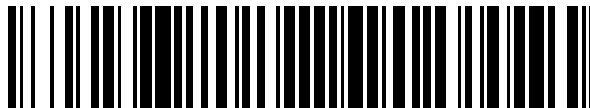


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 550 481**

51 Int. Cl.:

**A01N 37/04** (2006.01)

**A01P 21/00** (2006.01)

**C05G 3/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.08.2008 E 08843231 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **29.07.2015 EP 2187736**

54 Título: **Resistencia a patógenos de plantas**

30 Prioridad:

**16.08.2007 US 956301 P**

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

**10.11.2015**

73 Titular/es:

**THE UNIVERSITY OF CHICAGO (50.0%)  
5801 South Ellis Avenue  
Chicago, IL 60637, US y  
UT-BATTELLE, LLC (50.0%)**

72 Inventor/es:

**GREENBERG, JEAN T.;  
JUNG, HO WON y  
TSCHAPLINSKI, TIMOTHY**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 550 481 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

Resistencia a patógenos de plantas

La presente solicitud reivindica prioridad a la solicitud provisional de Estados Unidos N° de serie 60/956.301, presentada el 16 de agosto de 2007.

- 5 El gobierno de los Estados Unidos tiene derechos en la presente invención de conformidad con el número de contrato DE-AC05-00OR22725 entre el departamento de energía de los Estados Unidos y UT-Battelle, LLC y también de conformidad con el número de contrato IOB-0450207 establecido por la National Science Foundation de Estados Unidos.

### Antecedentes

- 10 El ácido azelaico, derivados y análogos del mismo aumentan la resistencia a patógenos de plantas y sensibilizan a las plantas a resistir infecciones por patógenos.

Las plantas activan defensas tanto locales como sistémicas contra muchos patógenos (virulentos, avirulentos y no huéspedes) en respuestas que implican la inducción de cientos de genes. Por tanto, las plantas hacen una inversión sustancial en respuestas de defensa que ayudan a limitar el crecimiento de patógenos. Las respuestas de las plantas a muchos patógenos a menudo se clasifican como compatibles o incompatibles, en base al grado de enfermedad. En estos dos extremos, el patógeno típicamente crece y causa síntomas de enfermedad extensiva (el caso compatible) o está relativamente restringido en su replicación (el caso incompatible). En el caso de respuestas incompatibles (también llamadas "respuestas de resistencia"), la señalización se inicia por la percepción de proteínas de avirulencia (Avr) derivadas de patógenos que interactúan directa o indirectamente con proteínas R vegetales afines. Incluso en interacciones compatibles, ahora está claro que la planta a menudo puede montar una respuesta de defensa que es parcialmente eficaz en la limitación del patógeno. El perfilado de expresión global después de la infección con patógeno sugiere que las respuestas compatibles e incompatibles afectan en gran medida a los mismos conjuntos de genes diana, aunque la velocidad y grado al cual se inducen es inferior en el caso compatible. Un subconjunto de estos genes diana probablemente se induce porque codifican importantes proteínas reguladoras que participan directamente en las cascadas de transducción de señales o generan intermedios de transducción de señales. La comprensión del modo en que estos genes reguladores se activan en diferentes condiciones puede dar una percepción significativa sobre el flujo de señales a través de circuitos reguladores.

- La inducción de la síntesis de ácido salicílico (SA) es necesaria para conferir resistencia contra una diversidad de patógenos compatibles e incompatibles. Varios mutantes con acumulación o transducción de señales reducida de SA también pueden presentar susceptibilidad aumentada a patógenos como *Pseudomonas syringae*, un patógeno extracelular gram-negativo.

Además de ser importante para las respuestas locales de defensa, el SA se ha implicado en una respuesta adaptativa de planta completa contra patógenos llamada resistencia adquirida sistémica (SAR). Después de la infección con un patógeno avirulento, el SA se acumula en el tejido no infectado sistémico. Este tejido sistémico muestra resistencia aumentada a muchos patógenos que por el contrario serían altamente virulentos. Las plantas que no pueden acumular o percibir niveles aumentados de SA en tejidos sistémicos no desarrollan SAR. Sin embargo, se cree que el SA no es la señal de defensa móvil clave en SAR y que señales aún no identificadas generadas durante la respuesta de defensa también pueden desempeñar una tarea en el establecimiento de SAR. El descubrimiento de la identidad y propiedades de estas moléculas de señalización no identificadas es importante, ya que éstas son señales de defensa o intermedios de defensa potenciales. El documento SU 510462 A describe una composición fertilizante que comprende ácido azelaico y sales del mismo en combinación con un nutriente de plantas. Nagaoka y col. (Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 61: 103-108 (1995)) se refieren a compuestos fungitóxicos para las raíces de tomate típico. Los autores indican que los compuestos fungitóxicos relacionados con resistencia del tomate típico contra enfermedad transmitida por la tierra se consideran alcaloides. Kato y col. (Kagaku to Seibutsu - Chemistry and Biology 24:183-188 (1986)) mencionan el ácido azelaico como compuesto fungitóxico.

### Sumario

- La invención se define por las reivindicaciones adjuntas. Por consiguiente, la invención proporciona un procedimiento para sensibilizar a una planta para inducir una respuesta de resistencia contra un patógeno, comprendiendo el procedimiento: obtener una composición que comprende una cantidad eficaz de ácido azelaico o una sal del mismo; y poner en contacto componente de follaje vegetal con la composición para sensibilizar a la planta para inducir su respuesta de resistencia contra un ataque de patógeno.

El ácido azelaico y sus sales sensibilizan a las plantas para activar su respuesta de resistencia contra un ataque de patógeno. El ácido azelaico y sus sales inducen una respuesta de defensa de la planta antes del ataque del patógeno en ausencia de expresión activadora de la mayoría de los genes relacionados con defensa.

- 55 Un procedimiento para aumentar la resistencia a un patógeno en una planta incluye:

- (a) obtener una composición que incluye una cantidad eficaz de ácido azelaico o una sal del mismo; y
- (b) poner en contacto un componente de follaje vegetal con la composición para aumentar la resistencia al patógeno en la planta.

5 Una sal adecuada de ácido azelaico es generalmente soluble en agua. Ejemplos de sales de ácido azelaico incluyen azelato sódico, azelato potásico, y ésteres de ácido azelaico.

Un procedimiento para sensibilizar a una planta para inducir su mecanismo de defensa contra un patógeno incluye:

- (a) obtener una composición que incluye ácido azelaico o una sal del mismo; y
- (b) poner en contacto la planta con la composición para sensibilizar a la planta para inducir su mecanismo de defensa en respuesta a un ataque de patógeno.

10 Algunos ejemplos de patógenos de plantas incluyen patógenos bacterianos, fúngicos, oomicetes, y víricos. Las plantas adecuadas para tratamiento como se describe en el presente documento incluyen monocotiledóneas y dicotiledóneas. Por ejemplo, una planta monocotiledónea es una planta de cultivo. Una planta adecuada también es una planta ornamental.

15 La concentración de ácido azelaico en una composición puede incluir un intervalo de aproximadamente 0,01 mM a 10 mM y cualquier concentración intermedia tal como 0,1 mM, 0,5 mM, 1 mM, 2 mM, y 5 mM. Si el ácido azelaico se mezcla con uno o más componentes inductores de defensa diferentes, la concentración de ácido azelaico puede ser inferior. El ácido azelaico o su derivado, incluyendo análogos, se pulverizan sobre un follaje vegetal. La composición también puede captarse a través de las raíces de la planta. La composición generalmente se administra en presencia de luz.

20 Las composiciones desveladas en el presente documento también pueden administrarse como una combinación con un nutriente de plantas. La composición puede administrarse antes de un ataque de patógeno o durante un ataque de patógeno.

Las composiciones también pueden incluir un componente para inducir mecanismos de defensa que dependen de etileno o ácido jasmónico.

25 Un procedimiento para inducir resistencia a enfermedad en una planta incluye:

- (a) pre-tratar la planta con una concentración eficaz de una composición que consiste esencialmente en ácido azelaico y cualquier otro componente que no afecta de forma material al funcionamiento del ácido azelaico;
- (b) inducir resistencia a enfermedad en plantas sensibilizando la respuesta de defensa de la planta contra un patógeno.

30 Un procedimiento para inducir respuesta de resistencia adquirida sistémica en una planta incluye:

- (a) aplicar una composición que incluye ácido azelaico o una sal del mismo a uno o más componentes de follaje de la planta; y
- (b) inducir una respuesta de resistencia sistémica en la planta completa contra un patógeno.

Un procedimiento para inducir resistencia a patógeno en una planta incluye:

- 35 (a) poner en contacto la planta con una composición que incluye ácido azelaico o una sal del mismo;
- (b) poner en contacto la planta con un agente que activa una o más respuestas de defensa de la planta; y
- (c) inducir resistencia a patógeno en la planta.

Un agente adecuado que puede usarse junto con ácido azelaico o su sal incluye por ejemplo, agonistas de ácido salicílico, especies reactivas de oxígeno, benzotiazol, ácido jasmónico, y etileno.

40 Una composición inductora de defensa vegetal incluye una cantidad eficaz de ácido azelaico o una sal del mismo y un nutriente de plantas.

### **Breve descripción de los dibujos**

La FIG. 1 demuestra que exudados de peciolo de plantas infectadas con patógeno tienen compuestos de señalización que inducen resistencia a enfermedad y marcadores de defensa en plantas de *Arabidopsis* Col. (A) Expresión de *PR1* en hojas de Col de tipo silvestre a los 2 días después de tratamiento con EDTA 0,25 mM y exudados de peciolo de Col tratada de forma simulada (Col-Mex) y de *Pseudomortas syringae* pv. *maculicola* que porta Col *avrRpt2*-inoculado (Col-Pex). Se usó *AtEF1-α* como control interno para la cantidad de ARNm. (B) Crecimiento bacteriano reducido en hojas Col pre-tratadas mediante una inoculación por jeringa con exudados de peciolo inducidos con patógeno (Col-Pex). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,001$ , ensayo t,  $n=6$ ). (C) Expresión génica relativa en hojas Col a los 2 días después de infiltrar diferentes exudados que se recogieron en diversos momentos después de la inoculación de patógeno. La cantidad de asteriscos indica muestras que eran diferentes entre sí a un nivel dado de significancia estadística (\*\* $p < 0,01$ ). Se

aplicó EDTA 0,25 mM como control (M).

La FIG. 2 ilustra que algunos mutantes de defensa muestran atenuación de inducción de genes relacionados con defensa y/o resistencia a patógenos inducida por exudados Col-Pex. (A) Expresión relativa de genes relacionados con defensa en hojas de plantas de tipo silvestre (TS) (Col) y mutantes a los 2 días después del tratamiento de exudados activos. (B) Crecimiento de *Pseudomonas syringae* pv *maculicola* cepa *PmaDG3* en hojas de plantas de tipo silvestre Col y mutantes tratadas con Col-Mex (barras blancas) y Col-Pex (barras de trazos). Se infiltró *PmaDG3* (DO600=0,0001) en hojas a los 2 días después del pre-tratamiento de exudados. El crecimiento de bacterias se midió en el día 3 después de la inoculación. La cantidad de asteriscos indica muestras que fueron diferentes entre sí a un nivel dado de significancia estadística (\* p<0,05, \*\*p<0,005).

La FIG. 3 demuestra que el ácido azelaico en componente de exudado de peciolo induce resistencia en plantas contra infección por *PmaDG3*. (A) Respuesta local y sistémica de resistencia por tratamiento con ácido azelaico contra infecciones de *PmaDG3* virulento. Se trataron hojas locales o sistémicas de plantas de 21~23-días de edad con MES 5 mM (pH 5,6) (barras negras) o ácido azelaico 1 mM en MES 5 mM (pH 5,6, barras blancas) 2 días antes de la exposición con la cepa *PmaDG3* virulenta (DO600=0,0001). Se introdujeron MES y ácido azelaico en hojas mediante infiltración con jeringa. El ácido azelaico indujo una reducción significativa en los síntomas de enfermedad de hojas locales y sistémicas y una reducción en el crecimiento de patógenos. (B) Crecimiento de cepas avirulentas *PmaDG6* (*PmaDG3* que porta *avrRpt2*) y *PmaDG34* (*PmaDG3* que porta *avrRpm1*) en hojas de Col pretratadas con MES 5 mM (barras negras) o ácido azelaico 1 mM en MES 5 mM (pH 5,6, barras blancas). (C) Se pretrataron plantas de veintitrés días de edad con ácido azelaico 1, 10, 100, y 1000  $\mu$ M en MES 5 mM o MES 5 mM durante 2 días y después se sometieron a infección con *PmaDG3* virulento a DO600=0,0001. Los tratamientos con ácido azelaico 100 y 1000  $\mu$ M provocaron reducción significativa del crecimiento de bacterias en las condiciones ensayadas. (D) Las plantas se trataron con MES 5 mM o ácido azelaico 1 mM durante los tiempos indicados antes de la inoculación con *PmaDG3* virulento. Las inoculaciones con *PmaDG3* se realizaron entre el mediodía y la 1 pm. El ácido azelaico (Aza) en MES 5 mM se aplicó a las plantas usando un pulverizador manual. El crecimiento de bacterias se midió en el día 3 después de la inoculación. La cantidad de asteriscos indica muestras que fueron significativamente diferentes entre sí a un nivel dado (\* p<0,05, \*\*p<0,01). La protección significativa sucedía cuando las inoculaciones se realizaban 48 h después de pulverizar las plantas. (E) Las plantas se trataron e infectaron como en (D), excepto que las infecciones se realizaron entre las 8 y 9 pm. (\*p<0,04). Estos experimentos se realizaron de dos a cuatro veces para confirmar la reproducibilidad.

La FIG. 4 muestra el crecimiento de *Pseudomonas syringae* (cepa *PmaDG3*) en hojas de plantas deficientes para resistencia adquirida sistémica (SAR) y mutantes deficientes en ácido salicílico (SA). Se aplicó ácido azelaico 1 mM en MES 5 mM a mutantes de tipo silvestre Col, deficientes en SAR, y deficientes en SA (A) y mutantes insensibles a ácido jasmónico/etileno (B) 2 días antes de la inoculación de exposición de *PmaDG3* virulento (DO600=0,0001). El ácido azelaico no indujo resistencia vegetal en los mutantes deficientes en SAR y deficientes en SA ensayados en el presente documento. Esto sugiere que estos componentes celulares eran necesarios para la respuesta de resistencia inducida por ácido azelaico en Arabidopsis. En contraste, la mutación *jar1* y *etr1* no afectó a la resistencia inducida por azelaico en Arabidopsis. Los experimentos se repitieron un mínimo de tres veces. La cantidad de asteriscos indica muestras que fueron diferentes entre sí a niveles dados de significancia estadística (\* p<0,05, \*\*p<0,01).

La FIG. 5 muestra que el ácido azelaico no afecta a los niveles endógenos de ácido salicílico y camalexina pero induce la expresión de un gen de proteína de transferencia de lípidos (LTP) en *Arabidopsis* de tipo silvestre Col. (A) Curso de tiempo de niveles de ácido salicílico libre y total en hojas de Col después de tratamiento por pulverización con MES 5 mM (barras negras) y ácido azelaico 1 mM en MES 5 mM (barras blancas). (B) Niveles de camalexina en hojas de Col después de tratamiento con ácido azelaico por pulverización. Cada experimento en (A) y (B) se realizó con tres muestras diferentes y los experimentos se repitieron tres veces. (C) La expresión de un gen de LTP (At2 g38530) estaba elevado después de tratamiento con ácido azelaico realizado como en (A), sin embargo la expresión de *PR1* y muchos otros genes relacionados con defensa estuvo inalterada. Se usó RT-PCR (23 ciclos) para evaluar la expresión génica, sirviendo EFla como control de carga.

La FIG. 6 demuestra que el ácido azelaico sensibiliza la señalización de defensa dependiente de SA. (A) Los niveles endógenos de SA libre y total en plantas tratadas con ácido azelaico fueron significativamente mayores que aquellos en plantas tratadas de forma simulada durante infecciones por *Pseudomonas syringae*. Se aplicaron MES 5 mM o ácido azelaico 1 mM en MES 5 mM a hojas de Arabidopsis de tipo silvestre Col 2 días antes de la inoculación de MgSO<sub>4</sub> 10 mM (M), *PmaDG3* virulento (V) y *PmaDG6* avirulento que expresa *AvrRpt2* (Av). Se recogieron hojas en diferentes momentos después de la inoculación y se midió el nivel endógeno de SA libre y total. (B) Expresión relativa de *PR1* en hojas de plantas tratadas de forma simulada y plantas tratadas con ácido azelaico después de infección con *PmaDG3* virulento. La expresión de *PR1* se representa en una escala log. La cantidad de asteriscos indica muestras que fueron diferentes entre sí a niveles dados de significancia estadística (\*p<0,075, \*\*p<0,05, \*\*\*p<0,01).

La FIG. 7 demuestra que exudados de plantas infectadas con patógeno contienen significativamente más ácido azelaico que exudados de plantas tratadas de forma simulada. Se analizaron muestras de exudado de hojas tratadas con *PmaDG6* (Col-Pex) o MgSO<sub>4</sub> 10 mM (Col-Mex) durante 72 h usando CG-EM. Los exudados activos contenían un promedio de niveles 6,2 veces mayores de ácido azelaico en comparación con exudados inactivos (5,1  $\mu$ M en exudados inducidos de forma simulada, 31,6  $\mu$ M en exudados inducidos con patógeno, p=0,042, ensayo t).

**Descripción detallada**

Se desvelan en este documento procedimientos y composiciones que inducen resistencia a enfermedades en plantas activando mecanismos endógenos de defensa. El ácido azelaico, un componente de exudado vegetal, demuestra sensibilizar a las plantas contra el ataque de patógenos. El ácido azelaico en sí mismo potencia la protección contra el ataque de patógenos en plantas activando un mecanismo de señalización subyacente de la planta en ausencia de una inducción sustancial de 'genes de defensa' (por ejemplo, genes relacionados con patogénesis (PR)). Sin embargo, tras el ataque de patógenos las plantas tratadas con ácido azelaico presentan protección potenciada contra infección por patógenos en comparación con plantas no tratadas. Esta protección está acompañada por una activación más fuerte de respuestas de defensa que indica que el tratamiento con ácido azelaico sensibiliza la respuesta de resistencia de la planta contra el ataque de patógenos. El tratamiento con ácido azelaico no impone una carga metabólica significativa en las plantas en ausencia de un ataque de patógenos. Los análogos y derivados estructurales y funcionales de ácido azelaico también son adecuados en la activación de una respuesta de resistencia de la planta contra patógenos.

Se aplican composiciones que incluyen una cantidad eficaz de ácido azelaico a las plantas por procedimientos apropiados de aplicación conocidos para los especialistas en la técnica. Por ejemplo, se incluyen formulaciones estables de ácido azelaico o sus derivados junto con mezcla nutriente de plantas como parte de un enfoque de alimentación radicular. También pueden usarse agentes humectantes foliares tales como, por ejemplo, un tensoactivo cuando se usa pulverización aérea para poner en contacto las plantas con ácido azelaico o sus derivados. Las composiciones pueden aplicarse por, por ejemplo, pulverización, atomizado, espolvoreo, dispersión, recubrimiento o espolvoreo de componentes de follaje en el momento en que el patógeno de plantas ha comenzado a aparecer o antes de la aparición de patógenos como medida protectora. Puede usarse cualquier medio que ponga las composiciones basadas en ácido azelaico en contacto con las plantas en la práctica de las realizaciones. Las composiciones pueden formularse con un vehículo aceptable en una o más composiciones es decir, por ejemplo, una suspensión, una solución, una emulsión, un polvo de espolvoreo, un gránulo dispersable, un polvo humectable, un concentrado emulsionable, un aerosol, un gránulo impregnado, un adyuvante, una pasta recubrible, o también encapsulaciones en, por ejemplo, sustancias poliméricas.

Las composiciones que contienen ácido azelaico o su derivado desveladas en el presente documento pueden obtenerse mediante la adición de un agente tensoactivo, un vehículo inerte, un conservante, un humectante, un estimulante de alimentación, un atrayente, una agente de encapsulación, un aglutinante, un emulsionante, un colorante, un protector de UV, un tampón, un agente de flujo o fertilizantes, donantes de micronutrientes u otras preparaciones que influyen en el crecimiento vegetal.

Se conocen vehículos agrónomicamente aceptables e incluyen, por ejemplo, vehículos sólidos tales como polvos finos o gránulos de arcilla caolín, arcilla atapulgita, bentonita, arcilla ácida, pirofillita, talco, tierra de diatomeas, calcita, almidón de maíz en polvo, cáscara de nuez en polvo, urea, sulfato de amonio, dióxido de silicio hidratado sintético y similares. Los vehículos líquidos aceptables incluyen, por ejemplo, hidrocarburos aromáticos tales como xileno, metilnaftaleno y similares, alcoholes tales como isopropanol, etilenglicol, cellosolve y similares, cetonas tales como acetona, ciclohexanona, isoforona y similares, aceites vegetales tales como aceite de soja, aceite de algodón, aceite de maíz y similares, dimetilsulfóxido, acetonitrilo, agua y similares.

Los agentes humectantes adecuados incluyen por ejemplo sulfonatos de alquilbenceno y alquilnaftaleno, alquil y alquilaril sulfonatos, óxidos de alquilamina, ésteres de alquil y alquilaril fosfato, organosiliconas, agentes humectantes fluoro-orgánicos, etoxilatos de alcohol, aminas alcoxiladas, alcoholes grasos sulfatados, aminas o amidas ácidas, ésteres de ácido de cadena larga de isotionato sódico, ésteres de sulfosuccinato sódico, ésteres de ácido graso sulfatado o sulfonatado, sulfonatos de petróleo, aceites vegetales sulfonatados, glicoles acetilénicos de la dieta, copolímeros de bloque, derivados de polioxialquileo de alquilfenoles (particularmente isooctilfenol y nonilfenol) y derivados de polioxialquileo de los ésteres de mono-ácido graso superior de anhídridos de hexitol (por ejemplo, sorbitán). Los dispersantes incluyen metilo, celulosa, alcohol polivinílico, sulfonatos de lignina sódica, sulfonatos poliméricos de alquilnaftaleno, naftaleno sulfonato sódico, sulfonato de polimetileno bisnaftaleno, y derivados poli-oxietilados neutralizados o alquilfenol fosfatos sustituidos en el anillo. También pueden usarse estabilizantes para producir emulsiones estables, tales como silicato de magnesio y aluminio y goma xantana.

Las concentraciones adecuadas de ácido azelaico o sus sales varían de aproximadamente 0,1 mM a aproximadamente 1000 mM, incluyendo cualquiera de las concentraciones intermedias tales como 1 mM, 10 mM, 20 mM, 50 mM, 100 mM y 500 mM. Dependiendo de la naturaleza de las plantas, la edad de las plantas, el modo de administración, y las condiciones ambientales, también pueden aplicarse concentraciones inferiores o superiores de ácido azelaico. Además, dependiendo de la estabilidad, toxicidad, y eficacia de las sales de ácido azelaico, la concentración adecuada puede variar de aproximadamente 0,01 mM a aproximadamente 10 mM. Las concentraciones óptimas de ácido azelaico y sus sales se determinan usando uno o más de los procedimientos desvelados en el presente documento midiendo, por ejemplo, el crecimiento del patógeno después de la infección o expresión génica, o determinando cualquier marcador adecuado de respuesta de resistencia. Las composiciones que consisten esencialmente en ácido azelaico o sus sales pueden estar en forma de una suspensión de reserva o en un estado seco.

- El ácido azelaico o sus sales también pueden usarse en combinación con otras composiciones que potencian la respuesta de resistencia de la planta contra patógenos. Por ejemplo, pueden mezclarse una cantidad adecuada de ácido azelaico o sus derivados con una cantidad adecuada de un compuesto, tal como, por ejemplo ácido salicílico (SA) o agonistas de SA tales como ácido 2,6-dicloroisonicotínico (INA), ácido 3-hidroxipicolínico y S-metil éster del ácido benzo(1,2,3)tiadiazol-7-carbotioico (BTH o benzotiadiazol) que activan la respuesta de ácido salicílico en plantas. Asimismo, puede mezclarse una cantidad adecuada de ácido azelaico o sus derivados con una cantidad adecuada de un compuesto que activa las vías de señalización de ácido jasmónico y etileno. Además, puede mezclarse una cantidad adecuada de ácido azelaico o sus derivados con una cantidad adecuada de una especie reactiva de oxígeno por ejemplo, ácido peracético o un compuesto de peróxido, o un compuesto que genera intermediarios reactivos de oxígeno, tal como un agente de ciclo rédox. Asimismo, puede mezclarse una cantidad adecuada de ácido azelaico o sus derivados con una cantidad adecuada de un estimulante, tal como Harpin, que imita el ataque por patógenos en una planta. El SA, agonistas de SA tales como BTH, las especies reactivas de oxígeno, los estimulantes o cualquier otro compuesto inductor de defensa puede aplicarse junto con ácido azelaico o después de la aplicación de ácido azelaico. Estos compuestos inductores de defensa adicionales también pueden aplicarse antes de la aplicación de ácido azelaico. Las concentraciones de estos compuestos inductores de defensa adicionales pueden variar de aproximadamente 0,1  $\mu\text{M}$  a aproximadamente 100  $\mu\text{M}$  o 1 mM. Si estos compuestos adicionales se aplican después de la aplicación de ácido azelaico, se da un periodo de aproximadamente 4-24 horas entre las aplicaciones en serie. También pueden practicarse aplicaciones de refuerzo de ácido azelaico o estos compuestos adicionales.
- Las sales de ácido azelaico incluyen sales de mono- o di-sodio, sales de mono- o di-potasio de ácido azelaico. Generalmente, las sales de ácido azelaico aumentan la solubilidad en agua si fuera necesario y/o la estabilidad.
- Las composiciones que incluyen ácido azelaico o sus sales pueden contener ácido azelaico aproximadamente un 95% puro o ácido azelaico un 90% puro u 85% puro o más de aproximadamente el 75% puro. Los exudados vegetales crudos o parcialmente purificados que contienen una cantidad eficaz de ácido azelaico o sus derivados también son adecuados para usarse como una composición.
- La expresión "que consiste esencialmente en" se refiere a composiciones que contienen ácido azelaico o sus derivados o análogos como un ingrediente activo y pueden contener opcionalmente cualquier otro componente que no afecte de forma material a los atributos funcional del ácido azelaico por ejemplo, en la inducción de la respuesta de resistencia en plantas. Por ejemplo, una composición que consiste esencialmente en ácido azelaico puede incluir un agente humectante o un vehículo.
- Las expresiones "exponiendo" y "poniendo en contacto" se refieren a uno o más procedimientos para tratar plantas con ácido azelaico o sus derivados por cualquier procedimiento adecuado, tal como, por ejemplo pulverización o infiltración o alimentación radicular.
- El término "sensibilizar" se refiere al proceso por el cual una planta se prepara para montar una respuesta de resistencia eficaz contra patógenos.
- La expresión "genes relacionados con defensa" se refiere a uno o más genes que se inducen al menos más de 2 o 3 o 5 veces en unas pocas horas después del ataque del patógeno. Estos genes relacionados con defensa incluyen los genes relacionados con patogénesis (PR). Por ejemplo, PR-1 es un gen relacionado con defensa adecuado. Los genes relacionados con defensa también pueden considerarse marcadores relacionados con defensa.
- La expresión "resistencia adquirida sistémica" (SAR) se refiere a una respuesta de resistencia de planta completa tras el ataque de patógeno (o cualquier otro tratamiento inductor de resistencia) en una parte de la planta.
- La expresión "antimicrobiano" o "actividad antimicrobiana" se refiere a una actividad antibacteriana, antiviral, antinematodos, y antifúngica contra patógenos de plantas. Por consiguiente, el ácido azelaico y sus derivados pueden potenciar la resistencia a insectos y nematodos que infestan las plantas.
- Las expresiones "patógenos de plantas" o "plaga de plantas" se refieren a cualquier organismo que pueda infectar y causar daño a una planta. Una planta puede dañarse mediante una inhibición o ralentización del crecimiento de una planta, por daño a los tejidos de una planta, por debilitamiento del mecanismo de defensa de una planta, mediante una reducción en la resistencia de una planta a estrés abiótico, mediante una muerte prematura de la planta, y similares. Los patógenos de plantas y plagas de plantas incluyen, aunque sin limitación nematodos, y organismos tales como hongos, oomicetes, virus, y bacterias.
- Las expresiones "resistencia a enfermedades" o "resistencia a patógenos" pretenden indicar que los organismos evitan los síntomas de la enfermedad que son el resultado de interacciones organismo-patógeno. Es decir, se evita que los patógenos causen enfermedades y los síntomas de enfermedad asociados, o como alternativa, los síntomas de enfermedad causados por el patógeno se minimizan o reducen.
- La expresión "componente vegetal" se refiere a cualquier material vegetal con probabilidad de ser atacado por un patógeno. El componente vegetal adecuado incluye por ejemplo, hojas, tallos, raíces, flores, frutos, semillas, plantones, callos, tubérculos, y cultivo de células vegetales.

Las composiciones basadas en ácido azelaico pueden reducir los síntomas de enfermedad resultantes de exposición a patógeno en al menos aproximadamente un 5% a aproximadamente un 50%, al menos aproximadamente un 10% a aproximadamente un 60%, al menos aproximadamente un 30% a aproximadamente un 70%, al menos aproximadamente un 40% a aproximadamente un 80%, o al menos aproximadamente un 50% a aproximadamente un 90% o más.

Ejemplos of plantas de interés incluyen, aunque sin limitación, maíz (*Zea mays*), Brassica sp. (por ejemplo, *B. napus*, *B. rapa*, *B. juncea*), particularmente aquellas especies de Brassica útiles como fuentes de aceite de semilla, alfalfa (*Medicago sativa*), arroz (*Oryza sativa*), centeno (*Secale cereale*), sorgo (*Sorghum bicolor*, *Sorghum vulgare*), mijo (por ejemplo, mijo perla (*Pennisetum glaucum*), mijo común (*Particum miliaceum*), moha (*Setaria italica*), mijo africano (*Eleusine coracana*)), girasol (*Helianthus annuus*), cártamo (*Carthamus tirtortus*), trigo (*Triticum aestivum*), soja (*Glycine max*), tabaco (*Nicotiana tabacum*), patata (*Solanum tuberosum*), arboles cítricos (*Citrus* spp.), cacao (*Theobroma cacao*), té (*Camellia sinensis*), avena, cebada, verduras, ornamentales, y coníferas.

Las verduras incluyen por ejemplo, tomates (*Lycopersicon esculentum*), lechuga (por ejemplo *Lactuca sativa*), judías verdes (*Phaseolus vulgaris*), frijoles de lima (*Phaseolus limensis*), guisantes (*Lathyrus* spp., *Pisum* spp.). Las ornamentales incluyen por ejemplo, azalea (*Rhododendron* spp.), hortensia (*Hidrangea macrophylla*), hibisco (*Hibiscus rosasaraensis*), rosas (*Rosa* spp.), tulipanes (*Tulipa* spp.), narcisos (*Narcissus* spp.), y crisantemo.

Los patógenos de las realizaciones incluyen, aunque sin limitación, virus o viroides, bacterias, nematodos, hongos, y similares. Los virus incluyen cualquier virus de plantas, por ejemplo, virus del mosaico del tabaco o pepino, virus de mancha anular, virus de necrosis, virus del mosaico enano del maíz, y similares. Patógenos fúngicos, oomicetes y víricos específicos para los cultivos principales incluyen, aunque sin limitación los siguientes: Phytophthora, Fusarium spp., Alternaria, Pythium spp., virus del mosaico de la soja, virus de la mancha anular del tabaco, virus de la estría del tabaco, virus de marchitamiento moteado del tomate, Sclerotinia, Peronospora, Cladosporium, Erysiphe, Aspergillus, Puccinia spp., y Trichoderma. Patógenos bacterianos de plantas específicos incluyen cualquier especie bacteriana que infecte plantas e incluyen, pero sin limitación Xanthomonas (por ejemplo, *Xanthomonas axoropodis* pv. *aurantifolii*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*, *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*), Pseudomonas (*Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*), Erwinia (por ejemplo, *Erwinia carotovora* subesp. *atroseptica*), Ralstonia (por ejemplo, *Ralstonia solanacearum*), *Clavibacter michiganensis*, y *Xylella fastidiosa*.

### Ejemplos

Los siguientes ejemplos son solamente con fines ilustrativos.

#### Ejemplo 1

##### Exudados de peciolo inducen respuestas de defensa contra infección por *Pseudomonas syringae*.

Para inducir la producción de posibles moléculas de señalización inductoras de defensa, se infiltraron hojas de Arabidopsis con un derivado avirulento de *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* ES4326 que porta *avrRpt2* (cepa PmaDG6) que induce resistencia adquirida sistémica (SAR). La infiltración con MgSO<sub>4</sub> 10 mM sirvió como control de inoculación simulada. Después de 12-15 horas, las hojas se escindieron y colocaron en EDTA 1 mM para la recogida de material exportado, que se supone con son componentes del floema, de los peciolos. El EDTA bloquea la producción de calosa en el sitio de la herida y evita el taponamiento del extremo cortado, permitiendo de este modo la recogida de moléculas potenciales de señalización inductoras de defensa. Se infiltraron exudados de peciolo libres de bacterias de una cuarta parte de fuerza en hojas para ensayar su capacidad de activar respuestas de defensa. La FIG. 1A muestra los niveles de expresión de PR1, un marcador de señalización de ácido salicílico (SA), en hojas a los 2 días después del tratamiento con EDTA 0,25 mM, exudado inducido de forma simulada (Col-Mex) o exudado inducido por patógeno (Col-Pex). El Col-Pex desencadenó un alto nivel de expresión de PR1, respecto al encontrado después del tratamiento con Col-Mex. Estos datos indican que hay una o más moléculas de señalización biológicamente activas en el Col-Pex que son capaces de inducir la expresión de PR1.

Para ensayar si el Col-Pex también podría conferir resistencia a infección por patógenos, se inoculó un derivado virulento de *P. syringae* pv. *maculicola* ES4326 que portaba vector vacío (cepa PmaDG3) en hojas de plantas de 25 días de edad 2 días después del pretratamiento con exudados. El crecimiento bacteriano después de tres días se redujo significativamente en las hojas pretratadas con Col-Pex, en comparación con aquellas de plantas tratadas de forma simulada y tratadas con Col-Mex (FIG. 1B). Estos datos muestran una actividad biológica de exudados de peciolo de hojas inoculadas con bacterias avirulentas.

La molécula o moléculas de señalización encontradas en exudados activos podrían inducirse en un momento diferente después de la infección con bacterias inductoras de SAR. Por lo tanto, se recogieron exudados de peciolo en diversos momentos después de la infección con PmaDG6 avirulento y se infiltraron exudados con una cuarta parte de fuerza en hojas que se analizaron para la expresión de PR1 2 días después del tratamiento (FIG. 1C). Los niveles de expresión se normalizaron a los encontrados en plantas tratadas con EDTA 0,25 mM. Los exudados de peciolo recogidos a las 48 y 72 h después de la inoculación de patógeno indujeron expresión de PR1. El nivel de expresión de PR1 fue significativamente mayor en hojas infiltradas con Col-Pex recogidas 48 h después de la

inoculación de patógeno.

También se ensayó si los exudados activos podían inducir expresión de *ALD1* y *PR1* en una serie de mutantes deficientes en SAR y deficientes en SA. El exudado Col-Pex activo se infiltró en hojas de plantas de tipo silvestre y mutantes 2 días antes de recoger los tejidos para el aislamiento del ARN total. La FIG. 2A muestra niveles relativos de expresión de *PR1* en diferentes mutantes normalizados a la expresión en hojas de tipo silvestre. Col-Pex solamente indujo débilmente expresión de *PR1* en hojas de *ndr1*, *pad4*, *npr1*, *sid1* y *sid2*. Estos datos indican que estos componentes celulares esenciales para SAR también eran necesarios para la respuesta a una o más moléculas de señalización en exudados de pecíolo. Además, la resistencia de la planta inducida por Col-Pex estuvo completamente suprimida en los mutantes deficientes en SAR y deficientes en SA ensayados (FIG. 2B). Col-Pex aún fue activo en plantas mutantes *dth9* ( $p < 0,05$ , ensayo t de student), que se sabe que están comprometidas para el mantenimiento de SAR, y son incapaces de inducir resistencia en respuesta a tratamiento con SA.

### Ejemplo 2

#### Se acumula un elevado nivel de ácido azelaico en exudados de pecíolo activos

Se compararon los metabolitos en exudados activos con aquellos de exudados inducidos de forma simulada para descubrir la molécula o moléculas responsables de inducir defensas en las plantas. Se analizaron los niveles de aproximadamente 160 metabolitos en exudados usando cromatografía de gases (usando una columna de dimetilo al 95%/difenilpolisiloxano al 5%) acoplada con espectrometría de masas (CG-EM). Se detectaron altos niveles de ácido azelaico ( $C_9H_{16}O_4$ ) en preparaciones Col-Pex activas, en comparación con aquellas en Col-Mex (Tabla 1). Las diferencias en las proporciones de respuesta de cada experimento resultaron en gran medida de la variación en los niveles basales de ácido azelaico en plantas cultivadas en diferentes momentos.

Como se muestra en la FIG. 7, los exudados activos contenían un promedio de niveles 6,2 veces superiores de ácido azelaico que los exudados inactivos.

**Tabla 1.** Nivel relativo de ácido azelaico en exudados de pecíolo de *Arabidopsis* de tipo silvestre Col tratada de forma simulada o inoculada con patógeno

Compuesto	Fórmula mol. <sup>1</sup>	T.R. (min) <sup>2</sup>	TIC (%) <sup>3</sup>	PC <sup>4</sup>
Ácido azelaico	$C_9H_{16}O_4$	17,14	317	Dimetilo 95%/difenilpolisiloxano 5%
Ensayo	Col-Mex <sup>5</sup> Prom.		Col-Pex <sup>6</sup> Prom.	Proporción de respuesta Pex / Mex
1	0,09		3,42	37,26
2	0,5		12,03	24,13
3	1,15		2,07	1,8
4	2,31		3,37	1,46
5	No detectado		10	>10

<sup>1</sup>Fórmula molecular; <sup>2</sup>Tiempo de retención; <sup>3</sup>Corriente de iones totales; <sup>4</sup>Polímero de material de recubrimiento; <sup>5</sup>Mex, exudado tratado de forma simulada; <sup>6</sup>Pex, exudado inducido por *PmaES4326/avrRpt2* (DO600=0,01)

### Ejemplo 3

#### El ácido azelaico confiere respuestas de resistencia contra infección por *Pseudomonas syringae*

Actividad biológica de ácido azelaico en la inducción de resistencia a enfermedad. Se infiltró ácido azelaico 1 mM en plantas de 3 y 4 hojas de 3 semanas de edad. Dos días después, las plantas se inocularon con *PmaDG3* virulento 3 y 4 hojas o en las hojas superiores, que no se pretrataron con ácido azelaico (hojas sistémicas). El ácido azelaico (1 mM) se disolvió en MES 5 mM (pH 5,6) fue no tóxico para las células vegetales. El crecimiento de *PmaDG3* se redujo significativamente en hojas tanto locales como sistémicas de plantas tratadas con ácido azelaico, en comparación con aquellas de plantas tratadas de forma simulada (FIG. 3A). A diferencia de las plantas tratadas de forma simulada, las plantas tratadas con ácido azelaico mostraron muy poco desarrollo de síntomas. Las plantas tratadas de forma simulada y tratadas con ácido azelaico también se infiltraron con derivados avirulentos de *P. syringae* pv. *maculicola* que porta *avrRpt2* (*PmaDG6*) o *avrRpm1* (*PmaDG34*). El ácido azelaico causó una reducción en el crecimiento de *PmaDG6* (que porta *avrRpt2*), pero no *PmaDG34* (que porta *avrRpm1*; FIG. 3B).

El crecimiento de *PmaDG3* se midió después de tratamiento por pulverización de plantas con diversas concentraciones de ácido azelaico. La FIG. 3C muestra que las plantas pretratadas con 100 y 1000  $\mu$ M de ácido azelaico eran resistentes a *PmaDG3*. Esta resistencia inducida provocó una supresión de 10 veces del crecimiento bacteriano. En contraste, no hubo diferencias en el crecimiento bacteriano después de tratamientos con MES 5 mM y ácido azelaico 1 o 10  $\mu$ M en las condiciones ensayadas. También se ensayó si el ácido azelaico requería un cierto periodo de inducción para la respuesta de resistencia inducida. Plantas cultivadas en la luz y pretratadas con ácido azelaico usando un pulverizador manual 6 horas antes de la infección aún fueron susceptibles a *P. syringae* virulento (FIG. 3D), mientras que el pretratamiento 12 horas antes de la exposición a patógeno confirió un bajo nivel de

resistencia (FIG. 3D). Sin embargo, cuando las plantas se cultivaron en la oscuridad durante 12 horas después del tratamiento, el ácido azelaico fue ineficaz en conferir resistencia a enfermedad (FIG. 3E). La resistencia inducida fue más estable y más fuerte con tiempos más largos de exposición a ácido azelaico. Por tanto, el ácido azelaico induce una respuesta de resistencia a enfermedad dependiente de la luz contra infección con *P. syringae* que también es dependiente de la concentración y el tiempo.

#### Ejemplo 4

##### La resistencia inducida por ácido azelaico se atenúa en mutantes deficientes en SAR, insensibles a SA y deficientes en SA, pero no mutantes insensibles a JA/etileno

Para caracterizar adicionalmente el modo en que las plantas regulan la resistencia inducida por ácido azelaico, se pulverizó ácido azelaico 1 mM sobre plantas de tipo silvestre y varios mutantes 2 días antes de la infección con *PmaDG3* virulento y se midió el crecimiento bacteriano. A diferencia de las plantas de tipo silvestre, los mutantes para la vía SA ensayados fueron susceptibles a infección por *PmaDG3* virulento independientemente del tratamiento con ácido azelaico (FIG. 4A). Estos datos demuestran que múltiples componentes de defensa (NDR1, PAD4, NPR1, SID1, SID2, y FMO1) que se sabe que son importantes para regular, sintetizar y responder a SA pueden desempeñar una tarea para la resistencia de las plantas inducida por ácido azelaico en las plantas ensayadas en este ejemplo. La resistencia a patógenos también fue dependiente de DTH9, que es importante para la resistencia inducida por SA a enfermedad y el mantenimiento de SAR en Arabidopsis. También se controló el crecimiento de bacterias en hojas de mutantes insensibles a JA y etileno, *jar1* y *etr1*, después de tratamiento con ácido azelaico 1 mM. La FIG. 4B muestra que el tratamiento de ácido azelaico era eficaz en restringir el crecimiento bacteriano en mutantes *jar1* y *etr1* lo que sugiere que la señalización dependiente de ácido jasmónico y etileno es dispensable para la resistencia inducida por ácido azelaico en Arabidopsis.

#### Ejemplo 5

##### El tratamiento exógeno de ácido azelaico no aumenta los niveles de ácido salicílico o camalexina

Como la resistencia a *P. syringae* requiere activación de defensas dependientes de SA acompañada por elevados niveles endógenos de SA, se investigó si el ácido azelaico induce directamente la acumulación de SA. Después del tratamiento por pulverización de plantas con ácido azelaico 1 mM, no hubo diferencia significativa en el nivel de SA libre y total entre plantas tratadas de forma simulada y tratadas con ácido azelaico (FIG. 5A). Además, los niveles de la fitoalexina Camalexina, un metabolito de defensa, fueron similares en plantas tratadas con ácido azelaico y tratadas de forma simulada (FIG. 5B). Estos datos indican que el ácido azelaico no afecta directamente a los niveles de SA o camalexina. Para investigar si el ácido azelaico podría afectar a marcadores de defensa adicionales, se controló la expresión de genes relacionados con defensa usando una miniserie. Sorprendentemente, la mayoría de los genes relacionados con defensa que se ensayaron no mostraron diferencia en la expresión entre plantas tratadas de forma simulada y tratadas con ácido azelaico. Un gen que codifica una proteína potencial de transferencia de lípidos (LTP), At2g38530, se indujo significativamente (3 veces) por ácido azelaico. La RT-PCR confirmó que At2g38530 se inducía por ácido azelaico. Sin embargo, *PR1*, un marcador de señalización de SA, no se indujo por ácido azelaico. Por tanto, parece que el ácido azelaico no induce grandes cambios en vías conocidas de señalización activadas por *P. syringae*, pero induce al menos un gen relacionado con defensa.

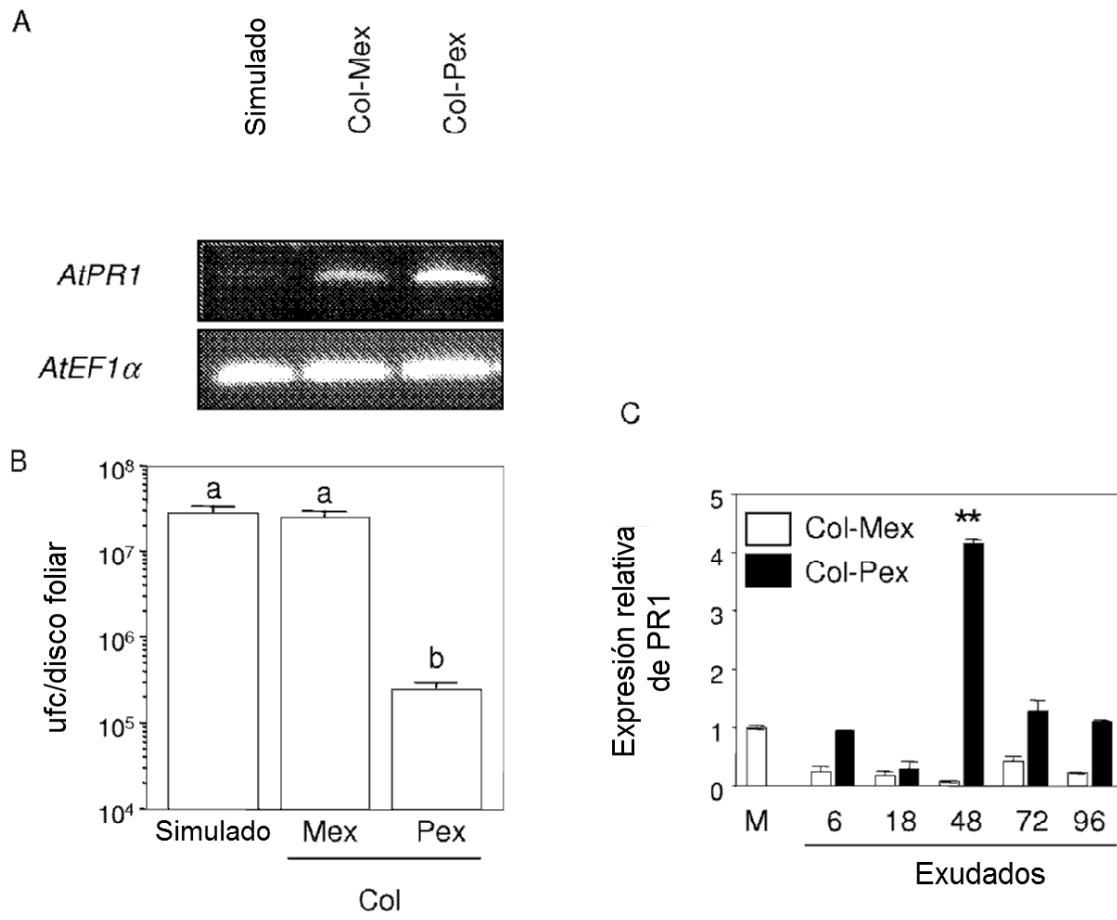
#### Ejemplo 6

##### El ácido azelaico sensibiliza respuestas de defensa

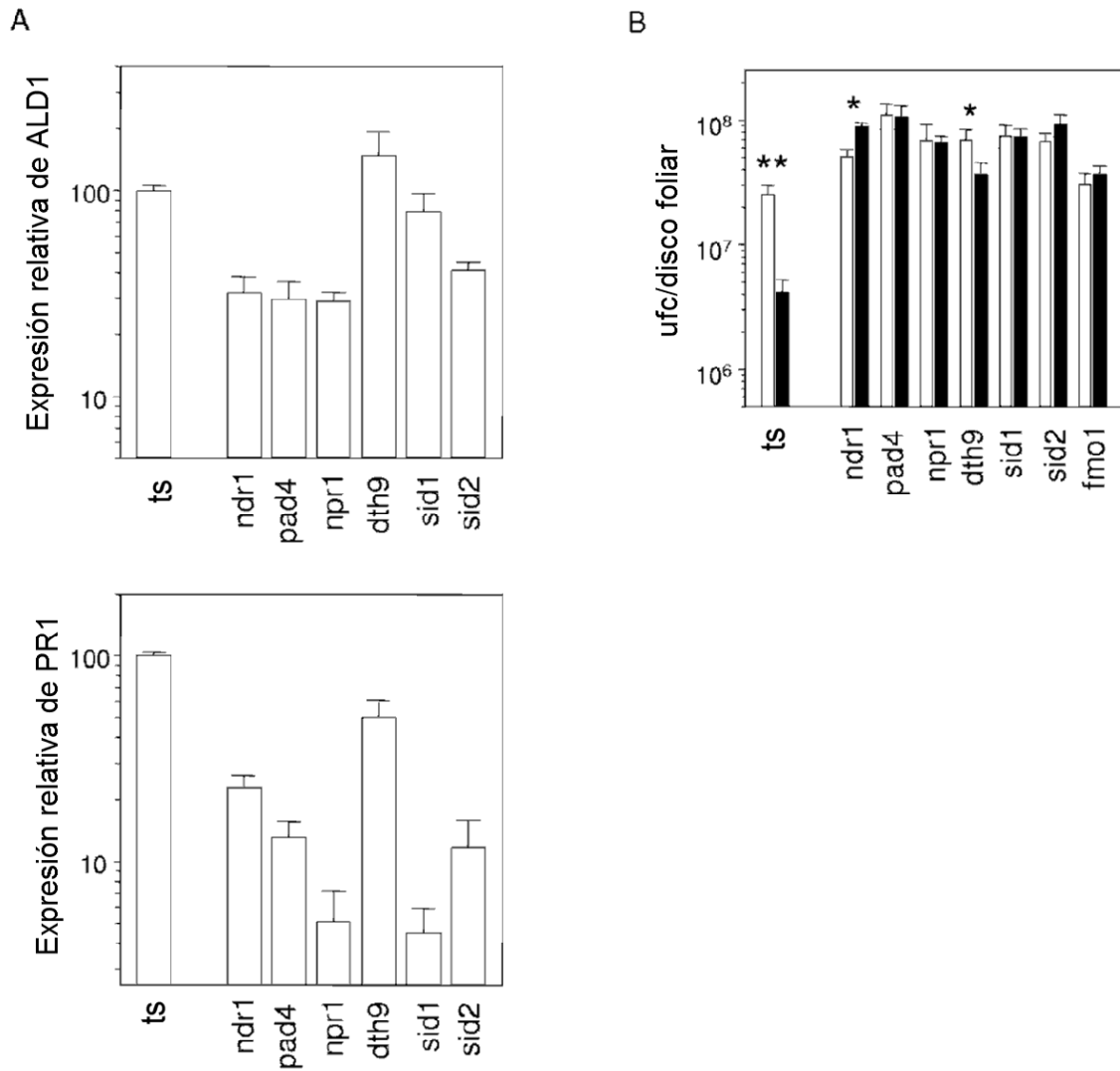
Como los mutantes de señalización de SA estaban comprometidos en la sensibilidad a ácido azelaico, se investigó si el ácido azelaico podría sensibilizar la síntesis de SA o las respuestas de defensa dependientes de SA en plantas. Para ensayar esto, las plantas se pulverizaron con ácido azelaico 1 mM (o MES 5 mM) y después de dos días se infectaron con *PmaDG3* virulento y *PmaDG6* avirulento (que porta *avrRpt2*) (DO600=0,01). La FIG. 6A muestra que los niveles de SA libre en plantas tratadas con ácido azelaico eran significativamente mayores que los de plantas tratadas de forma simulada a las 6 y 18 h después de la infección con *PmaDG3* virulento ( $p < 0,05$ , ensayo t de student). Se observó una tendencia similar después de infección con *PmaDG6* (que porta *avrRpt2*), pero los resultados no fueron estadísticamente significativos. Además, el pretratamiento de ácido azelaico provocó un nivel mayor de acumulación de SA total a las 18 h después de la inoculación tanto con *PmaDG3* como con *PmaDG6*, en comparación con aquellos de plantas tratadas de forma simulada ( $p < 0,01$ , ensayo t de student). También se investigó el efecto sensibilizante por ácido azelaico analizando la expresión de *PR1*, un marcador molecular para la señalización de SA (FIG. 6B). Se infectaron plantas tratadas de forma simulada y con ácido azelaico con *PmaDG3* virulento (DO600=0,01) 2 días después de tratamientos por pulverización. Se aumentó la expresión de *PR1* en plantas tanto tratadas con ácido azelaico como no tratadas después de infección con la cepa virulenta. Sin embargo, la expresión fue mayor en hojas pretratadas con ácido azelaico después de la infección con patógeno, en comparación con la expresión en plantas tratadas de forma simulada después de la infección con patógeno (obsérvese la escala log en la FIG. 6B). Estos datos indican que el modo de acción de ácido azelaico es sensibilizar las plantas para inducir defensas más fuertemente y más rápidamente que plantas no tratadas.

**REIVINDICACIONES**

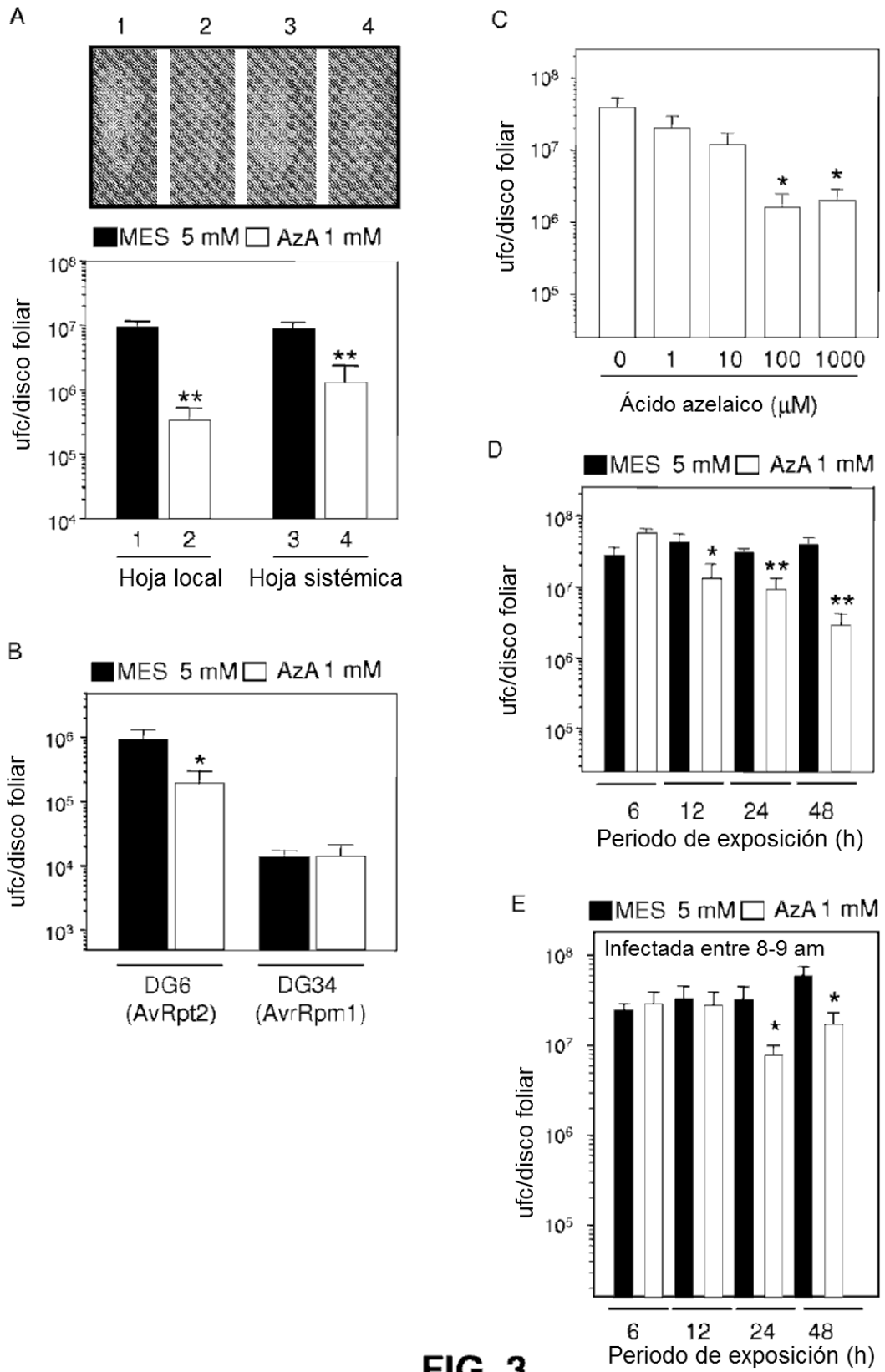
1. Un procedimiento de sensibilización de una planta para inducir una respuesta de resistencia contra un patógeno, comprendiendo el procedimiento:
  - (a) obtener una composición que comprende una cantidad eficaz de ácido azelaico o una sal del mismo; y
  - (b) poner en contacto el componente de follaje vegetal con la composición para sensibilizar a la planta para inducir su respuesta de resistencia contra un ataque de patógeno.
2. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el patógeno es seleccionado entre patógenos bacterianos, fúngicos, oomicetes, viroides y víricos de plantas.
3. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la planta es una monocotiledónea.
4. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la planta es una planta de cultivo o una planta ornamental.
5. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el ácido azelaico está en un intervalo de concentración de aproximadamente 0,01 mM a 10 mM, preferentemente en el que la cantidad eficaz de ácido azelaico es 1 mM.
6. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la composición es administrada en combinación con al menos un nutriente de plantas.
7. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la sal de ácido azelaico es soluble en agua.
8. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la sal de ácido azelaico es azelato sódico o azelato potásico.
9. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la composición comprende adicionalmente un agente humectante o un agente para inducir un mecanismo de defensa de la planta que depende de ácido salicílico o etileno o ácido jasmónico o una combinación de los mismos.
10. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que la composición es administrada antes de un ataque de patógeno.
11. El procedimiento de la reivindicación 1, en el que el contacto de la planta comprende aplicar dicha composición por pulverización, atomizado, espolvoreo, dispersión, vertido o recubrimiento de la planta.



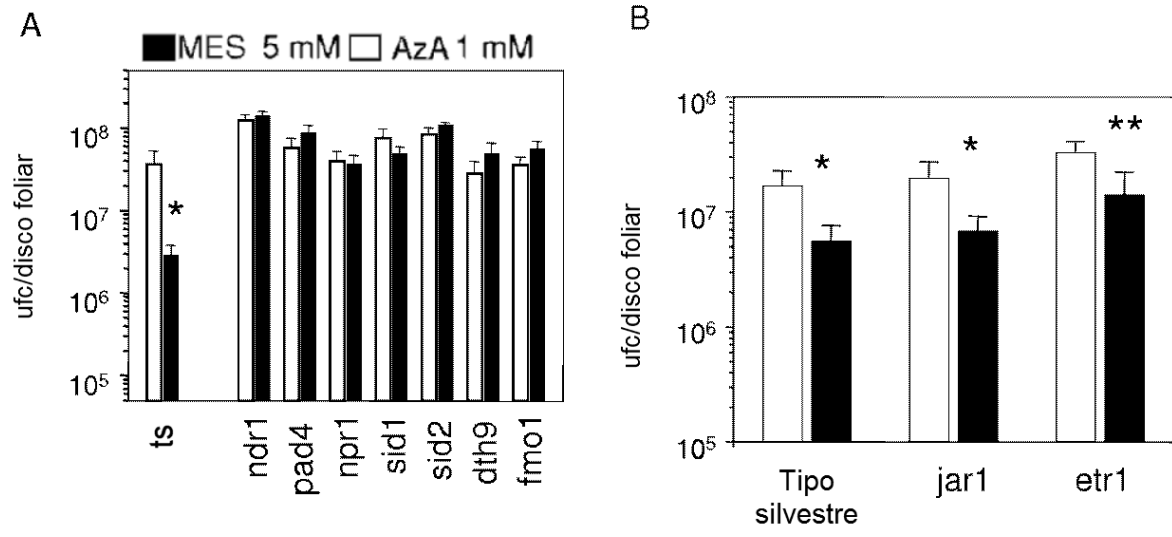
**FIG. 1**



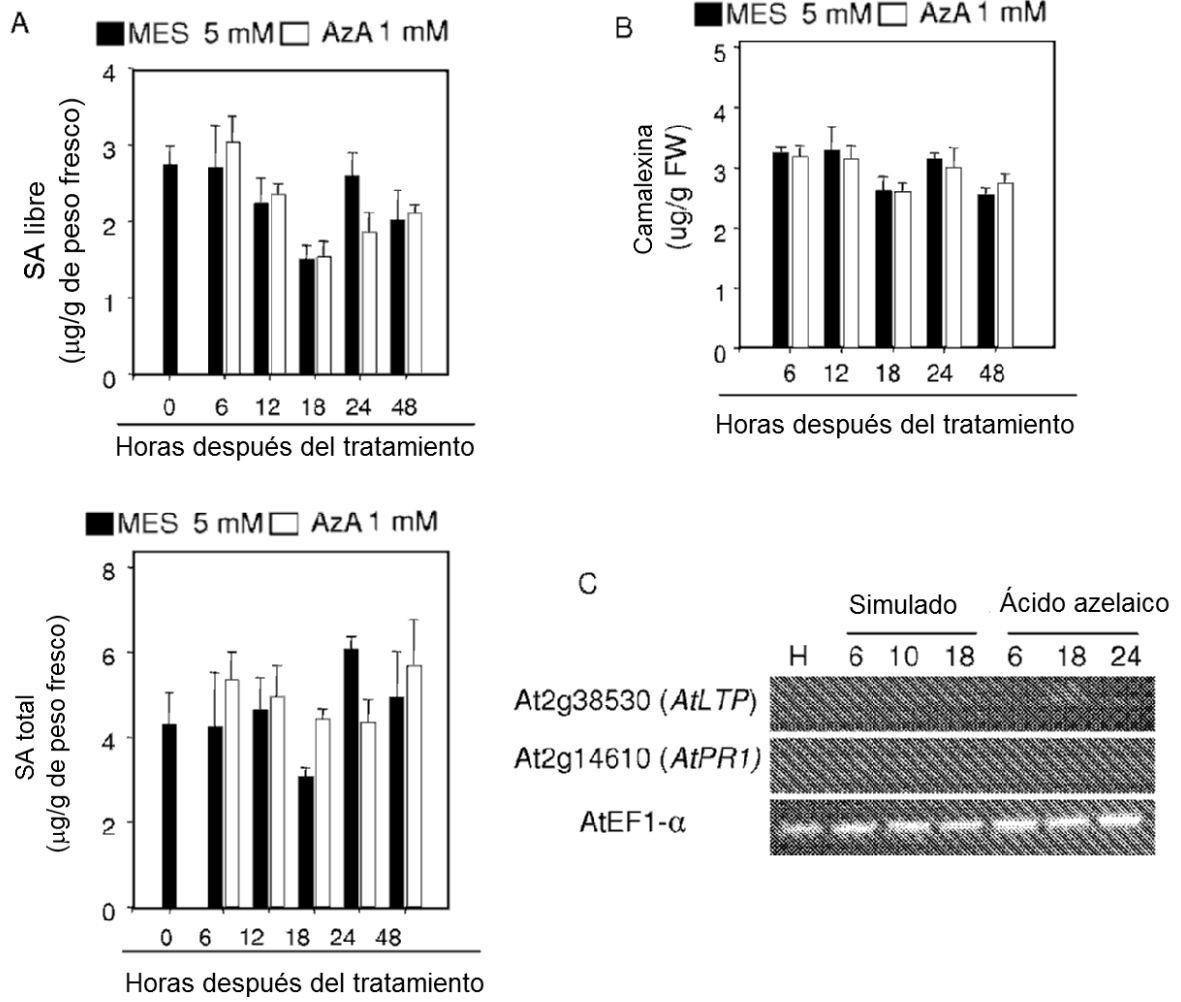
**FIG. 2**



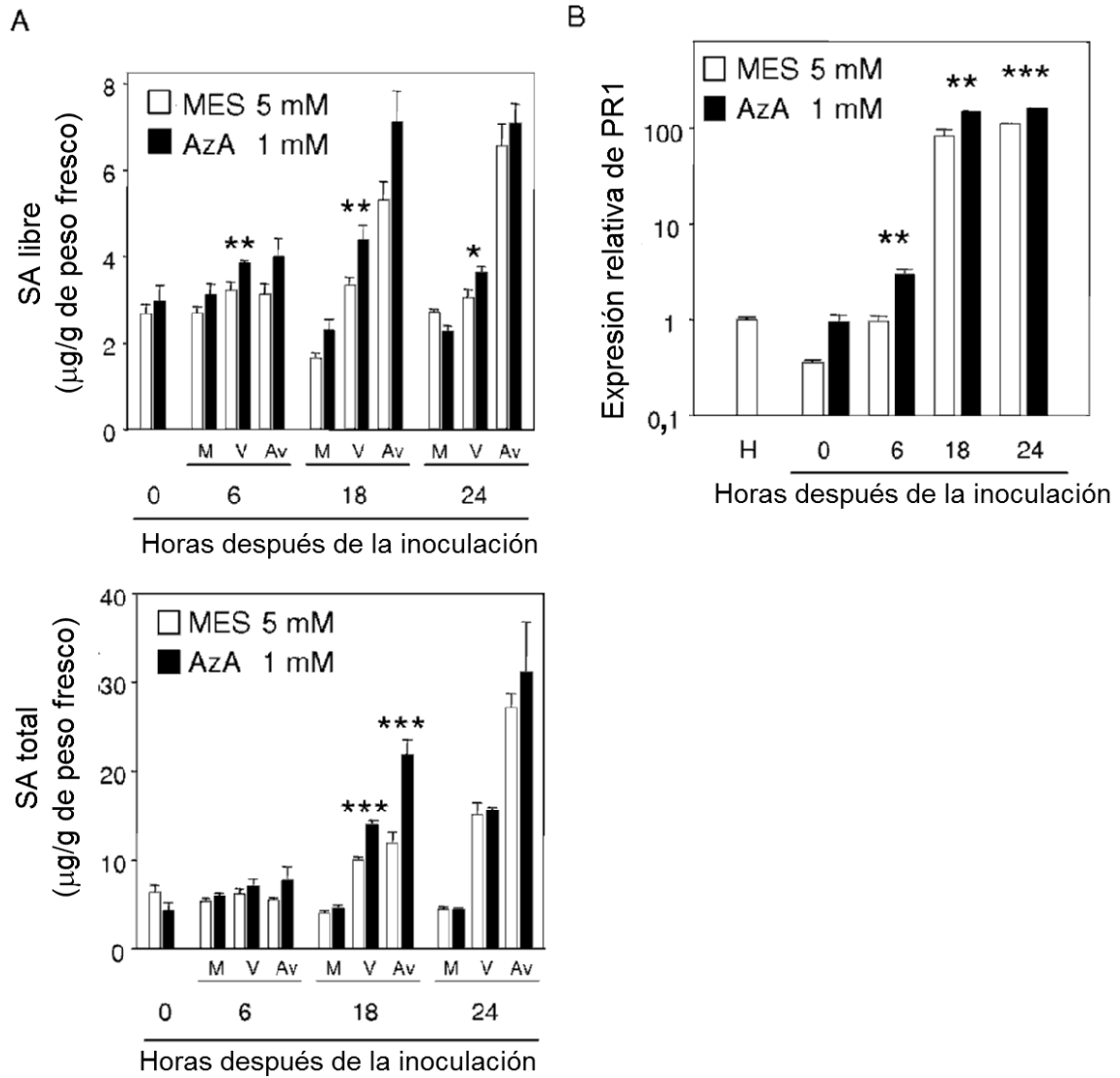
**FIG. 3**



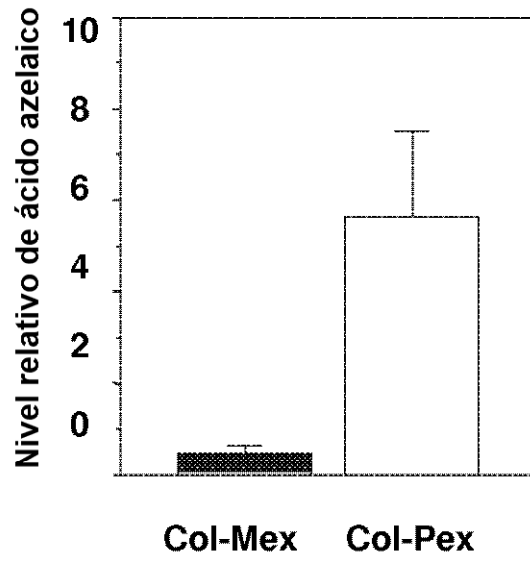
**FIG. 4**



**FIG. 5**



**FIG. 6**



**FIG. 7**