

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 801 851**

51 Int. Cl.:

A01N 25/00 (2006.01)

A01N 31/16 (2006.01)

A01N 65/08 (2009.01)

A01P 7/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.01.2018 E 18150286 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.04.2020 EP 3345480**

54 Título: **Uso de un extracto de tanino de castaño como agente acaricida**

30 Prioridad:

05.01.2017 IT 201700001121

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

14.01.2021

73 Titular/es:

**SADEPAN CHIMICA S.R.L. (100.0%)
Viale Lombardia, 29
46019 Viadana, IT**

72 Inventor/es:

**COSTA, GIANLUCA;
GOZZI, DARIO;
FERRANTE, MATTIA y
ZAMBELLI, PIERLUIGI**

74 Agente/Representante:

VIDAL GONZÁLEZ, Maria Ester

ES 2 801 851 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

Uso de un extracto de tanino de castaño como agente acaricida

- 5 La presente invención se refiere al uso de un extracto de tanino de castaño (*Castanea sativa Mill.*) como agente acaricida, solo y/o en una mezcla con otros principios activos que tienen una actividad acaricida, siendo aplicado dicho extracto de tanino de castaño a cultivos agrícolas con fines de prevención o tratamiento.
- 10 En particular, el objeto de la presente invención se refiere al uso de un extracto vegetal de tanino de castaño, como se describe con mayor detalle a continuación.
- 15 Un componente importante de la biomasa vegetal consiste en el tanino, un grupo de compuestos fenólicos muy comunes en plantas (pteridofitas, gimnospermas, angiospermas), que se encuentran en frutas, cortezas y, sobre todo, en madera.
- 20 Desde un punto de vista químico, el tanino tiene una estructura extremadamente compleja y un número de peso molecular que varía de 500 a 3.000 Daltons.
- La clasificación del tanino no es fácil debido a la variedad de compuestos; universalmente, sin embargo, los taninos en la naturaleza se dividen en dos clases principales: taninos hidrolizables y taninos condensados. Los taninos hidrolizables son ésteres de ácido gálico (galotaninos) y ácido elágico (elagitaninos) con un azúcar que generalmente es glucosa, y pueden hidrolizarse en productos monoméricos mediante ácidos o enzimas.
- 25 En el estado de la técnica, Bargiacchi et al. ("Biostimulant activity of hydrolyzable tannins from sweet chestnut (*Castanea sativa mill.*)" [La actividad bioestimulante de los taninos hidrolizables del castaño dulce (*Castanea sativa mill.*)], ISHS ACTA HORTICULTURAE 1 de enero de 2013 (2013-01-01), páginas 111-116, XP009188151) divulga el uso de un extracto de agua caliente de madera de *Castanea sativa Mill.* concentrada por ósmosis inversa y que comprende taninos hidrolizables para proteger o curar a las plantas del ataque de los nemátodos de nudo de raíz, pero no se divulga ningún efecto acaricida. Además, Maistrello et al. ("Effect of chestnut tannins on the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*" [Efecto de los taninos de castaño sobre el nemátodo de nudo de raíz *Meloidogyne javanica*], HELMINTHOLOGIA, vol. 47, N.º 1, 1 de enero de 2010 (2010-01-01), páginas 48-57, XP055244638, SL, ISSN: 0440-6605, DOI: 10.2478/s11687-010-0008-9) se refiere al uso de Saviotan®, un extracto de vapor de madera de castaño en forma de polvo que comprende 75% en peso de tanino, contra el nemátodo de nudo de raíz *Meloidogyne javanica* en plantas de tomate, pero no se divulga ningún efecto acaricida. Fernandez-Salas et al. ("In vitro acaricidal effect of tannin-rich plants against the cattle tick *Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae)*" [Efecto acaricida *in vitro* de plantas ricas en taninos contra la garrapata del ganado *Rhipicephalus (Boophilus) microplus (Acari: Ixodidae)*], VETERINARY PARASITOLOGY, ELSEVIER SCIENCE, AMSTERDAM, NL, vol. 175, N.º 1- 2, 10 de enero de 2011 (2011-01-10), páginas 113-118, XP027525912, ISSN: 0304-4017) divulga el efecto acaricida de taninos extraídos de *Acacia Pennatula*, *Piscidia piscipula*, *Leucaena leucocephala* y *Lysilome latisiliquum* contra diversas etapas de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (la garrapata del ganado). No se observó ningún efecto acaricida en las etapas adultas de *R. microplus* y no se divulga el uso de un extracto de tanino de castaño.
- 35 Fadi Hassanat et al. ("Assessment of the effect of condensed (acacia and quebracho) and hydrolysable (chestnut and valonea) tannins on rumen fermentation and methane production in vitro: Impact of condensed and hydrolysable tannins on methane production in vitro" (Evaluación del efecto de los taninos condensados (acacia y quebracho) e hidrolizables (castaño y valonea) en la fermentación ruminal y la producción de metano *in vitro*: Impacto de los taninos condensados e hidrolizables en la producción de metano *in vitro*"), JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE, vol. 93, N.º 2, 27 de junio de 2012 (2012-06-27), páginas 332-339, XP055378864, GB, ISSN: 0022-5142, DOI: 10.1002/jsfa.5763) divulga un evaluación del efecto de los taninos condensados (*Acacia* y *Quebracho*) e hidrolizables (castaño y *Valonea*) sobre la fermentación ruminal y la producción de metano. No se divulga ningún efecto acaricida.
- 50 El extracto de tanino de castaño al que se hace referencia para su uso de acuerdo con la presente invención, se caracteriza por la presencia de taninos hidrolizables, que generalmente consisten en moléculas con grupos fenólicos tales como ácidos gálicos y elágicos, esterificados parcial o totalmente con una molécula de D-glucosa.
- 55 Los taninos condensados, conocidos como proantocianidinas o poliflavonoides (PA), por otro lado, comprenden un grupo de polímeros de polihidroxiflavonol con enlaces C-C entre las subunidades.
- 60 A medida que aumenta la información sobre la estructura de estos productos, la distinción anterior entre los taninos hidrolizables y los taninos condensados tiende a desaparecer, ya que los taninos condensados también pueden contener esterificación gálica al nivel de 3-OH del anillo C.
- 65 La característica clave que determina las propiedades de los taninos parece ser la concentración local

inusualmente alta de grupos hidroxilo orto-fenólicos y la actividad biológica de los taninos parece estar al menos parcialmente relacionada con el contenido molar de estos grupos orto-fenólicos y su concentración espacial.

5 En los taninos hidrolizables, estos se asocian principalmente con derivados del ácido gálico o elágico. En los taninos condensados (procianidinas, prodelfinidinas), los hidroxilos fenólicos del anillo B juegan el mismo papel (el galato esterificado también puede contribuir).

10 Los taninos hidrolizables son generalmente agentes biológicos más potentes, por masa unitaria, que los taninos condensados y la capacidad de precipitar proteínas por estos taninos está directamente relacionada con el número de grupos derivados del ácido gálico esterificado.

Esta característica permite que los taninos formen incluso complejos grandes, especialmente con proteínas, pero también con otras macromoléculas tales como la celulosa y las pectinas.

15 La reacción no reversible con proteínas es extremadamente interesante, ya que puede hacer que se precipiten a partir de las soluciones.

20 Esta propiedad es específicamente el requisito previo para el uso de taninos en la industria como agentes de curtido con taninos vegetales. Los taninos también se usan como fertilizantes, como agentes para promover un efecto iniciador en los cultivos y como antioxidantes.

El Solicitante ahora ha encontrado sorprendentemente que el extracto de tanino de castaño tiene una alta actividad acaricida también a dosis bajas, y al mismo tiempo es bien tolerado por los cultivos agrarios.

25 El término "acaricida" se refiere a sustancias capaces de controlar, limitar, rechazar o destruir ácaros.

30 El extracto de tanino de castaño de acuerdo con la presente invención se obtiene mediante un procedimiento, sin el uso de aditivos químicos, que comprende una etapa de extracción en agua por lixiviación a partir de biomasa vegetales, etapas de filtración, etapas de concentración con medios físicos y una posible etapa final de secado.

Más específicamente, el extracto de tanino de castaño, cuyo uso como acaricida es objeto de la presente invención, se obtiene por lixiviación de una biomasa vegetal de acuerdo con un procedimiento completamente "limpio", es decir, sin la ayuda de ninguna sustancia química.

35 El término "biomasa vegetal" se refiere a una biomasa que comprende cualquier parte de la planta: tronco, hojas, ramas, corteza, solo o en cualquier combinación de los mismos.

40 Más específicamente, el extracto de tanino de castaño, cuyo uso es objeto de la presente invención, se obtiene mediante un procedimiento de lixiviación descrito en detalle en la patente italiana IT1318355: la biomasa de castaño leñoso, en forma de piezas de madera (o astillas) que tienen dimensiones en el orden de aproximadamente 20 × 40 × 5 mm, se somete a un procedimiento de lixiviación repetida, en el que la biomasa siempre permanece en el mismo autoclave, mientras que el agua de extracción se mueve de un autoclave al siguiente. Toda la planta, de hecho, consiste en una batería de 8 autoclaves cada uno de 20 metros cúbicos, conectados en un circuito.

45 Cada autoclave está equipado con una abertura superior para introducir las astillas de madera (mejor definidas como madera astillada), o de la biomasa en general, y una abertura inferior para descargar las astillas agotadas, cerrando dichas aberturas por medio de las tapas respectivas. Cada autoclave está compuesto por un cuerpo cilíndrico con una tapa superior y un fondo cónico truncado, dentro del cual se montan algunas cadenas estáticas que cuelgan libremente para favorecer el flujo de material sólido, y tiene una alimentación superior del agua de extracción y un conducto de descarga inferior de dicha agua. La entrada y la salida del agua de extracción, la entrada de agua dulce y la salida de ventilación conducen a un colector que recoge los conductos análogos de los otros 7 autoclaves. Todos los autoclaves están montados alineados y son alimentados por un alimentador de puente grúa deslizante para alimentar las astillas, o biomasa, a cada autoclave y las descargas inferiores de la madera agotada se disponen verticalmente en un transportador de cadena para permitir su extracción.

La descarga del líquido de extracción de cada autoclave se retira por debajo del mismo y se alimenta al cabezal del siguiente autoclave.

60 El concepto subyacente en todo el procedimiento de extracción es la lixiviación de la madera fresca con la penúltima agua de extracción, mientras que la madera agotada, por el contrario, se somete a la última lixiviación con agua dulce. Por lo tanto, el procedimiento se define como "en contracorriente".

65 La relación en peso entre la biomasa y el agua de extracción varía considerablemente, dependiendo del tipo de biomasa utilizada:

- cuando la biomasa consiste en madera, esta relación es preferentemente igual a 1:3,33;
- cuando la biomasa consiste en corteza, esta proporción es preferentemente igual a 1:10;
- cuando la biomasa consiste en hojas, esta proporción es preferentemente igual a 1:20;
- cuando la biomasa se compone de una mezcla equiponderal de madera (tronco), corteza, hojas y ramas, esta proporción es preferentemente igual a 1:9.

Las extracciones se efectúan:

- con agua dulce sobrecalentada sola, a una temperatura que generalmente varía de 110 a 120 °C y una presión que varía de 2 bar (2 kPa, inicial) a 0,8 bar (80 kPa, final); o
- con una mezcla compuesta por el 90% de la Fracción 6, cuya descripción se especifica con mayor detalle a continuación, y el 10% restante de agua dulce; esta mezcla también se alimenta a una temperatura que generalmente varía de 110 a 120 °C y una presión que varía de 2 bar (2 kPa, inicial) a 0,8 bar (80 kPa, final).

Al final del ciclo de extracción, el último autoclave, que contiene madera agotada, es aislado del resto de la planta mediante el cierre de las válvulas en el conducto de entrada relativo del líquido de extracción. La madera astillada agotada entonces se descarga y después se carga una nueva dosis de biomasa fresca/madera de castaño fresca. Al final del ciclo de extracción de un segundo autoclave, el autoclave previamente aislado se vuelve a conectar al circuito (planta) para recibir el líquido descargado de un tercer autoclave en el penúltimo ciclo de lixiviación.

Al final de este tratamiento de lixiviación, se obtiene un líquido que contiene de 1% a 7% en peso de extracto de tanino; en particular, cuando la madera se usa como biomasa, el contenido de extracto de tanino varía preferentemente del 4% al 6% en peso. Dicho líquido de lixiviación (o caldo tánico no filtrado ") se somete luego a las siguientes etapas de filtración, concentración y purificación:

a) una etapa de filtración forzada del líquido de lixiviación, precedida por una primera etapa de enfriamiento a 60-80 °C con intercambiadores de calor por placas, a través de filtros de precapa de perlita: esta operación tiene como objetivo eliminar todas las partículas extrañas compuestas de aserrín de madera, tierra, arena, sustancias coloidales, etc.; al final de esta etapa, se obtiene la "Fracción 1. Caldos tánicos filtrados", que contiene de 1% a 7% en peso, preferentemente de 4% a 6% en peso, de extracto de tanino;

b) esta fracción se somete a una primera etapa de preconcentración con la ayuda de membranas poliméricas de nanofiltración para obtener dos fracciones: una fracción diluida que contiene aproximadamente 0,5% en peso de extracto de tanino (Fracción 2. Permeado de nanofiltración I) y una solución más concentrada y fracción turbia que contiene aproximadamente 17-20% en peso de extracto de tanino;

c) la fracción más concentrada se enfría usando intercambiadores de placas, a una temperatura de aproximadamente 10-12 °C y se deja reposar en tanques de acero inoxidable durante un tiempo que varía de 24 a 48 horas; durante este período, las sustancias extrañas residuales, que consisten en polvo de madera, arena, arcilla, coloides, tierra y varias sales insolubles, no retenidas en la etapa de filtración anterior, se separan por gravedad, es decir, se sedimentan, en el fondo de los mismos tanques, proporcionando una fracción líquida perfectamente límpida; después de la etapa de clarificación anterior por sedimentación, se realiza una clarificación mecánica utilizando una centrífuga con discos de eje vertical. Lo anterior permite obtener un preconcentrado perfectamente claro, libre de partículas en suspensión superiores a aproximadamente 25 micrones (Fracción 3. Concentrado de nanofiltración I), cuyo contenido de extracto de tanino es siempre igual a aproximadamente 17-20% en peso;

d) La "Fracción 3. Concentrado de nanofiltración I" puede concentrarse adicionalmente a través de una segunda etapa de nanofiltración, efectuada por medio de membranas de polímero semipermeables enrolladas en espiral, obteniendo así dos fracciones: una fracción más diluida que contiene aproximadamente 0,5% en peso de extracto de tanino (Fracción 4: Permeado de nanofiltración II) y una fracción más concentrada al 48-52% en peso de extracto de tanino (Fracción 5. Concentrado de nanofiltración II);

e) La "Fracción 2" y la "Fracción 4" entonces se unen y se someten a un tratamiento de ósmosis inversa para recuperar la mayor cantidad de tanino posible; al final de este tratamiento, se obtienen dos fracciones: una fracción más diluida que contiene hasta un máximo de 0,1% en peso de extracto de tanino (Fracción 6. Permeado de ósmosis) y una fracción más concentrada a aproximadamente 14-16% en peso de extracto de tanino (Fracción 7. Concentrado de ósmosis); la Fracción 6 se reutiliza por completo en el procedimiento aguas arriba de la lixiviación de la biomasa/madera, ver arriba, lo que hace que todo el procedimiento esté libre de descargas de agua.

f) cualquier fracción descrita anteriormente puede secarse teóricamente y transformarse en polvo con la ayuda de un Secador por Atomización (atomizador); la Fracción 5 es evidentemente la más conveniente, también por razones de costo de energía, ya que tiene un menor contenido de agua y, por lo tanto, es más fácil de secar;

g) el concentrado líquido se pulveriza en la cámara de secado a través de boquillas específicas a una

presión de aproximadamente 140 bar (14 MPa) y una temperatura de aproximadamente 150 °C obtenida con aire caliente precalentado por medio de un quemador de vena de metano, obteniendo así un polvo (Fracción 8. Polvo), que contiene de 90 a 100% en peso de extracto de tanino, que se puede usar como tal o en forma líquida, después de la redisolución en agua. La diferencia entre 90 y 100% en peso de extracto depende de la humedad residual presente en la Fracción 8.

El extracto de tanino de castaño obtenido al final de este procedimiento también contiene otros componentes que no comprenden derivados del ácido gálico o elágico, que consisten en:

- pentosanos, entre los cuales: xilosa y ribosa;
- hexanos, tales como manano y hemicelulosa;
- oligosacáridos, en particular, xiloglicano y xilano, pero también arabinogalactano;
- hemicelulosa;
- ácidos orgánicos simples, entre los cuales: ácido acético, ácido oxálico, ácido málico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido glicérico, ácido glicólico, ácido cítrico y ácido isocítrico, ácido ascórbico, ácido oxalacético, ácido succínico, etc.;
- sales inorgánicas.

Por lo tanto, se han identificado ocho fracciones:

1. Caldos tánicos filtrados;
2. Permeado de nanofiltración I;
3. Concentrado de nanofiltración I;
4. Permeado de nanofiltración II;
5. Concentrado de nanofiltración II;
6. Permeado de ósmosis;
7. Concentrado de ósmosis;
8. Polvo.

Por lo tanto, la presente invención se refiere al uso, como acaricida no fitotóxico, de extracto de tanino de castaño compuesto por una fracción correspondiente a un concentrado obtenido de una primera etapa de nanofiltración (etapa c)), una fracción correspondiente a un concentrado obtenido de una segunda etapa de nanofiltración (etapa d)), una fracción correspondiente a un concentrado obtenido de una etapa de ósmosis inversa (etapa e)) o una fracción correspondiente a un polvo obtenido al final de la etapa de secado (etapa g)), solo o en cualquier combinación de las mismas.

Más específicamente, el extracto de tanino de castaño usado como acaricida de acuerdo con la presente invención puede estar compuesto de las siguientes fracciones:

- Fracción 3. Concentrado de nanofiltración I
- Fracción 5. Concentrado de nanofiltración II
- Fracción 7. Concentrado de ósmosis
- Fracción 8. Polvo

solo o en cualquier combinación de las mismas.

Por lo tanto, para los fines de la presente invención, sin limitar las posibilidades de aplicación, se pueden usar las cuatro fracciones enumeradas anteriormente.

La Fracción 8 así obtenida también puede formularse adecuadamente para obtener un producto, todavía en forma de polvo, pero que además de tener las características especificadas anteriormente, tiene la propiedad de dispersarse muy fácilmente en agua. Este polvo formulado, también objeto de la presente invención, se describe con mayor detalle a continuación, también en los Ejemplos.

El extracto de tanino de castaño se puede usar solo o en formulación con otros principios activos que tienen la misma actividad acaricida: en este caso, hay un efecto sinérgico.

En algunos casos, las mezclas así obtenidas, de hecho, tienen un efecto sinérgico entre los componentes, lo que lleva a la mezcla, por ejemplo, a ejercer una mayor actividad con respecto a la de los elementos individuales de los que está compuesta.

Por lo tanto, un objeto de la presente invención se refiere al uso de extracto de tanino de castaño en forma de polvo, o en forma líquida, para el control de ácaros, considerado como un verdadero azote para los cultivos agrícolas.

Ejemplos de ácaros que pueden controlarse de manera eficaz con extracto de tanino de castaño son especies importantes de ácaros tetraníquidos (*Tetranychus urticae*, *Tetranychus telarius*, *Tetranychus cinnabarinus*, *Tetranychus sp.*, *Eotetranychus carpinii*, *Panonychus ulmi*, *Panonychus citri*, etc.), ácaros eriófidos (*Phytoptus avel*, *Eriophyes vitis*, *Eryophyes piri*, *Epitrimerus pyri*, etc.) y ácaros tarsonémidos (*Steneotarsonemus pallidus*, *Tarsonemus Pallidus*, etc.).

El extracto de tanino de castaño es capaz de ejercer una acción acaricida de naturaleza curativa y preventiva y exhibe muy poca o ninguna fitotoxicidad en cultivos tratados de interés agrícola y hortícola y cero toxicidad contra muchos insectos y ácaros útiles, con respecto a mamíferos, peces, aves, entre otros.

En particular, el extracto de tanino de castaño ha demostrado ser capaz de ejercer una acción acaricida en ambos huevos y también en individuos en movimiento tales como ninfas, pupas o adultos.

Como se indicó anteriormente, para usos prácticos en la agricultura, a menudo es preferible usar extracto de tanino de castaño adecuadamente formulado en composiciones agronómicas que comprenden extracto de tanino de castaño en forma de polvo y co-formuladores agronómicamente aceptables.

Por lo tanto, un objeto adicional de la presente invención se refiere a formulaciones agronómicas acaricidas no fitotóxicas que comprenden extracto de tanino de castaño, uno o más tensioactivos, también llamados "agentes humectantes", uno o más dispersantes y un agente antiespumante, en el que el extracto de tanino de castaño es extraído en agua por lixiviación, a partir de biomasa vegetal y concentrado con medios físicos, sin el uso de aditivos químicos, como se describió anteriormente.

Dichos co-formuladores son co-formuladores agronómicamente aceptables.

Un objeto de la presente invención se refiere preferentemente a una formulación agronómica acaricida no fitotóxica que comprende extracto de tanino de castaño, uno o más tensioactivos, uno o más dispersantes y un agente antiespumante, en el que el extracto de tanino de castaño se obtiene mediante un procedimiento, sin el uso de aditivos químicos, que comprende una etapa de extracción en agua por lixiviación, a partir de biomasa vegetal, etapas de filtración, etapas de concentración con medios físicos y una etapa final de secado.

Más específicamente, el extracto de tanino de castaño es un extracto de tanino de castaño en forma de polvo (Fracción 8) en una mezcla con un tensioactivo a base de alquil sulfonato de sodio, un dispersante a base de sulfonatos de alquil naftaleno y un agente antiespumante química y agronómicamente aceptable.

El extracto de tanino de castaño en forma de polvo está presente preferentemente en dicha formulación agronómica en una cantidad que varía del 90 al 95% en peso, el agente tensioactivo o humectante en una cantidad que varía del 2 al 6% en peso, el dispersante en una cantidad que varía de 2 a 6% en peso, y el agente antiespumante en una cantidad que varía de 1 a 2% en peso, con respecto al peso total de la formulación.

En dicha formulación agronómica, el agente tensioactivo o humectante es incluso más preferentemente ligninsulfonato de sodio y el dispersante es naftalenosulfonato de sodio.

Dicha formulación agronómica se caracteriza por una redispersabilidad mejorada en agua. Se pueden usar composiciones en forma de polvos secos, polvos humectables, concentrados emulsionables, microemulsiones, pastas, granulados, soluciones de microgranulados, suspensiones, fumigantes, etc.: la selección del tipo de composición depende del uso específico.

Con el fin de producir composiciones/formulaciones que sean más fáciles de conservar, mover y, por lo tanto, también comercializar, también se pueden usar otros co-formuladores sólidos inertes, además de los co-formuladores citados anteriormente, como caolín, alúmina, sílice, talco, bentonita, yeso, cuarzo, dolomita, atapulgita, montmorillonita, tierra de diatomeas, celulosa, almidón, etc. Los tensioactivos que se pueden usar son agentes humectantes y emulsionantes de tipo no iónico (alquilfenoles polietoxilados, alcoholes grasos polietoxilados, etc.), del tipo aniónico (alquilbencenosulfonatos, alquilsulfonatos, etc.), del tipo catiónico (sales cuaternarias de alquilamonio, etc.). Los agentes dispersantes que se pueden usar son lignina y sales de la misma, derivados de celulosa, alginatos, alquil naftalenosulfonatos.

También existe la posibilidad de agregar estabilizadores (por ejemplo, antioxidantes, absorbentes de UV, etc.). La concentración de extracto de tanino de castaño en las composiciones agronómicas anteriores puede variar dentro de un amplio intervalo y depende de varios factores. La concentración varía, por ejemplo, en relación con las aplicaciones a las que se destinan dichas composiciones, las condiciones ambientales y el tipo de formulación adoptada.

La concentración de extracto de tanino de castaño generalmente varía del 10 al 100% en peso con respecto al peso total de la composición, preferentemente del 25 al 95% en peso.

El extracto de tanino de castaño como tal o formulado se puede usar en una mezcla con otros principios activos que tienen una actividad acaricida, fungicida o nematocida/nematostática o también con herbicidas, bactericidas, bioestimulantes, etc. para ampliar el espectro de acción, evitando la resistencia de los organismos indeseados y, al mismo tiempo, no muestran toxicidad hacia plantas, animales y seres humanos.

Debe recordarse, de hecho, que una de las grandes ventajas del extracto de tanino de castaño con respecto a otros productos ya presentes en el mercado, es que este es un producto totalmente natural, cuyo procedimiento de extracción implica solo el uso de agua y es completamente libre de descargas de agua, tal como se describió anteriormente.

Como ya se mencionó, en algunos casos, las mezclas así obtenidas tienen un efecto sinérgico entre los componentes, lo que hace que la mezcla, por ejemplo, ejerza una mayor actividad con respecto a la de los elementos individuales de los que está compuesta.

Los ejemplos de principios activos que tienen una actividad acaricida que se puede agregar a las composiciones que contienen extracto de tanino de castaño son los siguientes: Hexitiazox, derivados de Hexitiazox, Clofentezina, derivados de Clofentezina, Etoxazolo, Fenpiroximato, Piridabeno, Fenazaquino, derivados de Fenazaquino, Tebufenpirad, etc.

Si las composiciones comprenden extracto de tanino de castaño y al menos un principio activo conocido adicional, las relaciones en peso, en las composiciones anteriores, entre el extracto de tanino de castaño y los principios activos conocidos varían de acuerdo con los compuestos preseleccionados y pueden incluirse dentro del intervalo de 1:0,001 a 1:2, preferentemente de 1:0,01 a 1:0,4.

La concentración total de componentes activos en las composiciones anteriores puede variar dentro de un amplio intervalo; en general, varía del 10%, preferentemente del 30% al 100% en peso con respecto al peso total de la composición.

El extracto de tanino de castaño o las composiciones/formulaciones que lo contienen se pueden aplicar al cultivo mediante aplicación foliar, o al suelo mediante fertirrigación, riego por goteo, fertilización tradicional o incorporación al suelo, o mediante curtido con taninos por semillas. Sin embargo, la aplicación más utilizada y eficaz es mediante la pulverización de líquido directamente sobre el cultivo a tratar.

Si la aplicación permite su uso en forma líquida, el extracto de tanino de castaño, si está en forma de polvo, puede redispersarse primero en agua.

Un objeto adicional de la presente invención también se refiere a un procedimiento para controlar los ácaros en cultivos de interés agrícola y hortícola que consiste en aplicar dosis eficaces y no fitotóxicas de composiciones que comprenden extracto de tanino de castaño y, opcionalmente, uno o más principios activos conocidos que tienen una actividad acaricida, compatible con la misma, en cualquier parte de la planta a proteger.

La cantidad de extracto de tanino de castaño que se aplicará para obtener el efecto deseado puede variar en función de diversos factores, como, por ejemplo, el cultivo a proteger, el grado de infestación, las condiciones climáticas, las características del suelo, el procedimiento de aplicación, etc. Las dosis de extracto de tanino de castaño varían de 100 g a 10.000 g por hectárea, preferentemente de 500 g a 8.000 g por hectárea, de cultivo agrícola o, en el caso de composiciones que comprenden otros principios activos conocidos, dosis generales de principios activos que varían de 200 g a 10.200 g por hectárea, preferentemente de 600 g a 8.200 g por hectárea, de cultivo agrícola, generalmente proporcionan un control suficiente.

Los siguientes ejemplos se proporcionan con fines puramente ilustrativos de la presente invención y no deben considerarse como limitativos del alcance de protección, tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplo 1

Preparación y producción de un extracto de tanino

Aplicando el procedimiento antes mencionado de extracción acuosa en caliente (lixiviación) de madera de castaño y fraccionamiento en frío usando la tecnología de membrana, se trataron 6.000 kg de madera de castaño con 20.000 kg de agua dulce y se obtuvieron y analizaron las siguientes ocho fracciones:

1. Caldos tánicos filtrados;
2. Permeado de nanofiltración I;
3. Concentrado de nanofiltración I;
4. Permeado de nanofiltración II;
5. Concentrado de nanofiltración II;

- 6. Permeado de ósmosis;
- 7. Concentrado de ósmosis;
- 8. Polvo.

5 Se utilizó una columna Luna C18 de 250 × 4,60 mm, 5 µm (Phenomenex, Torrance, CA), para el análisis por HPLC de las fracciones individuales, la fase móvil utilizada consistió en H₂O (pH 3,2 para HCOOH), (A) y CH₃CN (B). Se aplicó un gradiente lineal de cuatro rampas, un caudal de 0,8 ml/min, durante 55 minutos. El perfil de elución utilizado es el siguiente: inicialmente el 100% de A, el solvente A se llevó al 85% en 20 minutos, se mantuvo constante durante 5 minutos, se redujo al 75% en 10 minutos, se mantuvo constante durante 8 minutos, finalmente se llevó a 0% (100% de B) en 5 minutos y se mantuvo constante durante 4 minutos, luego regresó a las condiciones iniciales en 3 minutos. Los derivados gálicos se calibraron a 280 nm con ácido gálico, los derivados elágicos a 254 nm con ácido elágico.

15 Los perfiles cromatográficos relacionados con dos fracciones se proporcionan a modo de ejemplo: el primero, líquido, se obtiene por concentración de nanofiltración (Fracción 5), que tiene una densidad a 20 °C de 1,30 g/ml (Figura 1), y el segundo se obtiene mediante secado por pulverización a partir de este último (Fracción 8, Figura 2) y posteriormente se redispersa en agua.

20 Como se indicó anteriormente, las fracciones que se pueden usar y se usan para los propósitos de la presente invención son las siguientes:

- Fracción 3. Concentrado de nanofiltración I
- Fracción 5. Concentrado de nanofiltración II
- Fracción 7. Concentrado de ósmosis
- 25 - Fracción 8. Polvo

caracterizado respectivamente por los siguientes contenidos de extracto de tanino de castaño:

- Fracción 3, que tiene un contenido de 18% peso/peso;
- 30 - Fracción 5, que tiene un contenido de 50% peso/peso;
- Fracción 7, que tiene un contenido de 15% peso/peso;
- Fracción 8, que tiene un contenido de 100% peso/peso.

35 Como se indicó anteriormente, el contenido de "extracto de tanino de castaño" se refiere a la suma de las concentraciones, expresadas en % en peso, de derivados de ácido gálico, ácido gálico puro, derivados de ácido elágico, ácido elágico puro y todos los demás componentes que no pertenecen a estas cuatro categorías, es decir: pentosanos, hexosanos, oligosacáridos, hemicelulosa, ácidos orgánicos simples y sales inorgánicas, con respecto al peso total de la solución, en el caso de una fracción líquida, o con respecto al peso total del sólido, en el caso del polvo.

40 Ejemplo 2

Preparación de una formulación de extracto de tanino en forma de polvo con redispersibilidad mejorada

45 El extracto de tanino en forma de polvo (Fracción 8) con un contenido de taninos igual al 100% en peso obtenido en el Ejemplo 1, se mezcló con los siguientes productos en las proporciones indicadas a continuación:

	% en peso
50 Fracción 8	91
Agente humectante a base de ligninsulfonato de sodio (Bretax S)	5
Agente antiespumante basado en una mezcla de compuestos orgánicos y aceite mineral absorbido en un vehículo inorgánico, cuyo componente principal es "benceno, mono-C10-13-alquil-derivado, residuos de destilación" (Defomex AP/188)	1,5
55 Agente dispersante a base de naftalenosulfonato de sodio (Madeol AG/W90)	2,5

El polvo obtenido tiene las mismas características químicas que la Fracción 8 (componente principal), pero está caracterizado por una capacidad/propiedad de redispersión mucho mayor en agua.

60 Con el fin de demostrar lo anterior, la Fracción 8 y la formulación descrita anteriormente se tomaron y se redispersaron en agua.

65 La Figura 3 muestra cómo el polvo formulado (a la izquierda, "Ejemplo de Formulación 2") tiene una mejor redispersión que el polvo original (a la derecha, "Fracción 8").

Más específicamente, se llevó a cabo un experimento paralelo en el que, a una temperatura de 23 °C, se añadieron 100 g de ambos productos en forma de polvo a 900 g de agua bajo agitación constante. El tiempo de agitación fue de 3 minutos para ambos, al final del cual se evaluó la cantidad de polvo restante sin disolver: el polvo formulado no mostró ningún residuo, mientras que con la Fracción 8, como tal, 27,7 g (correspondientes al 27,7%) permanecieron sin disolver, formando coágulos y también creando espuma (como se puede apreciar en la Figura 3).

Ejemplo 3

Determinación de la actividad acaricida de la formulación del Ejemplo 2 contra *Tetranychus urticae* en berenjenas

a) Actividad de *Tetranychus urticae* en los huevos (expresada como % de ataque no verificado)

Durante el verano de 2016, se realizó una prueba de campo (localidad de Andria, región de Puglia) en berenjenas (variedad *Solanum melongena*).

La planta fue tratada con los siguientes productos:

- La Formulación del Ejemplo 2 dispersada en agua y aplicada en una proporción de 0,5 kg/ha, dosificando un volumen equivalente a 1.000 l/ha;
- La Formulación del Ejemplo 2 dispersada en agua y aplicada en una proporción de 1 kg/ha, dosificando un volumen equivalente a 1.000 l/ha;
- La Formulación del Ejemplo 2 dispersada en agua y aplicada en una proporción de 2 kg/ha, dosificando un volumen equivalente a 1.000 l/ha;
- La Formulación del Ejemplo 2 dispersada en agua y aplicada en una proporción de 4 kg/ha, dosificando un volumen equivalente a 1.000 l/ha;
- Borneo® (producto comercial basado en etoxazol) se diluyó en agua en una proporción de 500 ml/1.000 litros, dosificando un volumen equivalente a 1.000 l/ha. La dosis aplicada es la dosis recomendada en la etiqueta.

Luego se evaluó un blanco sin tratar, es decir, un bloque de tierra no tratado con ningún producto, con fines comparativos.

Cada bloque de tierra mide 1×15 m². Para cada tratamiento proporcionado (un total de 6 incluyendo el bloque "no tratado"), se efectuaron 4 repeticiones, para un total de 24 bloques tratados, siguiendo un esquema de tratamiento aleatorizado en campo de los bloques (RCB: Bloque Completo Aleatorizado).

En la prueba, se probó la formulación del Ejemplo 2, a diferentes dosis, y se comparó con un producto comercial anti-ácaro conocido, más específicamente el producto Borneo®, contra la infestación por *Tetranychus urticae*, también conocida como araña roja, un ácaro conocido en el campo agrícola, cuyo daño es extremadamente temido y conspicuo. Las aplicaciones se realizaron el 25 de junio, 5 de julio y 15 de julio utilizando un sistema de rociado directamente sobre las hojas. Los productos se distribuyeron con una dosis igual a 1.000 litros/ha, un total de 1.000 litros: 10.000 m² × (15×4 m²) = 6 litros se rociaron para cada prueba.

Los resultados se indican en la Tabla 1 y en el gráfico relativo de la Figura 4.

Los controles indicados en la Tabla 1 se efectuaron inmediatamente antes de las aplicaciones posteriores del 5 y 15 de julio.

Los porcentajes indicados en la Tabla corresponden al porcentaje de cultivo no atacado por los huevos del ácaro: el porcentaje es igual al 100% cuando el cultivo no fue atacado por el ácaro, mientras que el porcentaje es igual al 0% cuando todo el cultivo fue atacado por el ácaro.

La evaluación se realizó en una muestra de 25 hojas por bloque.

Tabla 1

Eficacia de la Formulación del Ejemplo 2 en los huevos de <i>Tetranychus urticae</i> en berenjenas			
		05-Julio	15-Julio
Días después de la 1ra aplicación (DAA) (Junio 25)		10	20
Blanco no tratado		0,00	0,00
Formulación del Ejemplo 2 0,5 Kg/ha		52,26	51,79

Eficacia de la Formulación del Ejemplo 2 en los huevos de <i>Tetranychus urticae</i> en berenjenas			
		05-Julio	15-Julio
Días después de la 1ra aplicación (DAA) (Junio 25)		10	20
5	Formulación del Ejemplo 2 1 Kg/ha	48,39	50,62
	Formulación del Ejemplo 2 2 Kg/ha	51,61	51,98
10	Formulación del Ejemplo 2 4 Kg/ha	60,65	56,34
	BORNEO® 500 ml/ha	70,32	70,86

Es evidente a partir del gráfico relativo, en la Figura 4, que el extracto de tanino, incluso en su dosis más baja, puede inhibir aproximadamente el 50% del ataque de los huevos de *Tetranychus urticae*, mientras que en los bloques de "blancos sin tratar", el valor obtenido para ambas pruebas fue igual a cero, es decir, 100% de ataque.

Se puede observar una ligera correlación dosis/efecto con respecto al extracto de tanino: con un aumento en la dosis, la respuesta mejora (incluso si no es proporcionalmente).

Cabe señalar que la diferencia en la actividad entre el extracto de tanino (a la dosis máxima probada de 4 kg/ha) y el producto de referencia comercial (Borneo) es bastante pequeña (12% menos considerando el promedio entre las dos pruebas). Por lo tanto, es absolutamente razonable suponer que las dosis más altas de extracto de tanino pueden conducir a resultados completamente equivalentes, si no más, en términos numéricos, a los del producto de referencia comercial (Borneo), con la enorme ventaja de utilizar un producto completamente natural de un producto químico sintético.

b) Actividad en ninfas de *Tetranychus urticae* (expresada como % de ataque no verificado)

La prueba se llevó a cabo como se indica en el inciso a) y los resultados de la actividad de los productos probados en las ninfas se muestran en la Tabla 2 y en el gráfico relativo de la Figura 5. Los porcentajes indicados en la Tabla corresponden a los porcentajes de cultivo no atacados por las ninfas de los ácaros: el porcentaje es igual al 100% cuando el cultivo no fue atacado por el ácaro, mientras que el porcentaje es igual al 0% cuando todo el cultivo fue atacado por el ácaro.

La evaluación se realizó en una muestra de 25 hojas por bloque.

Tabla 2

Eficacia de la Formulación del Ejemplo 2 en las ninfas de <i>Tetranychus urticae</i> en berenjenas			
		05-Julio	15-Julio
Días después de la 1ra aplicación (DAA) (Junio 25)		10	20
45	Blanco no tratado	0,00	0,00
	Formulación del Ejemplo 2 0,5 Kg/ha	29,95	62,00
50	Formulación del Ejemplo 2 1 Kg/ha	59,24	64,00
	Formulación del Ejemplo 2 2 Kg/ha	54,50	62,00
55	Formulación del Ejemplo 2 4 Kg/ha	65,88	71,00
	BORNEO® 500 ml/ha	72,93	75,70

Es evidente a partir del gráfico relativo, en la Figura 5, que el extracto de tanino de castaño (excluyendo la dosis más baja, después de los primeros 10 días de tratamiento) muestra una actividad completamente comparable a la del producto de referencia.

También en este caso, la correlación dosis/efecto no está particularmente marcada. 20 días después del primer tratamiento, la diferencia en la actividad entre el extracto de tanino (a la dosis máxima probada de 4 kg/ha, y el producto de referencia comercial (Borneo) es mínima. Por lo tanto, es razonable suponer que las dosis más altas

de castaño el tanino puede conducir a resultados completamente equivalentes, si no superiores, en términos numéricos, a los del producto de referencia comercial (Borneo) con la enorme ventaja de usar un producto completamente natural en lugar de un producto químico sintético.

5 c) Actividad en adultos de *Tetranychus urticae* (expresada como % de ataque no verificado)

La prueba se realizó como se indica en el inciso a) y los resultados de la actividad en los adultos se muestran en la Tabla 3 y en el gráfico relativo de la Figura 6. Los porcentajes indicados en la Tabla 3 corresponden al porcentaje de cultivo no atacado por los ácaros adultos: el porcentaje es igual al 100% cuando el cultivo no fue atacado por el ácaro, mientras que el porcentaje es igual al 0% cuando se atacó todo el cultivo por el ácaro.

La evaluación se realizó en una muestra de 25 hojas por bloque.

Tabla 3

Eficacia de la Formulación del Ejemplo 2 en los adultos de <i>Tetranychus urticae</i> en berenjenas			
		05-Julio	15-Julio
	Días después de la 1ra aplicación (DAA) (Junio 25)	10	20
Blanco no tratado		0,00	0,00
Formulación del Ejemplo 2 0,5 Kg/ha		7,5	49,41
Formulación del Ejemplo 2 1 Kg/ha		18,00	51,18
Formulación del Ejemplo 2 2 Kg/ha		14,50	60,42
Formulación del Ejemplo 2 4 Kg/ha		38,50	64,38
BORNEO® 500 ml/ha		75,50	80,98

Es evidente a partir del gráfico relativo, en la Figura 6, que el extracto de tanino de castaño, en las dosis más altas y 20 días después del primer tratamiento, muestra una actividad no muy alejada de la del producto de referencia. También en este caso, la correlación dosis/efecto no está particularmente marcada, pero parece más lineal con respecto a las pruebas anteriores.

Sin embargo, debe notarse el considerable aumento en la actividad del extracto de tanino de castaño con cada día que pasa, lo que hace que sea completamente razonable suponer que en los siguientes 5/10 días de observación, los resultados obtenidos con el producto de referencia pueden ser superados.

d) Actividad sobre las formas móviles totales de *Tetranychus urticae* (expresada como el número total de formas móviles)

La prueba se realizó como se indica en el inciso a) y los resultados de la actividad en las formas móviles totales se muestran en la Tabla 4 y en el gráfico relativo de la Figura 7.

Por lo tanto, los números indicados en la Tabla 4 corresponden al número total de formas móviles, es decir, al número de formas vivas todavía presentes en el cultivo: cuanto más cercano es el valor encontrado a cero, más efectivo ha sido el tratamiento, ya que la mayoría de la población de ácaros ha sido erradicada.

La evaluación se realizó en una muestra de 25 hojas por bloque.

Tabla 4

Eficacia de la Formulación del Ejemplo 2 en las formas móviles totales de <i>Tetranychus urticae</i> en berenjenas			
		05-Julio	15-Julio
	Días después de la 1ra aplicación (DAA) (Junio 25)	10	20
Blanco no tratado		141,50	141,25
Formulación del Ejemplo 2 0,5 Kg/ha		101,75	64,00

Eficacia de la Formulación del Ejemplo 2 en las formas móviles totales de <i>Tetranychus urticae</i> en berenjenas			
		05-Julio	15-Julio
	Días después de la 1ra aplicación (DAA) (Junio 25)	10	20
5	Formulación del Ejemplo 2 1 Kg/ha	82,50	62,50
10	Formulación del Ejemplo 2 2 Kg/ha	85,50	58,25
	Formulación del Ejemplo 2 4 Kg/ha	64,00	50,00
	BORNEO® 500 ml/ha	38,00	33,50

Es evidente a partir del gráfico relativo, en la Figura 7, que el extracto de tanino de castaño, en general, permite controlar la población general de ácaros presentes en el cultivo, dando los mejores resultados 20 días después del primer tratamiento.

Se puede observar una correlación dosis/efecto más pronunciada con respecto a las pruebas anteriores, incluso si no es lineal.

e) Evaluación de la fitotoxicidad general mostrada por los productos probados

La prueba se realizó como se indica en el inciso a).

El objetivo de esta prueba es evaluar y cuantificar cualquier forma de fitotoxicidad (clorosis, necrosis, tinción anormal, blanqueamiento, etc.) que puede aparecer en el cultivo bajo examen después de la aplicación de los productos probados, 10 y 20 días después del primer tratamiento. Los valores indicados en la Tabla 5 corresponden al porcentaje de planta que ha sufrido daños (clorosis, necrosis, tinción anormal, blanqueamiento, etc.): cuanto más cercano sea el valor encontrado a cero, mayor será la demostración de que el tratamiento no es fitotóxico.

Tabla 5

Evaluación del impacto de la Formulación del Ejemplo 2 sobre la fitotoxicidad general en berenjenas			
		05-Julio	15-Julio
	Días después de la 1ra aplicación (DAA) (Junio 25)	10	20
40	Blanco no tratado	0,00	0,00
	Formulación del Ejemplo 2 0,5 Kg/ha	0,00	0,00
45	Formulación del Ejemplo 2 1 Kg/ha	0,00	0,00
	Formulación del Ejemplo 2 2 Kg/ha	0,00	0,00
50	Formulación del Ejemplo 2 4 Kg/ha	0,00	0,00
	BORNEO® 500 ml/ha	0,00	0,00

Es evidente que el extracto de tanino, objeto de la invención, no muestra ninguna fitotoxicidad con respecto al cultivo, en ninguna dosis. Se probaron clorosis, necrosis, tinción anormal, blanqueamiento.

Ejemplo 4

Determinación de la actividad acaricida de la Formulación del Ejemplo 2 contra *Tetranychus sp.* en la soja

a) Actividad sobre los huevos de *Tetranychus sp.* (expresada como % de ataque no verificado)

En agosto de 2016, se realizó una prueba de campo (localidad Pettorazza Grimani, provincia de Rovigo, región Veneto) en soja (variedad Glycine Max).

La planta fue tratada con los siguientes productos:

- La Formulación del Ejemplo 2 dispersada en agua y aplicada en una proporción de 1 kg/ha, dosificando un volumen equivalente a 600 l/ha;
- La Formulación del Ejemplo 2 dispersada en agua y aplicada en una proporción de 2 kg/ha, dosificando un volumen equivalente a 600 l/ha.
- La Formulación del Ejemplo 2 dispersada en agua y aplicada en una proporción de 4 kg/ha, dosificando un volumen equivalente a 600 l/ha.
- La Formulación del Ejemplo 2 dispersada en agua y aplicada en una proporción de 8 kg/ha, dosificando un volumen equivalente a 600 l/ha;
- MATACAR® FL (producto comercial basado en Hexitiazox) diluido en agua en una proporción de 20 g/100 litros, dosificando un volumen equivalente a 600 l/ha. La dosis aplicada es la recomendada en la etiqueta.

Un blanco no tratado, es decir, un bloque de tierra no tratado con ningún producto, también se evaluó con fines comparativos.

Cada bloque de tierra mide $3 \times 10 \text{ m}^2$. Se efectuaron 4 repeticiones para cada tratamiento (6, incluido el bloque "no tratado") para un total de 24 bloques probados, siguiendo un esquema de tratamiento aleatorizado en campo de los bloques (RCB: Bloque Completo Aleatorizado).

En la prueba, se probó la formulación del Ejemplo 2, a diferentes dosis, y se comparó con un producto comercial anti-ácaros conocido, más específicamente el producto Matarcar® FL, contra la infestación por *Tetranychus sp.*, un ácaro bien conocido en el campo de la agricultura, cuyo daño es extremadamente temido y conspicuo.

Los productos se distribuyeron con una dosis equivalente a 600 litros/ha, por lo tanto, se pulverizaron un total de 600 litros: $10.000 \text{ m}^2 \times (30 \times 4 \text{ m}^2) = 7,2$ litros para cada prueba. La única aplicación se realizó el 11 de agosto usando un sistema de rociado directamente sobre las hojas. El 13 de agosto, 18 de agosto y 25 de agosto se llevaron a cabo las pruebas que se muestran en las siguientes tablas.

Los resultados de la actividad en los huevos de *Tetranychus sp.* en la soja se muestran en la Tabla 6 y en el gráfico relativo de la Figura 8. Los porcentajes indicados en la Tabla 6 corresponden a los porcentajes de cultivo que no fueron atacados por los huevos del ácaro: si el cultivo no fue atacado por el ácaro, el porcentaje es igual al 100%, mientras que, si el cultivo completo fue atacado, el porcentaje es del 0%.

La evaluación se realizó en una muestra de 25 hojas por bloque.

Tabla 6

Eficacia de la Formulación del Ejemplo 2 en los huevos de <i>Tetranychus sp.</i> en la soja				
		13-Ago	18-Ago	25-Ago
	Días después de la aplicación (DAA) (Agosto 11)	2	7	14
Blanco no tratado		0,0	0,0	0,0
Formulación del Ejemplo 2 1 Kg/ha		18,1	19,7	32,9
Formulación del Ejemplo 2 2 Kg/ha		13,6	9,8	22,5
Formulación del Ejemplo 2 4 Kg/ha		27,4	50,0	25,8
Formulación del Ejemplo 2 8kg/ha		46,6	52,1	55,9
MATACAR® FL 120 g/ha		31,5	43,4	52,2

Es evidente a partir del gráfico relativo, en la Figura 8, que el extracto de tanino de castaño (ya a una dosis de 4 kg/ha) muestra una actividad completamente competitiva con respecto al producto de referencia, incluso en la medida en que supera su efectividad al máximo dosificación en todas las pruebas efectuadas.

La correlación dosis/efecto es razonablemente buena incluso si no es perfectamente lineal.

Una vez más, debe tenerse en cuenta que el extracto de tanino de castaño, obtenido de acuerdo con el procedimiento descrito, a partir de una materia prima natural y sin la ayuda de sustancias químicas, demuestra su capacidad para controlar el ataque de los ácaros en un cultivo de gran difusión e importancia, mejor que los

productos de síntesis establecidos en el mercado.

b) Actividad en formas móviles de *Tetranychus sp.* (expresada como % de ataque no verificado)

La prueba se realizó como se indica en el inciso a) y los resultados de la actividad de los productos probados en las formas móviles se indican en la Tabla 7 y en el gráfico relativo de la Figura 9. Los porcentajes indicados en la Tabla 7 corresponden a los porcentajes de cultivo no atacado por las formas móviles de los ácaros: si el cultivo no fue atacado por el ácaro, el porcentaje es igual al 100%, mientras que, si el cultivo completo fue atacado, el porcentaje es del 0%

La evaluación se realizó en una muestra de 25 hojas por bloque.

Tabla 7

Eficacia de la Formulación del Ejemplo 2 en las formas móviles de <i>Tetranychus sp.</i> en la soja				
		13-Ago	18-Ago	25-Ago
	Días después de la aplicación (DAA) (Ago 11)	2	7	14
Blanco no tratado		0,0	0,0	0,0
Formulación del Ejemplo 2 1 Kg/ha		33,2	23,9	10,2
Formulación del Ejemplo 2 2 Kg/ha		39,8	39,2	16,7
Formulación del Ejemplo 2 4 Kg/ha		39,5	34,4	48,6
Formulación del Ejemplo 2 8kg/ha		68,2	70,9	72,8
MATACAR® FL 120 g/ha		52,9	47,1	67,7

Es evidente a partir del gráfico relativo, en la Figura 9, que el extracto de tanino de castaño a una dosis de 8 kg/ha es mucho más eficaz que el producto de referencia en todas las pruebas efectuadas.

La correlación dosis/efecto es bastante buena y relativamente lineal.

Esta prueba b) también confirma lo que se indicó anteriormente para la prueba a): el extracto de tanino de castaño demuestra, a la dosis más alta bajo examen, un control mucho mejor del ataque del ácaro con respecto a Matarcar® FL, cuya dosis de 120 g/ha es la recomendada en la etiqueta.

c) Actividad sobre las formas móviles totales de *Tetranychus sp.* (expresada como número total de formas móviles)

La prueba se realizó como se indica en el inciso a) y los resultados de la actividad en las formas móviles totales se indican en la Tabla 8 y en el gráfico relativo de la Figura 10.

Por lo tanto, los números indicados en la Tabla 8 corresponden al número de formas móviles totales, es decir, al número de formas vivas que todavía están presentes en el cultivo: cuanto más cercano es el valor encontrado a cero, más efectivo ha sido el tratamiento, ya que la mayoría de la población de ácaros ha sido erradicada.

La evaluación se realizó en 25 hojas por bloque.

Tabla 8

Eficacia de la Formulación del Ejemplo 2 en las formas móviles totales de <i>Tetranychus sp.</i> en la soja				
		13- Ago	18- Ago	25- Ago
	Días después de la aplicación (DAA) (Agosto 11)	2	7	14
Blanco no tratado		563,6	544,8	468,8
Formulación del Ejemplo 2 1 Kg/ha		368,8	415,7	432,8

Eficacia de la Formulaci3n del Ejemplo 2 en las formas m3viles totales de <i>Tetranychus sp.</i> en la soja				
		13- Ago	18- Ago	25- Ago
	Días despu3s de la aplicaci3n (DAA) (Agosto 11)	2	7	14
5	Formulaci3n del Ejemplo 2 2 Kg/ha	381,5	349,3	422,3
	Formulaci3n del Ejemplo 2 4 Kg/ha	342,6	332,6	218,3
10	Formulaci3n del Ejemplo 2 8kg/ha	174,8	160,7	151,5
	MATACAR® FL 120 g/ha	255,2	275,3	144,8

Es evidente a partir del gr3fico relativo, en la Figura 10, que el extracto de tanino de castaño a una dosis de 8 kg/ha es mucho m3s eficaz que el producto de referencia en todas las pruebas efectuadas.

La correlaci3n dosis/efecto es buena en las dosis m3s altas. Se confirman los resultados indicados anteriormente para las pruebas a) y b).

d) Evaluaci3n de la fitotoxicidad general mostrada por los productos probados

La prueba se realiz3 como se indica en el inciso a). El objetivo de esta prueba es evaluar y cuantificar cualquier forma de fitotoxicidad (clorosis, necrosis, tinci3n anormal, blanqueamiento, etc.) que puede aparecer en el cultivo bajo examen despu3s de la aplicaci3n de los productos probados, en el tiempo 0 y 2 y 7 d3as despu3s del tratamiento.

Los valores indicados en la Tabla 9 corresponden al porcentaje de planta que ha sufrido daños (clorosis, necrosis, tinci3n anormal, blanqueamiento, etc.): cuanto m3s cercano sea el valor encontrado a cero, mayor ser3 la demostraci3n de que el tratamiento no es fitot3xico.

Tabla 9

		11-Ago	13-Ago	18-Ago
	Días despu3s de la aplicaci3n (DAA) (Agosto 11)	0	2	7
	Blanco no tratado	0,0	0,0	0,0
	Formulaci3n del Ejemplo 2 1 Kg/ha	0,0	0,0	0,0
	Formulaci3n del Ejemplo 2 2 Kg/ha	0,0	0,0	0,0
	Formulaci3n del Ejemplo 2 4 Kg/ha	0,0	0,0	0,0
	Formulaci3n del Ejemplo 2 8 Kg/ha	0,0	0,0	0,0
	MATACAR® FL 120 g/ha	0,0	0,0	0,0

Es evidente que el extracto de tanino objeto de la invenci3n, en cualquier dosis, no muestra ninguna fitotoxicidad con respecto al cultivo. Se probaron clorosis, necrosis, tinci3n anormal, blanqueamiento.

Leyendas

Figura 1

Perfil cromatogr3fico relacionado con la Fracci3n 5, registrado a 280 nm: 1. 3cido g3lico, 2. Monogaloil glucosa; 3. Galotanino m/z 677; 4. Pentagaloil glucosa; 5. Galoil-HHDP glucosa; 6. HHDP glucosa; 7. Elagitanino m/z 925; 8. Castalagina/vescalagina; 9. Elagitanino m/z 1085; 10. 3cido el3gico.

Figura 2

Perfil cromatogr3fico relacionado con la dispersi3n acuosa de la Fracci3n 8 (secada por pulverizaci3n) registrado a 280 nm: 1. Monogaloil glucosa; 2. 3cido g3lico 3. Digaloil glucosa; 4. Trigaloil glucosa; 5. Tetragaloil glucosa; 6. Is3mero pedunculagina; 7. Elagitanino m/z 683; 8. Elagitanina m/z 925; 9. Castalagina/vescalagina; 10. Elagitanina m/z 613; 11. Galoil-HHDP glucosa; 12. 3cido el3gico.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un extracto de tanino de castaño (*Castanea sativa* Mill.), como agente acaricida no fitotóxico, solo o en una mezcla con otros principios activos que tienen una actividad acaricida, siendo aplicado dicho extracto de tanino de castaño a cultivos agrícolas con fines de prevención o tratamiento.
2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el extracto de tanino de castaño se obtiene mediante un procedimiento, sin el uso de aditivos químicos, que comprende una etapa de extracción en agua por lixiviación a partir de biomásas vegetales, etapas de filtración, etapas de concentración con medios físicos, y una posible etapa final de secado.
3. Uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que los medios físicos están representados por nanofiltración y/o ósmosis inversa.
4. Uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el extracto de tanino de castaño puede estar en forma líquida o sólida, preferentemente en forma sólida.
5. Uso de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 2 a 4, en el que la biomasa vegetal consiste en cualquier parte de la planta del castaño seleccionada de tronco, hojas, ramas o corteza o cualquier combinación de los mismos.
6. Uso de acuerdo con una o más de las reivindicaciones precedentes, en el que el extracto de tanino de castaño se usa solo.
7. Uso de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 2 a 6, en el que el extracto de tanino de castaño consiste en una fracción correspondiente a un concentrado obtenido de una primera etapa de nanofiltración, una fracción correspondiente a un concentrado obtenido de una segunda etapa de nanofiltración, un fracción correspondiente a un concentrado obtenido de una etapa de ósmosis inversa, o una fracción correspondiente a un polvo obtenido al final de la etapa de secado, solo o en cualquier combinación de los mismos.
8. Uso de acuerdo con una o más de las reivindicaciones precedentes, en el que el extracto de tanino de castaño, solo o en una mezcla con otros principios activos que tienen una actividad acaricida, es aplicado en estado líquido o sólido a cultivos agrícolas con fines de prevención o tratamiento.
9. Uso de acuerdo con una o más de las reivindicaciones precedentes, en el que el extracto de tanino de castaño es aplicado en una cantidad que varía de 100 g a 10.000 g por hectárea, preferentemente de 500 g a 8.000 g por hectárea, de cultivo agrícola.
10. Una formulación acaricida agronómica no fitotóxica, que comprende extracto de tanino de castaño (*Castanea sativa* Mill.), uno o más tensioactivos, uno o más dispersantes y un agente antiespumante, en el que el extracto de tanino de castaño se obtiene mediante un procedimiento, sin el uso de aditivos químicos, que comprende una etapa de extracción en agua por lixiviación, a partir de biomásas vegetales, etapas de filtración, etapas de concentración con medios físicos y una posible etapa final de secado.
11. La formulación de acuerdo con la reivindicación 10, en la que el extracto de tanino de castaño es extracto de tanino de castaño en forma de polvo mezclado con un tensioactivo basado en alquil sulfonato de sodio, un dispersante basado en sulfonatos de alquil naftaleno y un agente antiespumante química y agronómicamente aceptable.
12. La formulación de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 10 y 11, en la que el extracto de tanino de castaño en forma de polvo está presente en una cantidad que varía del 90 al 95% en peso, el agente tensioactivo o humectante en una cantidad que varía del 2 al 6% en peso, el dispersante en una cantidad que varía del 2 al 6% en peso, y el agente antiespumante en una cantidad que varía del 1 al 2% en peso, con respecto al peso total de la formulación.
13. La formulación de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 10 a 12, en la que dicha formulación también comprende uno o más principios activos adicionales, preferentemente que tienen una actividad acaricida.
14. Uso de la formulación de acuerdo con una o más de las reivindicaciones 11 a 13, para el control de ácaros, en cultivos de interés agrícola y hortícola cuyo uso consiste en aplicar dosis eficaces y no fitotóxicas de formulaciones/composiciones que comprenden extracto de tanino de castaño y, opcionalmente, uno o más principios activos conocidos que tienen una actividad acaricida, compatible con los mismos, en cualquier parte de la planta a proteger.

15. Uso de la formulación de acuerdo con la reivindicación 14, en la que la formulación es aplicada al cultivo agrícola, en estado líquido o sólido, con fines de prevención o tratamiento.

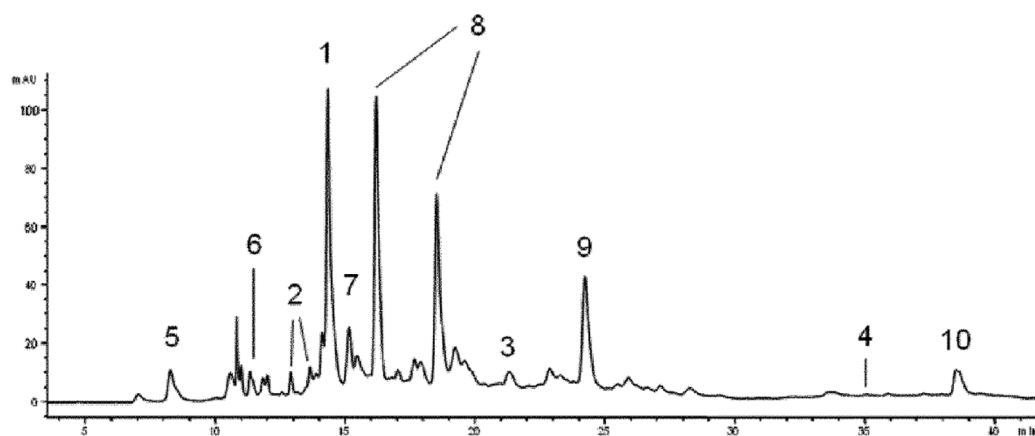


FIG. 1

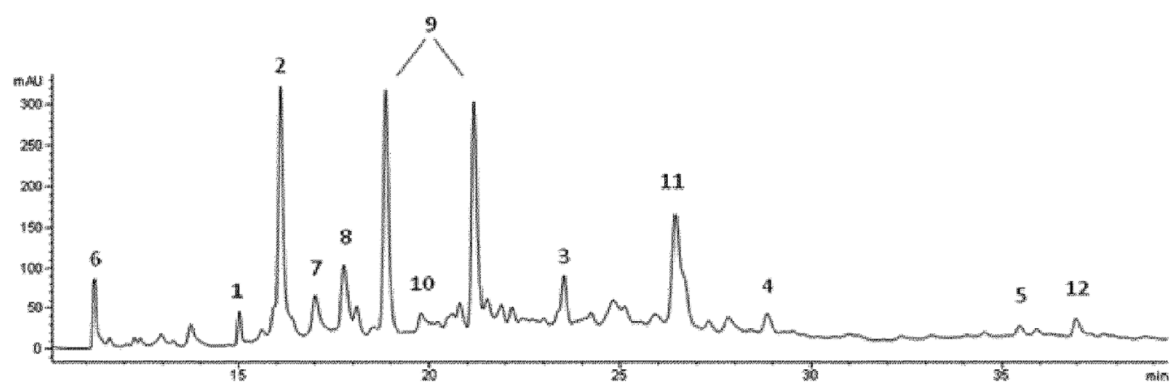


FIG. 2

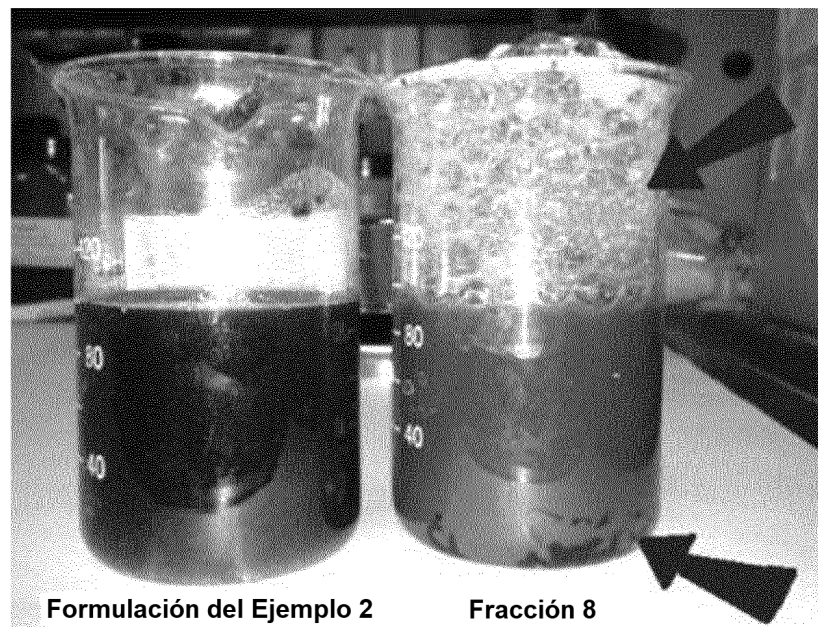


FIG. 3

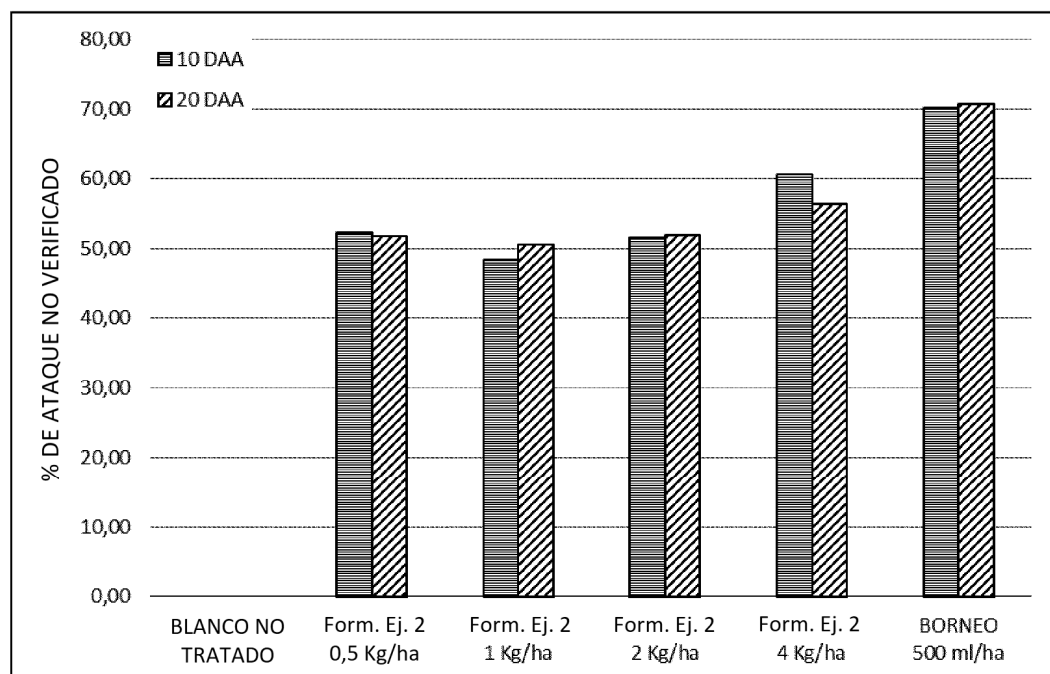


FIG. 4

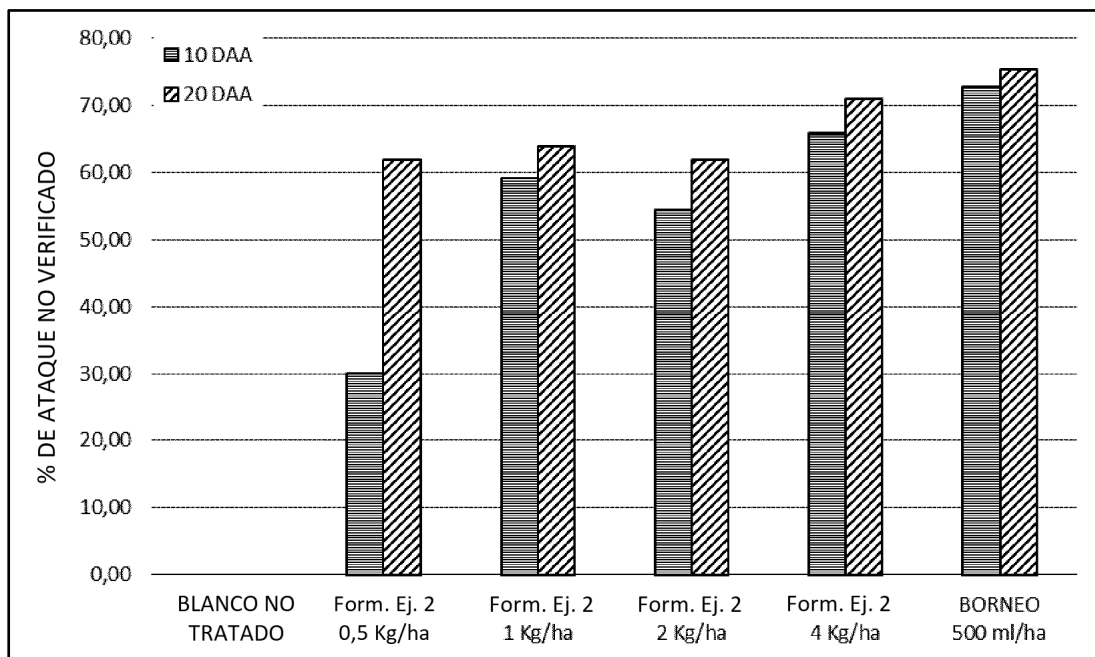


FIG. 5

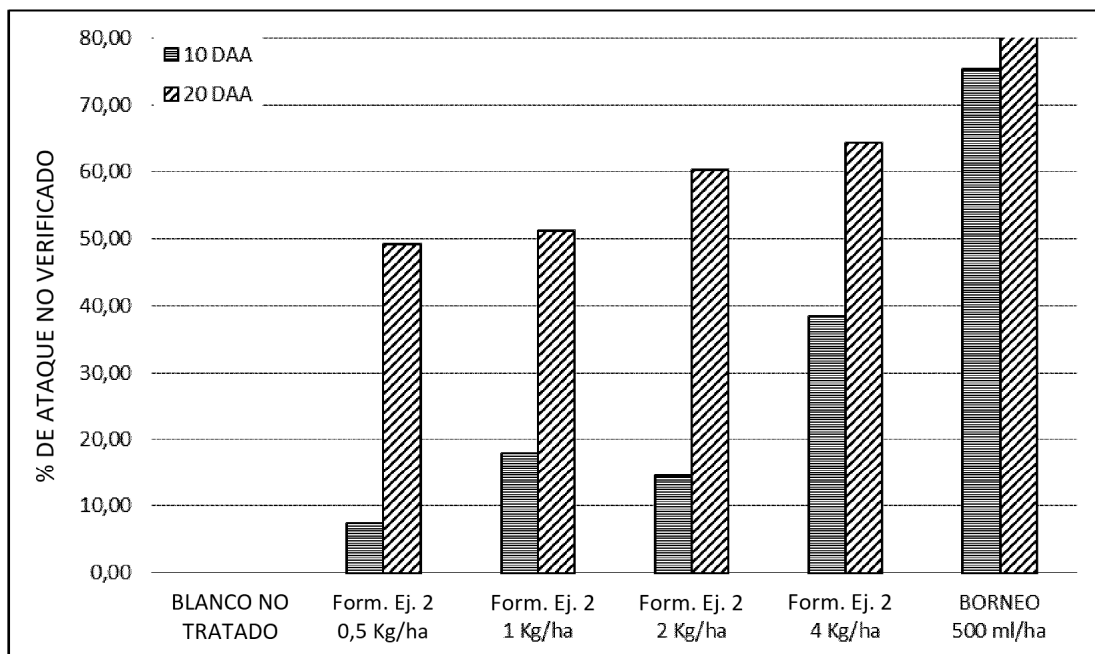


FIG. 6

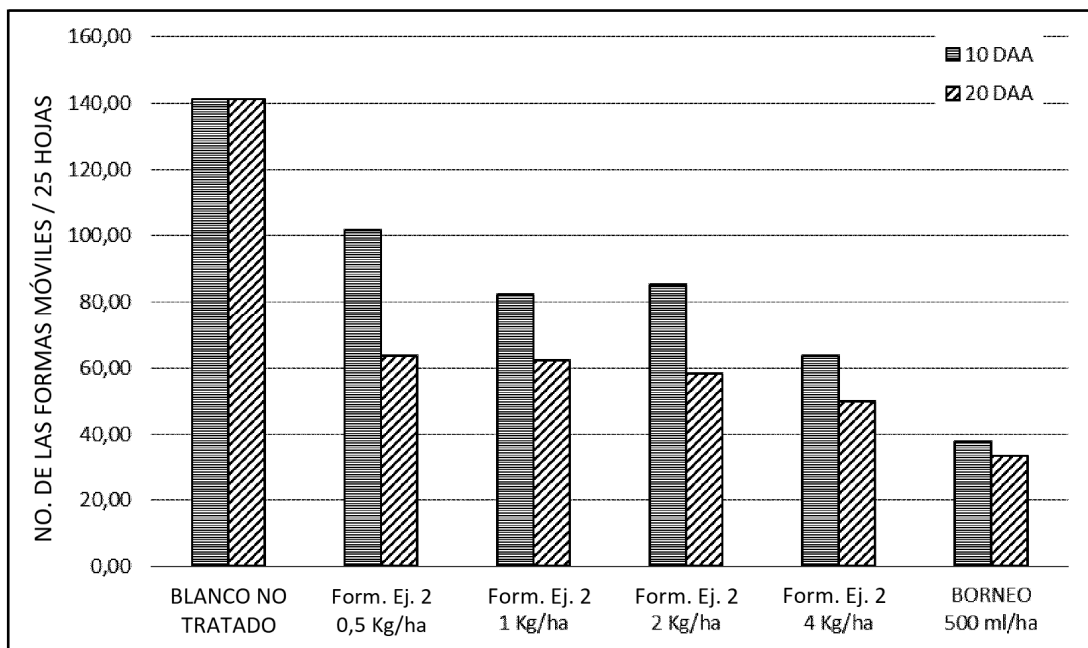


FIG. 7

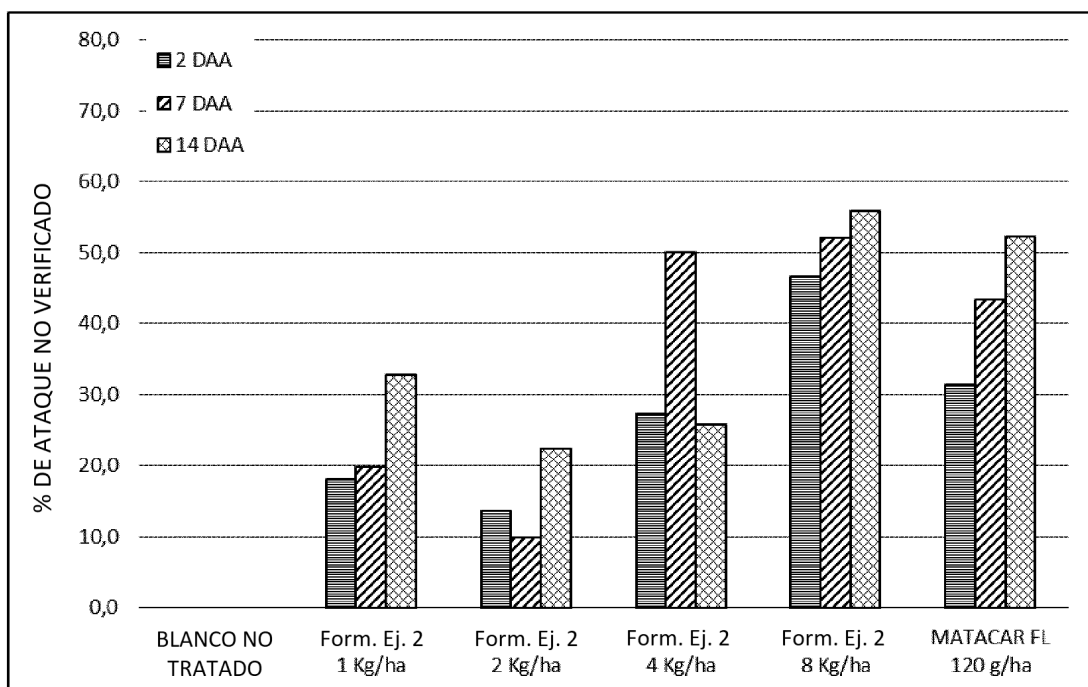


FIG. 8

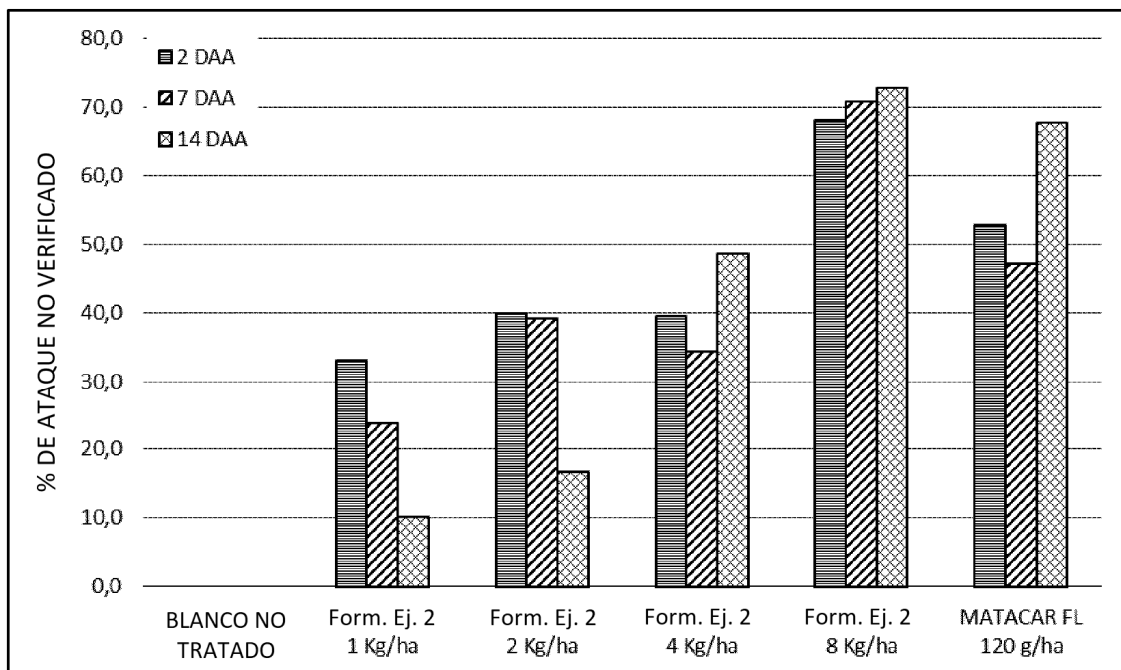


FIG. 9

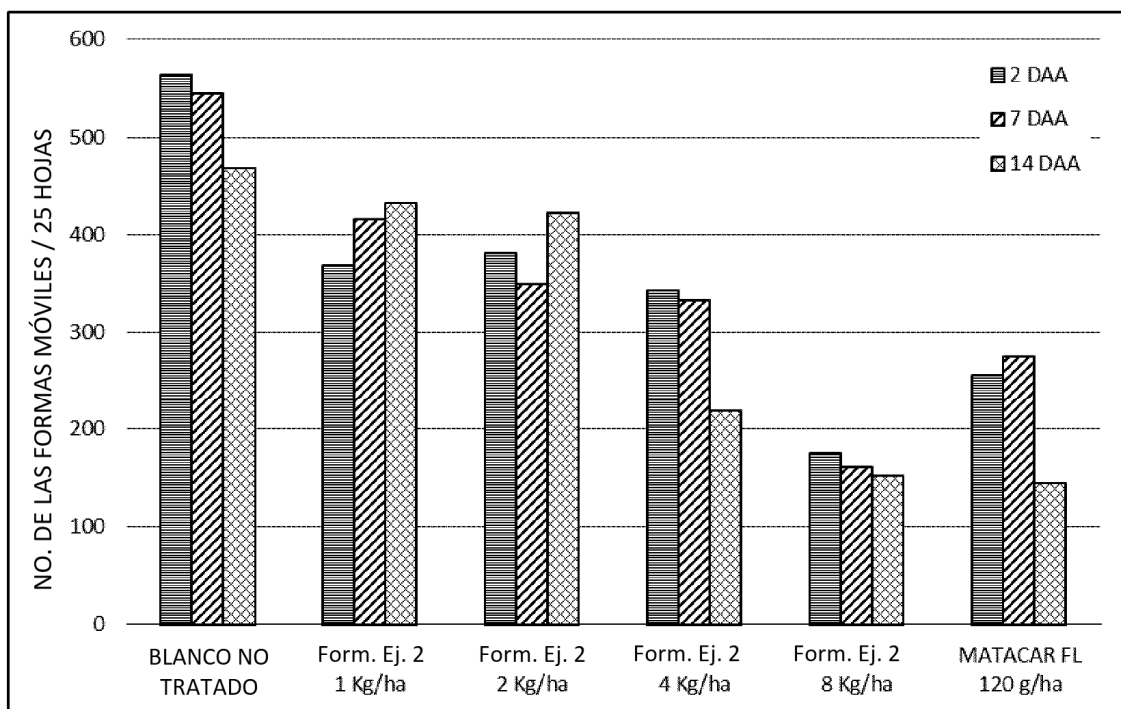


FIG. 10