

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 729 778**

51 Int. Cl.:

A01N 43/56 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.10.2013 PCT/EP2013/071735**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.04.2014 WO14060521**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.10.2013 E 13779565 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.03.2019 EP 2908643**

54 Título: **Combinaciones de compuestos activos que comprenden derivados de carboxamida y un agente de control biológico**

30 Prioridad:

**19.10.2012 EP 12356023
27.11.2012 US 201261730289 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.11.2019

73 Titular/es:

**BAYER CROPSCIENCE AG (100.0%)
Alfred-Nobel-Strasse 50
40789 Monheim, DE**

72 Inventor/es:

**CRISTAU, PIERRE y
DAHMEN, PETER**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 729 778 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

Combinaciones de compuestos activos que comprenden derivados de carboxamida y un agente de control biológico

La presente invención se refiere a combinaciones de compuestos activos, en particular dentro de una composición, que comprende (A) un derivado de N-ciclopropil-N-[bencil sustituido]-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida y (B) un agente de control biológico elegido entre *Bacillus pumilus* Cepa QST2808 o *Bacillus subtilis* Cepa QST713/AQ713. Además, la invención se refiere a un procedimiento para controlar de forma curativa o de forma preventiva los hongos fitopatógenos de plantas o cultivos, al uso de una combinación de acuerdo con la invención para el tratamiento de una semilla, a un procedimiento para proteger una semilla y no solo al menos a la semilla tratada.

Las N-ciclopropil-N-[bencil sustituido]-carboxamidas o tiocarboxamidas, su preparación a partir de materiales disponibles en el mercado y su uso como fungicidas se desvelan en los documentos WO2007/087906, WO2009/016220, WO2010/130767 y EP2251331. Los derivados de N-ciclopropil-N-[bencil sustituido]-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida o tiocarboxamida como tales ya se conocen. También se sabe que estos compuestos pueden usarse como fungicidas y mezclarse con otros fungicidas o insecticidas (véanse las solicitudes de patente PCT/EP2012/001676 y PCT/EP2012/001674).

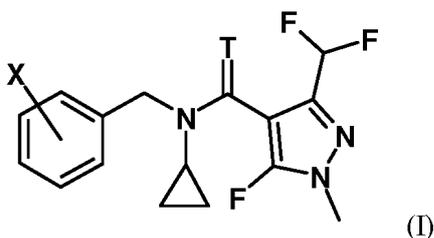
Dado que los requisitos medioambientales y económicos impuestos a las composiciones de protección de cultivos de hoy en día están aumentando continuamente, con respecto, por ejemplo, al espectro de acción, toxicidad, selectividad, nivel de aplicación, formación de residuos y capacidad de preparación favorable y, dado que, además, pueden existir problemas, por ejemplo, con resistencias, una labor constante consiste en desarrollar nuevas composiciones, en particular agentes fungicidas que en algunas áreas al menos ayudan a cumplir los requisitos anteriormente mencionados. La presente invención proporciona combinaciones/composiciones de compuestos activos que en algunos aspectos alcanzan al menos el objetivo establecido.

Se ha encontrado ahora, sorprendentemente, que las combinaciones de acuerdo con la invención no solo ocasionan la mejora del aditivo del espectro de acción con respecto al fitopatógeno que ha de controlarse que era lo que se esperaba en un principio, pero alcanza un efecto sinérgico que extiende al rango de acción del componente (A) y del componente (B) de dos formas. En primer lugar, las tasas de aplicación del componente (A) y/o del componente (B) se disminuyen, manteniéndose la acción igualmente buena. En segundo lugar, la combinación todavía alcanza un grado elevado de control de fitopatógeno incluso cuando los dos compuestos individuales se han vuelto completamente ineficaces a tal nivel de aplicación bajo. Esto permite, por un lado, una ampliación sustancial del espectro de fitopatógenos que pueden controlarse y, por otro lado, una seguridad aumentada en el uso.

Además de la actividad sinérgica fungicida, las combinaciones de compuestos activos de acuerdo con la invención tienen propiedades sorprendentes adicionales que, en un sentido más amplio, también pueden llamarse sinérgicas, tales como, por ejemplo: ampliación del espectro de actividad a otros fitopatógenos, por ejemplo a cepas resistentes de enfermedades de plantas; menores niveles de aplicación de los compuestos activos; control suficiente de las plagas con ayuda de las combinaciones de compuestos activos de acuerdo con la invención incluso a niveles de aplicación en los que los compuestos individuales no muestran actividad o prácticamente no muestran actividad; comportamiento ventajoso durante la formulación o durante el uso, por ejemplo durante la molienda, cribado, emulsificación, solución o dispensación; estabilidad al almacenamiento y estabilidad a la luz mejoradas; formación de residuos ventajosa; comportamiento toxicológico o ecotoxicológico mejorado; propiedades mejoradas de la planta, por ejemplo mejor crecimiento, rendimientos del cultivo aumentados, un sistema de raíces mejor desarrollado, una mayor área foliar, hojas más verdes, brotes más fuertes, menos semilla requerida, menor fitotoxicidad, movilización del sistema de defensa de la planta, buena compatibilidad con plantas. De esta manera, el uso de las composiciones o combinaciones de compuestos activos de acuerdo con la invención contribuye considerablemente a mantener los cereales jóvenes saludables, lo que aumenta, por ejemplo, la supervivencia al invierno de la semilla tratada de cereal y también salvaguarda la calidad y rendimiento. Además, las combinaciones de compuestos activos de acuerdo con la invención pueden contribuir a una acción sistémica mejorada. Incluso si los compuestos individuales de la combinación no tienen suficientes propiedades sistémicas, las combinaciones de compuestos activos de acuerdo con la invención pueden tener todavía esta propiedad. De forma similar, las combinaciones de compuestos activos de acuerdo con la invención pueden dar como resultado una persistencia más alta de la acción fungicida.

Por consiguiente, la presente invención proporciona una combinación que comprende:

(A) al menos un compuesto de fórmula (I)



en la que T representa un átomo de oxígeno y X es 5-cloro-2-isopropilo, o una sal agroquímicamente aceptable de los mismos y

- (B) al menos un agente de control biológico elegido entre *Bacillus pumilus* o *Bacillus subtilis*. Se da preferencia a combinaciones que comprenden al menos un compuesto de fórmula (I) seleccionado del grupo que consiste en:
- 5 N-(5-cloro-2-isopropilobencil)-N-ciclopropilo-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida (compuesto A5).

Agentes de control biológico

El agente de control biológico (en inglés biologic o biological) se eligen de *Bacillus pumilus* Cepa QST2808 o *Bacillus subtilis* Cepa QST713/AQ713.

- 10 De acuerdo con la invención, los agentes de control biológicos que se resumen bajo el término "bacterias" incluyen formadoras de esporas, bacterias colonizadoras de raíces o bacterias útiles como bioinsecticidas, biofungicidas o bionematicidas. Las bacterias a usarse o emplearse de acuerdo con la invención son:

Bacillus pumilus, cepa QST2808 (N.º de Acceso NRRL B-30087, productos conocidos como Sonata QST 2808®) o

- 15 *Bacillus subtilis*, cepa QST713/AQ713 (N.º de Acceso NRRL B-21661, productos conocidos como Serenade QST 713®, Serenade Soil, Serenade Max, Cease)

El agente de control biológico usado en las combinaciones y composiciones de compuestos activos de la invención se eligen entre *Bacillus* sp., cepa QST2808 (N.º de Acceso NRRL B-30087, productos conocidos como Sonata QST 2808®) o

- 20 - *Bacillus subtilis*, cepa QST713/AQ713 (N.º de Acceso NRRL B-21661, productos conocidos como Serenade QST 713®, Serenade Soil, Serenade Max, Cease).

La presente invención se dirige a mezclas que comprende el compuesto (A5) como compuesto de fórmula (I) y al menos la cepa QST2808 (N.º de Acceso NRRL B-30087, productos conocidos como Sonata QST 2808®) o la cepa QST713/AQ713 (N.º de Acceso NRRL B-21661, productos conocidos como Serenade QST 713®, Serenade Soil, Serenade Max, Cease).

- 25 Si los compuestos activos en las combinaciones de compuestos activos de acuerdo con la invención están presentes en determinadas relaciones en peso, el efecto sinérgico es particularmente pronunciado. Sin embargo, las relaciones en peso de los compuestos activos en las combinaciones de compuestos activos pueden variar dentro de un intervalo relativamente amplio.

- 30 Con respecto al compuesto A, la dosis de compuesto activo aplicada normalmente en el procedimiento de tratamiento de acuerdo con la invención es general y ventajosamente de 10 a 800 g/ha, preferentemente de 30 a 300 g/ha para aplicaciones en tratamiento foliar. La dosis de sustancia activa aplicada es general y ventajosamente de 2 a 200 g por 100 kg de semillas, preferentemente de 3 a 150 g por 100 kg de semillas en el caso del tratamiento de semillas.

- 35 Con respecto al compuesto B, la dosis de compuesto activo aplicada normalmente en el procedimiento de tratamiento de acuerdo con la invención es general y ventajosamente de 5 a 10000 g/ha, preferentemente de 10 a 5000 g/ha para aplicaciones en tratamiento foliar. La dosis de sustancia activa aplicada es general y ventajosamente de 2 a 5000 g por 100 kg de semillas, preferentemente de 2 a 2000 g por 100 kg de semillas en el caso del tratamiento de semillas.

- 40 Se entiende claramente que un experto en la materia sabrá cómo adaptar la dosis de aplicación, particularmente según la naturaleza de dichos compuestos A y B, la naturaleza de la planta o del cultivo que se va a tratar. En el procedimiento de la invención, las combinaciones de compuestos activos de acuerdo con la invención se aplican a las hojas a una dosis de 0,1 a 10 000 g/ha y se aplican a las semillas a una dosis de 2 a 2000 g por 100 kg de semillas.

- 45 Cuando un compuesto (A) o (B) puede estar presente en forma tautomérica, se entiende que tal compuesto anteriormente y a continuación en el presente documento también incluye, cuando sea aplicable, las formas tautoméricas correspondientes, incluso cuando no se mencionan específicamente en cada caso.

- Los compuestos (A) o (B) que tienen al menos un centro básico son capaces de formar, por ejemplo, sales de adición de ácido, por ejemplos con ácidos inorgánicos fuertes, tales como ácidos minerales, por ejemplo ácido perclórico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido nitroso, un ácido fosfórico o un ácido hidrohálico, con ácidos carboxílicos orgánicos fuertes, tales como sustituidos o sin sustituir, por ejemplo halo-sustituidos, ácidos alcanocarboxílicos C₁-C₄, por ejemplo ácido acético, ácidos dicarboxílicos saturados o insaturados, por ejemplo ácido oxálico, malónico, succínico, maleico, fumárico y ftálico, ácidos hidroxicarboxílicos, por ejemplo ácido ascórbico, láctico, málico, tartárico y cítrico, o ácido benzoico o con ácidos sulfónicos orgánicos, tales como sustituidos o sin sustituir, por ejemplo halo-sustituidos, ácidos alcano C₁-C₄- o aril-sulfónicos, por ejemplo ácido metano- o p-toluensulfónico. Los compuestos (A) o (B) que tienen al menos un grupo ácido son capaces de formar, por ejemplo, sales con bases, por ejemplo sales metálicas, tales como sales de metales alcalinos o de metales alcalinotérreos, por ejemplo sales de sodio, potasio o magnesio o sales con amonio o una amina orgánica, tales

como morfolina, piperidina, pirrolidina, una mono-, di- o tri- alquilamina inferior, por ejemplo etil-, dietil-, trietil- o dimetil-propil-amina, o una mono-, di- o tri-hidroxi-alquilamina inferior, por ejemplo mono-, di- o tri-etanolamina. Además, pueden formarse opcionalmente las sales internas correspondientes. En el contexto de la invención, se da preferencia a las sales agroquímicamente ventajosas. A la vista de la estrecha relación entre los compuestos (A) o (B) en forma libre y en forma de sus sales, anteriormente y a continuación en el presente documento cualquier referencia al compuesto libres (A) o (B) o a sus sales debería entenderse que también incluye las sales correspondientes o los compuestos libres (A) o (B), respectivamente, cuando sea apropiado y oportuno. Lo equivalente también aplica a los tautómeros de los compuestos (A) o (B) y a sus sales.

De acuerdo con la invención la expresión "combinación" se refiere a las diversas combinaciones de compuestos (A) y compuesto (B), por ejemplo una forma sola "lista para mezclar", una mezcla de pulverización combinada compuesta de formulaciones separadas de los compuestos activos solos, tales como una "mezcla en depósito", y un uso combinado de los ingredientes activos solos cuando se aplican de manera secuencial, es decir, uno después del otro en un periodo razonablemente corto, tales como varias horas o días. Preferentemente el orden de aplicación de los compuestos (A) y compuesto (B) no es esencial para llevar a cabo la presente invención. Preferentemente la "combinación" de compuesto (A) y compuesto (B) es una composición que comprende el compuesto (A) y el compuesto (B).

La presente invención se refiere adicionalmente a composiciones para combatir/controlar microorganismos indeseables que comprenden las combinaciones de compuesto activo de acuerdo con la invención. Preferentemente, las composiciones son composiciones fungicidas que comprenden agentes auxiliares, disolventes, vehículos, tensioactivos o extensores agroquímicamente aceptables.

Adicionalmente la invención se refiere a un procedimiento para combatir microorganismos indeseables, caracterizado porque se aplican las combinaciones de compuesto activo de acuerdo con la invención a los hongos fitopatógenos y/o a su hábitat.

De acuerdo con la invención, vehículo debe entenderse que significa una sustancia natural o sintética, orgánica o inorgánica, que se mezcla o se combina con los compuestos activos para una mejor aplicabilidad, en particular para la aplicación en plantas o partes de la planta o semillas. El vehículo, que puede ser sólido o líquido, es generalmente inerte y debería ser adecuado para su uso en agricultura.

Los vehículos sólidos o líquidos adecuados son: por ejemplo sales de amonio y minerales naturales triturados, tales como caolines, arcillas, talco, tiza, cuarzo, atapulguita, montmorillonita o tierra de diatomeas, y minerales sintéticos triturados, tales como sílice finamente dividida, alúmina y silicatos naturales o sintéticos, resinas, ceras, fertilizantes sólidos, agua, alcoholes, especialmente butanol, disolventes orgánicos, aceites minerales y vegetales y también derivados de los mismos. También es posible usar mezclas de tales vehículos. Los vehículos sólidos adecuados para gránulos son: por ejemplo minerales naturales machacados y fraccionados, tales como calcita, mármol, piedra pómez, sepiolita, dolomita, y también gránulos sintéticos de comidas orgánicas e inorgánicas y también gránulos de material orgánico, tales como serrín, cáscaras de cocos, mazorcas de maíz y colillas. Los extensores o vehículos gaseosos licuados adecuados son líquidos que son gaseosos a temperatura ambiente y a presión atmosférica, por ejemplo propulsores de aerosol, tales como butano, propano, nitrógeno y CO₂.

En las formulaciones pueden usarse agentes espesantes tales como carboximetilcelulosa y polímeros naturales y sintéticos en forma de polvos, gránulos y látex, tales como goma arábica, alcohol polivinílico, acetato polivinílico o también fosfolípidos naturales, tales como cefalinas y lecitinas y fosfolípidos sintéticos. Otros posibles aditivos son aceites y ceras minerales y vegetales, opcionalmente modificados.

Si el extensor usado es agua, también es posible por ejemplo, usar los disolventes orgánicos como disolventes auxiliares. Los disolventes líquidos adecuados son esencialmente: compuestos aromáticos, tales como xileno, tolueno o alquilnaftalenos, compuestos aromáticos clorados o hidrocarburos alifáticos clorados, tales como clorobencenos, cloroetilenos o cloruro de metileno, hidrocarburos alifáticos, tales como ciclohexano o parafinas, por ejemplo fracciones de aceite mineral, aceites minerales y vegetales, alcoholes, tales como butanol o glicol y también éteres y ésteres de los mismos, cetonas, tales como acetona, metiletilcetona, metilisobutilcetona o ciclohexanona, disolventes fuertemente polares, tales como dimetilformamida y dimetil sulfóxido y también agua.

Las composiciones de acuerdo con la invención pueden comprender además componentes adicionales, tales como, por ejemplo, tensioactivos. Los tensioactivos adecuados son emulsionantes, dispersantes o agentes humectantes que tienen propiedades iónicas o no iónicas o mezclas de estos tensioactivos. Los ejemplos de éstos son sales de ácido poliacrílico, sales de ácido lignosulfónico, sales de ácido fenolsulfónico o ácido naftalensulfónico, policondensados de óxido de etileno con alcoholes grasos o con ácidos grasos o con aminas grasas, fenoles sustituidos (preferentemente alquifenoles o arilfenoles), sales de ésteres sulfosuccínicos, derivados de taurina (preferentemente tauratos de alquilo), ésteres fosfóricos de alcoholes o fenoles polietoxilados, ésteres grasos de polioles y derivados de los compuestos que contienen sulfatos, sulfonatos y fosfatos. Se requiere la presencia de un tensioactivo si uno de los compuestos activos y/o uno de los vehículos inertes es insoluble en agua y cuando la aplicación tiene lugar en agua. La proporción de tensioactivos está entre el 5 y el 40 por ciento en peso de la composición de acuerdo con la invención.

Es posible usar colorantes tales como pigmentos inorgánicos, por ejemplo óxido de hierro, óxido de titanio, azul de Prusia y tintes orgánicos, tales como tintes de alizarina, tintes azo y tintes de ftalocianina metálica, y nutrientes traza, tales como sales de hierro, manganeso, boro, cobre, cobalto, molibdeno y zinc.

Si es apropiado, pueden estar presentes otros componentes adicionales, por ejemplo coloides protectores, aglutinantes, adhesivos, espesantes, sustancias tixotrópicas, penetrantes, estabilizantes, agentes secuestrantes, formadores de complejos. En general, los compuestos activos pueden combinarse con cualquier aditivo sólido o líquido usado habitualmente con propósitos de formulación.

- 5 En general, las composiciones de acuerdo con la invención comprenden entre el 0,05 y el 99 por ciento en peso, el 0,01 y el 98 por ciento en peso, preferible entre el 0,1 y el 95 por ciento en peso, particularmente preferido entre el 0,5 y el 90 por ciento en peso de la combinación de compuesto activo de acuerdo con la invención, muy particularmente preferible entre el 10 y el 70 por ciento en peso.

- 10 Las combinaciones o composiciones de compuestos activos de acuerdo con la invención pueden usarse como tales o, dependiendo de sus propiedades físicas y/o químicas respectivas, en forma de sus formulaciones o las formas de uso preparadas a partir de ellas, tales como aerosoles, suspensiones en cápsulas, concentrados para fumigación en frío, concentrados para fumigación en caliente, gránulos encapsulados, gránulos finos, concentrados fluidos para el tratamiento de semillas, disoluciones listas para usar, polvos espolvoreables, concentrados emulsionables, emulsiones de aceite en agua, emulsiones de agua en aceite, macrogránulos, microgránulos, polvos dispersables en aceite, concentrados fluidos miscibles en aceite, líquidos miscibles en aceite, espumas, pastas, semillas revestidas de plaguicida, concentrados en suspensión, concentrados en suspoemulsión, concentrados solubles, suspensiones, polvos humectables, polvos solubles, polvos finos y gránulos, gránulos o comprimidos solubles en agua, polvos solubles en agua para el tratamiento de las semillas, polvos humectables, productos naturales y sustancias sintéticas impregnados del compuesto activo, y también microencapsulaciones en sustancias poliméricas y en materiales de revestimiento para semillas, y también formulaciones para fumigación en frío y caliente de ULV.

- 15 Las formulaciones mencionadas pueden prepararse de manera conocida en sí misma, por ejemplo mezclando los compuestos activos o las combinaciones de compuesto activo con al menos un aditivo. Los aditivos adecuados son todos los agentes auxiliares de formulación habituales, tales como, por ejemplo, disolventes orgánicos, extensores, disolventes o diluyentes, vehículos y cargas sólidos, tensioactivos (tales como adyuvantes, emulsionantes, dispersantes, coloides protectores, agentes humectantes y espesantes), dispersantes y/o aglutinantes o fijadores, conservantes, tintes y pigmentos, desespumantes, espesantes orgánicos e inorgánicos, repelentes de agua, si es apropiado agentes secantes y estabilizantes UV, giberelinas y también agua y agentes auxiliares de procesamiento adicionales. Dependiendo del tipo de formulación que se va a preparar en cada caso, pueden requerirse etapas adicionales de procesamiento tales como, por ejemplo, molienda en húmedo, molienda en seco o granulación.

- 20 Las composiciones de acuerdo con la invención no solo comprenden composiciones listas para usar que se pueden aplicar con aparatos adecuado a la planta o a la semilla, sino también concentrados comerciales que se tienen que diluir con agua antes de usarse.

- 25 Las combinaciones de compuesto activo de acuerdo con la invención pueden estar presentes en formulaciones (comerciales) y en las formas de uso preparadas a partir de estas formulaciones como una mezcla con otros compuestos activos (conocidos), tales como insecticidas, atrayentes, esterilizantes, bactericidas, acaricidas, nematocidas, fungicidas, reguladores de crecimiento, herbicidas, fertilizantes, aseguradores y Semioquímicos.

- 30 El tratamiento de acuerdo con la invención de las plantas y las partes de las plantas con las composiciones o compuestos activos se realiza directamente o mediante la acción en sus alrededores, hábitat o espacio de almacenamiento usando procedimientos habituales de tratamiento, por ejemplo mediante inmersión, pulverización, atomización, irrigación, evaporación, espolvoreado, fumigación, esparcimiento, espumado, pintado, propagación, humectación (empapado), irrigación por goteo y, en el caso de material de propagación, en particular en el caso de semillas, además como un polvo para tratamiento en seco de las semillas, una solución para el tratamiento de semillas un polvo soluble en agua para el tratamiento en suspensión, mediante incrustación, mediante revestimiento con una o más capas, etc. También es posible adicionalmente aplicar los compuestos activos mediante el procedimiento de volumen ultrabajo, o inyectar la preparación del compuesto activo o el compuesto activo en sí mismo en el suelo. La invención comprende adicionalmente un procedimiento para tratar semillas. La invención se refiere adicionalmente a una semilla tratada según uno de los procedimientos descritos en el párrafo anterior y que comprende las composiciones activas de acuerdo con la invención. Las composiciones o compuestos activos de acuerdo con la invención son especialmente adecuados para tratar semillas. Una gran parte del daño a plantas de cultivo causado por microorganismos dañinos está causado por una infección de la semilla durante el almacenamiento o después de la siembra, así como durante y después de la germinación de la planta. Esta fase es particularmente crítica, ya que las raíces y brotes de la planta que crece son particularmente sensibles e incluso un daño pequeño podría tener como resultado la muerte de la planta. De acuerdo con esto, hay un gran interés en proteger la semilla y la planta que germina usando composiciones apropiadas.

- 35 El control de los hongos fitopatógenos mediante el tratamiento de la semilla de las plantas se conoce desde hace mucho tiempo y es objeto de continuas mejoras. Sin embargo, el tratamiento de la semilla entraña una serie de problemas que no siempre se pueden resolver de manera satisfactoria. De esta manera, es deseable desarrollar procedimientos para proteger la semilla y la planta que germina que prescindan de la aplicación adicional de agentes de protección de cultivo después de la siembra o después de brotar las plantas o que al menos reduzcan considerablemente la aplicación adicional. Es deseable adicionalmente optimizar la cantidad de compuesto activo empleado de tal forma que proporcione máxima protección para la semilla y la planta que germina frente al ataque de hongos fitopatógenos, pero sin que el compuesto activo empleado dañe a la propia planta. En particular, los

procedimientos para el tratamiento de las semillas podrían también tomar en consideración las propiedades fungicidas intrínsecas de las plantas transgénicas para alcanzar la protección máxima de la semilla y la planta que germina empleándose un mínimo de agentes de protección de cultivos.

5 De acuerdo con esto, la presente invención también se refiere en particular a un procedimiento para proteger las semillas y las plantas que germinan frente al ataque de hongos fitopatógenos mediante tratamiento de la semilla con una composición de acuerdo con la invención. La invención se refiere también al uso de las composiciones de acuerdo con la invención para tratar las semillas para proteger las semillas y las plantas que germinan frente a los hongos fitopatógenos. Adicionalmente, la invención se refiere al tratamiento de semillas con una composición de acuerdo con la invención para la protección frente a los hongos fitopatógenos.

10 El control de hongos fitopatógenos que dañan las plantas después de brotar se realiza primariamente tratando el suelo y las partes aéreas de las plantas con composiciones de protección de cultivos. Con relación a un posible impacto de la composición de protección de cultivos sobre el medioambiente y la salud del ser humano y los animales, hay un esfuerzo para reducir la cantidad de compuestos activos aplicados.

15 Una de las ventajas de la presente invención es que debido a las propiedades sistémicas particulares de las composiciones de acuerdo con la invención, el tratamiento de la semilla con estas composiciones no solo protege la propia semilla, sino también a las plantas resultantes después de brotar, de los hongos fitopatógenos. De esta forma el tratamiento intermedio del cultivo en el momento de la siembra o poco después se puede evitar.

20 También se considera ventajoso que las mezclas de acuerdo con la invención se puedan usar en particular también para las semillas transgénicas en las que la planta que crece a partir de esta semilla es capaz de expresar una proteína que actúa frente a las plagas. Tratando tal semilla con las composiciones o combinaciones de compuesto activo de acuerdo con la invención, incluso mediante la expresión de, por ejemplo, una proteína insecticida, pueden controlarse algunas plagas. De manera sorprendente, puede observarse un efecto sinérgico aquí, que aumenta adicionalmente la eficacia de la protección frente al ataque de las plagas.

25 Las composiciones de acuerdo con la invención son adecuadas para proteger las semillas de cualquier variedad de planta empleada en la agricultura, en invernaderos, en bosques o en horticultura o viticultura. En particular, estas toman la forma de semilla de cereales (tales como trigo, cebada, centeno, triticale, mijo, avena, maíz (grano), algodón, soja, arroz, patatas, girasoles, alubias, café, remolacha (por ejemplo remolacha azucarera y remolacha forrajera), cacahuetes, colza, amapolas, aceitunas, cocos, cacao, caña de azúcar, tabaco, hortalizas (tales como tomates, pepinos, cebollas y lechuga), césped y plantas ornamentales (ver también a continuación). El tratamiento de semillas de cereales (tales como trigo, cebada, centeno, triticale, y avena), maíz (grano) y arroz es de particular importancia.

30 Como también se describe más abajo, el tratamiento de las semillas transgénicas con las composiciones o combinaciones de compuesto activo de acuerdo con la invención es de particular importancia. Esto se refiere a las semillas de plantas que contienen al menos un gen heterólogo que permite la expresión de un polipéptido o proteína que tiene propiedades insecticidas. El gen heterólogo en la semilla transgénica se puede originar, por ejemplo, a partir de microorganismos de las especies de *Bacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Trichoderma*, *Clavibacter*, *Glomus* o *Gliocladium*. Preferentemente, este gen heterólogo procede de *Bacillus* sp., teniendo el producto génico actividad frente al barrenador europeo del maíz y/o el gusano alfilerillo del maíz. Particularmente preferentemente, el gen heterólogo se origina a partir de *Bacillus turingiensis*.

35 En el contexto de la presente invención, las composiciones o combinaciones de compuesto activo de acuerdo con la invención se aplican como tales o en una formulación adecuada a la semilla. Preferentemente, la semilla se trata en un estado en que es suficientemente estable de forma que el tratamiento no causa ningún daño. En general, el tratamiento de la semilla puede tener lugar en cualquier momento en el tiempo entre la recolección y la siembra. Normalmente, la semilla usada se separa de la planta y se libera de las mazorcas, cáscaras, tallos, pieles, pelo o pulpa de la fruta. Así, es posible usar, por ejemplo, una semilla que se ha recolectado, limpiado y secado a un contenido de humedad menor que el 15 % en peso. Alternativamente, también es posible usar una semilla que, después de secado, ha sido tratada, por ejemplo, con agua y después se ha secado de nuevo.

40 Cuando se trata la semilla se debe tener generalmente cuidado de que la cantidad de la composición de acuerdo con la invención aplicada a la semilla y/o la cantidad de aditivos adicionales se elija de tal forma que la germinación de la semilla no se vea afectada adversamente, o de que la planta resultante no esté dañada. Esto debe tenerse en mente en particular en el caso de los compuestos activos que puedan tener efectos fitotóxicos a algunos niveles de aplicación.

45 Las composiciones de acuerdo con la invención se pueden aplicar directamente, es decir sin comprender componentes adicionales y sin haberse diluido. En general, es preferible aplicar las composiciones a la semilla en forma de una formulación adecuada. Las formulaciones y procedimientos adecuados para el tratamiento de la semilla son conocidos por el experto en la materia y se describen, por ejemplo, en los siguientes documentos: US 4.272.417 A, US 4.245.432 A, US 4.808.430 A, US 5.876.739 A, US 2003/0176428 A1, WO 2002/080675 A1, WO 2002/028186 A2.

Las combinaciones de compuesto activo que pueden usarse de acuerdo con la invención pueden convertirse en formulaciones habituales para el recubrimiento de semillas, tales como disoluciones, emulsiones, suspensiones, polvos, espumas, pastas u otros materiales de revestimiento de la semilla, y también formulaciones de ULV.

5 Estas formulaciones se preparan de manera conocida mezclando los compuestos activos o las combinaciones de compuesto activo con aditivos habituales, tales como, por ejemplo, extensores habituales, y también disolventes o diluyentes, colorantes, agentes humectantes, dispersantes, emulsificantes, desespumantes, conservantes, espesantes secundarios, adhesivos, giberelinas, así como agua.

10 Los colorantes adecuados que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de la semilla que pueden usarse de acuerdo con la invención incluyen todos los colorantes habituales para tales propósitos. Se puede hacer uso tanto de pigmentos de solubilidad moderada en agua como de tintes, que son solubles en agua. Los ejemplos que pueden mencionarse incluyen los colorantes conocidos con las designaciones Rhodamine B, C.I. Pigment Red 112 y C.I. Solvent Red 1.

15 Los agentes humectantes adecuados que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de la semilla que pueden usarse de acuerdo con la invención incluyen todas las sustancias que promueven la humectación y son habituales en la formulación de sustancias activas agroquímicas. Con preferencia es posible usar alquilnaftalen-sulfonatos, tales como diisopropil- o diisobutilnaftalen-sulfonatos.

20 Los dispersantes y/o emulsificantes adecuados que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de la semilla que pueden usarse de acuerdo con la invención incluyen todos los dispersantes no iónicos, aniónicos y catiónicos que son habituales en la formulación de sustancias activas agroquímicas. Con preferencia, es posible usar dispersantes no iónicos o aniónicos o mezclas de dispersantes no iónicos o aniónicos. Los dispersantes no iónicos particularmente adecuados son polímeros de bloque de óxido de etileno- óxido de propileno, alquilfenol poliglicoléteres y tristirilfenolpoliglicol éteres y sus derivados fosfatados o sulfatados. Los dispersantes aniónicos particularmente adecuados son lignosulfonatos, sales poliacrílicas y condensados de arilsulfonato-formaldehído.

25 Los desespumantes que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de la semilla que van a usarse de acuerdo con la invención incluyen todos los compuestos inhibidores de espuma que son habituales en la formulación de los compuestos activos desde un punto de vista agroquímico. Se da preferencia al uso de desespumantes de silicona, estearato de magnesio, emulsiones de silicona, alcoholes de cadena larga, ácidos grasos y sus sales y también compuestos organofluorados y mezclas de los mismos.

30 Los conservantes que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de la semilla que van a usarse de acuerdo con la invención incluyen todos los compuestos que pueden usarse para tales propósitos en las composiciones agroquímicas. A modo de ejemplo, puede mencionarse diclorofeno y alcohol bencílico hemiformal.

35 Los espesantes secundarios que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de la semilla que van a usarse de acuerdo con la invención incluyen todos los compuestos que pueden usarse para tales propósitos en las composiciones agroquímicas. Se da preferencia a derivados de celulosa, derivados de ácido acrílico, polisacáridos, tales como goma de xantano o Veegum, arcillas modificadas, filosilicatos, tales como atapulguita y bentonita, y también ácidos silícicos finamente divididos.

40 Los adhesivos adecuados que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de la semilla que van a usarse de acuerdo con la invención incluyen todos los ligantes habituales que pueden usarse en recubrimiento de semillas. Se pueden mencionar como preferidos polivinilpirrolidona, acetato polivinílico, alcohol polivinílico y tilosa.

40 Las giberelinas adecuadas que pueden estar presentes en las formulaciones de recubrimiento de la semilla que van a usarse de acuerdo con la invención son preferentemente las giberelinas A1, A3 (= ácido giberélico), A4 y A7; se da preferencia particular al uso de ácido giberélico. Las giberelinas se conocen (véase R. Wegler "Chemie der Pflanzenschutz- and Schädlingsbekämpfungsmittel" [Chemistry of Crop Protection Agents and Pesticides], Vol. 2, Springer Verlag, 1970, págs 401-412).

45 Las formulaciones de recubrimiento de la semilla que pueden usarse de acuerdo con la invención pueden usarse directamente o después de dilución con agua previamente al tratamiento de la semilla de cualquiera de una muy amplia diversidad de tipos. Las formulaciones de recubrimiento de la semilla que pueden usarse de acuerdo con la invención o sus preparaciones diluidas también pueden usarse para revestir la semilla de plantas transgénicas. En este contexto, también se pueden producir efectos sinérgicos en la interacción con las sustancias formadas por la expresión.

50 El equipamiento de mezcla adecuado para tratar la semilla con las formulaciones de recubrimiento de la semilla que pueden usarse de acuerdo con la invención o las preparaciones preparadas a partir de ellas mediante adición de agua incluyen todos los equipamientos de mezcla que se usan comúnmente para el revestimiento. El procedimiento específico adoptado cuando el revestimiento comprende introducir la semilla en un mezclador, añadir la cantidad deseada particular de formulación de revestimiento de semilla, bien tal cual o después de la dilución previa con agua, y realizar la mezcla hasta que la formulación está uniformemente distribuida en la semilla. Opcionalmente, le sigue una función de secado.

55 Las composiciones o compuestos activos de acuerdo con la invención tienen actividad microbiciada fuerte y pueden usarse para controlar organismos indeseados, tales como hongos y bacterias, en la protección de cultivos y la protección de materiales.

60 En la protección de cultivos, pueden usarse fungicidas para controlar Plasmodioforomicetos, Oomicetos,

Quitridiomicetos, Zigomicetos, Ascomicetos, Basidiomicetos y Deuteromicetos.

En la protección de cultivos, pueden usarse bactericidas para controlar *Pseudomonadaceae*, *Rhizobiaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Corynebacteriaceae* y *Streptomycetaceae*.

5 Las composiciones fungicidas de acuerdo con la invención pueden usarse para el control curativo o protector de hongos fitopatógenos. De acuerdo con esto, la invención también se refiere a procedimientos curativos y protectores para controlar los hongos fitopatógenos usando las combinaciones o composiciones de compuestos activos de acuerdo con la invención, que se aplican a la semilla, la planta o partes de la planta, el fruto o el suelo en el que crecen las plantas. Se da preferencia a la aplicación sobre la planta o las partes de las plantas, los frutos o el suelo en el que crecen las plantas.

10 Las composiciones de acuerdo con la invención para combatir los hongos fitopatógenos en la protección de cultivos comprenden una cantidad activa, no fitotóxica de los compuestos de acuerdo con la invención. "Cantidad activa, pero no fototóxica" quiere decir una cantidad de la composición de acuerdo con la invención que es suficiente para controlar o matar completamente la enfermedad de la planta causada por hongos, cantidad que al mismo tiempo no presenta síntomas reseñables de fitotoxicidad. Estos niveles de aplicación pueden variar generalmente dentro de un
15 intervalo más amplio, que depende de varios factores, por ejemplo los hongos fitopatógenos, la planta o cultivo, las condiciones climáticas y los ingredientes de la composición de acuerdo con la invención.

El hecho de que los compuestos activos, a las concentraciones requeridas para el control de las enfermedades de las plantas, sean bien tolerados por las plantas permite el tratamiento de las partes aéreas de las plantas de materia vegetal de propagación y semillas y del suelo.

20 De acuerdo con la invención pueden tratarse todas las plantas y las partes de las plantas. Por plantas se entiende todas las plantas y poblaciones de plantas tales como plantas salvajes deseadas o no deseadas, cultivares y variedades de plantas (puedan o no protegerse por los derechos de variedades de plantas o del cultivador de plantas). Los cultivares y las variedades de plantas pueden ser plantas obtenidas por propagación convencional y procedimientos de cultivo que pueden ayudarse o estar complementados por uno o más procedimientos
25 biotecnológicos, tales como el uso de haploides dobles, fusión de protoplastos, mutagénesis aleatoria y dirigida, marcadores moleculares o genéticos o por procedimientos de bioingeniería e ingeniería genética. Por partes de las plantas se entiende todas las partes y órganos de las plantas por encima del suelo y por debajo del suelo, tales como brotes, hojas, flores y raíces, de modo que también están listados por ejemplo, las hojas, agujas, tallos, ramas, flores, esporóforos, frutos y semillas, así como raíces, tubérculos, bulbos y rizomas. Los cultivos y el material de propagación vegetativo y generativo, por ejemplo, esquejes, bulbos, rizomas, tubérculos, trepadoras y semillas, también pertenecen a las partes de las plantas.

30 Los compuestos activos de la invención, en combinación con buena tolerancia de la planta y toxicidad favorable a los animales de sangre caliente y siendo bien tolerados por el medioambiente, son adecuados para proteger las plantas y órganos de las plantas, para aumentar el rendimiento de las recolecciones, para mejorar la calidad del material recolectado. Se pueden emplear preferentemente como agentes de protección de cultivos. Son activos
35 frente a especies normalmente sensibles y resistentes y contra todas o algunas fases del desarrollo.

Entre las plantas que pueden protegerse por el procedimiento de acuerdo con la invención, pueden mencionarse los cultivos extensivos principales como el maíz, soja, algodón, semillas oleaginosas de *Brassica* tales como *Brassica napus* (por ejemplo, canola), *Brassica rapa*, *B. juncea* (por ejemplo, mostaza) y *Brassica carinata*, arroz, trigo, remolacha azucarera, caña de azúcar, avena, centeno, cebada, mijo, triticale, lino, vid y diferentes frutas y verduras de diversos taxones botánicos tales como *Rosaceae* sp. (por ejemplo frutas de pepitas tales como manzanas y peras, pero también frutas con hueso tales como albaricoques, cerezas, almendras y melocotones, bayas tales como fresas), *Ribesioideae* sp., *Juglandaceae* sp., *Betulaceae* sp., *Anacardiaceae* sp., *Fagaceae* sp., *Moraceae* sp.,
40 *Oleaceae* sp., *Actinidaceae* sp., *Lauraceae* sp., *Musaceae* sp. (por ejemplo bananeros y plantaciones de bananas), *Rubiaceae* sp. (por ejemplo café), *Theaceae* sp., *Sterculiaceae* sp., *Rutaceae* sp. (por ejemplo limones, naranjas y pomelos); *Solanaceae* sp. (por ejemplo tomates, patatas, pimientos, berenjenas), *Liliaceae* sp., *Compositiae* sp. (por ejemplo lechuga, alcachofa y achicoria - incluyendo escarola, endivia o achicoria común), *Umbelliferae* sp. (por ejemplo zanahoria, perejil, apio y bulbo de apio), *Cucurbitaceae* sp. (por ejemplo pepino - incluyendo pepinillo, chayote, sandía, calabazas y melones), *Alliaceae* sp. (por ejemplo cebollas y puerros), *Cruciferae* sp. (por ejemplo, repollo, lombarda, brócoli, coliflor, coles de bruselas, pak choi, colirrábano, rábano, rábano picante, berro, col china),
50 *Leguminosae* sp. (por ejemplo cacahuets, guisantes y judías - tales como judías trepadoras y habas), *Chenopodiaceae* sp. (por ejemplo acelga, espinaca remolacha, espinaca, remolacha), *Malvaceae* (por ejemplo quimbombo), *Asparagaceae* (por ejemplo espárrago); cultivos hortícolas y arbóreos; plantas ornamentales; así como los homólogos genéticamente modificados de estos cultivos.

55 Como se ha mencionado anteriormente, es posible tratar todas las plantas y sus partes de acuerdo con la invención. En una realización preferida, se tratan las especies salvajes de plantas y los cultivares de plantas, o aquellas obtenidas mediante procedimientos de reproducción biológicos convencionales, tales como cruce o fusión de protoplastos, y sus partes. En una realización adicional preferida, se tratan las plantas transgénicas y los cultivares de plantas obtenidos por procedimientos de ingeniería genética, si es apropiado en combinación con procedimientos
60 convencionales (organismos genéticamente modificados) y sus partes. Los términos "partes", "partes de plantas" y

"partes de planta" se han explicado anteriormente. Particularmente preferible, las plantas de las variedades de plantas que están disponibles en el mercado en cada caso o en uso se tratan de acuerdo con la invención. Debe entenderse que los cultivares de plantas significan plantas que tienen propiedades nuevas ("rasgos") que se han obtenido por reproducción convencional, por mutagénesis o por técnicas de ADN recombinante. Estas pueden ser variedades de plantas, bio- o genotipos.

El procedimiento de tratamiento de acuerdo con la invención puede utilizarse en el tratamiento de organismos modificados genéticamente (OMG), por ejemplo, plantas o semillas. Las plantas modificadas genéticamente (o plantas transgénicas) son plantas en las que se ha integrado de manera estable un gen heterólogo en el genoma. La expresión "gen heterólogo" significa esencialmente un gen que se proporciona o construye fuera de la planta y que cuando se introduce en el genoma nuclear, cloroplástico o mitocondrial proporciona a la planta transformada nuevas o mejoradas propiedades agronómicas u otras propiedades mediante la expresión de una proteína o polipéptido de interés o disminuyendo o silenciando otro u otros genes que están presentes en la planta (usando, por ejemplo, tecnología antisentido, tecnología de cosupresión o interferencia de ARN - tecnología ARNi). Un gen heterólogo que está localizado en el genoma también se denomina un transgén. Un transgén que está definido por su particular localización en el genoma de la planta se denomina un evento de transformación o transgénico.

Dependiendo de la especie de planta o del cultivar de plantas, su localización y sus condiciones de crecimiento (suelos, clima, periodo de vegetación, dieta), el tratamiento de acuerdo con la invención también puede producir efectos superaditivos ("sinérgicos"). Así, por ejemplo, son posibles tasas de aplicación reducidas y/o una ampliación del espectro de actividad y/o un incremento de la actividad de los compuestos y composiciones activos que pueden utilizarse de acuerdo con la invención, mejor crecimiento de la planta, tolerancia aumentada a temperaturas altas o bajas, tolerancia aumentada a la sequía o al agua o al contenido en sal del suelo, floración aumentada, recolección más fácil, maduración acelerada, rendimientos de cosecha mayores, frutos más grandes, mayor altura de la planta, color de la hoja más verde, floración temprana, mayor calidad y/o valor nutricional más alto de los productos cosechados, mayor concentración de azúcar en los frutos, mejor estabilidad en el almacenamiento y/o procesabilidad de los productos cosechados, lo que supera los efectos que eran de esperar.

Con determinadas relaciones de aplicación, las combinaciones del compuesto activo de acuerdo con la invención también pueden tener un efecto reforzador en las plantas. Por consiguiente, también pueden ser adecuadas para movilizar el sistema de defensas de la planta frente al ataque de microorganismos indeseados. Esta puede ser, si resulta apropiado, una de las razones de la actividad aumentada de las combinaciones de acuerdo con la invención, por ejemplo, frente a hongos. Las sustancias fortificantes de plantas (que inducen resistencia) se entiende que, en el presente contexto, son aquellas sustancias o combinaciones de sustancias que son capaces de estimular el sistema de defensas de dichas plantas de forma que cuando posteriormente se inoculan microorganismos no deseados, las plantas tratadas presentan un grado de resistencia sustancial a esos microorganismos. En el presente caso, los microorganismos no deseados se entiende que son hongos fitopatógenos, bacterias y virus. Así, las sustancias de acuerdo con la invención pueden emplearse para proteger a las plantas frente al ataque de los patógenos mencionados anteriormente en un periodo de tiempo determinado después del tratamiento. El periodo de tiempo en el que se produce la protección se extiende generalmente de 1 a 28 días, preferentemente de 1 a 14 días, después del tratamiento de las plantas con los compuestos activos.

Las plantas y las variedades de plantas cultivadas que se tratan preferentemente de acuerdo con la invención incluyen todas las plantas que tienen material genético que proporciona características útiles particularmente ventajosas a estas plantas (ya sean obtenidas por reproducción y/o por medios biotecnológicos).

Las plantas y las variedades de plantas cultivadas que preferentemente también se tratan de acuerdo con la invención son resistentes frente a uno o más estreses bióticos, es decir, dichas plantas muestran una mejor defensa frente a plagas animales y microbianas, tales como frente a nematodos, insectos, ácaros, hongos, bacterias virus y/o viroides fitopatógenos.

Algunos ejemplos de plantas resistentes a nematodos se describen en las solicitudes de patente de EE.UU. N.º 11/765.491, 11/765.494, 10/926.819, 10/782.020, 12/032.479, 10/783.417, 10/782.096, 11/657.964, 12/192.904, 11/396.808, 12/166.253, 12/166.239, 12/166.124, 12/166.209, 11/762.886, 12/364.335, 11/763.947, 12/252.453, 12/209.354, 12/491.396 y 12/497.221.

Las plantas y los cultivares de plantas que también pueden tratarse de acuerdo con la invención son aquellas plantas que son resistentes a uno o más estreses abióticos. Las condiciones de estrés abiótico pueden incluir, por ejemplo, sequía, exposición a bajas temperaturas, exposición al calor, estrés osmótico, inundación, salinidad del suelo aumentada, exposición a minerales aumentada, exposición a ozono, exposición a mucha luz, disponibilidad limitada de nutrientes nitrogenados, disponibilidad limitada de nutrientes de fósforo, falta de sombra.

Las plantas y los cultivares de plantas que también pueden tratarse de acuerdo con la invención, son aquellas plantas caracterizadas por unas características de rendimiento aumentadas. El rendimiento incrementado en dichas plantas puede ser el resultado, por ejemplo, de una mejora de la fisiología de la planta, crecimiento y desarrollo, tal como eficacia en el uso del agua, eficacia en la retención del agua, utilización mejorada del nitrógeno, asimilación aumentada del carbono, fotosíntesis mejorada, eficacia aumentada de la germinación y maduración acelerada. El

- rendimiento puede verse afectado además por una arquitectura mejorada de la planta (en condiciones de estrés y sin estrés), incluyendo, pero sin limitarse a floración temprana, control de la floración para la producción de semillas híbridas, vigor de la siembra, tamaño de la planta, número y distancia de los entrenudos, crecimiento de la raíz, tamaño de la semilla, tamaño del fruto, tamaño de la vaina, número de vainas o espigas, número de semillas por vaina o espiga, masa de semillas, relleno incrementado de las semillas, dispersión reducida de las semillas, dehiscencia reducida de la vaina y resistencia a la caída. Las características de rendimiento adicionales incluyen composición de las semillas, tales como contenido en carbohidratos, contenido en proteínas, contenido en aceite y composición del aceite, valor nutricional, reducción de compuestos anti-nutricionales, procesabilidad mejorada y mejor estabilidad en el almacenamiento.
- 5 Las plantas que pueden tratarse de acuerdo con la invención son plantas híbridas que ya expresan la característica de heterosis o vigor híbrido que generalmente da como resultado un mayor rendimiento, vigor, salud y resistencia frente al estrés biótico y abiótico. Dichas plantas se obtienen típicamente cruzando una línea parental macho estéril endogámica (la hembra parental) con otra línea parental macho fértil endogámica (el macho parental). La semilla híbrida se cosecha típicamente a partir de las plantas macho estériles y se vende a los cultivadores. Las plantas macho estériles pueden producirse a veces (por ejemplo, en el maíz) por castración, es decir, por la eliminación mecánica de los órganos reproductores masculinos (o flores macho) pero, típicamente, la esterilidad de los machos es el resultado de determinantes genéticos en el genoma de la planta. En este caso, y especialmente cuando la semilla es el producto deseado para cosecharse de las plantas híbridas es típicamente útil asegurarse de que se ha restaurado completamente la fertilidad de los machos en las plantas híbridas. Esto puede conseguirse asegurando que los machos parentales tienen los genes de restauración de la fertilidad apropiados que son capaces de restaurar la fertilidad de los machos en las plantas híbridas que contienen los determinantes genéticos responsables de la esterilidad de los machos. Los determinantes genéticos para la esterilidad de los machos pueden estar localizados en el citoplasma. Ejemplos de esterilidad masculina citoplásmica (CMS) se describían por ejemplo en especies Brassica. Sin embargo, los determinantes genéticos para la esterilidad de los machos también pueden estar localizados en el genoma nuclear. Las plantas macho estériles también pueden obtenerse mediante procedimientos de biotecnología de plantas tales como ingeniería genética. Un medio particularmente útil para obtener plantas macho estériles se describe en el documento WO 89/10396 en el que, por ejemplo, una ribonucleasa tal como barnasa se expresa selectivamente en las células del tapetum en los estambres. La fertilidad se puede restaurar entonces mediante la expresión en las células de tapetum de un inhibidor de la ribonucleasa como barstar.
- 10 15 20 25 30 Las plantas o los cultivares de plantas (obtenidas mediante procedimientos de biotecnología de plantas tales como ingeniería genética) que pueden tratarse de acuerdo con la invención son plantas tolerantes a los herbicidas, es decir, plantas que se han hecho tolerantes a uno o más herbicidas dados. Dichas plantas pueden obtenerse mediante transformación genética, o mediante selección de plantas que contienen una mutación que proporciona dicha tolerancia a herbicidas.
- 35 40 45 Las plantas resistentes a herbicidas son, por ejemplo, plantas tolerantes a glifosato, es decir, plantas que se han hecho tolerantes al herbicida glifosato o a las sales del mismo. Las plantas pueden hacerse tolerantes a glifosato mediante diferentes medios. Por ejemplo, las plantas tolerantes a glifosato pueden obtenerse mediante la transformación de la planta con un gen que codifica la enzima 5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato sintasa (EPSPS). Los ejemplos de dichos genes de EPSPS son el gen AroA (mutante CT7) de la bacteria *Salmonella typhimurium* (Comai y col., Science 1983, 221, 370-371), el gen CP4 de la bacteria *Agrobacterium* sp. (Barry y col., Curr. Topics Plant Physiol. 1992, 7, 139-145), los genes que codifican una EPSPS de petunia (Shah y col., Science 1986, 233, 478-481), una EPSPS de tomate (Gasser y col., J. Biol. Chem. 1988, 263, 4280-4289), o una EPSPS de eleusina (documento WO 2001/66704). También puede ser una EPSPS mutada. Las plantas tolerantes a glifosato también pueden obtenerse mediante la expresión de un gen que codifica una enzima glifosato oxido-reductasa. Las plantas tolerantes a glifosato también pueden obtenerse mediante la expresión de un gen que codifica una enzima glifosato acetil transferasa. Las plantas tolerantes a glifosato también pueden obtenerse seleccionando plantas que contienen mutaciones de los genes anteriormente mencionados que se producen de forma natural. Se describen las plantas que expresan los genes EPSPS que confieren tolerancia al glifosato. Se describen las plantas que comprenden otros genes que confieren tolerancia al glifosato, tales como los genes de descarboxilasa.
- 50 55 Otras plantas resistentes a herbicidas son, por ejemplo, las plantas que se hacen tolerantes a herbicidas mediante la inhibición de la enzima glutamina sintasa, tales como bialafos, fosfinotricina o glufosinato. Dichas plantas pueden obtenerse mediante la expresión de una enzima que detoxifica el herbicida o una enzima glutamina sintasa mutante que es resistente a la inhibición. Una de dichas enzimas destoxicantes eficaces es una enzima que codifica una fosfinotricin acetiltransferasa (tales como la proteína bar o pat de especies de *Streptomyces*). Se describen las plantas que expresan una fosfinotricin acetiltransferasa exógena.
- 60 Las plantas tolerantes a herbicidas adicionales también son plantas que se hacen tolerantes a los herbicidas mediante la inhibición de la enzima hidroxifenilpiruvatodioxigenasa (HPPD). Las hidroxifenilpiruvatodioxigenasas (HPPD) son enzimas que catalizan la reacción en la que el para-hidroxifenilpiruvato (HPP) se transforma en homogentisato. Las plantas tolerantes a los inhibidores de HPPD se pueden transformar con un gen que codifica una enzima HPPD resistente natural, o un gen que codifica una enzima mutada o química como se describe en los documentos de patente WO 96/38567, WO 99/24585, WO 99/24586, WO 2009/144079, WO 2002/046387, o US 6.768.044. La tolerancia a inhibidores de HPPD también puede obtenerse mediante la transformación de plantas con

genes que codifican determinadas enzimas que permiten la formación de homogentisato a pesar de la inhibición de la enzima HPPD nativa por el inhibidor de HPPD. Dichas plantas y genes se describen en los documentos WO 99/34008 y WO 02/36787. La tolerancia de las plantas a los inhibidores de HPPD también se puede mejorar transformando las plantas con un gen que codifica una enzima que tiene actividad preferato deshidrogenasa (PDH) además de un gen que codifica una enzima tolerante a HPPD, como se describe en el documento de patente WO 2004/024928. Además, las plantas se pueden hacer más tolerantes a herbicidas inhibidores de HPPD mediante adición a su genoma de un gen que codifica una enzima capaz de metabolizar o degradar inhibidores de HPPD, tales como las enzimas CYP450 mostradas en el documento de patente WO 2007/103567 y WO 2008/150473.

Aún más, las plantas tolerantes a herbicidas son plantas que se hacen tolerantes a inhibidores de la acetolactato sintasa (ALS). Los inhibidores de ALS conocidos incluyen, por ejemplo, los herbicidas de tipo sulfonilurea, imidazolinona, triazolopirimidinas, pirimidiniloxi(tio)benzoatos y/o sulfonilaminocarboniltriiazolinona. Se sabe que diferentes mutaciones en la enzima ALS (también conocida como acetohidroxiácido sintasa, AHAS) confieren tolerancia a diferentes herbicidas y grupos de herbicidas, como se describe por ejemplo en Tranel y Wright (2002, Weed Science 50:700-712). Se describe la producción de plantas tolerantes a sulfonilurea y de plantas tolerantes a imidazolinona. También se describen otras plantas tolerantes a imidazolinona. También se describen otras plantas tolerantes a sulfonilurea y plantas tolerantes a imidazolinona.

Otras plantas tolerantes a imidazolinona y/o sulfonilurea pueden obtenerse mediante mutagénesis inducida, selección en cultivos celulares en presencia del herbicida o cultivo de mutación como se describe, por ejemplo para sojas en la patente de EE.UU. 5.084.082, para arroz en el documento WO 97/41218, para remolacha azucarera en la patente de EE.UU. 5.773.702 y el documento WO 99/057965, para lechuga en la patente de EE.UU. 5.198.599, o para girasol en el documento WO 01/065922.

Las plantas o los cultivares de plantas (obtenidas mediante procedimientos de biotecnología de plantas tales como ingeniería genética) que también pueden tratarse de acuerdo con la invención son plantas transgénicas resistentes a insectos, es decir, plantas que se han hecho resistentes al ataque de determinados insectos diana. Dichas plantas pueden obtenerse mediante transformación genética, o mediante selección de plantas que contienen una mutación que proporciona dicha resistencia a insectos.

Una "planta transgénica resistente a insectos", como se usa en el presente documento, incluye cualquier planta que contenga al menos un transgén que comprende una secuencia codificante que codifica:

1) una proteína cristalina insecticida de *Bacillus thuringiensis* o una parte insecticida de la misma, tales como las proteínas cristalinas insecticidas listadas por Crickmore y col. (1998, *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62: 807-813), actualizado por Crickmore y col. (2005) en la nomenclatura de toxinas de *Bacillus thuringiensis*, en internet en: http://www.lifesci.sussex.ac.uk/Home/Neil_Crickmore/Bt/, o partes insecticidas de las mismas, por ejemplo, proteínas de las clases de proteínas Cry Cry1Ab, Cry1Ac, Cry1B, Cry1C, Cry1D, Cry1F, Cry2Ab, Cry3Aa, o Cry3Bb o partes insecticidas de las mismas (por ejemplo documentos de patente EP 1999141 y WO 2007/107302), o tales proteínas codificadas por genes sintéticos como por ejemplo las descritas en la solicitud de patente de EE.UU. n.º 12/249.016; o

2) una proteína cristalina de *Bacillus thuringiensis* o una parte de la misma que es insecticida en presencia de una segunda proteína cristalina de *Bacillus thuringiensis* o una parte de la misma, tales como la toxina binaria constituida por las proteínas cristalinas Cry34 y Cry35 (Moellenbeck y col., 2001, *Nat. Biotechnol.* 19: 668-72; Schnepf y col. 2006, *Applied Environ. Microbiol.* 71, 1765-1774) o la toxina binaria constituida por las proteínas Cry1A o Cry1F y las proteínas Cry2Aa o Cry2Ab o Cry2Ae (solicitud de patente de EE.UU. n.º 12/214.022 y EP 08010791.5); o

3) una proteína híbrida insecticida que comprende partes de diferentes proteínas cristalinas insecticidas de *Bacillus thuringiensis*, tales como un híbrido de las proteínas de 1) anterior o un híbrido de las proteínas de 2) anterior, por ejemplo, la proteína Cry1A.105, producida por el maíz transgénico MON98034 (documento WO 2007/027777); o

4) una proteína de uno cualquiera de 1) a 3) anteriores en la que algunos aminoácidos, particularmente de 1 a 10, se han reemplazado por otro aminoácido para obtener una mayor actividad insecticida frente a especies de insecto diana, y/o para expandir la gama de especies de insectos diana afectadas, y/o debido a los cambios introducidos en el ADN codificante durante la clonación o transformación, tal como la proteína Cry3Bb1 en los maíces transgénicos MON863 o MON88017, o la proteína Cry3A en el maíz transgénico MIR604; o

5) una proteína insecticida secretada de *Bacillus thuringiensis* o *Bacillus cereus*, o una parte insecticida de las mismas, tales como las proteínas vegetativas insecticidas (VIP) listadas en: http://www.lifesci.sussex.ac.uk/home/Neil_Crickmore/Bt/vip.html, por ejemplo, proteínas de la clase de proteínas VIP3Aa; o

6) una proteína secretada de *Bacillus thuringiensis* o *Bacillus cereus* que es insecticida en presencia de una segunda proteína secretada de *Bacillus thuringiensis* o *B. cereus*, tales como la toxina binaria constituida por las proteínas VIP1A y VIP2A (documento WO 94/21795); o

7) una proteína insecticida híbrida que comprende partes de diferentes proteínas secretadas de *Bacillus thuringiensis* o *Bacillus cereus*, tales como un híbrido de las proteínas de 1) anterior o un híbrido de las proteínas de 2) anterior; o

8) una proteína de uno cualquiera de 5) a 7) anteriores en la que algunos aminoácidos, particularmente de 1 a

10, se han reemplazado por otros aminoácidos para obtener una mayor actividad insecticida frente a especies de insecto diana, y/o para expandir la variedad de especies de insectos diana afectadas, y/o debido a los cambios introducidos en el ADN codificante durante la clonación o transformación (aunque todavía codifica una proteína insecticida), tal como la proteína VIP3Aa en el algodón transgénico COT102; o

9) una proteína secretada de *Bacillus turingiensis* o *Bacillus cereus* que es insecticida en presencia de una proteína cristalina de *Bacillus turingiensis*, tal como la toxina binaria constituida por VIP3 y Cry1A o Cry1F (solicitud de patente de EE.UU. n.º 61/126083 y 61/195019), o la toxina binaria constituida por la proteína VIP3 y las proteínas Cry2Aa o Cry2Ab o Cry2Ae (solicitud de patente de EE.UU. n.º 12/214.022 y EP 08010791.5).

10) una proteína de 9) anterior en la que algunos aminoácidos, en particular de 1 a 10, se han reemplazado por otros aminoácidos para obtener una mayor actividad insecticida frente a una especie de insecto diana, y/o para expandir la gama de especies de insecto diana afectadas, y/o debido a los cambios introducidos en el ADN codificante durante la clonación o transformación (aunque todavía codifica una proteína insecticida)

Por supuesto, una planta transgénica resistente a insectos, como se usa en el presente documento, también incluye cualquier planta que comprende una combinación de los genes que codifican las proteínas de una cualquiera de las clases anteriores 1 a 10. En una realización, una planta resistente a insectos contiene más de un transgén que codifica una proteína de una cualquiera de las clases anteriores 1 a 10, para expandir la variedad de especies de insectos diana afectadas cuando se utilizan diferentes proteínas dirigidas a diferentes especies de insectos diana, o para retrasar el desarrollo de la resistencia a insectos en las plantas usando diferentes proteínas insecticidas para las mismas especies de insectos diana pero que tienen un modo de acción diferente, tal como la unión a diferentes sitios de unión del receptor en el insecto.

Una "planta transgénica resistente a insectos", como se usa en el presente documento, incluye además cualquier planta que contiene al menos un transgén que comprende una secuencia que tras expresión produce un ARN bicatenario que tras ingestión por una plaga de insectos de plantas, inhibe el crecimiento de esta plaga de insectos.

Las plantas o los cultivares de plantas (obtenidas mediante procedimientos de biotecnología de plantas tal como ingeniería genética) que también pueden tratarse de acuerdo con la invención son tolerantes a estreses abióticos. Dichas plantas pueden obtenerse mediante transformación genética, o mediante selección de plantas que contienen una mutación que proporciona dicha resistencia al estrés. Las plantas tolerantes al estrés particularmente útiles incluyen:

1) plantas que contienen un transgén capaz de reducir la expresión y/o la actividad del gen de poli(ADP-ribosa)polimerasa (PARP) en las células de la planta o plantas

2) plantas que contiene un transgén que mejora la tolerancia al estrés capaz de reducir la expresión y/o la actividad de los genes que codifican PARG de las plantas o de las células de las plantas.

3) plantas que contienen un transgén que mejora la tolerancia al estrés que codifican una enzima funcional de planta de la ruta de síntesis de la dinucleótido de nicotinamida y adenina salvaje que incluye nicotinamidas, nicotinato fosforribosiltransferasa, ácido nicotínico-mononucleótido de adenil transferasa, dinucleótido de nicotinamida y adenina sintetasa o nicotinamida fosforribosiltransferasa.

Las plantas o cultivares de plantas (obtenidas mediante procedimientos de biotecnología de plantas tales como ingeniería genética) que también pueden tratarse de acuerdo con la invención, muestran una cantidad, calidad y/o estabilidad en el almacenamiento alteradas del producto cosechado y/o propiedades alteradas de los ingredientes específicos del producto cosechado tales como:

1) plantas transgénicas que sintetizan un almidón modificado, que presenta cambios en sus características fisicoquímicas, en particular en el contenido en amilosa o en la relación amilosa/amilopectina, el grado de ramificación, la longitud promedio de la cadena, la distribución de la cadena lateral, el comportamiento viscoso, la fuerza de gelificación, el tamaño del grano del almidón y/o la morfología del grano del almidón, en comparación con el almidón sintetizado en células de plantas o plantas de tipo salvaje, de manera que es más adecuado para aplicaciones especiales.

2) plantas transgénicas que sintetizan polímeros de carbohidratos distintos del almidón o que sintetizan polímeros de carbohidratos distintos del almidón con propiedades alteradas en comparación con plantas de tipo silvestre sin modificación genética. Algunos ejemplos son plantas que producen polifruktosa, especialmente del tipo inulina y levano, plantas que producen alfa-1,4 glucanos, plantas que producen alfa-1,4-glucanos alfa-1,6 ramificados, plantas que producen alternano,

3) plantas transgénicas que producen hialuronano,

4) plantas transgénicas o plantas híbridas, tales como cebollas con características tales como 'contenido de sólidos solubles elevado', 'acritud baja' (LP) y/o 'almacenamiento largo' (LS).

Las plantas o cultivares de plantas (que pueden obtenerse mediante procedimientos de biotecnología de plantas tales como ingeniería genética) que también pueden tratarse de acuerdo con la invención son plantas, tales como plantas de algodón, con características alteradas de la fibra. Dichas plantas pueden obtenerse mediante transformación genética, o mediante selección de plantas que contienen una mutación que proporciona dichas características alteradas de la fibra e incluyen:

- a) Plantas, tales como plantas de algodón, que contienen una forma alterada de genes de celulosa sintasa;
- b) Plantas, tales como plantas de algodón, que contienen una forma alterada de plantas con ácidos nucleicos homólogos rsw2 o rsw3, tales como plantas de algodón, con expresión aumentada de la sacarosa fosfato sintasa;
- 5 c) Plantas, tales como plantas de algodón, que tienen una expresión aumentada de la sacarosa sintasa;
- d) Plantas, tales como plantas de algodón, en las que está alterado el tiempo apertura de los plasmodesmos en la base de las células de fibras, por ejemplo, mediante la regulación negativa de la β -1,3-glucanasa selectiva de fibra;
- 10 e) Plantas, tales como plantas de algodón, que tienen fibras con una reactividad alterada, por ejemplo, a través de la expresión del gen de la N-acetilglucosaminatransferasa incluyendo los genes nodC y quitinsintasa.

Las plantas o cultivares de plantas (que pueden obtenerse mediante procedimientos de biotecnología de plantas tales como ingeniería genética) que también pueden tratarse de acuerdo con la invención son plantas, tales como colza o plantas *Brassica* relacionadas, con unas características alteradas del perfil oleaginoso. Dichas plantas pueden obtenerse mediante transformación genética, o mediante selección de plantas que contienen una mutación que proporciona dichas características de perfil oleoso alteradas e incluyen:

- a) Plantas, tales como plantas de colza, que producen aceite que tiene un contenido alto en ácido oleico,
- b) Plantas, tales como plantas de colza, que producen aceite que tiene un contenido bajo en ácido linoléico,
- c) Plantas tales como plantas de colza, que producen aceite que tiene un nivel bajo de ácidos grasos saturados.

Las plantas o cultivares de plantas (que pueden obtenerse por procedimientos de biotecnología de plantas tales como ingeniería genética) que pueden tratarse también de acuerdo con la invención son plantas tales como patatas, que son resistentes a virus, por ejemplo frente al virus de la patata Y (suceso SY230 y SY233 de Tecnoplant, Argentina), que son resistentes a la enfermedad, por ejemplo, resistentes frente al tizón tardío de la patata (por ejemplo el gen RB), que muestran una reducción del endulzamiento inducido por el frío (portando el gen Nt-Inhh, IIR-INV) o que poseen un fenotipo enano (Gen A-20 oxidasa).

Las plantas o cultivares de plantas (que pueden obtenerse mediante procedimientos de biotecnología de plantas tales como ingeniería genética) que también pueden tratarse de acuerdo con la invención son plantas, tales como colza o plantas *Brassica* relacionadas, con unas características alteradas de rotura de las semillas. Tales plantas pueden obtenerse por transformación genética, o mediante selección de plantas que contienen una mutación que imparte a tales semillas alteradas características de dehiscencia e incluyen plantas tales como plantas de colza con dehiscencia de las semillas retrasada o reducida.

Las plantas transgénicas particularmente útiles que pueden tratarse de acuerdo con la invención, son plantas que contienen transformaciones transgénicas o combinaciones de transformaciones transgénicas, que son objeto de demanda para el estado no regulado, en los Estados Unidos de América, al Servicio de inspección de Salud de Animales y Plantas (APHIS) del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA), si dichas demandas se han concedido o están todavía pendientes. En cualquier momento, esta información está disponible en APHIS (4700 River Road Riverdale, MD 20737, USA), por ejemplo en su sitio de internet (URL http://www.aphis.usda.gov/brs/not_reg.html). En la fecha de presentación de esta solicitud, las solicitudes de no regulación que estaban en tramitación ante APHIS o que habían sido concedidas por APHIS eran las que contienen la información siguiente:

- Solicitud: el número de identificación de la solicitud. Las descripciones técnicas de los eventos de transformación se pueden encontrar en los documentos de solicitud individual que pueden obtenerse de APHIS, por ejemplo en la página web de APHIS, con referencia a este número de petición. Estas descripciones se incorporan a la presente memoria por referencia.
- Extensión de Solicitud: referencia a una solicitud previa para la que se ha pedido una ampliación.
- 45 - Institución: el nombre de la entidad a la que se envía la petición.
- Artículo regulado: la especie de planta implicada.
- Fenotipo transgénico: la característica conferida a las plantas por el evento de transformación.
- Línea o evento de transformación: el nombre del evento o eventos (a veces también designado como línea o líneas) para las que se solicita una no regulación.
- 50 - documentos APHIS: diversos documentos publicados por APHIS con relación a la Solicitud y que pueden ser solicitados a APHIS.

Las plantas transgénicas particularmente útiles que pueden tratarse de acuerdo con la invención son plantas que comprenden uno o más genes que codifican una o más toxinas, tales como las siguientes que se venden con los nombres comerciales YIELD GARD® (por ejemplo, maíz, algodón, soja), KnockOut® (por ejemplo, maíz), BiteGard® (por ejemplo, maíz), Bt-Xtra® (por ejemplo, maíz), StarLink® (por ejemplo, maíz), Bollgard® (algodón), Nucotn® (algodón), Nucotn 33B□ (algodón), NatureGard® (por ejemplo, maíz), Protecta® y NewLeaf® (patata). Los ejemplos de plantas tolerantes a los herbicidas que pueden mencionarse son variedades de maíz, variedades de algodón y variedades de soja que se venden con los nombres comerciales Roundup Ready® (tolerancia a glifosato, por ejemplo maíz, algodón, soja), Liberty Link® (tolerancia a fosfinotricina, por ejemplo colza), IMI® (tolerancia a imidazolinonas) y STS® (tolerancia a sulfonilureas, por ejemplo maíz). Las plantas resistentes a herbicidas (plantas

producidas de una manera convencional para la tolerancia a herbicidas) que pueden mencionarse incluyen variedades vendidas con el nombre Clearfield® (por ejemplo, maíz).

Plantas adicionales particularmente útiles que contienen sucesos de transformación únicos o combinaciones de sucesos de transformación se listan por ejemplo en las bases de datos de diversas agencias reguladoras nacionales o regionales (véase por ejemplo http://gmoinfo.jrc.it/gmp_browse.aspx y http://ceragmc.org/index.php?evidcode=&hstIDXCode=&gType=&AbbrCode=&atCode=&stCode=&colIDCode=&action=gm_crop_database&mode=Submit).

En la protección de materiales, las sustancias de la invención pueden usarse para la protección de materiales técnicos frente a la infestación y destrucción por parte de hongos y/o microorganismos indeseables.

Los materiales técnicos se entiende que son en el presente contexto materiales no vivos que se han preparado para uso en ingeniería. Por ejemplo, los materiales técnicos que se van a proteger frente a una destrucción o cambio microbiológico por los materiales activos de la invención pueden ser artículos adhesivos, pegamentos, artículos de papel y cartón, textiles, alfombras, cuero, madera, pintura y plásticos, lubricantes refrigerantes y otros materiales que pueden ser infestados o destruidos por microorganismos. En el contexto de materiales que se van a proteger también están piezas de plantas de producción y edificios, por ejemplo circuitos de refrigeración, sistemas de refrigeración y calentamiento, sistemas de aire acondicionado y ventilación, que se pueden ver afectados adversamente por la propagación de hongos y/o microorganismos. En el contexto de la presente invención, preferentemente mencionados como materiales técnicos están los adhesivos, pegamentos, papel y cartón, cuero, madera, pinturas, lubricantes de refrigeración y líquidos intercambiadores de calor, siendo la madera particularmente preferida. Las combinaciones de acuerdo con la invención pueden prevenir los efectos desventajosos como descomposición, amarilleo o decoloración o moho. Las composiciones y combinaciones de compuesto activo de acuerdo con la invención pueden asimismo emplearse para proteger frente a la colonización de objetos, en particular cascos de barco, tamicos, redes, construcciones, muelles e instalaciones de señalización, que están en contacto con agua del mar o agua dulce.

El procedimiento de tratamiento de acuerdo con la invención se puede usar también en el campo de la protección de artículos de almacenamiento frente al ataque de hongos y microorganismos. De acuerdo con la presente invención, la frase "artículos de almacenamiento" se entiende que se refiere a sustancias naturales de origen vegetal o animal y sus formas procesadas, que se han obtenido del ciclo de vida natural y para las que se desea una protección a largo plazo. Los artículos de almacenamiento de origen vegetal, tales como plantas o sus partes, por ejemplo tallos, hojas, tubérculos, semillas, frutos o granos, se pueden proteger en estado recién recolectado o en forma procesada, tal como pre-secada, hidratada, troceada, molida, comprimida o tostada. Dentro de la definición de artículos de almacenamiento está la madera, bien en forma de madera en bruto, tal como madera de construcción, torres y vallas de electricidad, o en forma de artículos terminados, tales como muebles u objetos hechos de madera. Los artículos de almacenamiento de origen animal son pieles curtidas, cuero, piles con pelo, cabellos y similares. Las combinaciones según la presente invención pueden prevenir efectos desventajosos tales como descomposición, decoloración o moho. Preferentemente "artículos de almacenamiento" se entiende que se refiere a sustancias naturales de origen vegetal y sus formas procesadas, más preferentemente frutos y sus formas procesadas, tales como pomos, frutas con hueso, frutas blandas y frutas cítricas y sus formas procesadas.

Pueden mencionarse a modo de ejemplos algunos patógenos de enfermedades fúngicas que pueden tratarse de acuerdo con la invención, pero sin que constituya una limitación:

Enfermedades causadas por patógenos de mildiu, tales como, por ejemplo, especies de *Blumeria*, tales como, por ejemplo, *Blumeria graminis*; Especies de *Podosphaera*, tales como, por ejemplo, *Podosphaera leucotricha*; Especies de *Sphaeroteca*, tales como, por ejemplo, *Sphaeroteca fuliginea*; Especies de *Uncinula*, tales como, por ejemplo, *Uncinula necator*;

Enfermedades causadas por patógenos de roya, tales como, por ejemplo, especies de *Gymnosporangium*, tales como, por ejemplo, *Gymnosporangium sabinae*; Especies de *Hemileia*, tales como, por ejemplo, *Hemileia vastatrix*; Especies de *Phakopsora*, tales como, por ejemplo, *Phakopsora pachyrhizi* y *Phakopsora meibomia*; Especies de *Puccinia*, tales como, por ejemplo, *Puccinia recondita* o *Puccinia triticina*; Especies de *Uromyces*, tales como, por ejemplo, *Uromyces appendiculatus*;

Enfermedades causadas por patógenos del grupo de los Oomycetes, tales como, por ejemplo, especies de *Bremia*, tales como, por ejemplo, *Bremia lactucae*; Especies de *Peronospora*, tales como, por ejemplo, *Peronospora pisi* o *P. brassicae*; Especies de *Phytophthora*, tales como, por ejemplo *Phytophthora infestans*; Especies de *Plasmopara*, tales como, por ejemplo, *Plasmopara viticola*; Especies de *Pseudoperonospora*, tales como, por ejemplo, *Pseudoperonospora humuli* o *Pseudoperonospora cubensis*; Especies de *Pythium*, tales como, por ejemplo, *Pythium ultimum*;

Enfermedades por enrojecimiento foliar y marchitamiento foliar causadas, por ejemplo, por especies de *Alternaria*, tales como, por ejemplo, *Alternaria solani*; Especies de *Cercospora*, tales como, por ejemplo, *Cercospora beticola*; Especies de *Cladosporium*, tales como, por ejemplo, *Cladosporium cucumerinum*; Especies de *Cochliobolus*, tales como, por ejemplo, *Cochliobolus sativus* (forma conidia: *Conidiaform: Drechslera*, Sin: *Helminthosporium*); Especies de *Colletotrichum*, tales como, por ejemplo, *Colletotrichum lindemutanium*; Especies de *cicloconium*, tales como, por ejemplo, *cicloconium oleaginum*; Especies de *Diaporthe*,

tales como, por ejemplo, Diaporte citri; Especies de Elsinoe, tales como, por ejemplo, Elsinoe fawcettii; Especies de Gloeosporium, tales como, por ejemplo, Gloeosporium laeticolor; Especies de Glomerella, tales como, por ejemplo, Glomerella cingulata; Especies de Guignardia, tales como, por ejemplo, Guignardia bidwelli; Especies de Leptosphaeria, tales como, por ejemplo, Leptosphaeria maculans y Leptosphaeria nodorum; Especies de Magnaporthe, tales como, por ejemplo, Magnaporthe grisea; Especies de Microdochium, tales como, por ejemplo, Microdochium nivale; Especies de Mycosphaerella, tales como, por ejemplo, Mycosphaerella graminicola, Mycosphaerella arachidicola y Mycosphaerella fijiensis; Especies de Phaeosphaeria, tales como, por ejemplo, Phaeosphaeria nodorum; Especies de Pyrenofora, tales como, por ejemplo, Pyrenofora teres; Especies de Ramularia, tales como, por ejemplo, Ramularia collo-cygni; Especies de Rhynchosporium, tales como, por ejemplo, Rhynchosporium secalis; Especies de Septoria, tales como, por ejemplo, Septoria apii y Septoria lycopersici; Especies de Typhula, tales como, por ejemplo, Typhula incarnata; Especie de Venturia, tales como, por ejemplo, Venturia inaequalis;

Enfermedades de la raíz y del tallo causadas, por ejemplo, por especies de Corticium, tales como, por ejemplo, Corticium graminearum; Especies de Fusarium, tales como, por ejemplo, Fusarium oxisporum; Especies de Gaeumannomyces, tales como, por ejemplo, Gaeumannomyces graminis; Especies de Rhizoctonia, tales como, por ejemplo Rhizoctonia solani; Especies de Tapesia, tales como, por ejemplo, Tapesia acuformis; Especies de Thielaviopsis, tales como, por ejemplo, Thielaviopsis basicola;

Enfermedades de las espigas y panojas (que incluye mazorcas de maíz) causadas, por ejemplo, por especies de Alternaria, tales como, por ejemplo, Alternaria spp.; Especies de Aspergillus, tales como, por ejemplo, Aspergillus flavus; Especies de Cladosporium, tales como, por ejemplo, Cladosporium cladosporioides; Especies de Claviceps, tales como, por ejemplo, Claviceps purpurea; Especies de Fusarium, tales como, por ejemplo, Fusarium culmorum; Especies de Gibberella, tales como, por ejemplo, Gibberella zeae; Especies de Monographella, tales como, por ejemplo, Monographella nivalis; Especies de Septoria, tales como por ejemplo, Septoria nodorum;

Enfermedades por podredumbre de las semillas y del suelo, moho, marchitez, roña y caída de almáciga, transmitidas por las semillas o el suelo causadas, por ejemplo, por enfermedades de Alternaria causadas por ejemplo por Alternaria brassicicola; Enfermedades por Aphanomyces causadas, por ejemplo, por Aphanomyces euteiches; Enfermedades por Ascochyta, causadas, por ejemplo, por Ascochyta lentis; Enfermedades por Aspergillus, causadas, por ejemplo, por Aspergillus flavus; Enfermedades por Cladosporium, causadas, por ejemplo, por Cladosporium herbarum; Enfermedades por Cochliobolus, causadas, por ejemplo, por Cochliobolus sativus; (En forma de conidio: Drechslera, Bipolaris Sinónimo: Helminthosporium); Enfermedades por Colletotrichum, causadas, por ejemplo, por Colletotrichum coccodes; Enfermedades por Fusarium, causadas, por ejemplo, por Fusarium culmorum; Enfermedades por Gibberella, causadas, por ejemplo, por Gibberella zeae; Enfermedades por Macrophomina, causadas, por ejemplo, por Macrophomina phaseolina; Enfermedades por Microdochium, causadas, por ejemplo, por Microdochium nivale; Enfermedades por Monographella, causadas, por ejemplo, por Monographella nivalis; Enfermedades por Penicillium, causadas, por ejemplo, por Penicillium expansum; Enfermedades por Phoma, causadas, por ejemplo, por Phoma lingam; Enfermedades por Phomopsis, causadas, por ejemplo, por Phomopsis sojae; Enfermedades por Phytophthora, causadas, por ejemplo, por Phytophthora cactorum; Enfermedades por Pyrenophora, causadas, por ejemplo, por Pyrenophora graminea; Enfermedades por Pyricularia, causadas, por ejemplo, por Pyricularia oryzae; Enfermedades por Pythium, causadas, por ejemplo, por Pythium ultimum; enfermedades por Rhizoctonia, causadas por ejemplo por Rhizoctonia solani; Enfermedades por Rhizopus, causadas, por ejemplo, por Rhizopus oryzae; Enfermedades por Sclerotium, causadas, por ejemplo, por Sclerotium rolfsii; Enfermedades por Septoria, causadas, por ejemplo, por Septoria nodorum; Enfermedades por Typhula, causadas, por ejemplo, por Typhula incarnata; Enfermedades por Verticillium, causadas, por ejemplo, por Verticillium dahliae;

Enfermedades causadas por hongo del tizón de la caries, como, por ejemplo, especies de Sphaceloteca, tales como, por ejemplo, Sphaceloteca reiliana; Especies de Tilletia, tales como, por ejemplo, Tilletia caries; T. controversa; Especies de Urocystis, tales como, por ejemplo, Urocystis occulta; Especies de Ustilago, tales como, por ejemplo, Ustilago nuda; U. nuda tritici;

Podredumbre de la fruta causada, por ejemplo, por especies de Aspergillus, tales como, por ejemplo, Aspergillus flavus; Especies de Botrytis, tales como, por ejemplo, Botrytis cinerea; Especies de Penicillium, tales como, por ejemplo, Penicillium expansum y P. purpurogenum; Especies de Sclerotinia, tales como, por ejemplo, Sclerotinia sclerotiorum; Especies de Verticillium, tales como, por ejemplo, Verticillium alboatrum;

Enfermedades por podredumbre de las semillas y del suelo y enfermedades por marchitamiento causadas, por ejemplo, por especies de Fusarium, tales como, por ejemplo, Fusarium culmorum; Especies de Phytophthora, tales como, por ejemplo, Phytophthora cactorum; Especies de Pythium, tales como, por ejemplo, Pythium ultimum; Especies de Rhizoctonia, tales como, por ejemplo, Rhizoctonia solani; Especies de Sclerotium, tales como, por ejemplo, Sclerotium rolfsii;

Enfermedades cancerígenas, agallas y escobas de bruja causadas, por ejemplo, por especies de Nectria, tales como, por ejemplo, Nectria galligena;

Enfermedades por marchitamiento causadas, por ejemplo, por especies de Monilinia, tales como, por ejemplo, Monilinia laxa;

Deformaciones de las hojas, flores y frutos causadas, por ejemplo, por especies de Taphrina, tales como, por ejemplo, Taphrina deformans;

Enfermedades degenerativas de plantas leñosas causadas, por ejemplo, por especies de Esca, tales como, por ejemplo, Phaemoniella clamydospora y Phaeoacremonium aleophilum y Fomitiporia mediterranea;

Enfermedades de las flores y semillas causadas, por ejemplo, por especies de *Botrytis*, tales como, por ejemplo, *Botrytis cinerea*;

Enfermedades de tubérculos de las plantas causadas, por ejemplo, por especies de *Rhizoctonia*, tales como, por ejemplo, *Rhizoctonia solani*; Especies de *Helminthosporium*, tales como, por ejemplo, *Helminthosporium solani*;

- 5 Enfermedades causadas por bacteriopatógenos, tales como, por ejemplo, especies de *Xantomonas*, tales como, por ejemplo, *Xantomonas campestris* pv. *oryzae*; Especies de *Pseudomonas*, tales como, por ejemplo, *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*; Especies de *Erwinia*, tales como, por ejemplo, *Erwinia amylovora*.

Se da preferencia a controlar las enfermedades siguientes de la soja:

- 10 Enfermedades fúngicas en hojas, tallos, vainas y semillas causadas, por ejemplo, por mancha de la hoja por *Alternaria* (Especie *Alternaria atrans tenuissima*), antracnosis (*Colletotrichum gloeosporoides dematium* var. *truncatum*), mancha parda (*Septoria glycines*), mancha de la hoja y tizón por *Cercospora* (*Cercospora kikuchii*), tizón de la hoja por *Choanefora* (*Choanefora infundibulifera trispora* (Syn.)), mancha de la hoja por *Dactuliofora* (*Dactuliofora glycines*), mildiu velloso (*Peronospora manshurica*), tizón por *Drechslera* (*Drechslera glycini*), mancha de la hoja en ojo de rana (*Cercospora sojina*), mancha de la hoja por *Leptosphaerulina* (*Leptosphaerulina trifolii*),
 15 mancha de la hoja por *Phyllosticta* (*Phyllosticta sojaecola*), tizón de la vaina y tallo (*Fomopsis sojiae*), Oídio (*Microsphaera diffusa*), mancha de la hoja por *Pyrenochaeta* (*Pyrenochaeta glycines*), *Rhizoctonia aerea*, de las hojas y tizón en red (*Rhizoctonia solani*), roya (*Phakopsora pachyrhizi* *Phakopsora meibomia*), roña (*Sphaceloma glycines*), tizón de la hoja por *Stemphilium* (*Stemphilium botryosum*), mancha en diana (*Corynespora cassicola*).
 20 Enfermedades fúngicas en raíces y la base del tallo causadas, por ejemplo, por podredumbre negra de la raíz (*Calonectria crotalariae*), podredumbre del carbón (*Macrofomina phaseolina*), tizón o marchitado por *Fusarium*, podredumbre de la raíz, y podredumbre basal y de la vaina (*Fusarium oxysporum*, *Fusarium ortoceras*, *Fusarium semitectum*, *Fusarium equiseti*), podredumbre de la raíz por *Mycoleptodiscus* (*Mycoleptodiscus terrestris*), *Neocosmopora* (*Neocosmopora vasinfecta*), tizón del tallo y de la vaina (*Diaporthe phaseolorum*), chancro del tallo (*Diaporthe phaseolorum* var. *caulivora*), podredumbre por *Phytophthora* (*Phytophthora megasperma*), podredumbre parda del tallo (*Phialofora gregata*), podredumbre por *Pytium* (*Pytium aphanidermatum*, *Pytium irregulare*, *Pytium debaryanum*, *Pytium myriotilum*, *Pytium ultimum*), podredumbre de la raíz por *Rhizoctonia*, descomposición del tallo, y caída de almáciga (*Rhizoctonia solani*), descomposición del tallo por *Sclerotinia* (*Sclerotinia sclerotiorum*), tizón sureño por *Sclerotinia* (*Sclerotinia rolfsii*), podredumbre de la raíz por *Thielaviopsis* (*Thielaviopsis basicola*).

También es posible controlar cepas resistentes de los organismos anteriormente mencionados.

- 30 Los microorganismos capaces de degradar o cambiar los materiales industriales que se pueden mencionar son, por ejemplo, bacterias, hongos, levaduras, algas y organismos del limo. Los compuestos activos de acuerdo con la invención preferentemente actúan frente a hongos, en particular mohos, hongos que decoloran la madera y que destruyen la madera (*Basidiomycetes*) y frente a organismos del limo y algas. Se pueden mencionar como ejemplos los microorganismos de los siguientes géneros: *Alternaria*, tales como *Alternaria tenuis*, *Aspergillus*, tales como
 35 *Aspergillus niger*, *Chaetomium*, tales como *Chaetomium globosum*, *Coniofoma*, tales como *Coniofoma puetana*, *Lentinus*, tales como *Lentinus tigrinus*, *Penicillium*, tales como *Penicillium glaucum*, *Polyporus*, tales como *Polyporus versicolor*, *Aureobasidium*, tales como *Aureobasidium pullulans*, *Sclerofoma*, tales como *Sclerofoma pityophila*, *Trichoderma*, tales como *Trichoderma viride*, *Escherichia*, tales como *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, tales como *Pseudomonas aeruginosa*, y *Staphylococcus*, tales como *Staphylococcus aureus*.
 40 Además, los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con la invención tienen también muy buena actividad antimicótica. Tienen un espectro de actividad antimicótica muy amplio, en particular frente a dermatofitos y levaduras, mohos y hongos difásicos (por ejemplo frente a especies de *Candida* tales como *Candida albicans*, *Candida glabrata*) y *Epidermophyton floccosum*, especies de *Aspergillus* tales como *Aspergillus niger* y *Aspergillus fumigatus*, especies de *Trichophyton* tales como *Trichophyton mentagrophytes*, especies de *Microsporon* tales como
 45 *Microsporon canis* y *audouinii*. La lista de estos hongos no limita en modo alguno el espectro micótico que puede abarcar, es solo con fines ilustrativos.

Cuando se aplican los compuestos de acuerdo con la invención los niveles de aplicación pueden variar dentro de un intervalo amplio. La dosis del compuesto activo/nivel de aplicación aplicado habitualmente en el procedimiento de tratamiento de acuerdo con la invención es en general y de forma ventajosa

- 50 • para el tratamiento de las partes de plantas, por ejemplo hojas (tratamiento foliar): de 0,1 a 10.000 g/ha, preferentemente de 10 a 1.000 g/ha, más preferentemente de 50 a 300 g/ha; en caso de aplicación por mojado o por goteo, la dosis puede incluso reducirse, especialmente mientras se usen sustratos inertes como lana mineral o perlita;
 55 • para tratamiento de semillas: de 1 a 200 g por 100 kg de semilla, preferentemente de 2 a 150 g por 100 kg de semilla, más preferentemente de 2,5 a 25 g por 100 kg de semilla, incluso más preferentemente de 2,5 a 25 g por 100 kg de semilla;
 • para tratamiento del suelo: de 0,1 a 10.000 g/ha, preferentemente de 1 a 5.000 g/ha.

Las dosis indicadas en el presente documento se dan como ejemplos ilustrativos del procedimiento de acuerdo con la invención. Un experto en la materia sabrá cómo adaptar la dosis de aplicación, en particular según la naturaleza de la planta o del cultivo a tratar.

60

La combinación de acuerdo con la invención puede usarse para proteger las plantas dentro de un intervalo de tiempo después de tratamiento frente a plagas y/o hongos fitopatógenos y/o microorganismos. El intervalo de tiempo en el que la protección se efectúa se extiende en general de 1 a 28 días, preferentemente 1 a 14 días, más preferentemente 1 a 10 días, incluso más preferentemente 1 a 7 días después del tratamiento de las plantas con las combinaciones o hasta 200 días después del tratamiento del material de propagación vegetal.

Adicionalmente, las combinaciones y composiciones de acuerdo con la invención pueden usarse también para reducir el contenido de micotoxinas en plantas y el material vegetal recolectado y por lo tanto en alimentos y pienso para animales hechos con los mismos. Pueden especificarse especialmente pero no exclusivamente las micotoxinas siguientes: Deoxinivalenol (DON), Nivalenol, 15-Ac-DON, 3-Ac-DON, Toxinas T2 y HT2, Fumonisinias, Zearalenona Moniliformina, Fusarina, Diacetoxiscirpenol (DAS), Beauvericina, Enniatina, Fusaroproliferina, Fusarenol, Ocratoxinas, Patulina, Ergotalcaloides y Aflatoxinas, que son producidas, por ejemplo, por las enfermedades fúngicas siguientes: *Fusarium espec.*, como *Fusarium acuminatum*, *F. avenaceum*, *F. crookwellense*, *F. culmorum*, *F. graminearum* (*Gibberella zeae*), *F. equiseti*, *F. fujikuroi*, *F. musarum*, *F. oxisporum*, *F. proliferatum*, *F. poae*, *F. pseudograminaarum*, *F. sambucinum*, *F. scirpi*, *F. semitectum*, *F. solani*, *F. sporotrichoides*, *F. langsetiae*, *F. subglutinans*, *F. tricinctum*, *F. verticillioides* y otros, y también por *Aspergillus espec.*, *Penicillium espec.*, *Claviceps purpurea*, *Stachybotrys espec.* y otros.

Los compuestos de fórmula (I) o sales de los mismos en combinación con los compuestos (B), (C) o (D) también son adecuados para el control selectivo de organismos dañinos en un número de cultivos vegetales, por ejemplo en cultivos de importancia económica, tales como cereales (trigo, cebada, tritical, centeno, arroz, maíz, mijo), remolacha azucarera, caña de azúcar, colza, algodón, girasol, guisantes, judías y soja. De particular interés es el uso en cultivos de monocotiledóneas, tales como cereales (trigo, cebada, centeno, tritical, sorgo), que incluyen maíz y arroz, y cultivos vegetales de monocotiledóneas, pero también en cultivos de dicotiledóneas, tales como, por ejemplo, soja, colza, algodón, vides, plantas vegetales, plantas frutícolas y plantas ornamentales.

Las N-ciclopropilamidas de fórmula (I) en la que T representa un átomo de oxígeno pueden prepararse por condensación de una N-ciclopropilbencilamina sustituida con cloruro de 3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carbonilo según el documento WO-2007/087906 (procedimiento P1) y WO-2010/130767 (procedimiento P1 - etapa 10).

Las N-ciclopropilbencilaminas sustituidas se conocen o pueden prepararse por procedimientos conocidos tales como la aminación reductora de un aldehído sustituido con ciclopropanamina (*J. Med. Chem.*, 2012, 55 (1), 169-196) o por sustitución nucleófila de un bencilalquil(o aril)sulfonato sustituido o un haluro de bencilo sustituido con ciclopropanamina (*Bioorg. Med. Chem.*, 2006, 14, 8506-8518 y el documento WO-2009/140769).

El cloruro de 3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carbonilo puede prepararse de acuerdo con el documento WO-2010/130767 (procedimiento P1 - etapas 9 u 11)

Las N-ciclopropiltoamidas de fórmula (I) en la que T representa un átomo de azufre pueden prepararse por tiónación de una N-ciclopropilamida de fórmula (I) en la que T representa un átomo de oxígeno, de acuerdo con el documento WO-2009/016220 (procedimiento P1) y el documento WO-2010/130767 (procedimiento P3).

Los siguientes ejemplos ilustran de una manera no limitativa la preparación de los compuestos de fórmula (I).

Preparación de N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-N-(2-isopropilobencil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida (compuesto A1) (Ejemplo de referencia)

Etapa A: preparación de N-(2-isopropilbencil)ciclopropanamina

A una solución de 55,5 g (971 mmol) de ciclopropanamina en 900 ml de metanol se añaden sucesivamente 20 g de tamices moleculares de 3 Å y 73 g (1,21 mol) de ácido acético. A continuación se añaden 72 g (486 mmol) de 2-isopropil-benzaldehído gota a gota y la mezcla de reacción se calienta adicionalmente a reflujo durante 4 horas.

A continuación la mezcla de reacción se enfría a 0 °C y se añaden en porciones 45,8 g (729 mmol) de cianoborohidruro sódico en 10 min y la mezcla de reacción se agita de nuevo durante 3 horas a reflujo. La mezcla de reacción enfriada se filtra sobre una torta de tierra de diatomeas. La torta se lava abundantemente con metanol y los extractos metanólicos se concentran al vacío. A continuación se añade agua al residuo y el pH se ajusta a 12 con 400 ml de una solución acuosa de hidróxido sódico 1 N. La capa acuosa se extrae con acetato de etilo, se lava con agua (2 x 300 ml) y se seca sobre sulfato magnésico para proporcionar 81,6 g (88 %) de N-(2-isopropilobencil)ciclopropanamina como un aceite amarillo usado tal cual en la etapa siguiente.

La sal de clorhidrato puede prepararse disolviendo N-(2-isopropilobencil)ciclopropanamina en dietil-éter (1,4 ml / g) a 0 °C seguido de adición de una solución de ácido clorhídrico 2 M en dietiléter (1,05 eq.). Después de 2 horas de agitación, se separa por filtración el clorhidrato de N-(2-isopropilobencil)ciclopropanamina (1:1), se lava con dietiléter y se seca a vacío a 40 °C durante 48 horas. Pf (punto de fusión) = 149 °C

Etapa B: preparación de N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-N-(2-isopropilbencil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida

A 40,8 g (192 mmol) de N-(2-isopropilobencil)ciclopropanamina en 1 l de tetrahidrofurano seco se añaden a temperatura ambiente 51 ml (366 mmol) de trietilamina. Se añade después gota a gota una solución de 39,4 g

(174 mmol) de cloruro de 3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carbonilo en 800 ml de tetrahidrofurano seco mientras se mantiene la temperatura por debajo de 34 °C. La mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 2 horas y después se deja durante una noche a temperatura ambiente. Las sales se separan por filtración y el filtrado se concentra a vacío para proporcionar 78,7 g de un aceite marrón. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (750 g - gradiente n-heptano/acetato de etilo) proporciona 53 g (71 % de rendimiento) de N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-N-(2-isopropilobencil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida como un aceite amarillo que cristaliza lentamente. Pf = 76 -79 °C.

Del mismo modo, los compuestos A2 a A19 pueden prepararse de acuerdo con la preparación descrita para el compuesto A1 (los Compuestos A1-A4 y A6-A19 no están de acuerdo con la invención).

10 Preparación de N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-N-(2-isopropilobencil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida (compuesto A20) (Ejemplo de referencia)

Una solución de 14,6 mg (65 mmol) de pentasulfuro de fósforo y 48 mg (131 mmol) de N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-N-(2-isopropilobencil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida en 500 ml de dioxano se calienta a 100 °C durante 2 horas. A continuación se añaden 50 ml de agua y la mezcla de reacción se calienta adicionalmente a 100 °C durante otra hora. La mezcla de reacción enfriada se filtra sobre un cartucho de alúmina básica. El cartucho se lava con diclorometano y los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de magnesio y se concentran a vacío para proporcionar 55,3 g de un aceite naranja. El residuo se tritura con unos pocos ml de dietil-éter hasta que se produce la cristalización. Los cristales se separan por filtración y se secan al vacío a 40 °C durante 15 horas para proporcionar 46,8 g (88% de rendimiento) de N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-N-(2-isopropilobencil)-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida. Pf = 64 -70 °C.

La Tabla 1 proporciona los datos de logP y RMN (¹H) de los compuestos A1 a A20.

En la tabla 1, los valores log P se determinaron de acuerdo con la Directiva EEC 79/831 Anexo V.A8 por HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Resolución) en una columna de fase inversa (C18), usando el procedimiento descrito a continuación:

25 Temperatura: 40 °C; Fases móviles: Acetonitrilo y ácido fórmico acuoso al 0,1 %; gradiente lineal del 10 % de acetonitrilo al 90 % de acetonitrilo.

La calibración se realizó usando alcan-2-onas sin ramificar (que comprenden de 3 a 16 átomos de carbono) con valores de log P conocidos (determinación de los valores de log P por los tiempos de retención usando interpolación lineal entre dos alcanonas sucesivas). Los valores máximos de lambda se determinaron usando espectros UV de 200 nm a 400 nm y los valores pico de las señales cromatográficas.

30

Compuesto	log P	RMN
A1	3,35	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,64 (bs, 4H), 1,21 (d, J=6,60 Hz, 6H), 2,44 - 2,80 (m, 1H), 3,01 - 3,29 (m, 1H), 3,78 (s, 3H), 4,76 (bs, 2H), 6,89 (t, J=54,70 Hz, 1H), 7,12 - 7,33 (m, 4H).
A2	3,44	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,47 - 0,77 (m, 6H), 0,80 - 1,04 (m, 2H), 1,92 (bs, 1H), 2,66 (bs, 1H), 3,80 (s, 3H), 4,92 (bs, 2H), 6,90 (t, J=54,50 Hz, 1H), 7,01 - 7,25 (m, 4H).
A3	4,06	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,61 (bs, 4H), 1,46 (s, 9H), 2,77 - 2,98 (m, 1H), 3,89 (s, 3H), 5,05 (bs, 2 H), 6,91 (t, J=54,70 Hz, 1H), 7,20 (bs, 3H), 7,35 - 7,48 (m, 1H).
A4	3,76	¹ H NMR (300 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,65 - 0,69 (m, 4H), 1,21 (t, 3H), 2,62 - 2,64 (m, 3H), 3,81 (s, 3H), 4,70 (s, 2H), 6,85 (t, J=54,6 Hz, 1H), 7,04 - 7,22 (m, 3H).
A5	4,09	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,63 - 0,73 (m, 4H), 1,22 (d, J=6,92 Hz, 6H), 2,59 - 2,87 (m, 1H), 2,98 - 3,30 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 4,74 (bs, 2H), 6,88 (t, J=54,40 Hz, 1H), 7,20 - 7,27 (m, 3H).
A6	3,41	¹ H NMR (300 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,65 - 0,66 (m, 4H), 1,21 (t, 3H), 2,62 (q, 2H), 2,64 (bs, 1H), 3,81 (s, 3H), 4,71 (s, 2H), 6,86 (t, J=54,6 Hz, 1H), 6,89 - 6,95 (m, 2H), 7,13 - 7,18 (m, 1H).
A7	3,70	¹ H NMR (300 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,65 - 0,69 (m, 4H), 1,22 (d, 6H), 2,69 (bs, 1H), 3,10 - 3,14 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 4,75 (s, 2H), 6,86 (t, J=54,6 Hz, 1H), 6,88 - 6,93 (m, 2H), 7,23 - 7,28 (m, 1H).
A8	3,46	¹ H NMR (300 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,60 - 0,66 (m, 6H), 0,89 - 0,95 (m, 2H), 1,82 - 1,84 (m, 1H), 2,73 (bs, 1H), 3,81 (s, 3H), 4,89 (s, 2H), 6,68 - 6,99 (m, 4H).
A9	4,21	¹ H NMR (300 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,64 - 0,68 (m, 4H), 1,56-1,62 (m, 2H), 1,62 - 1,70 (m, 2H), 1,76 - 1,83 (m, 2H), 1,96 - 2,05 (m, 2H), 2,71 (bs, 1H), 3,13 - 3,19 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 4,76 (s, 2H), 6,86 (t, J=54,0 Hz, 1H), 6,87 - 6,97 (m, 2H), 7,23 - 7,28 (m, 1H).

(continuación)

Compuesto	log P	RMN
A10	3,65	¹ H NMR (400 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,65 (bs, 4H), 1,21 (d, J=6,75 Hz, 5H), 2,29 - 2,59 (m, 1H), 3,00 - 3,36 (m, 1H), 3,79 (s, 3H), 4,83 (s, 2H), 6,68 - 7,06 (m, 2H), 7,13 (d, J=7,78 Hz, 1H), 7,27 - 7,33 (m, 1H).
A11	3,70	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,65 (bs, 4H), 2,31 (s, 3H), 2,64 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 4,73 (bs, 2H), 6,89 (t, J=54,6 Hz, 1H), 7,01-7,14 (m, 3H).
A12	3,99	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,66 (bs, 4H), 1,22 (d, J=6,97 Hz, 6H), 2,31 (s, 3H), 2,54 - 2,75 (m, 1H), 2,99 - 3,25 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 4,75 (bs, 2H), 6,89 (t, J=53,90Hz, 1H), 7,01 - 7,23 (m, 3H).
A13	3,76	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,61 - 0,68 (m, 6H), 0,80 - 1,00 (m, 2H), 1,74 - 2,00 (m, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,53 - 2,82 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 4,89 (bs, 2H), 6,83 (t, J=54,80 Hz, 1H), 6,91 - 7,06 (m, 3H).
A14	4,36	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,62 (m, 4H), 1,44 (s, 9H), 2,28 (s, 3H), 2,74 - 3,02 (m, 1H), 3,83 (bs, 3H), 5,02 (bs, 2H), 6,85 (t, J=54,40 Hz, 1 H), 7,01 (bs, 1H), 7,21 - 7,29 (m, 2 H).
A15	3,80	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,50 - 0,67 (m, 4H), 2,81 (bs, 1H), 3,78 (s, 3H), 4,85 (bs, 2H), 6,78 (t, J=55,00 Hz, 1H), 7,20 - 7,29 (m, 2H), 7,54 (d, J=8,17 Hz, 1H).
A16	3,78	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,55 - 0,70 (m, 4H), 2,37 (s, 3H), 2,72 - 3,04 (m, 1H), 3,83 (bs, 3H), 4,91 (bs, 2H), 6,86 (t, J=54,50 Hz, 1H), 7,10 - 7,20 (m, 2H), 7,54 (d, J=7,89 Hz, 1H).
A17	3,46	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,47 - 0,64 (m, 4H), 2,29 - 2,55 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 5,05 (s, 2H), 6,95 (t, J=54,40 Hz, 1H), 7,40 (t, J=7,86 Hz, 1H), 7,60 - 7,70 (dd, 2H).
A18	3,62	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,50 - 0,74 (m, 4H), 2,45 - 2,71 (m, 1H), 3,81 (s, 3H), 4,99 (s, 2H), 6,91 (t, J=54,40 Hz, 1H), 7,45 - 7,57 (m, 2H).
A19	4,04	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,65 (bs, 4H), 1,20 (t, J=7,43 Hz, 3H), 2,22 (s, 3H), 2,24 (s, 3H), 2,58 - 2,64 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 4,70 (bs, 2H), 6,89 (t, J=54,70 Hz, 3H), 6,98 (bs, 2H).
A20	4,36	¹ H NMR (500 MHz, CHCl ₃ -d): δ ppm 0,55 - 0,84 (m, 4H), 1,27 (d, J=6,97 Hz, 6H), 2,73 - 2,85 (m, 1H), 3,04 - 3,23 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 4,60 - 5,06 (m, 1H), 6,99 - 7,38 (m, 5H).

La actividad fungicida avanzada de las combinaciones de compuestos activos de acuerdo con la invención, es evidente a partir del siguiente ejemplo. Aunque los compuestos activos individuales presentan debilidad con respecto a la actividad fungicida, las combinaciones tienen una excede que supera una simple suma de actividades.

5

Un efecto sinérgico de los compuestos fungicidas está siempre presente cuando la actividad fungicida de las combinaciones de compuestos activos excede el total de las actividades de los compuestos activos cuando se aplican individualmente. La actividad esperada para una combinación dada de dos compuestos activos puede calcularse de la manera siguiente (véase, Colby, S.R., "Calculating Synergistic and Antagonistic Responses of Herbicide Combinations", *Weeds* 1967, 15, 20-22):

10

Si

X es la efectividad cuando el compuesto activo A se aplica a un nivel de aplicación de m ppm (o g/ha),

Y es la efectividad cuando el compuesto activo B se aplica a un nivel de aplicación de n ppm (o g/ha),

15

E es la efectividad cuando los compuestos activos A y B se aplican a un nivel de aplicación de m y n ppm (o g/ha), respectivamente, y

entonces

$$E = X + Y - \frac{X \cdot Y}{100}$$

Se indica el grado de efectividad, expresado en %. 0 % significa una efectividad que corresponde a aquella del control, mientras que una efectividad del 100 % significa que no se observa enfermedad.

20

Si la actividad fungicida real excede el valor calculado, entonces la actividad de la combinación es superaditiva, es decir, existe efecto sinérgico. En este caso, la efectividad que se observó realmente debe ser mayor que el valor de

la efectividad (E) esperada calculada a partir de la fórmula mencionada anteriormente.

Una forma adicional de demostrar un efecto sinérgico es el procedimiento de Tammes (véase "Isoboles, a graphic representation of synergism in pesticides" en *Net. J. Plant Pat.*, 1964, 70, 73-80).

La invención se ilustra en los siguientes ejemplos. No obstante, la invención no está limitada a los ejemplos.

- 5 Los compuestos usados de agentes de control biológico son los productos disponibles en el mercado SERENADE-MAX® y SONATA®. La velocidad de aplicación de SERENADE-MAX® (1,48) se refiere a la cantidad de cepa QST713 de *Bacillus subtilis* seca (N.º de Acceso NRRL B-21661) contenida en el producto listo para usar. La velocidad de aplicación de SERENADE-MAX® (1,44) se refiere a la cantidad de cepa QST2808 de *Bacillus pumilus* seca (N.º de Acceso NRRL B-30087) contenida en el producto listo para usar.

10 **Ejemplo A: Ensayo de *Puccinia triticina* (trigo) / preventivo**

Los compuestos SERENADE-MAX®, SONATA® disponibles en el mercado, compuestos activos (1 parte en peso) disueltos en N,N-dimetilacetamida (49 partes en peso) y alquilaril poliglicol éter (1 parte en peso), o combinaciones de los mismos se diluyeron con agua hasta la concentración deseada.

- 15 Para ensayar la actividad preventiva, las plántulas se pulverizan con la preparación del compuesto activo o combinación de compuesto activo con la dosis de aplicación indicada.

Después de que se ha secado el recubrimiento de pulverización, las plantas se pulverizan con una suspensión de esporas de *Puccinia triticina*. Las plantas permanecen durante 48 horas en una cabina de incubación a aproximadamente 20 °C y una humedad atmosférica relativa de aproximadamente el 100 %.

- 20 Las plantas se colocan en el invernadero a una temperatura de aproximadamente 20 °C y una humedad atmosférica relativa de aproximadamente el 80 %.

El ensayo se evalúa 8 días después de la inoculación. El 0 % significa una eficacia que corresponde a aquella del control sin tratar, mientras que una efectividad del 100 % significa que no se observa enfermedad.

- 25 La tabla a continuación demuestra claramente que las actividades observadas de la combinación de compuestos activos de acuerdo con la invención son mayores que la actividad calculada, es decir un efecto sinérgico está presente.

Tabla A

Ensayo de <i>Puccinia triticina</i> (trigo) / preventivo			
Compuestos activos	Tasa de aplicación de compuesto activo en ppm a.i.	Efectividad en %	
		encontrado*	calc.**
(A5) N-(5-cloro-2-isopropilbencil)-N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida	30	67	
(1,48) SERENADE-MAX®	5000	22	
(1,44) SONATA®	5000	33	
(A5) + (1,48) 1:167	30 + 5000	100	74
(A5) + (1,44) 1:167	30 + 5000	89	78

* encontrado = actividad encontrada
 ** calc. = actividad calculada usando la fórmula de Colby

Ejemplo B: Ensayo de *Pyrenophora teres* (cebada) / preventivo

- 30 Los compuestos SERENADE-MAX®, SONATA® disponibles en el mercado, compuestos activos (1 parte en peso) disueltos en N,N-dimetilacetamida (49 partes en peso) y alquilaril poliglicol éter (1 parte en peso), o combinaciones de los mismos se diluyeron con agua hasta la concentración deseada.

Para ensayar la actividad preventiva, las plántulas se pulverizan con la preparación del compuesto activo o combinación de compuesto activo con la dosis de aplicación indicada.

- 35 Después de que se ha secado el recubrimiento de pulverización, las plantas se pulverizan con una suspensión de esporas de *Pyrenophora teres*. Las plantas permanecen durante 48 horas en una cabina de incubación a aproximadamente 20 °C y una humedad atmosférica relativa de aproximadamente el 100 %.

Las plantas se colocan en el invernadero a una temperatura de aproximadamente 20 °C y una humedad atmosférica relativa de aproximadamente el 80 %.

El ensayo se evalúa 8 días después de la inoculación. El 0 % significa una efectividad que corresponde a aquella del control sin tratar, mientras que una efectividad del 100 % significa que no se observa enfermedad.

La tabla a continuación demuestra claramente que las actividades observadas de la combinación de compuestos activos de acuerdo con la invención son mayores que la actividad calculada, es decir un efecto sinérgico está presente.

5

Tabla B: Ensayo de *Pyrenophora teres* (cebada) / preventivo

Compuestos activos	Tasa de aplicación de compuesto activo en ppm a.i.	Eficacia en %	
		encontrado*	calc.**
(A5) N-(5-cloro-2-isopropilbencil)-N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida	30	78	
(1,48) SERENADE-MAX®	5000	33	
(1,44) SONATA®	5000	67	
(A5) + (1,48) 1:167	30 + 5000	100	85
(A5) + (1,44) 1:167	30 + 5000	100	93
* encontrado = actividad encontrada			
** calc. = actividad calculada usando la fórmula de Colby			

Ejemplo C: Ensayo de *Septoria tritici* (trigo) / preventivo

Los compuestos SERENADE-MAX®, SONATA® disponibles en el mercado, compuestos activos (1 parte en peso) disueltos en N,N-dimetilacetamida (49 partes en peso) y alquilaril poliglicol éter (1 parte en peso), o combinaciones de los mismos se diluyeron con agua hasta la concentración deseada.

10

Para ensayar la actividad preventiva, las plántulas se pulverizan con la preparación del compuesto activo o combinación de compuesto activo con la dosis de aplicación indicada.

15

Después de que se ha secado el recubrimiento de pulverización, las plantas se pulverizan con una suspensión de esporas de *Septoria tritici*. Las plantas permanecen durante 48 horas en una cabina de incubación a aproximadamente 20 °C y una humedad atmosférica relativa de aproximadamente el 100 % y después durante 60 horas a aproximadamente 15 °C en una cabina de incubación translúcida a una humedad atmosférica relativa de aproximadamente el 100 %.

20

Las plantas se colocan en el invernadero a una temperatura de aproximadamente 15 °C y una humedad atmosférica relativa de aproximadamente el 80 %.

Se evaluaron los ensayos 21 días después de la inoculación. El 0 % significa una efectividad que corresponde a aquella del control sin tratar, mientras que una efectividad del 100 % significa que no se observa enfermedad.

25

La tabla a continuación demuestra claramente que las actividades observadas de la combinación de compuestos activos de acuerdo con la invención son mayores que la actividad calculada, es decir un efecto sinérgico está presente.

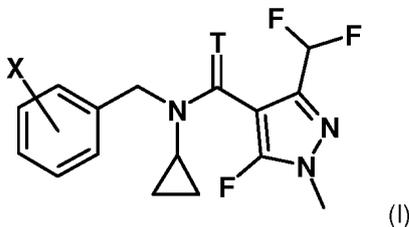
Tabla C

Ensayo de <i>Septoria tritici</i> (trigo) / preventivo			
Compuestos activos	Tasa de aplicación de compuesto activo en ppm a.i.	Eficacia en %	
		encontrado*	calc.**
(A5) N-(5-cloro-2-isopropilbencil)-N-ciclopropil-3-(difluorometil)-5-fluoro-1-metil-1H-pirazol-4-carboxamida	30	60	
(1,48) SERENADE-MAX®	5000	20	
(1,44) SONATA®	5000	20	
(A5) + (1,48) 1:167	30 + 5000	100	68
(A5) + (1,44) 1:167	30 + 5000	100	68
* encontrado = actividad encontrada			
** calc. = actividad calculada usando la fórmula de Colby			

REIVINDICACIONES

1. Combinaciones de compuestos activos que comprenden

(A) al menos un derivado de fórmula (I)



5 en la que T representa un átomo de oxígeno y X es 5-cloro-2-isopropilo, o una sal de los mismos agroquímicamente aceptable, y
(B) al menos un agente de control biológico elegido entre *Bacillus pumilus* Cepa QST 2808 o *Bacillus subtilis* Cepa QST713/AQ713.

10 2. Composiciones de acuerdo con la reivindicación 1 y que comprenden además agentes auxiliares, disolventes, vehículos, tensioactivos o extensores.

3. Procedimiento para controlar hongos fitopatógenos en protección de cultivos, **caracterizado porque** las composiciones activas de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 se aplican a la semilla, la planta, a los frutos de las plantas o al suelo en el que la planta crece o se pretende que crezca.

15 4. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 3, **caracterizado porque** se trata la planta, los frutos de las plantas o el suelo en el que las plantas crecen o se pretende que crezcan.

5. Procedimiento según la reivindicación 3, **caracterizado porque** en el tratamiento de las hojas se emplean de 0,1 a 10 000 g/ha y en el tratamiento de las semillas de 2 a 200 g por 100 kg de semilla.

6. Uso de las composiciones activas de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 para controlar hongos fitopatógenos no deseados en la protección de cultivos.

20 7. Uso de composiciones activas de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 0 a 2 para el tratamiento de las semillas, semillas de plantas transgénicas y plantas transgénicas.

8. Semilla que comprende composiciones activas de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2.