas necróticas o cloróticas (>15mm²) y distorsión de la hoja, pero preferiblemente no debería matar más de 30%, preferiblemente no más de 20% de una hoja de una planta sobre la que se va aplicar una composición. La expresión "rendimiento de la planta" se entiende que se refiere al rendimiento del producto de una planta o una población de plantas. En una realización el rendimiento puede ser el rendimiento de un producto que incluye pero no se limita a una o más plantas enteras o partes de plantas como raíces, bulbos, cormos, tubérculos, hojas, esquejes, flores, tallos, frutos y semillas u otro material propagativo.
- 5
- En una realización del método de la invención la composición se aplica al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 veces por estación.
- 10
- En una realización el sujeto son vides y una composición puede aplicarse hasta en las 6 semanas de la cosecha (antes de la vendimia).
- En una realización el sujeto es una planta de calabaza y una composición puede aplicarse en la primera mitad de la estación.
- 15
- En una realización el sujeto es un plantón de manzano y una composición puede aplicarse durante todo el estado de plantón.
- En una realización del método de la invención la composición se aplica separadamente, simultáneamente o secuencialmente con al menos un agente agrícola adicional.
- 20
- Una realización del método de la invención comprende la aplicación de la composición sobre una superficie que lo necesita durante un primer período y la aplicación de al menos un agente agrícola adicional sobre la superficie durante un segundo período. En otra realización el método de la invención comprende la aplicación de al menos un agente agrícola adicional sobre una superficie que lo necesita durante un primer período y la aplicación de la composición sobre la superficie durante un segundo período.
- 25
- En una realización del método de la invención la composición se suministra separadamente, simultáneamente o secuencialmente con al menos un fungicida adicional.
- 30
- En una realización el método de la invención comprende la aplicación de la composición sobre una superficie que lo necesita durante un primer período y la aplicación de al menos un fungicida adicional sobre la superficie durante un segundo período. En otra realización un método de la invención comprende la aplicación de al menos un fungicida adicional sobre una superficie que lo necesita durante un primer período y la aplicación de la composición sobre la superficie durante un segundo período. En una realización el método de esta realización da como resultado un grado de control del patógeno diana sustancialmente similar o mayor que el que se obtiene con el uso del fungicida adicional solo, mientras se evita la necesidad del uso del fungicida adicional durante toda la estación de crecimiento.
- 35
- En una realización el sujeto comprende vides y el primer período comprende la primera mitad de una estación de crecimiento o un período seleccionado entre los períodos antes de la floración, 5% de la floración, 90% de la floración, después de la floración, grano tamaño guisante, previo al cierre del racimo, posterior al cierre del racimo o envero. En una realización preferida el primer período comprende la estación de crecimiento hasta el envero.
- 40
- En una realización el sujeto comprende vides y el segundo período comprende la segunda mitad de una estación de crecimiento o un período seleccionado entre los períodos siguientes envero, 4 semanas antes de la vendimia o 2 semanas antes de la vendimia.
- 45
- Las composiciones útiles en la invención pueden aplicarse a un sujeto de varias maneras, por ejemplo, pueden aplicarse directamente sobre partes de la planta como raíces, bulbos, tubérculos, cormos, hojas, esquejes, flores, tallos, frutos y/o el follaje de un árbol, o semillas u otro material propagativo o sobre otro medio sobre el que crecen o han sido sembrado los árboles, o sobre el que se pueden pulverizar o espolvorear.
- En una realización un vehículo aceptable agrícola puede ser sólido o líquido. Los vehículos útiles en este texto incluyen cualquier sustancia típicamente usada para formular una composición agrícola.
- 50
- En una realización el vehículo aceptable agrícola puede seleccionarse entre el grupo que comprende cargas, disolventes, excipientes, tensioactivos, agentes de suspensión, dispersores/adherentes (adhesivos), agentes antiespumantes, dispersantes, agentes humectantes, agentes reductores de flotación, auxiliares, adyuvantes o una de sus mezclas.
- Las composiciones útiles en la invención pueden formularse como, por ejemplo, concentrados, soluciones, atomizadores, aerosoles, baños de inmersión, composiciones para inmersión, emulsiones, polvos humectables, polvos solubles, concentrados en suspensión, polvos, gránulos, gránulos dispersables en agua, microcápsulas, pastas, geles y otro tipo de formulaciones con procedimientos bien establecidos.
- Estos procedimientos incluyen mezclar y/o triturar los ingredientes activos con sustancias vehículo aceptables

agrícolamente, como cargas, disolventes, excipientes, tensioactivos, agentes de suspensión, dispersores/adherentes (adhesivos), agentes antiespumantes, dispersantes, agentes humectantes, agentes reductores de flotación, auxiliares, adyuvantes.

5 En una realización los vehículos sólidos incluyen pero no se limitan a tierras minerales como ácidos salicílicos, geles de sílice, silicatos, talco, caolín, arcilla atapulguita, caliza, cal, tiza, bole, loess, arcilla, dolomita, tierras diatomeas, sulfato de calcio y alúminas, sulfato de magnesio, óxido de magnesio, plásticos triturados, fertilizantes como sulfato de amonio, fosfato de amonio, nitrato de amonio y ureas, y productos vegetales, como alimentos en grano, harina de corteza, harina de madera, y harina de cáscara de nuez, polvos celulósicos y similares. Como vehículos sólidos para
10 gránulos los siguientes son adecuados: rocas trituradas o fraccionadas naturales como calcita, mármol, piedra pómez, sepiolita y dolomita; gránulos sintéticos de harinas inorgánicas u orgánicas; gránulos de material orgánico como serrín, cáscaras de coco, mazorcas de maíz, hojas de maíz o tallos de tabaco; kieselgur, fosfato de tricalcio, corcho en polvo, o negro carbón absorbente; polímeros solubles en agua, resinas, ceras; o fertilizantes sólidos. Tales composiciones sólidas pueden, si se desea, contener uno o más agentes compatibles humectantes, dispersantes, emulsionantes o colorantes que, cuando son sólidos, pueden servir también como diluyente.

15 En una realización los tensioactivos incluyen tensioactivos no iónicos, tensioactivos aniónicos, tensioactivos catiónicos y/o tensioactivos anfóteros y promueven la capacidad de los agregados de mantenerse en solución durante la pulverización.

Los dispersores/adherentes promueven la capacidad de las composiciones de la invención de adherirse a las superficies de las plantas. Los ejemplos de tensioactivos, dispersores/adherentes incluyen pero no se limitan a
20 Tween y Triton (Rhom and Hass Company), Fortune®, Pulse, C. Daxoil, Codacide oil®, D-C talc, Supamet Oil, Bond®, Penetrant, Glowelt® y Freeway, metal alcalino, metal de tierra alcalina y sales de amonio o ácidos sulfónicos aromáticos, p.ej. ácido lignin-sulfónico, ácido fenolsulfónico, ácido naftalenosulfónico y ácido dibutilnaftalenosulfónico, y ácidos grasos, sulfonatos de alquilo y de aquilarilo, y éter de alquilo y laurilo y sulfatos de
25 alcoholes grasos, y sales de hexadecanoles sulfatados, heptadecanoles, y octadecanoles, sales de éteres de glicol de alcohol graso, productos de condensación de naftaleno sulfonatado y derivados de naftaleno con formaldehído, productos de condensación de naftaleno o ácidos naftalenosulfónicos con fenol y formaldehído, éteres de polioxietileno octilfenol, iso-octilfenol etoxilado, octilfenol etoxilado y nonilfenol etoxilado, éteres de poliglicol alquilfenol, éteres de poliglicol tributilfenilo, alquil-aril-poliéter alcoholes, alcohol isotridecilo, condensados de óxido de etileno y alcohol graso, aceite de castor etoxilado, éteres de polioxietileno alquilo, polioxipropileno etoxilado,
30 lauril-alcohol poliglicol éter acetal, ésteres de sorbitol, líquidos de desecho lignin-sulfito y metilcelulosa.

Los agentes humectantes reducen la tensión de superficie del agua en la composición y por lo tanto aumenta el área superficial sobre la que se se puede aplicar una cantidad dada de la composición. Los ejemplos de agentes humectantes incluyen pero no se limitan a sales de ácidos poliacrílicos, sales de ácidos lignosulfónicos, sales de ácidos fenolsulfónico o naftalenosulfónico, policondensados de óxido de etileno con alcoholes grasos o ácidos grasos o ésteres grasos o aminas grasas, fenoles sustituidos (particularmente alquilfenoles o arilfenoles), sales de ésteres de ácido sulfosuccínico, derivados de taurina (particularmente alquilauros), ésteres de ácido fosfórico de alcoholes o de policondensados de óxido de etileno con fenoles, ésteres de ácidos grasos con polioles, o derivados funcionales de sulfato, sulfonato o fosfonato de los anteriores compuestos.

40 En una realización el método preferido para aplicar la composición es pulverizar una solución diluida o concentrada con pistola o corriente de aire comercial.

Tal como se ha descrito anteriormente, las composiciones útiles en la presente invención pueden usarse solas o en combinación con uno o más agentes agrícolas, incluido pesticidas, insecticidas, acaricidas, fungicidas adicionales, bactericidas, herbicidas, antibióticos, antimicrobianos, nematocidas, rodenticidas, entomopatógenos, feromonas, atrayentes, reguladores del crecimiento de plantas, hormonas para plantas, reguladores del crecimiento de insectos,
45 quimioesterilizantes, agentes de control de plagas microbianas, repelentes, virus, fagoestimulantes, nutrientes de plantas, fertilizantes de plantas y controles biológicos. Cuando se usa en combinación con otros agentes agrícolas la administración de los dos agentes puede ser separada, simultánea o secuencial. Los ejemplos específicos de estos agentes agrícolas son conocidos por los expertos en la técnica, y muchos están rápidamente disponibles comercialmente.

50 Los ejemplos de los nutrientes de las plantas incluyen pero no se limitan a nitrógeno, magnesio, calcio, boro, potasio, cobre, hierro, fósforo, manganeso, molibdeno, cobalto, boro, cobre, silicio, selenio, níquel, aluminio, cromo y cinc.

Los ejemplos de antibióticos incluyen pero no se limitan a oxitetracilina y estreptomina.

55 Los ejemplos de fungicidas incluyen pero no se limitan a las clases siguientes de fungicidas: carboxamidas, bencimidazoles, triazoles, hidroxipiridinas, dicarboxamidas, fenilamidas, tiadiazoles, carbamatos, ciano-oximas, derivados de ácido cinámico, morfolinas, imidazoles, beta-metoxi acrilatos y piridinas/pirimidinas.

Otros ejemplos de fungicidas incluyen pero no se limitan a fungicidas naturales, fungicidas orgánicos, fungicidas a base de azufre, fungicidas de cobre/calcio e inductores de las defensas de la planta huésped.

Los ejemplos de fungicidas naturales incluyen pero no se limitan a leche entera, suero, ácidos grasos o ácidos grasos esterificados.

5 Los ejemplos de fungicidas orgánicos incluyen pero no se limitan a cualquier fungicida que pase una certificación orgánica estándar como agentes de biocontrol, productos naturales, inductores (algunos de ellos pueden clasificarse también como productos naturales), y fungicidas a base de azufre y cobre (limitados al uso restringido).

Un ejemplo de un fungicida a base de azufre es Kumulus™ DF (BASF, Alemania).

Un ejemplo de un fungicida de cobre es Kocide® 2000 DF (Griffin Corporation, USA).

Los ejemplos de inductores incluyen pero no se limitan a quitosano, Bion™, BABA (ácido DL-3-amino-n-butanoico, ácido β-aminobutírico) y Milsana™ (Western Farm Service, Inc., USA).

10 En algunas realizaciones se pueden emplear fungicidas no orgánicos. Los ejemplos de fungicidas no orgánicos incluyen pero no se limitan a Bravo™ (para el control del PM en curcubitáceas); Supershield™ (Yates, NZ) (para el control del Botrytis y del PM en rosas); Topas® 200EW (para el control del PM en uvas y curcubitáceas); Flint™ (para el control del PM en manzanos y curcubitáceas); Amistar® WG (para el control de la oxidación y del PM en cereales); y Captan™, Dithane™, Euparen™, Rovral™, Scala™, Shirlan™, Switch™ y Teldor™ (para el control del Botrytis en uvas).

15 Los ejemplos de pesticidas incluyen pero no se limitan a azoxistrobin, bitertanol, carboxin, Cu₂O, cymoxanil, ciproconazol, ciprodinil, diclofluamida, difenoconazol, diniconazol, epoxiconazol, fenpiclonilo, fludioxonil, fluquiconazol, flusilazol, flutriafol, furalaxil, guazatina, hexaconazol, hymexazol, imazalilo, imibenconazol, ipconazol, kresoxim-metil, mancozeb, metalaxil, R-metalaxil, metconazol, oxadixil, pefurazoato, penconazol, pencicuron, procloraz, propiconazol, piroquilona, SSF-109, espiroxamina, tebuconazol, tiabendazol, tolfuamida, triazoxide, triadimefón, triadimenol, triflumizol, triticonazol y uniconazol.

20 Un ejemplo de control biológico es el agente de control biológico BotryZen™ que comprende *Ulocladium oudemansii*.

25 La eficacia de los métodos de la invención puede confirmarse usando un sistema de ensayos tal como se describe en los Ejemplos.

La eficacia de los métodos de la invención puede confirmarse también usando sistemas de ensayos de campo. Por ejemplo, la confirmación de la capacidad de los métodos de la invención para prevenir el crecimiento fúngico puede obtenerse aplicando un compuesto o composición de la invención a un material vegetal y luego inocularlo con un organismo diana. La eficacia se confirma por la ausencia de crecimiento o menos crecimiento del organismo diana que un control no tratado.

30 La confirmación de la capacidad de los métodos de la invención para tratar el crecimiento fúngico puede obtenerse inoculando un material vegetal con un organismo diana y luego aplicar una composición de la invención. La eficacia se confirma por una reducción en el grado de crecimiento o la desaparición del organismo diana comparada con un control no tratado.

35 Ahora se ilustrarán varios aspectos de la invención de manera no limitada mediante referencia a los ejemplos siguientes.

Ejemplos

Ensayo 1 - Materiales y Métodos

40 Las calabazas (*Cucurbita maxima*) variedad 'Delica' y calabacines (*Cucurbita pepo*) variedad 'Black Jack' se pusieron en macetas con un medio de 80% de corteza y 20% piedra pómez, se mantuvieron durante 8 semanas en invernaderos, en un intervalo de temperatura de 15°C (noche) a 25°C (día), y un fotoperíodo natural. Las plantas se regaron dos veces por día durante intervalos de 3 min usando irrigación por goteo. Los medios contenían un complejo mezcla de fertilizantes (2 kg/m³ de dolomita, 1 kg/m³ de yeso, 1 kg/m³ de hidraflor, 2 kg/m³ de cal, 5 kg/m³ de Osmocote Plus, 1,5 kg/m³ de Osmoform Pre-mix, 1 kg/m³ de Super). Las flores, fruta y brotes secundarios se retiraron a lo largo del curso de los experimentos, según crecían las puntas una vez que las plantas habían alcanzado un tamaño adecuado (11+ hojas verdaderas). Las plantas de calabaza Squash se formaron con cuerdas tirantes suspendidas en el techo del invernadero.

50 Las plantas se asignaron de manera aleatoria para los grupos de tratamiento (8 replicados por grupo) con una planta replicado por cada tratamiento que se situó de manera aleatoria sobre una mesa separada (bloque) en el invernadero.

Las aplicaciones del tratamiento fueron a intervalos de 7 días e implicaban la pulverización de todas las hojas hasta escorrentía (aproximadamente 5 ml por hoja) usando botellas para pulverización manual. Las dos primeras aplicaciones de pulverización sobre las plantas libres de enfermedad comenzaron 7 y 2 días antes de la inoculación

artificial, cuando las plantas tuvieron al menos 8 hojas verdaderas (es decir de 5-6 semanas), con la tercera aplicación 2 días después de la inoculación, y cinco aplicaciones por semana a partir de entonces. Todos los ingredientes de la leche ensayados fueron suministrados por NZMP (NZ) Ltd, y las soluciones de estos ingredientes se prepararon el día antes de la aplicación y se almacenaron toda la noche a 4°C.

- 5 Las 2 primeras hojas verdaderas sobre cada planta fueron inoculadas de forma artificial con PM conidia de los patógenos del PM de las cucurbitáceas *Sphaerotheca fuliginea*. Estos se obtuvieron de las plantas de calabaza crecidas en invernadero, infectadas de forma natural. Las esporas de una hoja fuente desprendida se pusieron sobre la superficie adaxial de cada hoja verdadera para ser inoculada. Las esporas se aplicaron de la misma manera en placas Petri con una superficie conocida (56,75 cm²) y volumen (10 ml) de agua estéril que contenía 0,01% (v/v) de Tween 20. Siguiendo 15 recuentos de replicado de las placas Petri, usando un hemocitómetro Hausser Scientific, fue posible determinar que el procedimiento de inoculación aplicaba $2,7 \times 10^3 \pm 4,7 \times 10^2$ esporas/cm² (media \pm error estándar).

Se dejó que todas las hojas restantes de cada planta desarrollaran la infección naturalmente.

- 15 La severidad de la enfermedad sobre las hojas verdaderas 3-8 fue evaluada quincenalmente usando los diagramas de infección del área de la hoja en tanto por ciento (véase Figura 1) y una escala de puntuación de la enfermedad descrita por Spencer (9) y mostrada en la Tabla 1:

Tabla 1: Escala de puntuación de la enfermedad de la hoja por mildiú polvoriento según Spencer (9).

Puntuación	Area de hoja infectada en tanto por ciento
0	sin infección
1	0-1% infección
2	2-5% infección
3	6-20% infección
4	21-40% infección
5	>40% infección
6	100% infección

- 20 La primera evaluación se hizo 2 semanas después de la aplicación del tratamiento inicial, y luego a las semanas 4 y 6. Estos datos se analizaron como diseño de medidas repetidas (RMD) para determinar el efecto del tratamiento sobre la severidad de la enfermedad con el tiempo. Las diferencias del tratamiento a las 6 semanas fueron evaluadas solo como un diseño en bloque aleatorizado (RBD por sus siglas en inglés), por análisis de varianza (ANOVA), con medias de separación por Mínima Diferencia Significativa de Fisher (LSD, por sus siglas en inglés) ($P < 0,05$), usando un programa informático SAS, versión 8.01 TS (SAS Institute, Cary, NC.).

- 25 Las evaluaciones cualitativas de salud/estado de la hoja se hicieron al mismo tiempo que las evaluaciones de la severidad de la enfermedad, usando la escala arbitraria descrita a continuación.

Tabla 2: Escala arbitraria usada para describir el estado de la hoja para el Ensayo 1.

Puntuación	Estado de la hoja
A	Estado perfecto - imperfecciones no abióticas o bióticas.
B	Pequeñas imperfecciones p.ej. manchas cloróticas, roces, daño por insecto
C	Clorosis severa/avanzada, necrosis o distorsión de la hoja
D	Muerte de la hoja
Nota: una puntuación de A/B indica un estado de la hoja intermedia entre estados A y B.	

Ensayo 1 - Tratamientos

Los tratamientos usados se recogen en la Tabla 3.

Tabla 3: Tratamientos del Ensayo 1

	Tratamiento	Código
1)	Fungicida a base de azufre- Kumulus DF™ (BASF, Alemania) (3 g/L)	[azufre]
2)	AMF (30 g/L) + HV40™ (4 g/L) (Danisco, Brabrand, Dinamarca)	[AMF]
3)	AMF + HV40 + Grindox 122™ (Danisco, Brabrand, Dinamarca) (1g/L)	[AMF+antiox]
4)	Leche entera (30 g/L) + aceite de almendra (AO por sus siglas en inglés) (10 ml/L de 7,5 % de solución madre)	[leche+AO]
5)	Leche entera (30 g/L)	[leche]
6)	Alaco™ polvo crema 55 (30 g/L) (NZMP (NZ) Ltd)	[crema 55]

- 5 Los tratamientos de AMF se prepararon disolviendo el emulsionante HV40™ (4 g/L) en agua caliente (70°C) y añadiendo AMF, seguido de mezclado durante 30-60s. La solución se enfrió al menos a 30-40°C antes de la aplicación. Grindox 122™ es un antioxidante, compatible con grasas y aceites y requerido antes de la disolución en AMF licuada (> 40°C). Los tratamientos 1 y 4-6 se produjeron al añadir los componentes con agua y mezclando.

Ensayo 1 - Resultados

- 10 Los datos requirieron una transformación por raíz cuadrada (SQRT) para satisfacer los supuestos requeridos por ANOVA (distribución normal y homogeneidad de varianzas.) Los valores no transformados correspondientes por cada dato se dan entre paréntesis en las Figuras 2 y 3.

La Figura 2 muestra los efectos de los tratamientos de la Tabla 3 sobre la severidad de la enfermedad de PM sobre las hojas de calabaza 'Delica' no inoculados, seis semanas después de la aplicación del tratamiento inicial.

- 15 Moscas blancas proliferaron en el invernadero durante este ensayo, conduciendo a la co-aparición de moho de hollín. Las observaciones cualitativas del grado de moho de hollín presente en cada tratamiento se hicieron durante las evaluaciones de la enfermedad del PM.

- 20 El moho de hollín fue abundante en todos los tratamientos excepto con azufre, AMF y AMF+antiox. La incidencia del moho de hollín fue de medio a no existente en plantas tratadas con AMF y fue más severo para los tratamientos con leche entera y crema 55.

Seis semanas después de la aplicación del tratamiento inicial, las plantas de calabaza pulverizadas con los tratamientos de azufre, AMF, AMF+antioxidante, y leche+AO tuvieron una puntuación de la salud de las hojas media de B, las plantas pulverizadas con leche tuvieron una puntuación de B/C, y aquellas pulverizadas con crema 55 tuvieron una puntuación de C.

- 25 La Figura 3 muestra los efectos de la aplicación sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre las hojas de calabacín 'Black Jack' no inoculadas, seis semanas después de la aplicación del tratamiento inicial.

Moscas blancas y moho de hollín fueron presentes como se describe para las plantas de calabaza.

Las puntuaciones de la salud de las hojas medias para las plantas de calabacín fueron B para los tratamientos de azufre, AMF, AMF+antiox, y leche + AO, y C para los tratamientos con leche entera, y crema 55.

- 30 Ensayos 2 y 3 - Materiales y métodos generales

Se cultivaron calabazas (*Cucurbita maxima*) variedad 'Delica' y la primera hoja verdadera de cada planta fue inoculada de forma artificial como en el Ensayo 1.

- 35 Las aplicaciones del tratamiento fueron normalmente a intervalos de 7 días (aunque también se usaron intervalos de 14 y 21 días en el Ensayo 3) e implicó la pulverización de todas las hojas hasta escorrentía (aproximadamente 5 ml por hoja) usando botellas para pulverización manual. La primera aplicación comenzó 3-4 días después de la

inoculación artificial (excepto para tratamientos con inductor en el Ensayo 3), cuando las hojas no inoculadas de las plantas estaban todavía totalmente libre de enfermedad, y las plantas tenían hasta 8 hojas verdaderas (es decir tenían 5-6 semanas).

5 Todos los ingredientes de leche ensayados fueron suministrados por NZMP (NZ) Ltd, y las soluciones de estos ingredientes se prepararon el día antes de la aplicación y se almacenaron toda la noche a 4°C.

La severidad de la enfermedad sobre hojas verdaderas 1-8 fue puntuada semanalmente o quincenalmente como se ha discutido anteriormente.

10 Los datos se analizaron como diseño de medidas repetidas (RMD) para determinar el efecto del tratamiento sobre la severidad de la enfermedad con el tiempo. Las diferencias del tratamiento en la evaluación final de la enfermedad fueron evaluadas también como un diseño en bloque aleatorizado (RBD), por análisis de varianza (ANOVA), con medias de separación por Mínima Diferencia Significativa de Fisher (LSD) ($P < 0,05$), usando un programa informático SAS, versión 8.01 TS (SAS Institute, Cary, NC.).

Las evaluaciones cualitativas de salud/estado de la hoja se hicieron al mismo tiempo que las evaluaciones de la severidad de la enfermedad, usando la escala arbitraria descrita a continuación.

15 Tabla 4: Escala arbitraria usada para describir el estado de la hoja para los Ensayos 2 y 3.

Puntuación	Estado de la hoja
A	Estado perfecto - imperfecciones no abióticas o bióticas.
B	Imperfecciones menores, que no exceden un área de 5 mm ² .
C	Pequeñas imperfecciones 5-10 mm ² , p.ej. manchas cloróticas, roces
D	Manchas necróticas/cloróticas (manchas conjuntas), distorsión de la hoja
E	Clorosis severa/avanzada, necrosis o distorsión de la hoja
F	Más de 20% del área de la hoja está muerta
G	Muerte de la hoja

20 Los resultados para hojas no inoculadas (infectadas de forma natural) y hojas inoculadas (inoculadas de forma artificial) se presentan por separado. La capacidad de un tratamiento para controlar la infección por PM se ensayó comparando los niveles finales de infección (después de 6 semanas de la aplicación del tratamiento) frente a los niveles de infección originales.

Ensayo 2 - Tratamientos principales

25 Se usó un diseño en bloque aleatorizado que comprendía 8 bloques (mesas en el invernadero) y 15 tratamientos (incluidas plantas control pulverizadas con agua y tratadas con fungicida), con una planta replicado por tratamiento por bloque. Los tratamientos se aplicaron primero 4 días después de la inoculación artificial sobre la primera hoja verdadera, y después semanalmente. Hubo 6 aplicaciones de tratamiento en total.

Los tratamientos usados se recogen en la Tabla 5.

Tabla 5: Tratamientos principales del Ensayo 2

	Tratamiento	Código
1)	Fungicida Kumulus™ DF (3 g/L)	[Kumulus]
2)	Agua	[H2O]
3)	AMF (30 g/L) + emulsionante Alanate 191™ (15 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF+191]
4)	AMF (30 g/L) + emulsionante DATEM (8 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF+Dat]
5)	Aceite pulverizado Synerrol (5 ml/L)	[Synerrol]
6)	Aceite de pescado (20 ml/L)	[Pescado]
7)	Aceite de soja (20 ml/L) + emulsionante DATEM (8 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[Soja+Dat]
8)	Grasa de coco (20 g/L) + emulsionante DATEM (8 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[Coc+Dat]
9)	Aceite de oliva (20 ml/L) + emulsionante DATEM (8 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[Oli+Dat]
10)	AMF (30 g/L) + emulsionante DATEM (8 g/L) + Aceite de pescado (20 ml/L)	[AMF+Dat+Pescado]
11)	AMF (30 g/L) + emulsionante DATEM (8 g/L) + aceite pulverizado Synerrol (5 ml/L)	[AMF+Dat+Syn]
12)	AMF (30 g/L) + emulsionante DATEM (8 g/L) + Grasa de coco (2% p/v)	[AMF+Dat+Coc]
13)	AMF (30 g/L) + emulsionante Alanate 191™ (15 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L) + conservante Natamax™ (20 mg/L)	[AMF+191+Natamax]
14)	Suero de leche en polvo (30 g/L)	[suero de leche]
15)	Alaco™ polvo crema 70 (30 g/L)	[Crema 70]

Las fuentes de los tratamientos son las que se indican: Kumulus™ DF (BASF, Alemania); AMF y Alanate 191™ (NZMP Ltd); antioxidante Grindox 122™ y emulsionante DATEM Panodan™ AL 10 (Danisco Ltd, Brabrand, Dinamarca); Synerrol Horti Oil (Protectores de cultivos orgánicos, NSW, Australia); Aceite de pescado- Bio-Sea™ (SeaLord Group Ltd, Nelson, Nueva Zelanda); Aceite de soja (Amco brand, Goodman Fielder NZ Ltd, Auckland, NZ); grasa de coco (Punja and Sons Ltd., Latutoka, Fiji); aceite de oliva (marca Rizzoli, Italia); Natamax™ (Danisco Ltd, Brabrand, Dinamarca); y Alaco™ polvo crema 70 (NZMP (NZ) Ltd).

Ensayo 2 - Resultados de los tratamientos principales- Diseño en bloque aleatorizado

10 La Figura 4 muestra los efectos de los tratamientos principales del Ensayo 2 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre hojas no inoculadas después de seis semanas de la aplicación del tratamiento.

15 "AMF+Dat+Coc", "Soja+Dat", "Oli+Dat", "Kumulus", "AMF+Dat", "Pescado", "AMF+Dat+Syn", "Coc+Dat" y "AMF+Dat+Pescado" fueron los tratamientos más eficaces en la prevención de la infección del PM. Todos estos tratamientos fueron igualmente eficaces, limitando las infecciones a menos de 1% de la superficie de la hoja (puntuación de la enfermedad del PM <1).

"AMF+191", "Synerrol" y "AMF+191+Natamax" produjeron niveles intermedios de la infección (1-5% de la superficie de la hoja).

"H2O" fue el peor tratamiento, seguido de "Suero de leche", y luego de "Crema 70".

Las puntuaciones de la salud de las hojas fueron evaluadas usando los criterios descritos en la Tabla 4 y se recogen en la Tabla 6. Cada valor presentado en la Tabla 6 es un valor medio en lugar de una media aritmética.

Tabla 6: Las puntuaciones de la salud de las hojas no inoculadas a las 6 semanas de la aplicación del tratamiento.

	Código de tratamiento	Puntuación de la salud de las hojas
1)	Kumulus	B
2)	H2O	E
3)	AMF+191	D
4)	AMF+Dat	G
5)	Synertrol	C
6)	Pescado	E
7)	Soja+Dat	B
8)	Coc+Dat	C
9)	Oli+Dat	B
10)	AMF+Dat+Pescado	F
11)	AMF+Dat+Syn	F
12)	AMF+Dat+Coc	G
13)	AMF+191+Natamax	D
14)	suero de leche	C
15)	Crema 70	C

5

Ensayo 2 - Resultados del tratamiento principal- Diseño de medidas repetidas

Con la evaluación del efecto del tratamiento con el tiempo (datos a la semana 2, 4 y 6), fueron detectables diferencias en el tratamiento altamente significativas en las puntuaciones de la enfermedad del PM justo después de 2 semanas de la aplicación del tratamiento ($p < 0,0001$, Tabla 7). Las infecciones naturales incrementaron significativamente con el tiempo para todos los tratamientos excepto para "Kumulus", "AMF+Dat", "Pescado", "Soja+Dat", "Coc+Dat", "Oli+Dat", "AMF+Dat+Pescado", "AMF+Dat+Syn" y "AMF+Dat+Coc", donde las puntuaciones de la enfermedad del PM se mantuvieron iguales en el tiempo o disminuyeron, debido a la eliminación de las infecciones en el último caso.

Para hojas inoculadas, la severidad de la enfermedad fue mayor que en hojas infectadas de forma natural debido a la introducción artificial del patógeno antes de la aplicación del primer tratamiento (comparar Tablas 7 y 8).

15

ES 2 560 239 T3

Tabla 7: Los efectos de los tratamientos principales del Ensayo 2 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre hojas de calabaza 'Delica' no inoculadas con el tiempo.

Tratamiento	Puntuación de la enfermedad del PM		
	2 semanas	4 semanas	6 semanas
Kumulus	0,21	0,14	0,09
H2O	0,88	2,86	5,46
AMF + 191	0,50	0,82	1,61
AMF+Dat	0,04	0,13	0,11
Synerrol	0,24	0,90	1,75
Pescado	0,17	0,14	0,13
Soja+Dat	0,00	0,00	0,02
Coc+Dat	0,00	0,04	0,15
Oli+Dat	0,03	0,07	0,06
AMF+Dat+Pescado	0,14	0,02	0,16
AMF+Dat+Syn	0,27	0,02	0,13
AMF+Dat+Coc	0,00	0,05	0,00
AMF+ 191+Natamax	0,58	1,09	1,93
suero de leche	0,75	1,46	2,71
crema 70	0,61	1,61	2,14
Tiempo LSD = 0,19			

5 Tabla 8: Los efectos de los tratamientos principales del Ensayo 2 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre hojas de calabaza 'Delica' inoculadas con el tiempo.

Tratamiento	Puntuación de la enfermedad PM		
	2 semanas	4 semanas	6 semanas
Kumulus	3,12	3,50	3,88
H2O	5,00	5,25	5,63
AMF + 191	3,75	3,13	2,75
AMF+Dat	0,63	1,50	0,00

Tratamiento	Puntuación de la enfermedad PM		
	2 semanas	4 semanas	6 semanas
Synerrol	3,13	3,88	4,13
Pescado	2,13	1,63	1,88
Soja+Dat	0,13	0,38	1,50
Coc+Dat	1,38	1,75	2,25
Oli+Dat	0,88	1,50	2,43
AMF+Dat+Pescado	3,63	2,38	3,40
AMF+Dat+Syn	3,38	2,00	3,33
AMF+Dat+Coc	0,25	1,71	2,00
AMF+ 191+Natamax	4,00	3,63	3,38
suero de leche	4,63	4,63	5,13
crema 70	4,38	5,13	5,57
Tiempo LSD = 0,66			

Tal como se muestra en la Figura 5, las disminuciones en la puntuación de la enfermedad del PM con el tiempo se asociaron con varios tratamientos, denominados "AMF+191", "AMF+Dat", "Pescado", "AMF+Dat+Pescado", "AMF+Dat+Syn" y "AMF+Dat+Natamax".

5 Ensayo 2 - Tratamientos adicionales

También se llevaron a cabo cuatro tratamientos adicionales como se recogen en la Tabla 9.

Tabla 9: Tratamientos adicionales del Ensayo 2 .

	Tratamiento	Código
21)	Alanate 191™ (30 g/L), disuelto en agua a temperatura ambiente	[191-frío]
22)	Alanate 191™ (15 g/L), disuelto en agua a 70°C	[191-caliente]
23)	emulsionante Grindsted™ Mono-Di HV40 (4 g/L) (Danisco, Ltd, Dinamarca)	[HV40]
24)	emulsionante DATEM (8 g/L)	[DATEM]

10 Hubo dos plantas replicado por tratamiento y ambas plantas replicado estaban en la misma mesa. Todas las plantas fueron infectadas de forma natural al principio de este experimento, por lo que las primeras hojas verdaderas no fueron inoculadas de forma artificial. La primera evaluación de la enfermedad coincidió con la primera aplicación del tratamiento y después semanalmente para otras cuatro aplicaciones de tratamiento.

Ensayo 2 - Resultados del tratamiento adicional

Para los tratamientos adicionales en el Ensayo 2, todas las plantas fueron infectadas de forma natural en la primera

ES 2 560 239 T3

aplicación del tratamiento de modo que no hubo necesidad de inoculación artificial. Las evaluaciones de la enfermedad se hicieron en las semanas 0, 1, 2, 3 y 4 después de la primera aplicación del tratamiento, tal como se muestra en la Tabla 10.

5 Tabla 10: Los efectos de los tratamientos adicionales del Ensayo 2 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre hojas de calabaza 'Delica' no inoculadas con el tiempo.

Tratamiento	Puntuación de la enfermedad del PM				
	0 semana	1 semana	2 semanas	3 semanas	4 semanas
191-frío	2,43	2,57	3,57	5,08	5,36
191-caliente	1,57	2,36	2,79	5,07	5,43
HV40	1,87	2,23	3,29	4,66	5,21
DATEM	1,57	1,86	2,36	3,29	3,63
Tiempo LSD = 0,47					

Ensayo 3 - Tratamientos principales

Los tratamientos usados se recogen en la Tabla 11. Se evaluaron ocho plantas de calabaza replicado por tratamiento (1 replicado por bloque).

10 Tabla 11: Tratamientos principales del Ensayo 3

	Tratamiento	Código
1)	Agua	[H2O]
2)	Fungicida Kumulus™ DF (3 g/L)	[Kumulus]
3)	emulsionante AMF (14 g/L) + emulsionante DATEM (5 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[1.4AMF+Dat]
4)	AMF (7 g/L) + emulsionante DATEM (5 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[0.7AMF+Dat]
5)	AMF (14 g/L) + emulsionante DATEM (5 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L), aplicado una vez cada quince días	[1.4AMF+Dat/2sem]
6)	AMF (14 g/L) + emulsionante DATEM (5 g/L) + Grindox antioxidante 122™ (1 g/L) , aplicado una vez cada tres semanas	[1.4AMF+Dat/3sem]
7)	AMF (28 g/L) + estabilizante goma Xantano (1 g/L) + emulsionante Palsgaard 7463 (1 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[2.8AMF+X/Ps]
8)	AMF (14 g/L) + estabilizante goma Xantano (1 g/L) + emulsionante Palsgaard 7463 (1 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[1.4AMF+X/Ps]
9)	AMF (14 g/L) + estabilizante goma Xantano (1 g/L) + emulsionante Palsgaard 7463 (1 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L), aplicado una vez cada tres semanas	[1.4AMF+X/Ps/3sem]
10)	AMF (7 g/L) + estabilizante goma Xantano (1 g/L) + emulsionante Palsgaard 7463 (1 g/L)	[0.7AMF+X/Ps]

	Tratamiento	Código
	+ antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	
11)	AMF (7 g/L) + Aceite de soja (7 ml/L) + emulsionante DATEM (5 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF+Soja+Dat]
12)	AMF (7 g/L) + Grasa de coco (7 g/L) + emulsionante DATEM (5 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF+Coc+Dat]
13)	inductor Bion™ (50 ppm) + AMF (14 g/L) + emulsionante DATEM (5 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[BTH+AMF+Dat]
14)	inductor BABA (25 ml/L de una solución madre 10 mg /ml) + AMF (14 g/L) + emulsionante DATEM (5 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[BABA+AMF+Dat]
15)	inductor Quitosán (20 ml/L de una solución madre 10 mg/ml) + AMF (14 g/L) + emulsionante DATEM (5 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[Quit+AMF+Dat]
16)	Acido caprílico (10 g/L) + Acido cáprico (10 g/L) + Monolaurin (5 g/L)	[Capri+CA+LA]
17)	Poem J-2021 (1,25 g/L)	[1,25 J-2021]
18)	Poem J-2021 (5 g/L)	[5 J-2021]
19)	Acido cáprico (0,34 g/L) + Acido láurico (0,40 g/L)	[CA+LA]
20)	Acido linoleico (0,14 g/L)	[Linol]

Las fuentes de los tratamientos son las que se indican: Goma Xantano y Palsgaard 7463 (Hawkins Watts Ltd, Auckland, NZ); Bion (Syngenta, NC, USA); BABA (ácido DL-3-amino-n-butanoico, ácido β-aminobutírico) (Sigma-Aldrich, NSW, Australia); Quitosán (Sigma-Aldrich, NSW, Australia); Acido caprílico, ácido cáprico y ácido linoleico (Sigma-Aldrich, NSW, Australia); Monolaurin (Danisco Ltd, Brabrand, Dinamarca); y Poem J-2021 (Riken Vitamin Co. Ltd, Tokyo, Japón.).

La primera hoja verdadera de cada planta fue inoculada de forma artificial con PM, mientras todas las otras hojas de la planta se dejaron que se infectaran de forma natural. Los inductores (tratamientos 13-15) se aplicaron primero 5 días antes de la inoculación artificial, para dar tiempo a la inducción de defensas del huésped antes de la aparición del hongo del PM, y cada tres semanas después. Las aplicaciones repetidas de Bion™ causaron fitotoxicidad de modo que este inductor fue incluido solamente en el tratamiento 13 en la primera aplicación, y las aplicaciones posteriores comprendieron solo AMF+DATEM+Grindox 122. Todos los otros tratamientos se aplicaron primero 3 días después de la inoculación artificial y semanalmente (tratamientos 1-4, 7-8, 10-12, 16-20), quincenalmente (tratamiento 5), o intervalos de 3 semanas (tratamientos 6 y 9) después.

El efecto de los tratamientos seleccionados sobre la germinación de otros tres hongos hortícolas importantes, *Botrytis cinerea* (agente causal del moho gris sobre las uvas, kiwi, tomates, fresas, etc), *Monilinia fructicola* (agente causal de la podredumbre parda de la fruta con hueso), y *Cladosporium cladosporioides* (uno de los hongos que puede causar el moho de hollín) se evaluó también usando el ensayo 96-pocillos de Wilson et al (10).

Ensayo 3 - Resultados de los tratamientos principales- Diseño en bloque aleatorizado

La Figura 6 muestra los efectos de los tratamientos principales del Ensayo 3 sobre la severidad de la enfermedad sobre plantas no inoculadas después de 7 semanas de tratamiento. La Figura 6 no presenta ningún valor para el tratamiento "Capry+CA+LA" porque las hojas no inoculadas murieron debido a la fitotoxicidad severa.

Las evaluaciones de la salud de las hojas no inoculadas del Ensayo 3 después de 7 semanas de la aplicación de tratamiento se muestran en la Tabla 12. Las puntuaciones de la salud de las hojas se evaluaron usando el criterio descrito en la Tabla 4. Cada valor presentado en la Tabla 12 es un valor medio en lugar de una media aritmética.

Tabla 12: Puntuación de la salud de las hojas para los tratamientos principales del Ensayo 3.

	Código de tratamiento abreviado	Puntuación de la salud de las hojas
1)	H2O	F
2)	Kumulus	E
3)	1.4AMF+Dat	B
4)	0.7AMF+Dat	B
5)	1.4AMF+Dat/2sem	D
6)	1.4AMF+Dat/3sem	E
7)	2.8AMF+X/Ps	F
8)	1.4AMF+X/Ps	F
9)	1.4AMF+X/Ps/3sem	E
10)	0.7AMF+X/Ps	E
11)	AMF+Soja+Dat	E
12)	AMF+Coc+Dat	C
13)	BTH+AMF+Dat	E
14)	BABA+AMF+Dat	E
15)	Quit+AMF+Dat	E
16)	Capri+CA+LA	G
17)	1.25 J-2021	E
18)	5 J-2021	E
19)	CA+LA	E
20)	Linol	F

Ensayo 3 - Resultados del tratamiento principal- Diseño de medidas repetidas

Se evaluó el efecto del tratamiento con el tiempo en las semanas 0, 2, 4, 6 y 7.

- 5 Al principio de este ensayo (0 semanas después de la inoculación de la primera hoja verdadera), las infecciones naturales del PM sobre las hojas no inoculadas (hojas 2-8) cubrían menos de 1% de la superficie de la hoja, y no hubo diferencias significativas en el tratamiento en esta etapa excepto para las plantas de los tratamientos con los tres inductores que contenían BTH, BABA y Quitosán (Tabla 13). Estas plantas inducidas estuvieron virtualmente libres de infección en la semana 0, y fueron las únicas plantas que recibieron una aplicación de pulverización 5 días antes de la inoculación artificial (Tabla 13). Cinco días antes de la inoculación artificial, todas las plantas es decir no solamente aquellas tratadas con inductores, estaban mayormente libres de infección natural. Los efectos del tratamiento fueron altamente significativos ($p < 0,0001$) justo dos semanas después de la inoculación artificial, con un
- 10

5

cese en la actividad protectora que ocurría en los tratamientos "H2O", "BTH+AMF+Dat", "BABA+AMF+Dat", "1.25 J-2021", "CA+LA" y "Linol" (Tabla 13). Después de 4 semanas de la aplicación del tratamiento, todas las hojas no inoculadas murieron en el tratamiento "Capri+CA+LA" de modo que las evaluaciones de la enfermedad no fueron posibles después de este tiempo. Para la mayoría de los tratamientos, los mayores incrementos en las infecciones naturales tuvieron lugar entre las semanas 4 y 6, pero la severidad de la enfermedad en los tratamientos "Kumulus", "1.4AMF+Dat", "0.7AMF+Dat", "AMF+Soja+Dat" y "AMF+Coc+Dat" se mantuvo a o después del nivel de la semana 0 a lo largo de todo el experimento (Tabla 13).

Tabla 13: Los efectos de los tratamientos principales del Ensayo 3 sobre la severidad del PM sobre las hojas de calabaza 'Delica' no inoculadas con el tiempo.

Tratamiento	Puntuación de la enfermedad del PM				
	0 semana	2 semanas	4 semanas	6 semanas	7 semanas
H2O	0,62	2,94	5,61	5,88	6,00
Kumulus	0,70	0,79	0,79	0,94	0,90
1.4AMF+Dat	0,57	0,31	0,46	0,53	0,48
0.7AMF+Dat	0,54	0,42	0,63	0,52	0,67
1.4AMF+Dat/2sem	0,65	0,69	1,48	1,86	2,18
1.4AMF+Dat/3sem	0,63	0,60	2,27	2,98	3,08
2.8AMF+X/Ps	0,65	0,63	0,86	1,19	1,07
1.4AMF+X/Ps	0,63	0,90	1,25	1,28	1,63
1.4AMF+X/Ps/3sem	0,63	1,31	3,40	3,88	3,90
0.7AMF+X/Ps	0,65	1,27	1,88	2,08	2,25
AMF+Soja+Dat	0,56	0,54	0,49	0,71	0,77
AMF + Coc + Dat	0,65	0,52	0,46	0,52	0,65
BTH+AMF+Dat	0,13	1,04	2,19	2,56	2,83
BABA+AMF+Dat	0,22	1,05	2,35	2,74	2,87
Quit+AMF+Dat	0,23	0,63	1,65	2,06	2,20
Capri+CA+LA	0,62	0,00	4,00	.*	.*
1.25 J-2021	0,53	2,13	4,33	5,03	5,08
5 J-2021	0,62	0,81	2,10	2,67	2,81
CA + LA	0,74	2,23	3,61	4,34	4,49
Linol	0,63	2,77	5,56	6,00	6,00
Tiempo LSD = 0,34					
* Las plantas murieron de fitotoxicidad					

10

Para muchos de los tratamientos aplicados a las hojas inoculadas, la severidad de la enfermedad disminuyó sobre las 4 primeras semanas, respecto a los niveles de infección del principio del experimento (Tabla 14). Sin embargo, la enfermedad aumentó continuamente a lo largo del ensayo en las plantas pulverizadas con "H2O", "CA+LA" y "Linol". No fue posible medir la evaluación de la enfermedad de las hojas que recibieron el tratamiento

ES 2 560 239 T3

"Capri+CA+LA" a partir de la semana 2, porque murieron por la severa fitotoxicidad.

Tabla 14: Los efectos de los tratamientos principales del Ensayo 3 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre hojas de calabaza 'Delica' inoculadas con el tiempo.

Tratamiento	Puntuación de la enfermedad del PM				
	0 semana	2 semanas	4 semanas	6 semanas	7 semanas
H2O	3,00	5,50	6,00	6,00	6,00
Kumulus	2,75	3,13	2,13	3,63	3,63
1.4AMF+Dat	3,25	1,50	1,25	1,83	2,88
0.7AMF+Dat	2,88	1,88	1,25	2,43	2,57
1.4AMF+Dat/2sem	2,75	2,13	1,63	3,13	3,43
1.4AMF+Dat/3sem	2,75	1,88	1,75	2,86	3,63
2.8AMF+X/Ps	2,63	2,13	1,38	3,25	3,88
1.4AMF+X/Ps	2,75	2,50	2,00	3,13	3,38
1.4AMF+X/Ps/3sem	2,75	3,50	3,38	4,50	4,38
0.7AMF+X/Ps	2,75	3,50	3,00	4,00	4,50
AMF+Soja+Dat	2,63	1,63	1,00	2,88	2,86
AMF + Coc + Dat	2,88	1,88	1,38	3,00	4,13
BTH+AMF+Dat	1,88	2,88	2,29	4,71	5,00
BABA+AMF+Dat	1,50	3,88	2,38	4,63	4,75
Quit+AMF+Dat	1,63	2,63	1,75	3,71	3,71
Capri + CA + LA	3,00	.*	.*	.*	.*
1.25 J-2021	3,00	4,63	4,25	5,13	5,25
5 J-2021	2,75	2,63	1,88	3,57	4,17
CA + LA	3,25	5,00	5,13	5,57	5,71
Linol	2,63	5,25	5,88	6,00	6,00
Tiempo LSD = 0,67					
* Las plantas murieron de fitotoxicidad					

5 Ensayo 3 - Tratamientos adicionales

Los dos tratamientos adicionales comprendieron:

Tabla 15: Tratamientos adicionales del Ensayo 3 .

	Tratamiento	Código
21)	AMF (7 g/L) + Aceite de oliva (7 ml/L) + emulsionante DATEM (5 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF+Oli+Dat]
22)	Di-glicerina-mono-laurato (2,45 g/L) (Danisco Ltd, Brabrand, Dinamarca)	[DGML]

Los tratamientos se aplicaron primero 3 días después de la inoculación artificial sobre la hoja 1, y después a intervalos semanales. Hubo 4 replicados por tratamiento, con dos replicados por mesa por invernadero.

5 Ensayo 3 - Resultados del tratamiento adicional

La severidad de la enfermedad aumentó significativamente con el tiempo en hojas no inoculadas tratadas con "DGML", pero las infecciones naturales mantuvieron los mismos niveles originales a lo largo del experimento para "AMF+Oli+Dat" (Figura 7). Después de 7 semanas, la puntuación de la salud de las hojas para hojas no inoculadas "DGML" y "AMF+Oli+Dat" fueron E y D, respectivamente.

- 10 El aumento en la puntuación del PM desde las semanas 0 a 2 para hojas inoculadas en el tratamiento "AMF+Oli+Dat" fue significativo (Figura 8). Las puntuaciones de la salud para la primera hoja verdadera en ambos tratamientos fue F/G debido a la senescencia natural.

Ensayo 3 - Resultados del tratamiento principal- Germinación de hongos

- 15 La Tabla 16 compara la inhibición de la germinación de las esporas de *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, y *Monilinia fructicola* con los tratamientos del Ensayo 3 , después de 24 horas de incubación a 19°C.

Tabla 16: Inhibición de la germinación de las esporas de *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, y *Monilinia fructicola* con las preparaciones del tratamiento del Ensayo 3, después de 24 horas de incubación a 19°C.

Código de tratamiento	<i>Botrytis</i>	<i>Clado.</i>	<i>Monilinia</i>	Puntuación total
H2O	-	-	-	0
Kumulus	**	***	****	9
1.4AMF+Dat	***	****	****	11
0.7AMF+Dat	***	****	**	9
2.8AMF+X/Ps	-	**	-	2
1.4AMF+X/Ps	*	*	-	2
0.7AMF+X/Ps	-	-	-	0
AMF+Soja+Dat	****	****	****	12
AMF + Coc + Dat	****	****	***	11
BTH+AMF+Dat	****	****	***	11
BABA+AMF+Dat	**	****	**	8
Quit+AMF+Dat	***	****	****	11
Capri+CA+ML	****	****	****	12
1.25 J-2021	-	*	**	3
5 J-2021	**	**	**	6

Código de tratamiento	<i>Botrytis</i>	<i>Clado.</i>	<i>Monilinia</i>	Puntuación total
CA + LA	***	****	****	11
Linol	-	-	-	0
AMF+Oli+Dat	***	****	***	10
DGML	**	****	****	10

Clave: **** Ninguna germinación (puntuación 4)
 *** Ligera germinación (3)
 ** Moderada germinación (2)
 * germinación, menos que control (1)
 - Ninguna actividad = germinación igual que el control (puntuación 0)

La puntuación total es la suma de todas las puntuaciones de germinación por cada tratamiento (máximo valor posible: 12 (mayor inhibición); mínimo: 0 (ninguna inhibición)).

Ensayo 4 - Estabilidad/Almacenamiento

- 5 Tres emulsiones AMF se sometieron a un ensayo de almacenamiento acelerado según ACVM (compuestos agrícolas y medicamentos veterinarios por sus siglas en inglés) para cuantificar su estabilidad. El ensayo de almacenamiento acelerado (<http://www.nzfsa.govt.nz/acvm/publications/standards-suidelines/chem-pc.pdf> - último acceso 11 de Julio 2005, véase también 23 ACVM 06/05) comprendía el almacenamiento de 3 lotes de cada producto durante 2 semanas a 54°C, condiciones pensadas para aproximarse a 2 años de almacenamiento a temperatura ambiente. Inmediatamente antes y después del almacenamiento acelerado se midieron el valor de peróxido (PV), valor p-anisidina (AV), y ácidos grasos libres (FFA) según AgriQuality New Zealand Ltd, Auckland. Estas medidas proporcionan una indicación de la extensión de la oxidación de lípidos que liberan aromatizantes responsables de olores y aromas desagradables. Ya que el análisis de los productos finales de la auto-oxidación de lípidos es problemático, las medidas indicativas de la oxidación son:
- 10
- 15 Valor de peróxido mide hidroperóxidos, compuestos intermedios de oxidación de lípidos que pueden ser oxidados posteriormente para producir compuestos de aromas potentes.
- Valor de Anisidina mide aldehídos α/β insaturados, que son productos secundarios de la oxidación de lípidos
- 20 Acidos grasos libres estos tienden a aumentar a medida que los lípidos complejos se degradan. Los ácidos grasos de cadena corta también contribuyen a los olores, pero son difíciles de detectar mediante este ensayo.

El número TOTOX (AV + (2x PV)) se calculó también para todos las muestras ensayadas. Este número proporciona una estimación única de ambos intermedios y productos finales resultantes de la oxidación de lípidos. Las tres emulsiones ensayadas se detallan en la Tabla 17.

- 25 Tabla 17: Tratamientos sujetos al ensayo de almacenamiento acelerado.

	Tratamiento	Código
1)	AMF (30 g/L) + Alanate 191™ (15 g/L) + Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF+191]
2)	AMF (30 g/L) + DATEM (8 g/L) + Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF+Dat]
3)	AMF (30 g/L) + goma Xantano (1 g/L) + Palsgaard 7463 (1 g/L) + Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF+X/Ps]

Tanto antes como después el ensayo de almacenamiento acelerado, las tres emulsiones se mantuvieron estables, ya que no se separaron en fases separadas o desarrollaron ningún olor desagradable. Los resultados del ensayo se

muestran en la siguiente Tabla 18.

Tabla 18: La degradación oxidativa en emulsiones de grasa de leche siguiendo un ensayo de almacenamiento acelerado, medido por el valor de peróxido (PV), valor de p-Anisidina (AV), Acidos grasos libres (FFA) y TOTOX.

Emulsión	PV (meqO ₂ /kg grasa ^a)	AV ^b	FFA ^c (%)	TOTOX
Antes de almacenamiento				
AMF+191	5,00 ± 0,00	1,83 ± 0,34	0,03 ± 0,00	11,83
AMF+Dat	2,93 ± 0,29	3,13 ± 0,48	0,16 ± 0,00	8,99
AMF+X/Ps	4,47 ± 0,44	2,13 ± 0,23	0,03 ± 0,00	11,07
Después de almacenamiento				
AMF+191	3,67 ± 0,72	2,17 ± 0,54	0,01 ± 0,00	9,51
AMF+Dat	3,67 ± 0,41	5,90 ± 0,29	0,43 ± 0,01	13,24
AMF+X/Ps	4,60 ± 0,15	2,80 ± 0,10	0,03 ± 0,00	12,00
^a miliequivalentes de O ₂ por kg de grasa				
^b medido como densidad óptica por grasa en vez de por base de muestra, este valor no tiene unidades				
^c medido como masa/masa en tanto por ciento, es decir g por 100g de muestra				

- 5 A pesar del cambio en el valor TOTOX para las emulsiones "AMF+Dat" y "AMF+X/Ps" cualquier oxidación ocurrida fue insuficiente para causar el cese de la emulsión, o desarrollo de malos olores.

Ensayo 5 - Materiales y Métodos

10 Vides (*Vitis vinifera*) maduras (de 11 años) variedad Chardonnay se dejaron infectar de forma natural. Se hicieron cinco tratamientos como se muestra en la Tabla 19. Se aplicaron nueve pulverizaciones entre la floración y la cosecha según se detalla en la Tabla 20, usando una pistola motorizada, de presión moderada, y una velocidad de aplicación de 500 L/ha durante la floración y luego a 800 L/ha. El fungicida de grasa de leche se preparó como un concentrado emulsionable, diluido 35 veces con agua inmediatamente antes de su uso.

15 Las incidencias (porcentaje de racimos/hojas infectados) y severidades (porcentaje de area de hoja/racimo cubierto por la enfermedad) en las enfermedades del *Botrytis cinerea*, podredumbre ácida y del mildiú polvoriento se evaluaron usando 50 hojas/racimos por parcela. El porcentaje de cultivo de fruta/follaje total infectado se calculó como el producto de la incidencia de enfermedad y severidad media. Las infecciones del PM en la fruta se evaluaron al inicio del envero. Las infecciones del PM en hojas, infecciones por *B. cinerea* y podredumbre ácida en la fruta y el rendimiento (kg fruta/vid) se evaluaron en la cosecha. El experimento se analizó como un diseño en bloque aleatorizado con 4 vides replicado por tratamiento, con cada vid replicado en una fila separada (parcela). ANOVA y la separación media por LSD (P < 0,05) se llevaron a cabo usando el programa informático SAS, versión 8.02 (SAS Institute, Cary, NC).

20

Ensayo 5 - Tratamientos

Tabla 19: Tratamientos del Ensayo 5 .

Tratamiento	Código de tratamiento abreviado
No pulverizado (sin fungicidas)	[No pulverizado]
Kumulus® DF (BASF, Alemania) (3 g/L)	[Kumulus]
Kocide® 2000 DF (1,5 g/L)	[Kocide]
Todos los fungicidas (Shirlan®, Switch®, Dithane® M45 WDG, Captan WG, Teldor®, Scala®, and Rovral® FLO)	[Todos Fungic]
AMF (7 g/L) + emulsionante DATEM (5 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF+Dat]

- 5 Los fungicidas, Rovral® FLO y Scala® fueron producidos por Bayer AG, Alemania; Captan WG por Crop Care Australasia (Brisbane, Australia); Switch® por Syngenta (Basel, Suiza); Dithan® M45 WDG por Dow AgroSciences (IN, USA), Shirlan® By Zeneca Ltd (Hertfordshire, UK) y Kocide® 2000 DF por the Griffin Corporation, USA.

Tabla 20: Programa de Aplicación del tratamiento del Ensayo 5

Código de tratamiento	Fenología de la vid en el momento de la aplicación por pulverización								
	5% de floración	80% de floración	Post-floración	Tamaño de grano de guisante	Anterior al cierre del racimo	Posterior al cierre del racimo	Envero	4.5 sem antes de la cosecha	2.5 sem antes de la cosecha
No pulverizado	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kumulus	30g/10L	30g/10L	30g/10L	30g/10L	30g/10L	30g/10L	30g/10L	-	-
Kocide	15g/10L	15g/10L	15g/10L	15g/10L	15g/10L	15g/10L	15g/10L	15g/10L	15g/10L
Todo Fungic	Shirlan 10ml/10L Kumulus 30g/10L	Switch 8g/10L Kumulus 30g/10L	Dithane 20g/10L Kumulus 30g/10L	Captan 12,5g/10L Kumulus 30g/10L	Teldor 7,5ml/10L Kumulus 30g/10L	Captan 12,5g/10L Kumulus 30g/10L	Scala 20ml/10L Kumulus 30g/10L	Captan 12,5g/10L -	Rovral 300ml/10L -
AMF+Dat	Todas las aplicaciones: AMF (7g/L) + DATEM (5g/L) + Grindox 122 (1g/L)								

Ensayo 5 - Resultados

- 10 "AMF" proporciona el control del PM sobre las hojas de vid que iguala a los programas de pulverización de azufre ("Kumulus"), cobre ("Kocide"), y todos los fungicidas ("Todos fungic") (Figura 9). Sobre los granos de uva, "Kumulus" y "AMF" proporcionaron un control que fue significativamente mayor que sobre los granos "No pulverizados", pero no tan bueno como los demostrados por los tratamientos "Kocide" y el "Todos fungic". La Tabla 21 muestra los efectos de los tratamientos del Ensayo 5 sobre el porcentaje del cultivo de fruta total infectada por el PM, evaluada al inicio del envero. El total del cultivo infectado se calculó como un producto de la incidencia y la severidad media de la enfermedad, usando datos recogidos de cincuenta racimos seleccionados aleatoriamente por vid. Los datos requirieron una transformación \log_e para satisfacer los supuestos de ANOVA (distribución normal y homogeneidad de varianzas). Los valores no transformados correspondientes se dan entre paréntesis
- 15

Tabla 21: Efectos de los tratamientos del Ensayo 5 sobre el porcentaje del total del cultivo de fruta infectado por el PM, evaluado en el inicio del envero.

Código de tratamiento	Media Log _e % del Cultivo de fruta infectado por el PM	Separaciones medias por LSD*
No pulverizado	2,21 (9,55)	A
Kocide	-0,60 (1,05)	B
AMF	-1,92 (0,17)	B
Todos Fungic	-3,36 (0,02)	C
Kumulus	-3,91 (0,02)	C
LSD = 1,38 (2,15)		
*Medias separadas por letras diferentes son diferentes significativamente.		

5 Los tratamientos "Todos fungic" y "AMF" proporcionaron el mejor control de *B. cinerea*, seguido de "Kocide" y plantas "No pulverizadas". El uso de "Kumulus" parecía predisponer a las plantas para *B. cinerea* (Tabla 22). Las mismas tendencias de tratamiento ocurrieron con las podredumbres ácidas (Tabla 23), pero no fueron significativas estadísticamente.

10 La Tabla 22 muestra los efectos de los tratamientos del Ensayo 5 sobre el porcentaje del total del cultivo de fruta infectado por *Botrytis cinerea*, evaluados en la cosecha. Los datos requirieron una transformación log_e para satisfacer los supuestos de ANOVA (distribución normal y homogeneidad de varianzas). Los valores no transformados correspondientes se dan entre paréntesis

Tabla 22: Efectos de los tratamientos del Ensayo 5 sobre el porcentaje del total del cultivo de fruta infectado por el PM, evaluados en la vendimia.

Código de tratamiento	Media Log _e % del Cultivo de fruta infectado por <i>B. cinerea</i>	Separaciones medias por LSD*
Kumulus	1,62 (5,30)	A
No pulverizado	-0,14 (1,34)	B
Kocide	-0,72 (0,50)	B
AMF	-1,92 (0,25)	C
Todos Fungic	-2,13 (0,13)	C
LSD = 0,93 (1,78)		
*Medias separadas por letras diferentes son significativamente diferentes.		

15 La Tabla 23 muestra los efectos de los tratamientos del Ensayo 5 sobre el porcentaje del total del cultivo de fruta infectado por podredumbres ácidas, evaluada en la cosecha. Los datos requirieron transformación log_e para satisfacer los supuestos de ANOVA (distribución normal y homogeneidad de varianzas). Los valores no transformados correspondientes se dan entre paréntesis

Tabla 23: Efectos de los tratamientos del Ensayo 5 sobre el porcentaje del total del cultivo de fruta infectado por podredumbres ácidas, evaluada en la cosecha.

Código de tratamiento	Media Log _e % del Cultivo de fruta infectado por podredumbres ácidas	Separaciones medias por LSD*
Kumulus	-1,17 (0,25)	A
No pulverizado	-1,20 (0,17)	A
Kocide	-1,61 (0,05)	A
AMF	-1,97 (0,04)	A
Todos Fungic	-2,67 (0,04)	A
LSD = 8,74 (0,36)		
*Medias separadas por letras diferentes son significativamente diferentes.		

Ninguno de los tratamientos tuvo un efecto significativo sobre el rendimiento (Figura 10).

5 Ensayo 6 - Materiales y Métodos

Las plantas de trigo (*Triticum aestivum*), variedad Endeavour, se sembraron con una densidad de cuatro plantas en macetas de 12 cm diam., con dos macetas por tratamiento. Las plantas se mantuvieron en dos bloques (1 maceta/tratamiento/bloque) en una habitación C.E. (siglas en inglés de ambiente controlado) a 20°C con un fotoperíodo de 16 horas. Después de una semana, las plantas experimentales fueron inoculadas de forma artificial rozándolas con inóculo de plantas de trigo infectadas con *Erysiphe graminis f. sp. tritici* (PM del trigo). La aplicación del tratamiento empezó cuando las plantas tenían dos semanas y en el estadio de crecimiento de la planta (PGS por sus siglas en inglés) 1, como define James (11). Las hojas se pulverizaron hasta escorrentía usando una botella para pulverización manual, con un total de 9 nueve aplicaciones de pulverización durante 7 semanas (2 pulverizaciones/semana para la primera quincena, y 1 pulverización/semana después). La primera evaluación de la enfermedad (designada Tiempo 0) se hizo inmediatamente antes de la primera aplicación del tratamiento, seguido de las evaluaciones a las dos semanas (PGS=3-4), 3 semanas (PGS=4-5), 5 semanas (PGS=8), y 7 semanas (PGS=8-10). La severidad de la enfermedad sobre las 3 hojas más basales de cada planta se evaluó usando los diagramas de infección de área de la hoja en tanto por ciento (Figura 11), y la escala de puntuación se muestra en la Tabla 24. Las puntuaciones de la enfermedad para las tres hojas fueron mediadas para dar un valor por planta. Ya que las evaluaciones de la enfermedad fueron hechas sobre diferentes hojas para cada dato de evaluación, el dato de cada dato de evaluación fue analizado por separado, usando un diseño anidado, con tratamientos anidados en las macetas y plantas en tratamientos y macetas.

Tabla 24: Escala de puntuación de la enfermedad del PM en el Trigo .

Puntuación	Area de hoja infectada en tanto por ciento
0	ninguna infección
1	1% infección
1,5	1-5% infección
2	5% infección
2,5	5-25% infección
3	25% infección

Puntuación	Area de hoja infectada en tanto por ciento
3,5	25-50% infección
4	50% infección
4,5	>50% infección

Ensayo 6 - Tratamientos

Se hicieron 5 tratamientos tal como se indica:

Tabla 25: Tratamiento del Ensayo 6.

Tratamiento	Código de tratamiento
control no pulverizado - sin fungicidas	No pulverizado
Agua control	Agua
Fungicida Amistar® WG (0,4 g/L) (Syngenta, Basel, Suiza)	Amistar
AMF (7 g/L) + DATEM (5 g/L) + Grindox 122™ (1 g/L)	AMF
aceite de soja (20 g/L) + DATEM (5 g/L) + Grindox 122™ (1 g/L)	Soja

5

Ensayo 6 - Resultados

Solamente se presentan los datos de las primeras (Time = 0 sem) y últimas (Time = 7 semanas) evaluaciones de la enfermedad. En todas las evaluaciones de la enfermedad, no hubo signos obvios de fitotoxicidad asociada con los tratamientos.

10 A la semana 0, no hubo diferencias en el tratamiento consistentes evidentes (Figura 12), pero a las 7 semanas, "Amistar", "AMF" y "Soja" proporcionaron todos significativamente un mayor control del PM que los controles tratados "No pulverizado" y "Agua" (Figura 13).

Ensayo 7 - Materiales y Métodos

15 Los materiales y métodos fueron los mismos que para los Ensayos 2 y 3, salvo que se dejó desarrollar en las plantas de calabaza 'Delica' la infección de forma natural, en vez de inocular su primera hoja verdadera de forma artificial. Las seis aplicaciones por pulverización se hicieron a intervalos de 7 días con aproximadamente 1% del área de la hoja infectada de forma natural con el PM en el momento de la primera aplicación del tratamiento .

20 La severidad de la enfermedad sobre hojas verdaderas 1-8 fue calificado quincenalmente usando la escala de la Tabla 1 y las evaluaciones cualitativas de la salud/estado de las hojas se hicieron al mismo tiempo usando la escala arbitraria descrita en la Tabla 4.

25 Los datos se analizaron como diseño de medidas repetidas (RMD) para determinar el efecto del tratamiento sobre la severidad de la enfermedad con el tiempo. Las diferencias del tratamiento a las 6 semanas fueron evaluadas solo como un diseño en bloque aleatorizado (RBD), por análisis de varianza (ANOVA), con medias de separación por Mínima Diferencia Significativa de Fisher (LSD) ($P < 0,05$), usando un programa informático SAS, versión 8.01 TS (SAS Institute, Cary, NC.).

Ensayo 7 - Tratamientos

Los tratamientos usados se recogen en la Tabla 26.

Tabla 26: Tratamientos del Ensayo 7

	Tratamiento	Código
1)	AMF (7 g/L) + emulsionante DATEM (4 g/L) (un ejemplo de un emulsionante éster de ácido diacetiltartárico) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF+Dat+122]
2)	AMF (7 g/L) + emulsionante Grindsted Citrem N12 Veg™ (4 g/L) (un ejemplo de emulsionante ester de monoglicéridos de ácido cítrico) + antioxidante Grindox 122™	[AMF+Citrem+122]
3)	AMF (7 g/L) + emulsionante Grindsted PGE 20 Veg™ (4 g/L) (un ejemplo de emulsionante éster de poliglicerol de ácidos grasos) + antioxidante Grindox 122™	[AMF+PGE+122]
4)	AMF (7 g/L) + emulsionante Grindsted PGPR 90™ (4 g/L) (un ejemplo de emulsionante polirricinoleato de poliglicerol) + antioxidante Grindox 122™	[AMF+PGPR+122]
5)	AMF (7 g/L) + emulsionante lecitina (4 g/L) (un ejemplo de un emulsionante de lecitina) + antioxidante Grindox 122™	[AMF+Lecit+122]
6)	AMF (7 g/L) + emulsionante DATEM (4 g/L) + antioxidante Grindox AP kosher™ (1 g/L) (un ejemplo de un antioxidante palmitato de ascorbilo)	[AMF+Dat+AP]
7)	AMF (7 g/L) + emulsionante DATEM (4 g/L) + antioxidante Grindox TOC070™ (1 g/L) (un ejemplo de un antioxidante tocoferol)	[AMF+Dat+Toco]
8)	AMF (7 g/L) + emulsionante DATEM (4 g/L) + antioxidante Grindox 204™ (1 g/L) (un ejemplo de un antioxidante terc-butilhidroquinona (TBHQ))	[AMF+Dat+204]
9)	AMF (7 g/L) + emulsionante Grindsted CSL P 80™ (4 g/L) (un ejemplo de un emulsionante estearoil-lactilato de calcio) + antioxidante Grindox 122™	[AMF+CSL+122]
10)	Agua	[H2O]

5 Todas las emulsiones se prepararon 1 día antes disolviendo el antioxidante en AMF fundida (> 40C) seguido de la adición de emulsionante y agua caliente (70°C), y mezclado durante 1-2 mins, hasta que se formó una emulsión estable.

Las fuentes de los tratamientos son las que se indican:

AMF (NZMP (NZ) Ltd); todos los emulsionantes Grinsted, antioxidantes Grindox y emulsionante DATEM Panodan™ AL 10 (Danisco Ltd, Brabrand, Dinamarca); y lecitina (Hawkins Watts Ltd, Auckland, NZ).

Ensayo 7 - Resultados - Diseño en bloque aleatorizado

10 La Figura 14 muestra los efectos los tratamientos en la Tabla 26 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre las hojas de calabaza 'Delica', 6 semanas después de la aplicación del tratamiento inicial.

15 Los mejores tratamientos con objeto de la eficacia fueron "AMF+Dat+Toco", "AMF+Dat+AP", "AMF+Dat+204", "AMF+CSL+122", "AMF+Dat+122" y "AMF+PGE+122" que limitaron la severidad del PM a <5% de la superficie de la hoja, y actuaron significativamente mejor que "AMF+PGPR+122" y "AMF+Lecit+122" que fueron a su vez significativamente más eficaces que "AMF+Citrem+122". Las plantas tratadas con "Agua" tuvieron más infecciones significativamente que todos los otros tratamientos.

Todos los tratamientos redujeron la infección del PM respecto al control con agua, pero tuvieron efectos variables sobre la salud de las hojas (Tabla 27).

Tabla 27: Las puntuaciones de las hojas de calabaza Delica después de 6 semanas de la aplicación del tratamiento .

	Código de tratamiento	Puntuación de la salud de las hojas
1)	AMF+Dat+122	E
2)	AMF+Citrem+122	D
3)	AMF+PGE+122	C
4)	AMF+PGPR+122	E
5)	AMF+Lecit+122	E
6)	AMF+Dat+AP	D
7)	AMF+Dat+Toco	E
8)	AMF+Dat+204	E
9)	AMF+CSL+122	C
10)	H2O	G

Ensayo 7 - Resultados - Diseño de Medidas Repetidas

5 Al inicio del experimento no hubo diferencias significativas en el nivel de infección natural entre cualquiera de los tratamientos ($p=0,9379$). Con la evaluación del efecto del tratamiento con el tiempo (datos en la semana 0, 2, 4 y 6), fueron detectables diferencias en el tratamiento altamente significativas en las puntuaciones de la enfermedad del PM justo después de 2 semanas de la aplicación del tratamiento ($p<0,0001$ y Tabla 28). Las infecciones naturales aumentaron significativamente con el tiempo hasta la semana 4 para todos los tratamientos. Después de este tiempo, las puntuaciones de la enfermedad del PM se mantuvieron iguales con el tiempo o disminuyeron, debido a la eliminación de las infecciones en el último caso, para todos los tratamientos excepto para "H2O" donde la severidad de la enfermedad continuó aumentando significativamente hasta el final del experimento.

Tabla 28: Los efectos de los tratamientos del Ensayo 7 sobre la severidad de la enfermedad del PM sobre hojas de calabaza 'Delica' infectadas de forma natural con el tiempo.

Tratamiento	Puntuación de la enfermedad del PM			
	0 semana	2 semanas	4 semanas	6 semanas
AMF+Dat+122	0,97	1,43	2,08	2,04
AMF+Citrem+122	0,89	3,70	4,55	4,43
AMF+PGE+122	0,83	1,58	2,28	2,19
AMF+PGPR+122	0,88	2,38	3,30	3,24
AMF+Lecit+122	0,89	2,08	3,20	3,40
AMF+Dat+AP	0,88	1,05	1,78	1,64
AMF+Dat+Toco	0,90	1,08	1,56	1,56

Tratamiento	Puntuación de la enfermedad del PM			
	0 semana	2 semanas	4 semanas	6 semanas
AMF+Dat+204	0,98	1,30	1,68	1,74
AMF+CSL+122	0,83	1,18	1,63	1,75
H2O	0,80	4,22	5,49	5,88
Tiempo LSD = 0,28				

Ensayo 8 - Materiales y Métodos

5 Las plantas de rosas madura de la variedad Sahara' susceptible al PM fueron podadas hasta una altura de aproximadamente 40 cm y puestas en macetas de plástico de 20 cm diam. con una mezcla de Dalton. Las plantas se mantuvieron en una habitación de ambiente controlado (CE) ajustada a una temperatura constante de 20°C y un fotoperíodo de 16 h. Las macetas se regaron manualmente con agua del grifo cada dos a tres días. Las plantas se dejaron durante tres semanas para establecerse, formar el crecimiento de hojas nuevas, e infectarse de forma natural con PM antes del comienzo del ensayo. Los capullos y flores de rosas se retiraron durante todo el ensayo.

10 Hubo cinco aplicaciones de tratamiento a intervalos semanales. Todos los tratamientos se aplicaron usando unas botellas para pulverización manual sobre las superficies de las hojas adaxial y abaxial hasta escorrentía para asegurar todo el recubrimiento. Hubo seis replicados (macetas) por tratamiento. Las macetas se colocaron aleatoriamente en bloques sobre un único banco en la habitación CE, con una planta replicado por cada tratamiento en cada bloque.

15 Las evaluaciones de la enfermedad se llevaron a cabo inmediatamente antes de cada aplicación de pulverización y una semana después de la última pulverización. Las evaluaciones del PM se basaron en la escala de puntuación de la enfermedad de la Tabla 1, excepto porque las evaluaciones no se llevaron a cabo sobre hojas individuales como en los Ensayos 1-3 y 7, porque las rosas tienen un crecimiento relativamente rápido y rotación de las hojas. En su lugar, la puntuación de la enfermedad se dio como la media total para la porción madura de la planta, excluyendo todas las hojas juveniles frescas no expandidas . Los datos de la evaluación final se analizaron con un diseño en bloque aleatorizado (RBD), por análisis de varianza (ANOVA), con medias de separación por Mínima Diferencia Significativa de Fisher (LSD) ($P < 0,05$), usando un programa informático SAS, versión 8.01 TS (SAS Institute, Cary, NC.).

Ensayo 8 - Tratamientos

Hubo cinco tratamientos (Tabla 29):

25 Tabla 29: Tratamientos del Ensayo 8

	Tratamiento	Código
1)	control no pulverizado	[No pulverizado]
2)	control con agua destilada	[Agua]
3)	Fungicida - Supershield™ (Yates, NZ) (10 ml/L)	[Supershield]
4)	AMF (7 g/L) + emulsionante DATEM (4 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF]
5)	Soja (20 ml/L) + emulsionante DATEM (4 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[Soja]

Ensayo 8 - Resultados

La Figura 15 muestra que "Soja" y "AMF" fueron los mejores tratamientos que proporcionaron significativamente un mejor control de la enfermedad del PM que el fungicida "Supershield", que a su vez redujo significativamente la enfermedad respecto a los tratamientos de "Agua" y "No pulverizado" .

5 Ensayo 9 - Materiales y Métodos

10 Los platonos de manzano 'Royal Gala' con 8 hojas verdaderas aproximadamente se pusieron en macetas de plástico de 10 cm diam. usando mezcla Butlers para macetas, y se mantuvieron en una habitación con ambiente controlado (CE) ajustada a una temperatura constante de 20°C y un fotoperíodo de 16 h. Las macetas se regaron manualmente con agua del grifo cada dos a tres días. Las plantas mostraron inmediatamente signos iniciales de infección natural por PM (<1% de la superficie de la hoja infectada) en el momento de la aplicación del tratamiento .

Todos los tratamientos se aplicaron semanalmente durante 7 semanas sobre las superficies de las hojas adaxial y abaxial hasta escorrentía para asegurar todo el recubrimiento. Hubo ocho replicados (macetas) por tratamiento. Un replicado por tratamiento fue colocado de manera aleatoria con cada bloque en un único banco en la habitación CE.

15 Las evaluaciones de las hojas se llevaron a cabo inmediatamente antes de cada aplicación de pulverización y una semana después de la última pulverización. Las evaluaciones de la severidad de la enfermedad del PM se basaron en la escala de puntuación de la enfermedad de la Tabla 1. En cada evaluación, se determinó el número de hojas de cada plantón de manzano, excluyendo todas las hojas jóvenes no expandidas frescas, y se dieron las puntuaciones para cada hoja individual y se calculó la puntuación de la enfermedad de las hojas media por cada planta. La incidencia de la enfermedad se determinó como el porcentaje de hojas que expresan el PM sobre el número total de hojas de cada planta

20 Al concluir el experimento, se midieron dos parámetros de cosecha. Las plantas fueron extirpadas a nivel de suelo, y la altura de la planta (cm) se midió desde el nivel del suelo hasta la punta del tallo. Las plantas extirpadas se secaron en un horno a 80°C y se determinaron los pesos secos de las partes anteriores de la planta desde el nivel de suelo .

25 Las puntuaciones de la severidad de la enfermedad del PM y la incidencia de la enfermedad a partir de la evaluación final, y los parámetros de cosecha se analizaron cada uno usando un diseño en bloque aleatorizado (RBD), por análisis de varianza (ANOVA), con separación media por Mínima Diferencia Significativa de Fisher (LSD) (P < 0,05), usando un programa SAS, version 8.01 TS (SAS Institute, Cary, NC.).

Ensayo 9 - Tratamientos

30 Hubo cinco tratamientos (Tabla 30):

Tabla 30: Tratamientos del Ensayo 9

	Tratamiento	Código
1)	control no pulverizado	[No pulverizado]
2)	control con agua destilada	[Agua]
3)	Fungicida - Kumulus® DF (BASF, Alemania) (1 g/L)	[Kumulus]
4)	AMF (7 g/L) + emulsionante DATEM (4 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF]
5)	Soja (20 ml/L) + emulsionante DATEM (4 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[Soja]

Ensayo 9 - Resultados

35 Las severidades más bajas de la enfermedad se encontraron en los tratamientos con "Kumulus" y "AMF" (Figura 16). La eficacia del control de la enfermedad fue la mayor en estos tratamientos seguido de "Soja" que fue significativamente mejor que los tratamientos "H2O y "No pulverizado" (Figura 16).

40 Las puntuaciones del tratamiento sobre la incidencia de la enfermedad mostrada en la Figura 17 fueron las mismas que las puntuaciones de la severidad de la enfermedad en la Figura 16, es decir los tratamientos "Kumulus" y "AMF" dieron como resultado la incidencia más baja de la enfermedad, seguido de "Soja" que a su vez tuvo la incidencia de la enfermedad significativamente inferior que los tratamientos de "H2O y "No pulverizado" (Figura 17).

La Figura 18 muestra que los pesos secos fueron los mayores en el tratamiento "AMF" , intermedio en los tratamientos con "Kumulus" y "Soja" y el menor en los tratamientos con "H2O" y "No pulverizado" .

5 Los datos de ocho tallos en la Figura 19 requirieron una transformación loge para satisfacer los supuestos requeridos por ANOVA (distribución normal y homogeneidad de varianzas.) Los valores no transformados correspondientes por cada dato se dan entre paréntesis. Las plantas tratadas con "No pulverizado" y "H2O" fueron significativamente más retrasadas que en los tratamientos con "Soja", "Kumulus" y "AMF" (Figura 19).

Ensayo 10 - Materiales y Métodos

Las suspensiones de una mezcla de esporas y fragmentos de micelios de la Cepa 298 de *Mycosphaerella fijiensis* se diseminaron sobre el medio de crecimiento siguiente.

- 10 1) Agar de Patata y Dextrosa (PDA por sus siglas en inglés) no modificado
 2) PDA modificado con una única concentración de AMF (10ml de x10 concentración /100ml medio).
 3) PDA modificado con una concentración doble de AMF (20ml de x10 concentración /100ml medio).

Hubo tres placas de replicado por cada concentración.

15 Las placas fueron inoculadas, incubadas de 23 a 24°C con un fotoperíodo de 12 horas y evaluadas después de 25 días de crecimiento.

Ensayo 10 - Resultados

20 El análisis ANOVA de los datos de número de colonias en la Figura 20 necesitó una transformación de los datos por raíz cuadrada (SQRT). Los valores no transformados correspondientes por cada dato se dan entre paréntesis. Una única concentración de AMF redujo significativamente el número de colonias que crecían en el PDA y doblando la concentración de AMF se causó una mayor reducción significativa en el número de colonias (Figura 20).

Una única concentración de AMF redujo significativamente el diámetro medio de la colonia en PDA y doblando la concentración de AMF se causó una mayor reducción significativa en el diámetro de las colonias (Figura 21).

Ensayo 11 - Materiales y Métodos

25 Las vides (*Vitis vinifera*) maduras de la variedad Chardonnay se dejaron infectar de forma natural. Fueron seis tratamientos como se muestra en la Tabla 31. Se aplicaron nueve pulverizaciones entre la floración y la cosecha como se detalla en la Tabla 32, a una velocidad de aplicación de 500 L/ha durante la floración y luego a 800 L/ha. Los fungicidas de grasa de leche y de soja se prepararon como concentrados emulsionables, diluido 25 veces con agua inmediatamente antes de su uso.

30 El porcentaje del total del cultivo de fruta infectado por *Botrytis cinerea* y mildiú polvoriento se calculó como el producto de la incidencia de la enfermedad (porcentaje de racimos infectados) y severidad media de la enfermedad (porcentaje de área de racimos cubierto por la enfermedad), usando un tamaño de muestra de 50 racimos por parcela. Las infecciones del PM en la fruta se evaluaron al inicio del envero. Las infecciones por *B. cinerea* en la fruta, rendimiento (kg fruta/m) y quemadura del follaje en tanto por ciento se evaluaron en la cosecha. El experimento se analizó como un diseño en bloque aleatorizado con 5 bloques y una parcela de dos vides por
 35 tratamiento por bloque. Los extremos de 1,5 m de cada parcela fueron desechados cuando se muestrearon los racimos . ANOVA y la separación media por LSD (P < 0,05) se llevaron a cabo usando el programa informático SAS, versión 8.02 (SAS Institute, Cary, NC).

Ensayo 11 – Tratamientos

Tabla 31: Tratamientos del Ensayo 11.

Tratamiento	Código de tratamiento abreviado
No pulverizado (sin fungicidas)	[No pulverizado]
Fungicidas del mildiú polvoriento solo (Kumulus® DF, y Topas®)	[Fung PM Solo]
Programa de pulverización de fungicida estándar para exportar uvas de calidad (Euparen® Multi, Scala®, Switch®, Captan WG, Teldor®, Topas® 200EW, y Kumulus® DF)	[Estd Fung]

Tratamiento	Código de tratamiento abreviado
AMF (7 g/L) + emulsionante DATEM (4 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[AMF Solo]
Soja (20 ml/L) + emulsionante DATEM (4 g/L) + antioxidante Grindox 122™ (1 g/L)	[Soja Solo]
AMF temprano y a mitad de estación, luego fungicida (Scala@ y Captan WG) en la estación tardía	[AMF/Fung Tarde]

El fungicida Captan WG es producido por Crop Care Australasia (Brisbane, Australia); Scala®, Euparen® Multi, y Teldor® por Bayer AG, Alemania; Switch®, y Topas® 200EW por Syngenta (Basel, Suiza); y Kumulus® DF por BASF, Alemania.

5 Tabla 32: Programa de aplicación del tratamiento del Ensayo 11

Código de tratamiento	Fenología de la vid al tiempo de la aplicación por pulverización								
	5% de floración (temprano)	90% de floración (temprano)	Después de la floración (temprano)	Tamaño de grano de guisante (temprano)	Anterior al cierre del racimo (media)	Posterior al cierre del racimo (media)	Envero (tardía)	4 sem antes de la cosecha (tardía)	2 sem después de la cosecha (tardía)
No pulverizado	-	-	-	-	-	-	-	-	-
PM Fung solo	Kumulus 30g/10L	Kumulus 30g/10L		Kumulus 30g/10L	Kumulus 30g/10L	Kumulus 30g/10L	-	-	-
Fung est	Eurapen Multi 10g/10L	Switch 8g/10L Kumulus 30g/10L	Topas 200EW 1,25 ml/10L	Captan 12,5g/10L Kumulus 30g/10L	Teldor 7,5ml/10L Kumulus 30g/10L	Captan 12,5g/10L Kumulus 30g/10L	Scala 20ml/10L	Captan 12,5g/10L	-
AMF Solo	Todas las aplicaciones: AMF (7g/L) + DATEM (4g/L) + Grindox 122 (1g/L)								
Soja Solo	Todas las aplicaciones: Soja (20ml/L) + DATEM (4g/L) + Grindox 122 (1g/L)								
AMF/Fung tardío	Todas las aplicaciones: AMF (7g/L) + DATEM (4g/L) + Grindox 122 (1g/L)						Scala 20ml/10L	Captan 12,5g/10L	-

Ensayo 11 - Resultados

10 La Tabla 33 muestra los efectos de los tratamientos del Ensayo 11 sobre el porcentaje del total del cultivo de fruta infectado con PM, evaluados al inicio del envero. Los datos requirieron transformación loge para satisfacer los supuestos de ANOVA (distribución normal y homogeneidad de varianzas). Los valores no transformados correspondientes se dan entre paréntesis

Tabla 33: Efectos de los tratamientos del Ensayo 11 sobre el porcentaje del total del cultivo de fruta infectado por el PM, evaluado en el inicio del envero.

Código de tratamiento	Media Log _e %de Cultivo de fruta infectado por el PM	Separaciones medias por LSD*
No pulverizado	1,35 (4,60)	A
AMF Solo	-0,42 (0,70)	AB
Estd Fung	-2,81 (0,02)	BC

Código de tratamiento	Media Log _e %de Cultivo de fruta infectado por el PM	Separaciones medias por LSD*
Fung PM Solo	-3,11 (0,02)	C
AMF/Tarde Fung	-3,55 (0,01)	C
Soja Solo	-3,91 (0,01)	C
LSD = 2,62 (2,58)		
*Medias separadas por letras diferentes son significativamente diferentes.		

5 Los tratamientos más eficaces para prevenir el PM fueron "Soja", "AMF/FungTarde" y "PM Fung Solo". El uso de AMF durante la estación temprana/media y los fungicidas estándar en la estación tardía proporcionaron un mejor control de la enfermedad que si la AMF o los fungicidas estándar se usaron individualmente a lo largo de toda la estación (Tabla 33).

"AMF/Fung Tarde" proporcionaron significativamente un mejor control de Botrytis que "AMF solo", que a su vez dio significativamente un mejor control que "No pulverizado" y "PM Fung Solo" (Figura 22). La eficacia del control de Botrytis con los tratamientos "Fung Est" y "NP2 solo" fue intermedia entre "AMF/Fung Tarde" y "AMF solo" (Figura 22).

10 El uso de Soja o AMF durante toda la estación de la uva causó una fitotoxicidad significativa, pero este problema se eliminó al restringir la aplicación de AMF a la estación temprana/media y usando fungicidas estándar en la estación tardía (Figura 23).

15 El rendimiento del cultivo fue el mayor en el tratamiento "AMF/Fung Tarde", seguido de "Fung Est" (Figura 24). Los rendimientos de estos 2 tratamientos fueron significativamente mayores que el tratamiento "PM Fung Solo", con todos los otros rendimientos de los tratamientos intermedios entre estos valores superiores e inferiores (Figura 24).

Aplicación Industrial

Los métodos de la invención tienen aplicaciones en la gestión (prevención y control) del crecimiento fúngico en la producción de cultivos comerciales a pequeña escala.

Las composiciones pueden aplicarse de cualquier forma adecuada pero preferiblemente pulverizable.

20 Los métodos de la invención permiten una reducción en el uso de fungicidas sistémicos.

En una realización los métodos de la invención son útiles para controlar el Mildiú Polvoriento (PM), enfermedades Botrytis y podredumbre ácida en la uva.

En una realización los métodos de la invención son útiles para controlar el PM en curcubitáceas almacenadas y en invernadero (calabaza, calabazas redondas, calabacín, melones y pepinos).

25 En una realización los métodos de la invención son útiles para controlar el PM en plántones de manzano en criaderos.

En una realización los métodos de la invención son útiles para controlar el Mildiú Polvoriento en rosas.

En una realización los métodos de la invención son útiles para controlar el Botrytis en otros cultivos, por ejemplo tomates y variedades ornamentales.

30 Aquellas personas expertas en la técnica entienden que la descripción anterior se proporciona por medio de ilustraciones solamente y que la invención no está limitada a ellas.

REFERENCIAS

1. Bettiol, W. 1999. Effectiveness of cow's milk against zucchini squash powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in greenhouse conditions. Crop Protection 18:489-492
- 35 2.- Crisp, P., and D. Bruer. 2001. Organic control of powdery mildew without sulfur. Australian Grapegrower and Winemaker 452:22
- 3.- Kabara, J. 1984. Antimicrobial agents derived from fatty acids. Journal of the American Oil Chemists' Society 61:

397-403

4. Kabara, J. 1978. Fatty acids and derivatives as antimicrobial agents - a review. American Oil Chemists' Society Monograph 5:1-14
- 5 5. Nieman, C. 1954. Influence of trace amounts of fatty acids on the growth of microorganisms. Bacteriological Reviews 18: 147-163
- 6.- Cheah, L.H. and Cox, J.K. 1995. Screening of plant extracts for control of powdery mildew in squash. Proceedings of the 48th NZ Plant Protection Conference: 340-342
- 7.- McGrath, M.T. and Shishkiff, N. 1999. Evaluation of biocompatible products for anaging cucurbit powdery mildew. Crop Protection 18: 471-478
- 10 8. Ko, W.H. et al. 2003. Effects of sunflower oil on tomato powdery mildew caused by *Oidium neolycopersici*. Journal of Phytopathology 151(3): 144-148
- 9.- Spencer, D.M. 1977: Standardized methods for the evaluation of fungicides to control cucumber powdery mildew. Pages 455-464 in: Crop Protection Agents - Their Biological Evaluation. N.R. McFarlane, ed. Academic Press, London.
- 15 10.- Wilson, C. et al. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal actividad against *Botrytis cinerea*. Plant Disease 81: 204-210
11. James, W.C. 1971: An illustrated series of assessment keys for plant diseases, their preparation and usage. Canadian Plant Disease Survey 51: 39-65

REIVINDICACIONES

1. Un método (a) para prevenir o controlar una infección fúngica o (b) inhibir la germinación de esporas fúngicas, que comprende la aplicación de una composición fungicida sobre una planta que lo necesita,
- donde la composición fungicida comprende
- 5 (a) grasa de leche anhidra (AMF), y
(b) uno o más vehículo aceptable agrícolamente, un emulsionante y un antioxidante.
2. Un método tal como se reivindica en la reivindicación 1, que comprende
- (a) grasa de leche anhidra ,
(b) un emulsionante, y
- 10 (c) bien (i) uno o más vehículo aceptable agrícolamente y un antioxidante o (ii) agua y un antioxidante.
3. El método de la reivindicación 1 ó reivindicación 2, donde la composición fungicida comprende además uno o más de
- (i) aceite de soja,
(ii) aceite de oliva,
- 15 (iii) grasa de coco,
(iv) al menos un agente agrícola, preferiblemente seleccionado entre pesticidas, insecticidas, acaracidas, bactericidas, herbicidas, antibióticos, antimicrobianos, nematocidas, rodenticidas, entomopatógenos, feromonas, atrayentes, reguladores del crecimiento de la planta, hormonas de la planta, reguladores del crecimiento de insectos, quimioesterilizantes, agentes de control de plagas microbianas, repelentes, virus, fagoestimulantes, nutrientes de plantas, fertilizantes de plantas y controles biológicos,
- 20 (v) al menos un fungicida adicional, preferiblemente seleccionado entre los fungicidas naturales, fungicidas orgánicos, fungicidas a base de azufre, fungicidas de cobre/calcio y inductores de las defensas de la planta huésped.
4. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 g/L de AMF.
5. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 g/L de grasa de coco.
- 30 6. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 ó 30 ml/L de aceite de oliva.
7. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición comprende al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 ó 40 ml/L de aceite de soja.
- 35 8. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición comprende al menos 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 ó 10 g/L de un emulsionante.
9. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición comprende al menos 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8, 1,9, 2,0, 2,5, 3,0, 3,5, 4,0, 4,5 ó 5,0 g/L de un antioxidante.
- 40 10. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición comprende de 1 g/L a 30 g/L de AMF, de 1 g/L a 10 g/L de un emulsionante, de 0,1 g/L a 5 g/L de un antioxidante y uno o más de aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco.
11. Un método tal como se reivindica en la reivindicación 10, donde la composición comprende de 5 g/L a 15 g/L de AMF, de 2 g/L a 6 g/L de un emulsionante, de 0,5 g/L a 1,5 g/L de un antioxidante y uno o más de aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco.
- 45 12. Un método tal como se reivindica en la reivindicación 11, donde la composición comprende 7 g/L a 14 g/L de

AMF, 4 a 5 g/L de un emulsionante, 1 g/L de antioxidante y uno o más de aceite de soja, aceite de oliva y grasa de coco.

13. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición es una composición acuosa.
- 5 14. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el emulsionante se selecciona entre el grupo que comprende ésteres de glicerina de ácidos grasos; mono- y di-glicéridos; ésteres de poliglicerol de ácidos grasos; ésteres de sorbitano de ácidos grasos; ésteres de sacarosa de ácidos grasos; lactilatos de estearoilo de calcio; lactilatos de estearoilo de sodio; gomas; y una composición que comprende óxido de polietileno y ácido oléico.
- 10 15. Un método tal como se reivindica en la reivindicación 14, donde los ésteres de glicerina de ácidos grasos o monoglicéridos y diglicéridos se seleccionan entre el grupo que comprende monoglicéridos destilados, ésteres de monoglicéridos de ácido cítrico, ésteres de mono- y diglicéridos de ácido diacetiltartárico, y derivados de mono- y diglicéridos de grado alimenticio derivados de grasas vegetales y animales pero sin adición de ácidos; el éster de poliglicerol es polirricinoleato de poliglicerol; el éster de sorbitano es un polisorbato 80; la goma es una goma xantano;; o la composición que comprende óxido de polietileno y ácido oleico es una composición que comprende 90% de óxido de polietileno y 10% de ácido oleico ;
- 15 16. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el antioxidante comprende uno o más agentes antioxidantes seleccionados entre el grupo que comprende palmitato de ascorbilo; tocoferol; extracto de romero; galato de propilo; terc-butilhidroquinona; hidroxianisol butilado; hidroxitolueno butilado; agentes quelantes; una composición que comprende galato de propilo y ésteres de monoglicéridos de ácido cítrico de grado alimenticio; y una composición que comprende hidroxianisol butilado y aceite vegetal.
- 20 17. Un método tal como se reivindica en la reivindicación 16, donde el tocoferol es alfa-tocoferol; el extracto de romero comprende aproximadamente 5% de diterpenos fenólicos de *Rosemarinus officinalis* y 95% de una mezcla que comprende propilenglicol, mono- y di-glicéridos de ácidos grasos, y ésteres de mono- y diglicéridos de ácido acético de ácidos grasos; la composición que comprende galato de propilo y ésteres de monoglicéridos de ácido cítrico de grado alimenticio comprende 20% de galato de propilo y 80% de ésteres de monoglicéridos de ácido cítrico de grado alimenticio; o la composición que comprende hidroxianisol butilado y aceite vegetal comprende 20% de hidroxianisol butilado y 80% de aceite vegetal .
- 25 18. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la composición se formula como una composición para inmersión, un atomizador o un concentrado.
- 30 19. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la infección fúngica está causado por uno o más patógenos seleccionados entre el mildiú polvoriento (PM), moho de hollín, moho Botrytis, podredumbre ácida de la uva, mildiú veloso y los patógenos de las manchas de las hojas del banano.
- 35 20. Un método tal como se reivindica en la reivindicación 19, donde el patógeno del mildiú polvoriento se selecciona entre los patógenos *Sphaerotheca*, los patógenos *Erysiphe*, los patógenos *Uncinula*, los patógenos *Podosphaera*; el patógeno del Botrytis es *Botrytis cinerea*; el patógeno del mildiú veloso es un patógeno *Plasmopara*; o el patógeno de la manchas de las hojas del banano es un patógeno *Mycosphaerella*.
- 40 21. Un método tal como se reivindica en la reivindicación 20, donde el patógeno de *Sphaerotheca* es *Sphaerotheca fuliginea* o *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*, el patógeno de *Erysiphe* es *Erysiphe cichoracearum* o *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*, el patógeno de *Uncinula* es *Uncinula necator*, el patógeno de *Podosphaera* es *Podosphaera leucotricha*, el patógeno de *Plasmopara* es *Plasmopara viticola* o el patógeno de *Mycosphaerella* es *Mycosphaerella fijiensis* (Sigatoka negra o enfermedad de las rayas negras), *Mycosphaerella musicola* (Sigatoka amarilla) o *Mycosphaerella musae* (moteado).
- 45 22. Un método tal como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde las esporas fúngicas son esporas de uno o más de *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cladosporioides*, y *Monilinia fructicola*

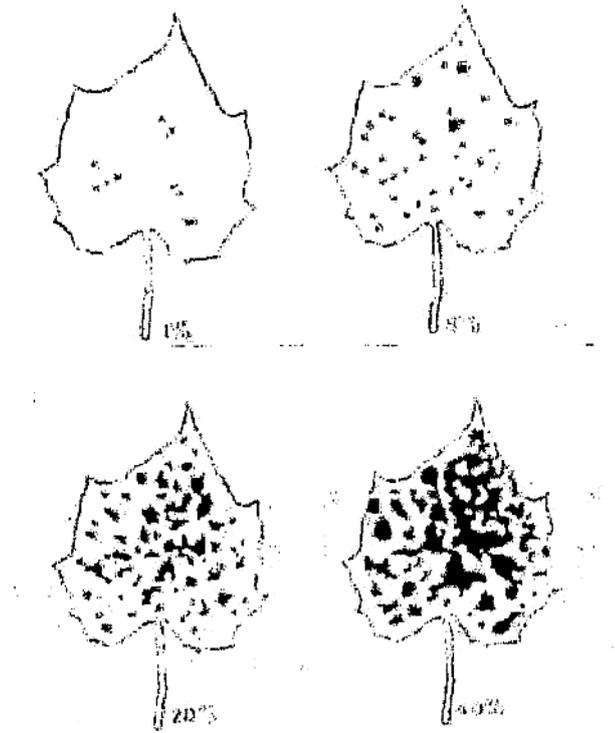


Figura 1

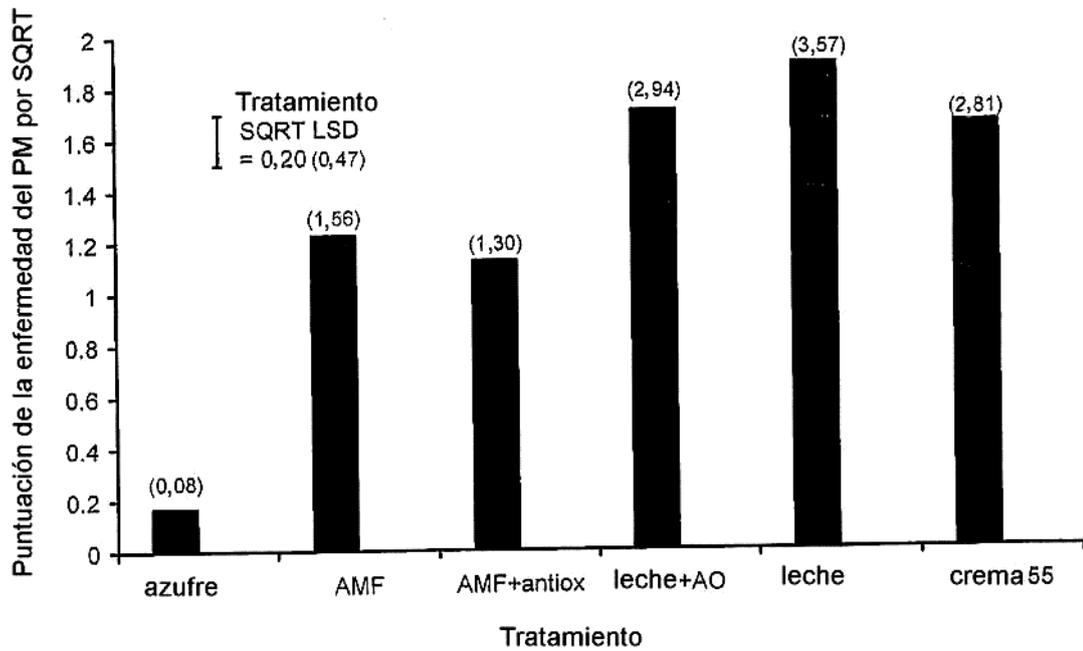


Figura 2

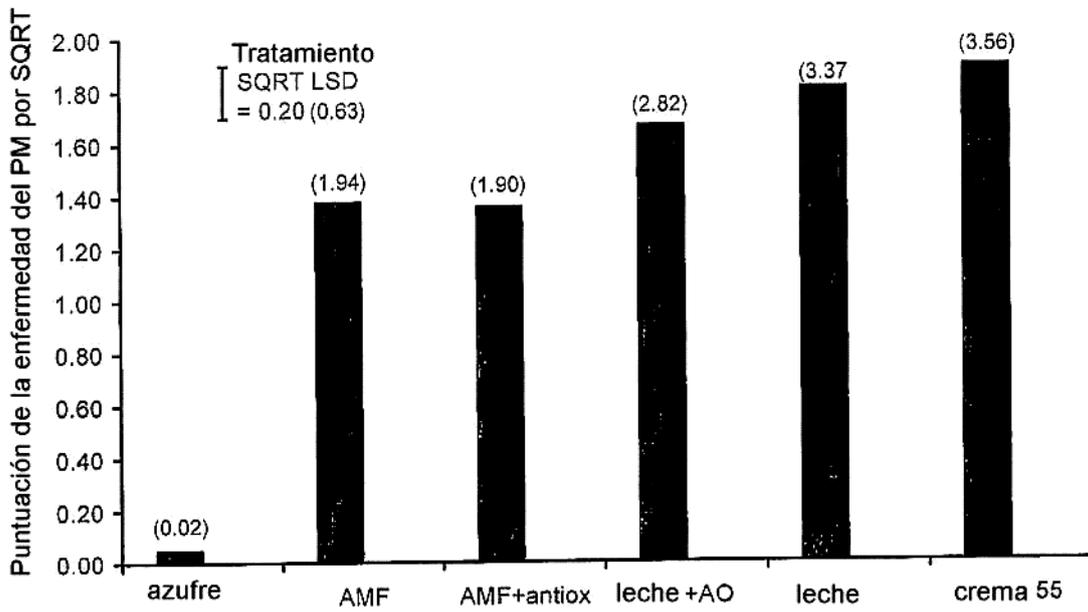


Figura 3

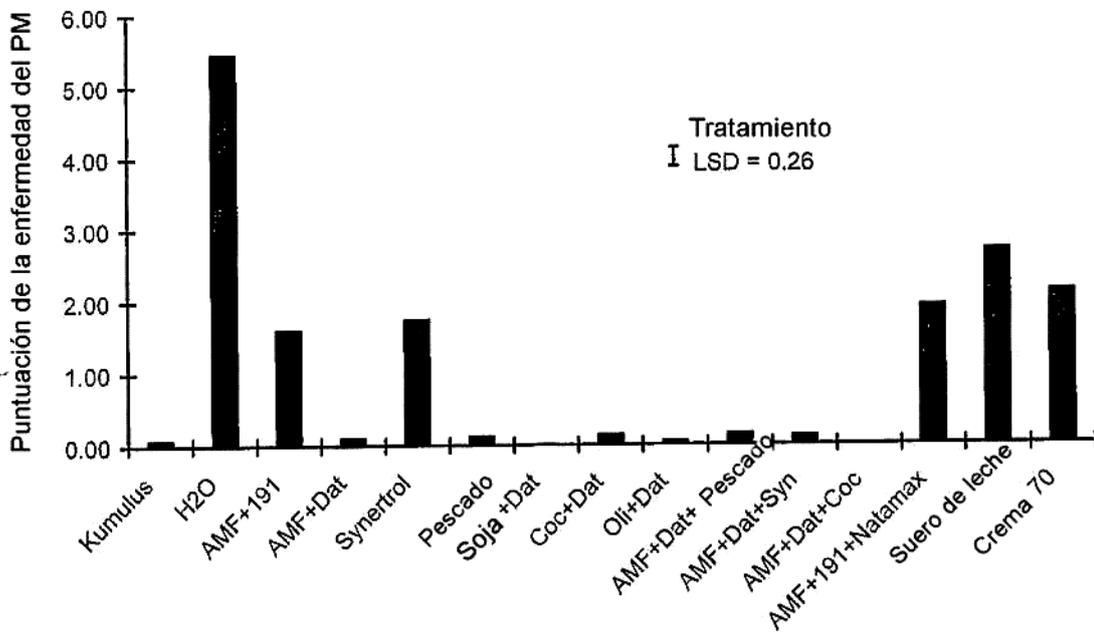


Figura 4

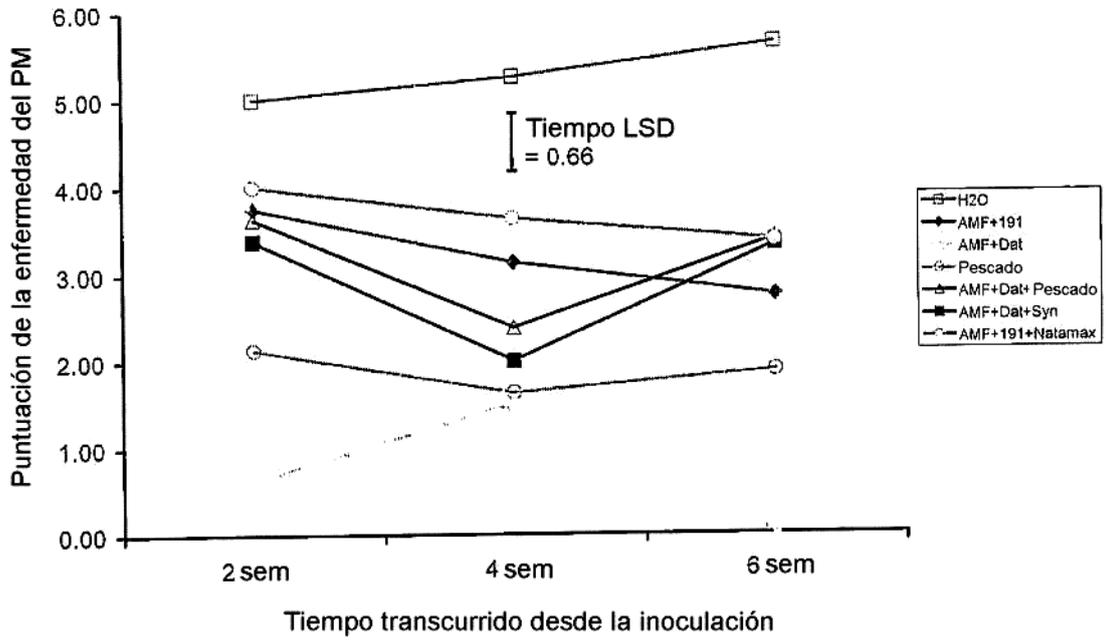


Figura 5

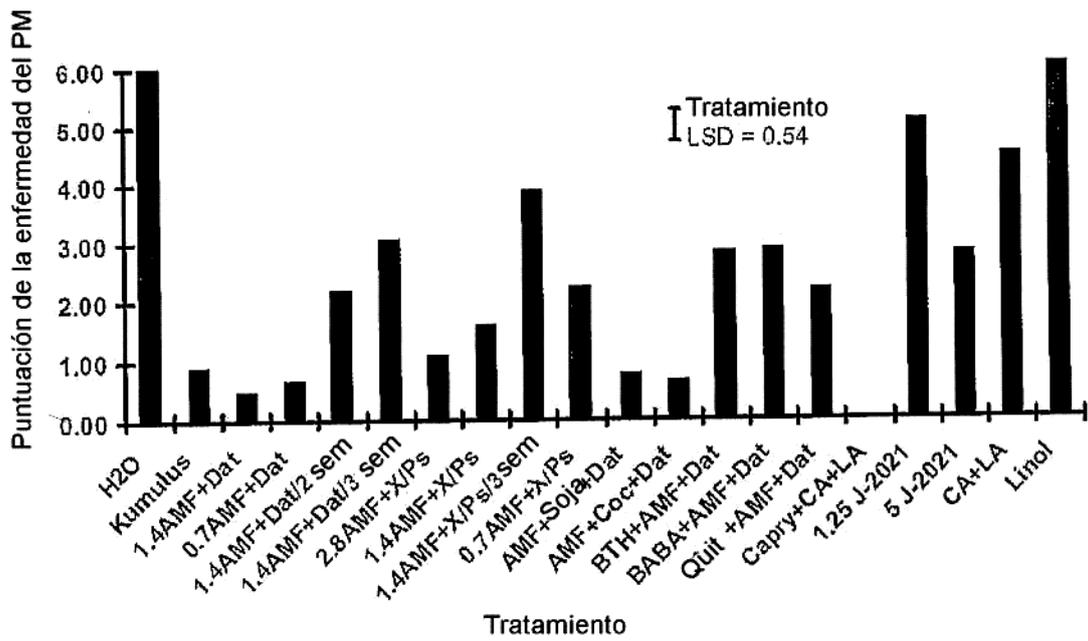


Figura 6

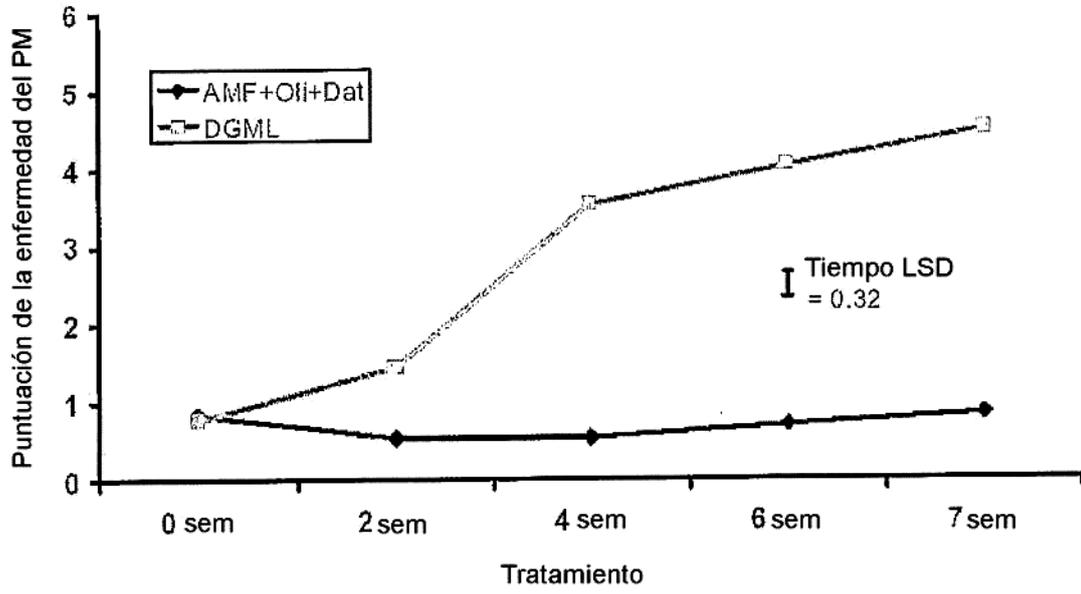


Figura 7

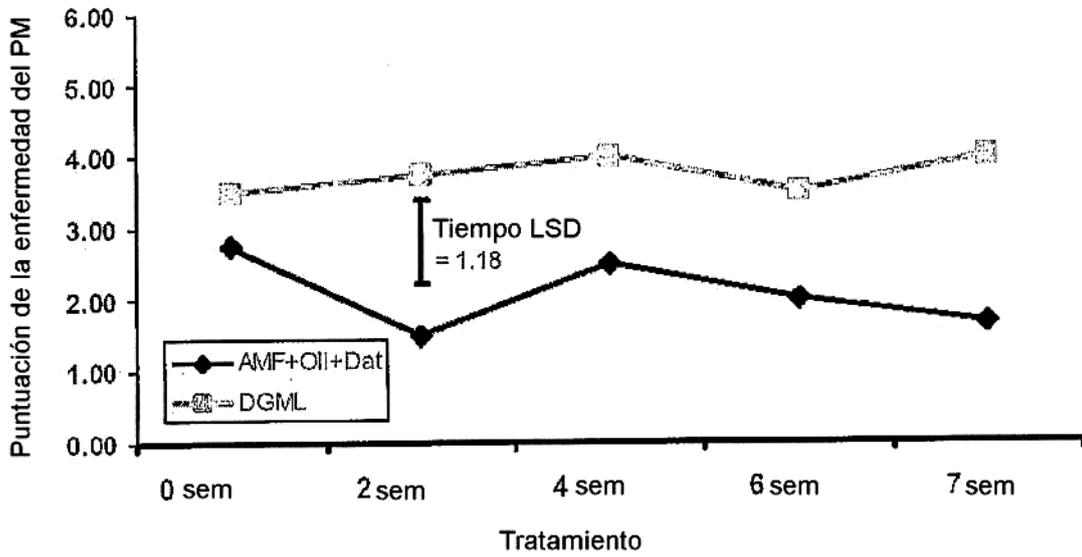


Figura 8

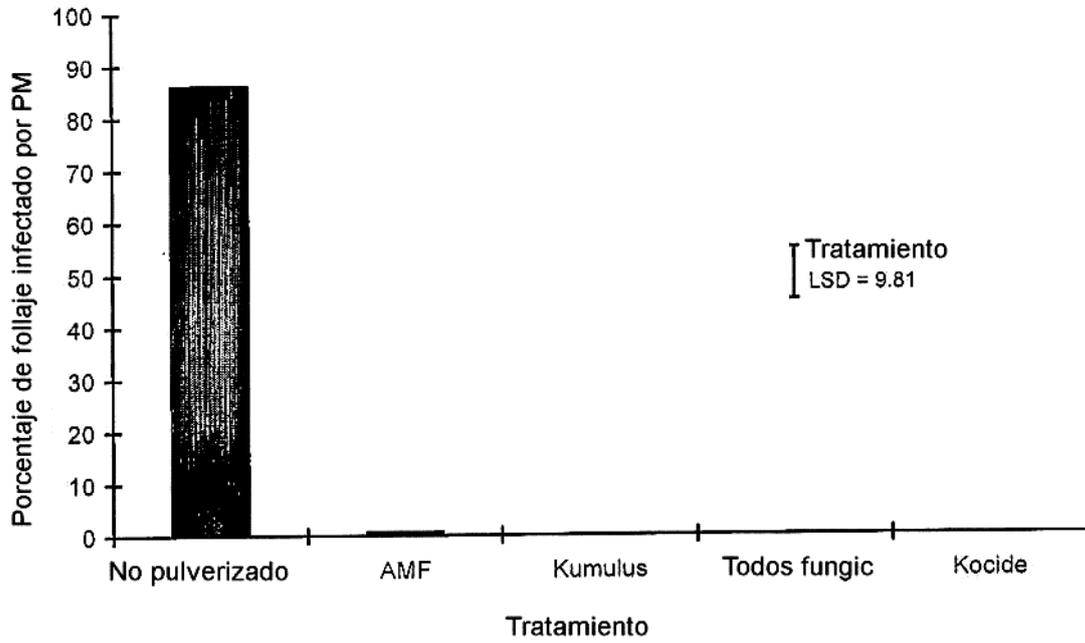


Figura 9

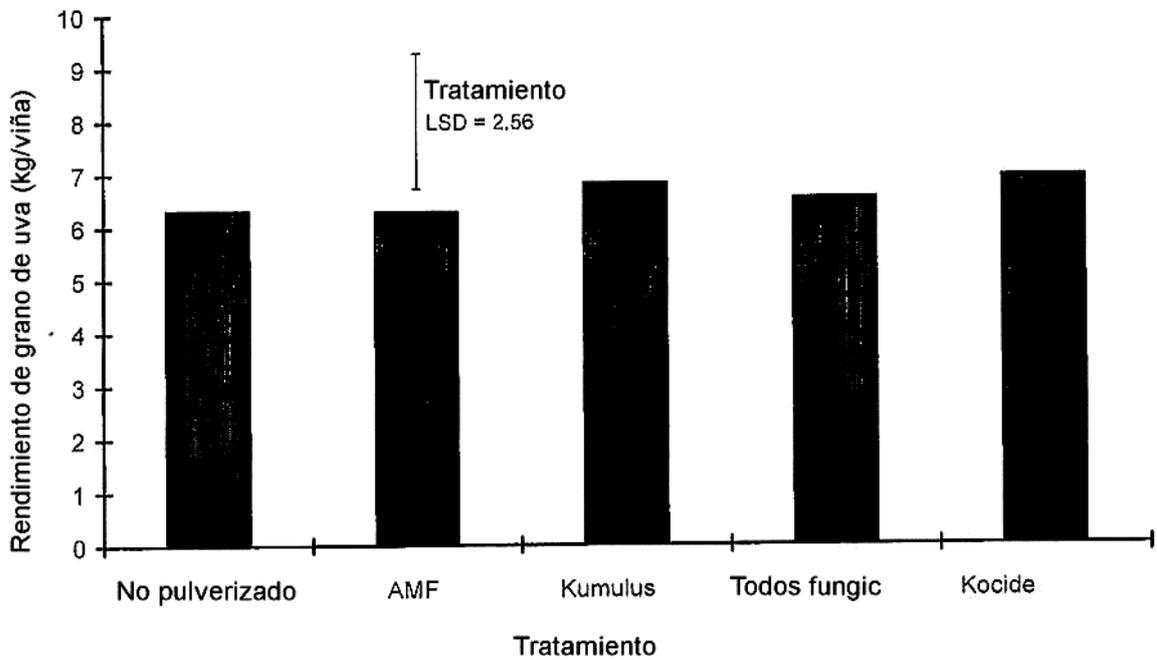


Figura 10

Mildíu polvoriento de cereales

Key 16. 14



Figura 11

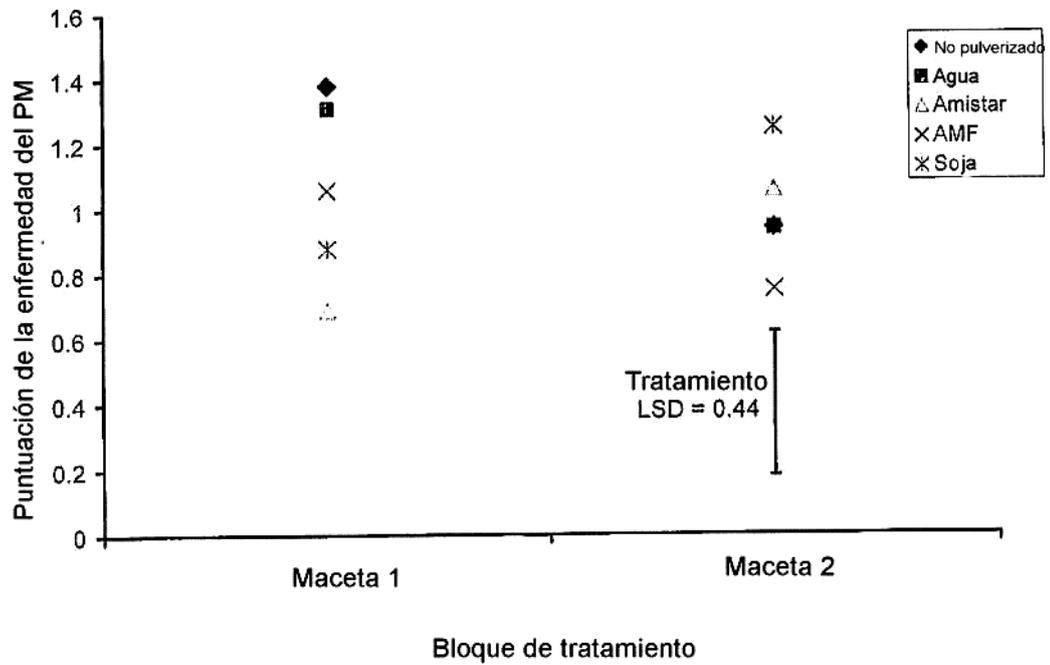


Figura 12

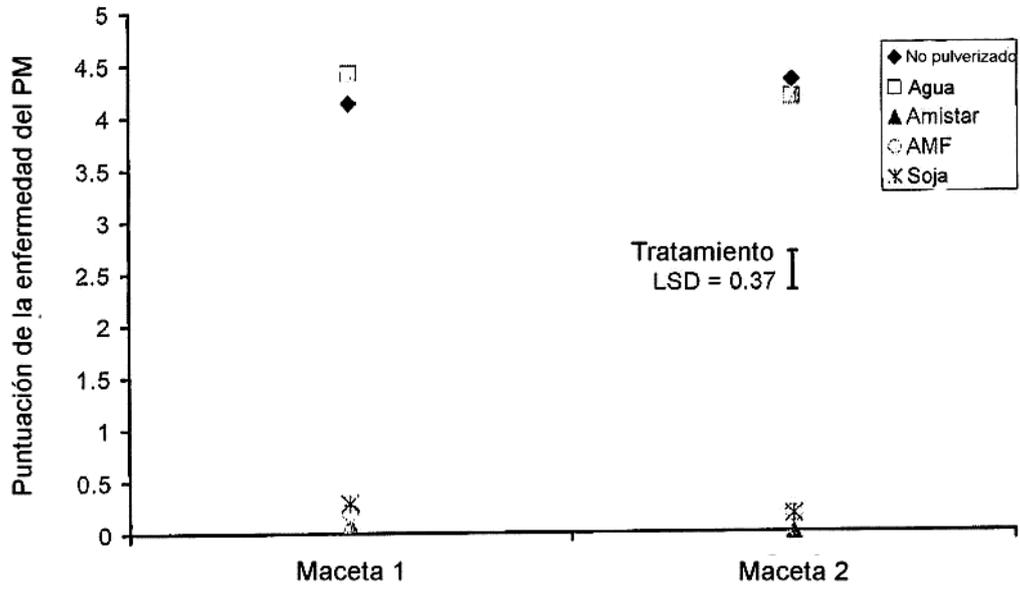


Figura 13

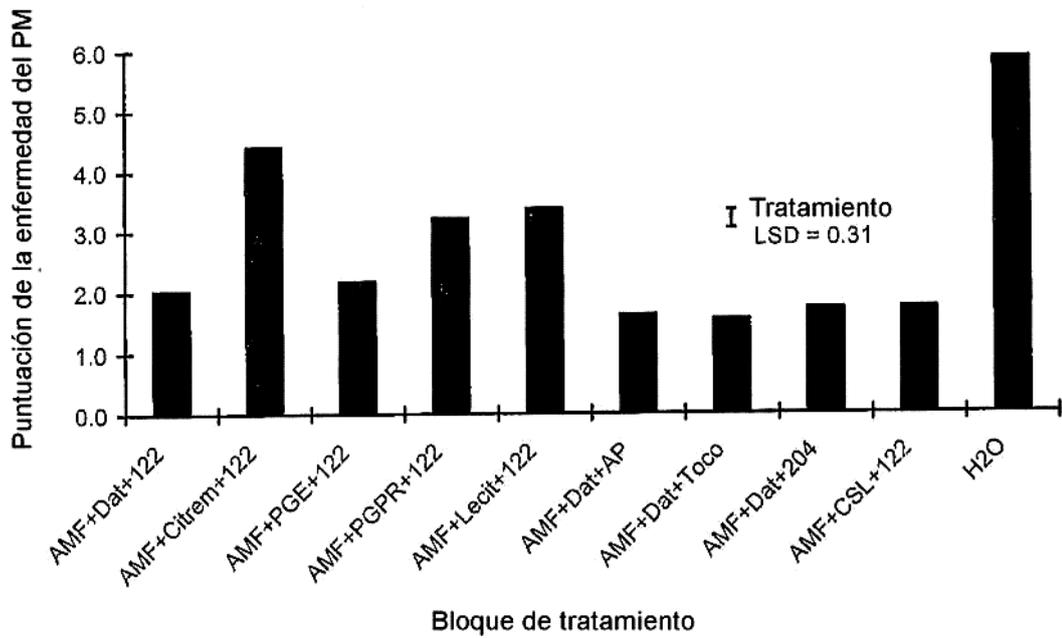


Figura 14

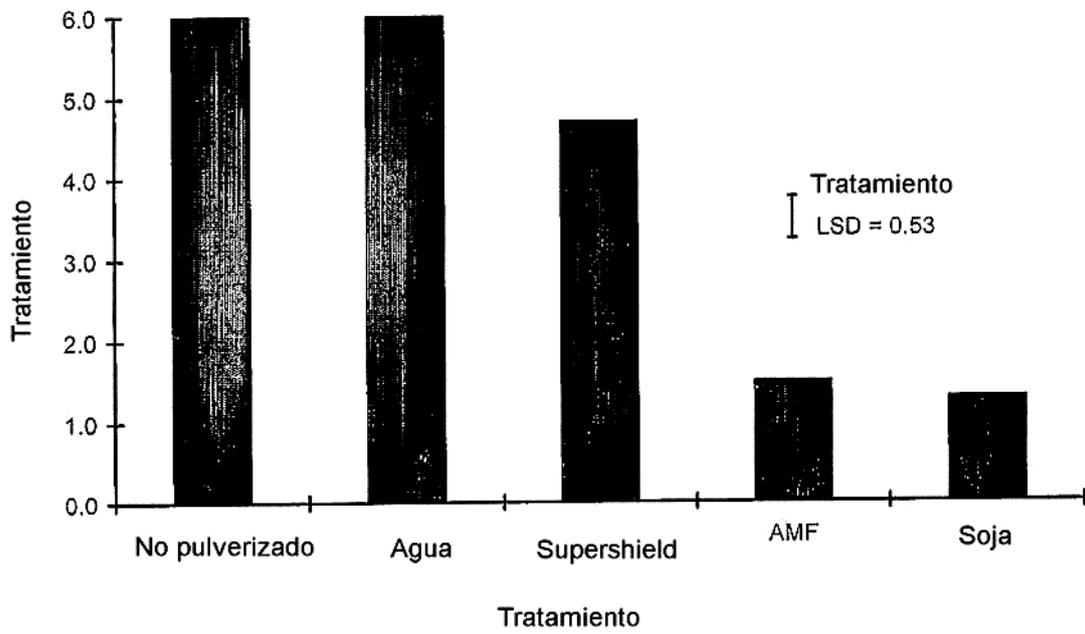


Figura 15

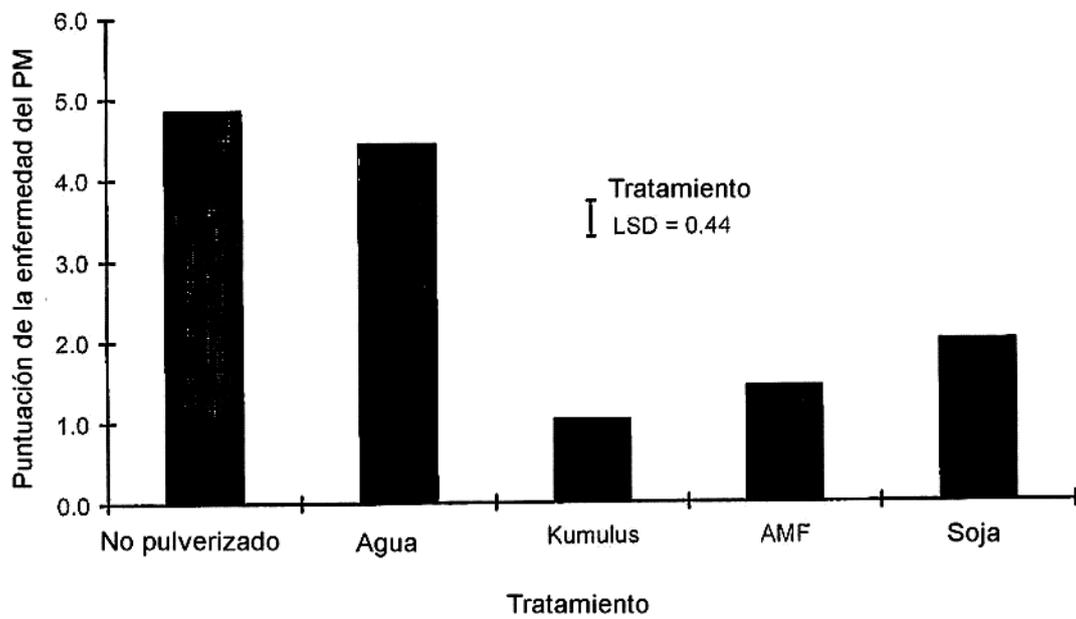


Figura 16

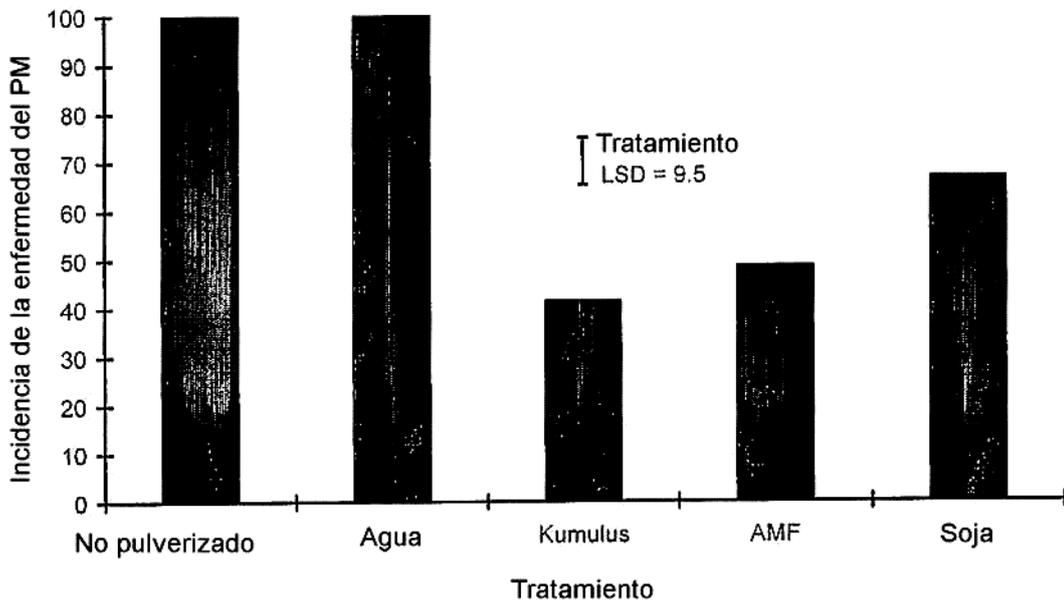


Figura 17

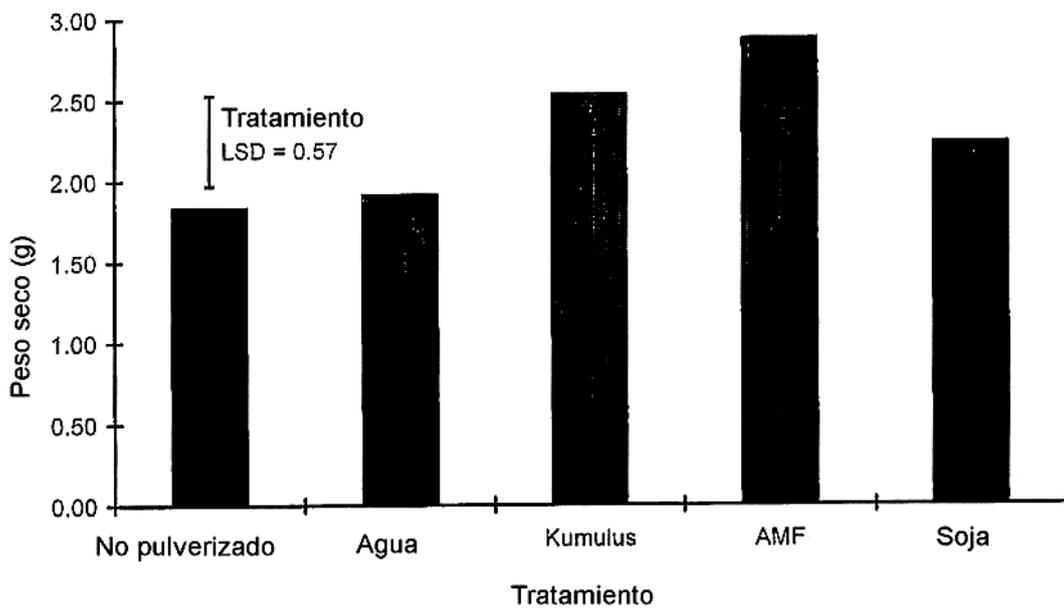


Figura 18

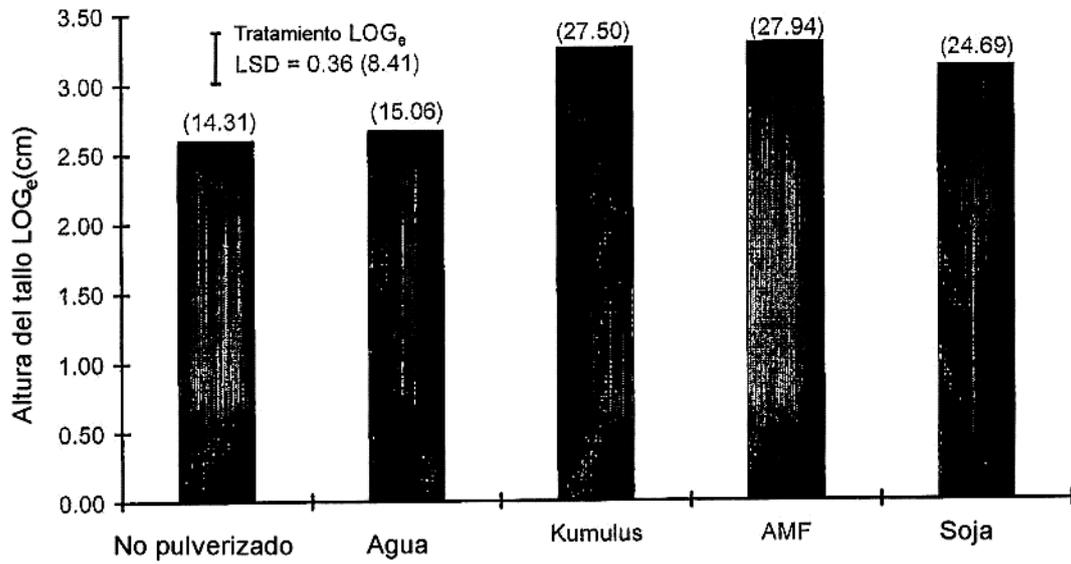


Figura 19

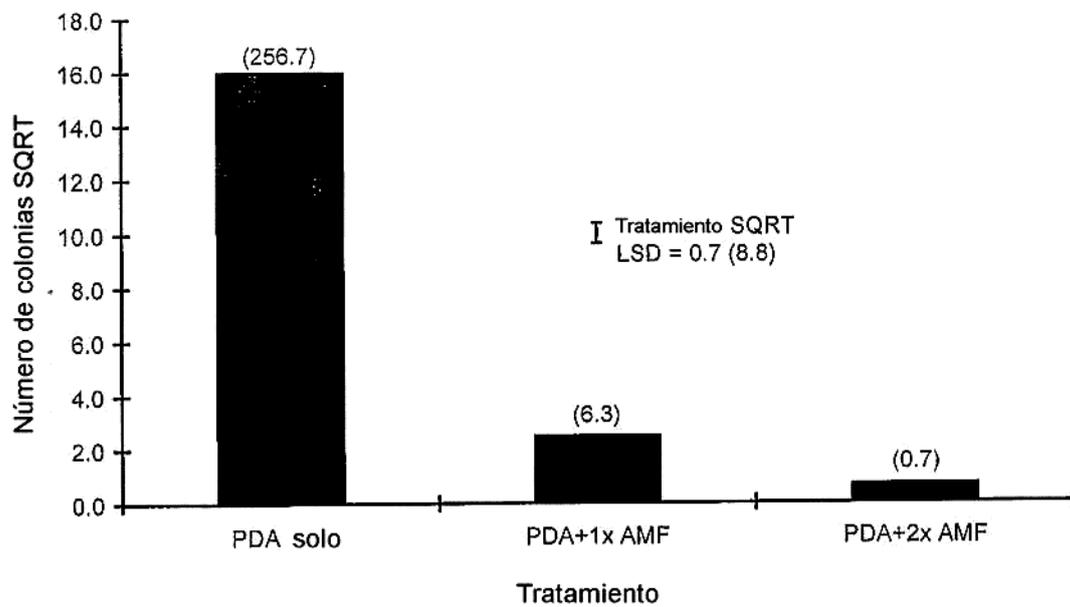


Figura 20

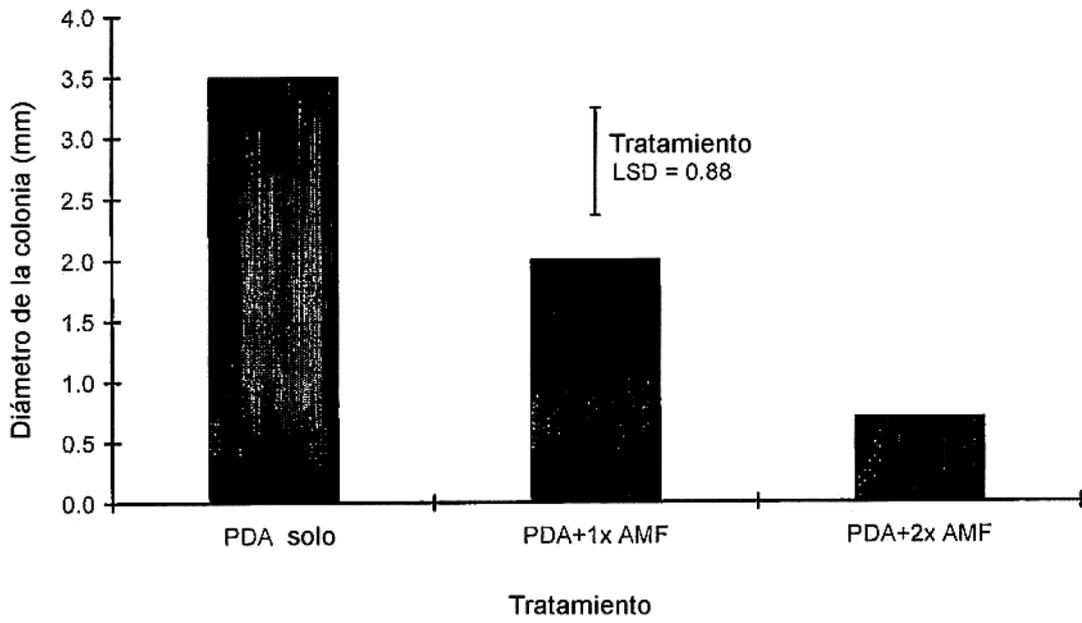


Figura 21

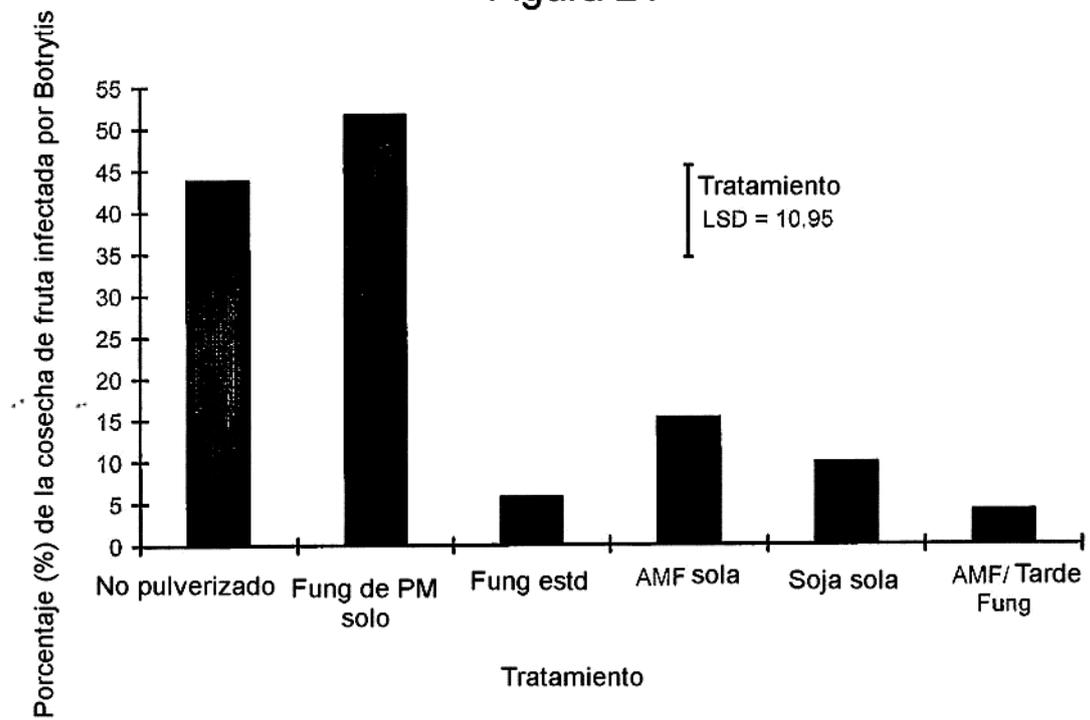


Figura 22

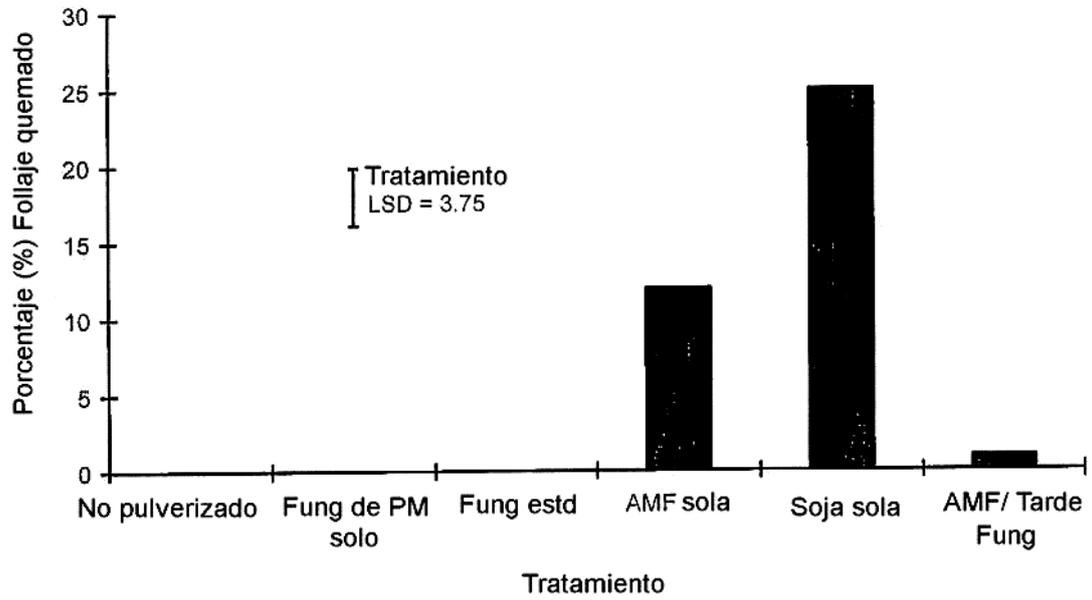


Figura 23

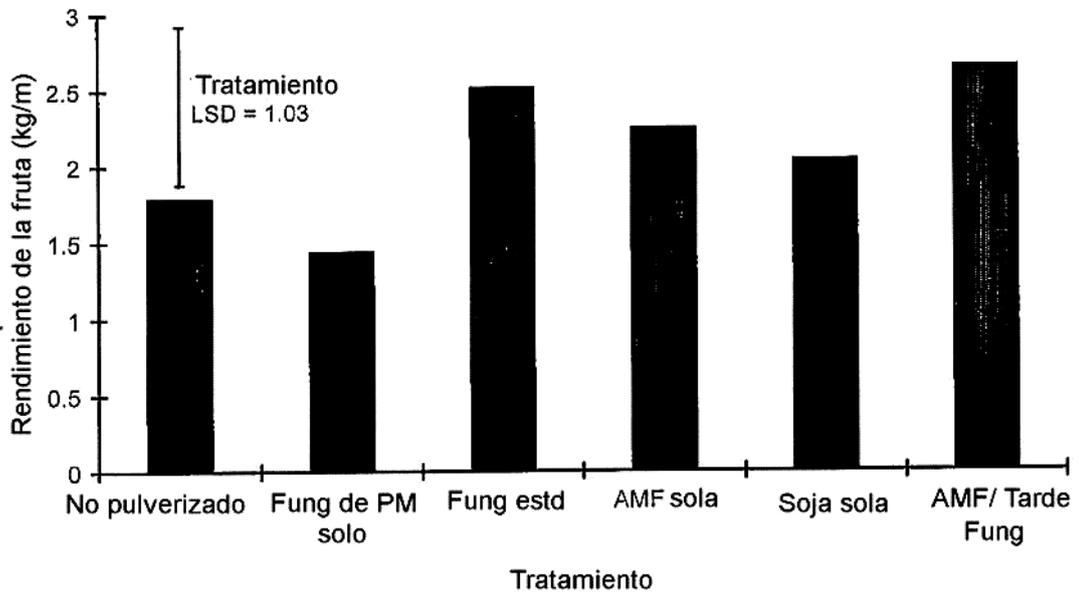


Figura 24