

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2012.06.01	(73) Titular(es): SAPEC AGRO, S.A.
(30) Prioridade(s):	ALAMEDA DOS OCEANOS, LOTE 1.06.1.1, 3º
(43) Data de publicação do pedido: 2013.12.02	1990-207 PARQUE DAS NAÇÕES PT
(45) Data e BPI da concessão: /	(72) Inventor(es): ANTÔNIO MANUEL VASCONCELOS DUARTE PT JOÃO CARLOS SEQUEIRA DA CRUZ RODRIGUES PT JOSÉ NEVES PT
	(74) Mandatário:

(54) Epígrafe: **MISTURA FUNGICIDA SINÉRGICA CONTENDO DIMETOMORFE E PROPAMOCARBE-HIDROCLORETO**

(57) Resumo:

A PRESENTE INVENÇÃO PROPORCIONA UMA COMPOSIÇÃO FUNGICIDA QUE COMPREENDE UMA MISTURA DE DIMETOMORFE E DE PROPAMOCARBE-HIDROCLORETO, SOB A FORMA DE UMA SUSPENSÃO CONCENTRADA CONTENDO 72 G/L A 90 G/L DE DIMETOMORFE E 400 G/L A 500 G/L DE PROPAMOCARBE-HIDROCLORETO. A PRESENTE INVENÇÃO TAMBÉM REFERE-SE A UM MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE CULTURAS ATRAVÉS DA APLICAÇÃO DE 144 G/HA A 180 G/HA DE DIMETOMORFE E 800 G/HA A 1000 G/HA DE PROPAMOCARBE-HIDROCLORETO. A COMPOSIÇÃO É DE UM MODO PREFERIDO UTILIZADA PARA TRATAR O MÍLDIO DA BATATEIRA (PHYTHOPHTORA INFESTANS), MÍLDIO DO TOMATEIRO (PHYTHOPHTORA INFESTANS) E MÍLDIO DA ALFACE (BREMIA LACTUCAE).

RESUMO

"MISTURA FUNGICIDA SINÉRGICA CONTENDO DIMETOMORFE E PROPAMOCARBE-HIDROCLORETO"

A presente invenção proporciona uma composição fungicida que compreende uma mistura de dimetomorfe e de propamocarbe-hidrocloreto, sob a forma de uma suspensão concentrada contendo 72 g/L a 90 g/L de dimetomorfe e 400 g/L a 500 g/L de propamocarbe-hidrocloreto. A presente invenção também refere-se a um método para o tratamento de culturas através da aplicação de 144 g/ha a 180 g/ha de dimetomorfe e 800 g/ha a 1000 g/ha de propamocarbe-hidrocloreto. A composição é de um modo preferido utilizada para tratar o míldio da batateira (*Phytophthora infestans*), míldio do tomateiro (*Phytophthora infestans*) e míldio da alface (*Bremia lactucae*).

DESCRIÇÃO

"MISTURA FUNGICIDA SINÉRGICA CONTENDO DIMETOMORFE E PROPAMOCARBE-HIDROCLORETO"

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a uma nova composição fungicida sinérgica que consiste numa combinação de ingredientes activos fungicidas adequada para o controlo selectivo de fungos em culturas de plantas úteis, como por exemplo em batata, tomate e alface. A invenção também se refere a um método para controlar fungos em culturas de plantas úteis e à utilização da nova composição para esse propósito.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

Na área da protecção de culturas, a utilização de uma substância activa particular para o controlo de fungos pode tornar-se cada vez mais difícil ao longo tempo, devido à adaptação dos referidos fungos ao fungicida a ser utilizado. Este facto conduz à perda de eficácia no controlo do agente patogénico, utilização excessiva do fungicida e, consequentemente, quebra na produção e rentabilidade das colheitas.

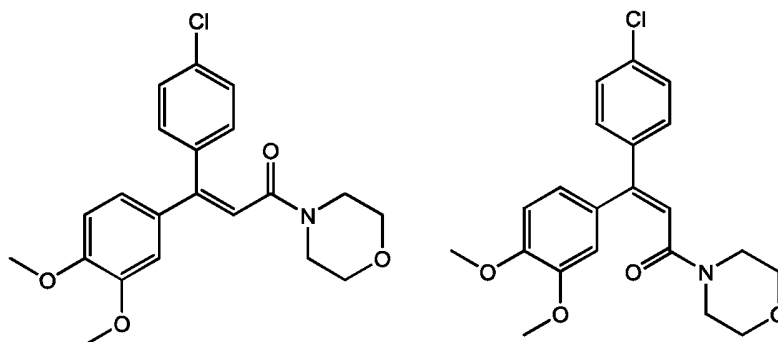
Uma forma muito conhecida e bastante utilizada de abordar este problema é pela utilização de uma combinação de substâncias activas diferentes, apresentando diferentes mecanismos de acção

(EPPO Standards, Good plant protection practices, EPPO Bulletin 32, páginas 367-369, 2002). De facto, em muitos casos, apenas a combinação de características e propriedades de mais de uma substância activa torna possível a obtenção de um produto com elevado desempenho em todos os aspectos da acção biológica (acção preventiva, acção curativa e acção erradicante), mantendo ao mesmo tempo ao mínimo a probabilidade do desenvolvimento de resistência a estas moléculas. No entanto, o efeito de tal combinação pode resultar numa actividade antagonista, uma actividade aditiva ou ainda uma actividade sinérgica.

Surpreendentemente, foi agora constatado que a combinação de um carbamato, tal como o propamocarbe-HCl sistémico com dimetomorfe apresenta características extremamente positivas, incluindo um efeito curativo, preventivo e erradicante, associado a um efeito sinérgico surpreendente. A presente invenção constitui por esta razão uma mais-valia na gama de soluções para a protecção de plantas, com a finalidade de controlo do míldio.

Assim, de acordo com a presente invenção, é proposto uma nova composição sinérgica para controlo de fungos que, além dos aditivos de formulação, inclui como ingredientes activos uma mistura de dimetomorfe e propamocarbe-HCl.

O dimetomorfe, composto (I), [IUPAC: (E,Z)-4-[3-(4-clorofenil)-3-(3,4-dimetoxifenil)acrilóil]morfolina], é uma mistura dos isómeros E e Z cujas fórmulas estruturais são:



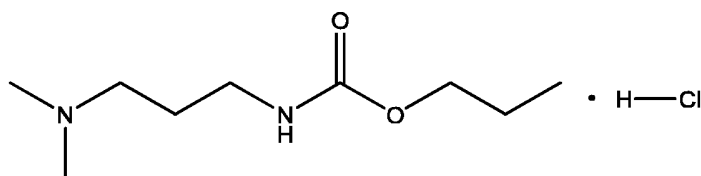
Composto I

e é um fungicida CAA (Amida de Ácido Carboxílico) com acção biológica sobre fungos da família dos oomicetas. (ver "The Pesticide Manual" 14ª Edição (2006), The British Crop Protection Council, páginas 347 f.). Relativamente ao modo de acção bioquímico, o dimetomorfe é um fungicida sistémico, que se move de forma ascendente pelo caule da planta tratada e para o interior das folhas em crescimento, actuando ao nível da biossíntese da parede celular. De um modo geral, actua em todos os estágios em que ocorre formação de membrana celular, germinação de esporos, formação de tubo germinativo, haustórios, crescimento de hifas e formação de esporos. Além disso, é eficaz contra estirpes de míldio resistentes às fenilaminas. Finalmente, o dimetomorfe é um fungicida com actividade curativa e preventiva, sendo considerado uma referência no mercado devido à sua capacidade erradicante.

O dimetomorfe foi divulgado pela primeira vez na patente europeia EP120321. Existem vários documentos de patente que descrevem misturas de dimetomorfe com outros fungicidas. O documento EP0901322 descreve uma mistura fungicida de dimetomorfe com diversos carbamatos. O documento citado não faz nenhuma referência ao propamocarbe-HCl. Por outro lado, os documentos EP0753258, EP0985346, US6316446 descrevem

respectivamente misturas com N-acetonilbenzamidás, oxazolidinonas, derivados de éteres fenílicos e benzílicos.

O propamocarbe-HCl, composto (II), [IUPAC: cloridrato de 3-(dimetilamino)propilcarbamato de propilo-hidrocloreto], cuja fórmula estrutural é:



Composto II

é um fungicida sistémico carbamato tendo um efeito preventivo. É absorvido pelas raízes e folhas e transportado de forma ascendente na planta. Este ingrediente activo possui actividade contra vários fungos da família dos oomicetas que provocam murchidão das plântulas e doenças foliares. O propamocarbe-hidrocloreto interrompe a formação das paredes celulares do fungo, por interferência com a síntese de fosfolípidos e ácidos gordos. Afecta o crescimento micelial e também a produção e germinação de esporos. O modo de acção bioquímico é exercido ao nível da permeabilidade da membrana celular, afectando a sua integridade.

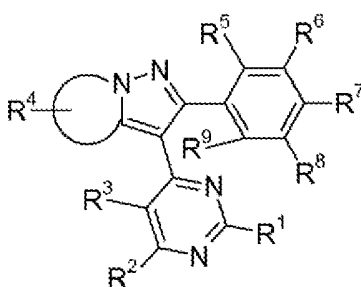
A patente Britânica GB-1212708 descreve o propamocarbe, e é feita menção à sua actividade relativamente ao controlo de *Pythium ultimum*. Este documento não faz referência a qualquer resultado ou actividade biológica da mistura reivindicada na presente invenção.

Os documentos EP835055, WO1998/26654, WO1998/044801, WO2006/040123 e WO2007/128541 descrevem respectivamente

composições compreendendo propamocarbe e ofurace, benalaxil, um derivado do ácido fosfórico (por exemplo fosetil-Al), fluoxastrobina e flutriafol. Por outro lado o documento WO2009/082939 descreve uma suspensão concentrada (SC) aquosa compreendendo tebuconazole e propamocarbe. O documento EP2338341 descreve uma composição compreendendo: a) propamocarbe-HCl e B) um composto insecticida seleccionado do grupo de flubendiamida ou rinaxapir.

O documento WO8805630 reivindica a mistura de dimetomorfe com vários pesticidas. Embora o propamocarbe seja mencionado como parte de uma longa lista de fungicidas a serem utilizados em associação com o dimetomorfe, não é feita qualquer referência à associação específica de dimetomorfe com propamocarbe na sua forma de hidrocloreto, nem são mencionados exemplos ou evidências da formulação de acordo com a invenção.

O documento EP2409570A2 reivindica uma mistura fungicida que compreende um composto de fórmula geral:



em que R₁-R₉ têm os significados aí referidos, e vários compostos habitualmente utilizados em protecção de culturas. A presente invenção não utiliza o composto geral acima descrito de qualquer forma.

O documento WO2010/128003A2 a um método para aumentar o vigor e/ou o rendimento de culturas agrícolas em condições de uma pressão praticamente inexistente de agentes patogénicos, compreendendo uma estirpe de *Bacillus subtilis*, ou um seu derivado, e, opcionalmente, pelo menos um composto seleccionado de estrobilurinas, carboxamidas, azoles, compostos heterocíclicos, carbamatos, outras substâncias activas, reguladores de crescimento, herbicidas e insecticidas. Por outro lado, o documento WO2009/037242A2 refere-se a misturas fungicidas compreendendo estirpes de *Bacillus subtilis* e *Bacillus pumilus* ou seus derivados e, opcionalmente, pelo menos um composto seleccionado de entre azoles, estrobilurinas, carboxamidas, compostos heterocíclicos, carbamatos e outros fungicidas. A presente invenção encontra-se fora do âmbito dos pedidos de patente mencionados, uma vez que descreve uma mistura de dimetomorfe e propamocarbe-HCl, não incluindo as estirpes de *Bacillus sp.* mencionadas.

O documento considerado o estado da técnica mais próximo é o "Containment of existing potato late blight (*Phytophthora infestans*) foliar epidemics with fungicides, CROP PROTECTION 21 (7), pp. 575-582, August 2002". Este documento descreve a eficácia contra o míldio da batateira da mistura propamocarbe, sob a forma de uma suspensão concentrada, e o dimetomorfe, na forma de um pó molhável. A mistura indicada foi preparada pelo método de "mistura em tanque", uma forma muito utilizada em protecção de culturas de agregar dois fungicidas com diferentes modos de acção, para posterior aplicação nas culturas a proteger. As doses utilizadas para a mistura em tanque "propamocarb+dimethomorph" foram de 1,01 kg/ha para o propamocarbe e 0,22 kg/ha para dimetomorfe. Na Tabela 3 (linha 5 vs linha 9) do documento citado, os valores obtidos para a

RAUDPC (Área Abaixo Da Curva De Progresso Da Doença) são de 0,761 e 0,851 para a mistura dimetomorfe+propamocarbe e dimetomorfe sozinho, respectivamente. Assim, a mistura de dimetomorfe com propamocarbe não apresentou uma interacção biológica estatisticamente significativa quando comparado com o resultado de dimetomorfe sozinho, não apresentando como tal qualquer benefício para fins de protecção de culturas.

A presente invenção não cai no âmbito do estado da técnica mais próximo mencionado uma vez que se refere a um produto único, sob a forma de uma suspensão concentrada de dimetomorfe e propamocarbe-hidrocloreto prontamente utilizável. Além disso, e apesar da presente composição utilizar doses de aplicação no campo mais baixas (propamocarbe-HCl: 0,8-1,0 kg/ha; dimetomorfe: 0,144-0,180 kg/ha), apresenta surpreendentemente uma real interacção biológica entre as duas substâncias activas, resultando num comportamento sinérgico robusto.

As referências mencionadas no estado da técnica não descrevem nem a composição sinérgica de acordo com a presente invenção, nem as gamas de concentração dos ingredientes activos na mistura, nem as concentrações de aplicação aqui descritas para uma acção fungicida eficaz.

No mercado de produtos de combate ao míldio da batateira, a virulência da doença e os problemas de resistência a alguns fungicidas sistémicos, que frequentemente provocam a redução do rendimento nas culturas de batateira, conduziu ao desenvolvimento de vários produtos na forma de misturas de substâncias activas. O objectivo é alcançar uma eficácia superior em combinação com a minimização do desenvolvimento de resistência associado ao modo de acção bioquímico dessas

moléculas, reforçada pela elevada capacidade mutagénica que o míldio da batateira possui.

Para o controlo do míldio da batateira, o dimetomorfe existe comercialmente associado a outros fungicidas, tais como o mancozebe (sob o nome ACROBAT M DG , comercializado pela BASF AG) ou uma estrobilurina, tal como piraclostrobina (sob o nome COACH PLUS , vendido pela BASF).

Para o controlo do míldio da batateira, o propamocarbe-HCl existe comercialmente associado a outros fungicidas, tais como fenamidona (sob o nome CONSENTO , comercializado pela Bayer Cropscience), fluopicolida (sob o nome INFINITO , comercializado pela Bayer Cropscience), fosetil-Al (sob o nome PREVICUR ENERGY , comercializado pela Bayer Cropscience), clorotalonilo (sob o nome TATTOO C , comercializado pela Bayer Cropscience) e cimoxanilo (sob o nome PROXANIL , comercializado pela Agriphar SA).

O número de soluções comerciais existentes actualmente no mercado é um sinal claro de que o assunto descrito na presente invenção é uma preocupação geral relativamente à necessidade de desenvolver novas misturas sinérgicas para ultrapassar questões relacionadas com resistência a fungicidas. Além disso, os vários documentos de patente aqui citados, relativos a misturas de dimetomorfe ou propamocarbe com outras substâncias activas mostram um claro interesse em encontrar novas soluções sinérgicas para fins de protecção de culturas, nomeadamente soluções fungicidas.

Em conclusão, continua a existir uma oportunidade para novas e inovadoras formulações de produtos mistos com um efeito

sinérgico surpreendente no controlo sustentável de fungos patogénicos em plantas, em particular estirpes resistentes, com uma dose efectiva de aplicação que seja a mais baixa possível, beneficiando de um perfil toxicológico e ecotoxicológico melhorados.

DESCRIÇÃO PORMENORIZADA DA INVENÇÃO

A presente invenção refere-se a uma combinação fungicida binária que consiste em dimetomorfe e propamocarbe-hidrocloreto, à sua preparação e utilização da referida composição para o controlo de fungos patogénicos.

Numa forma de realização preferida, a composição fungicida consiste em dimetomorfe (composto I) e propamocarbe-hidrocloreto (composto II), sob a forma de uma suspensão concentrada (SC) contendo 90 g/L de dimetomorfe e 500 g/L de propamocarbe-hidrocloreto.

A composição fungicida de acordo com a presente invenção é utilizada para tratar as seguintes doenças de plantas: míldio da batateira (*Phytophthora infestans*), míldio do tomateiro (*Phytophthora infestans*) e míldio da alface (*Bremia lactucae*).

A invenção também se refere a um processo para tratar culturas afectadas por fungos patogénicos por aplicação às referidas culturas de 144 g/ha a 180 g/ha do composto I e 800 g/ha a 1000 g/ha do composto II.

As concentrações dos ingredientes activos na composição de acordo com a presente invenção estão no intervalo de 72 g/L a 90

g/L para o composto I, e no intervalo de 400 g/L a 500 g/L para o composto II.

Numa forma de realização preferida, a concentração do composto I é de 90 g/L e a concentração do composto II é de 500 g/L.

A composição fungicida de acordo com a presente invenção compreende ainda agentes tensioactivos, agentes anti-congelantes e modificadores de reologia.

Os tensioactivos são seleccionados do grupo compreendendo agentes de dispersão, activadores biológicos e agentes anti-espuma.

Os agentes de dispersão preferidos são os copolímeros de enxerto de polimetilmetacrilato-óxido de polietileno não-iónicos, tal como Atlox 4913 comercialmente disponível da Croda, sozinho ou em combinação com um éter alquílico de polioxietileno, tal como o Atlox 4894 comercialmente disponível como Croda, e agentes anti-espuma preferidos são emulsões de polidimetilsiloxano em água, tal como AF9030 comercialmente disponível com o nome comercial Momentive.

Os activadores biológicos utilizados na presente invenção são álcoois etoxilados C₉-C₁₄ ramificados, de um modo preferido álcoois etoxilados C₉-C₁₁ ramificados, tal como por exemplo Rhodasurf 860/P, disponível comercialmente como Rhodia, ou álcoois etoxilados C₁₁ a C₁₄ ramificados, tal como Rhodasurf 870 comercialmente disponível como Rhodia.

A título de exemplo, a preparação da suspensão concentrada de acordo com a invenção é realizada utilizando a seguinte composição:

	g/L
Composto I	90,0
Composto II	500,0
Tensioactivo polimérico (Atlox 4913)	11,0
Tensioactivo não iónico (Atlox 4894)	7,0
Álcool etoxilado (Rhodasurf 860/P)	50,0
Agente anti-congelante (Propilenoglicol)	30,0
Agente anti-espuma (AF9030)	10,0
Água	255,0
Solução Espessante*	147,0

* A solução espessante é preparada por mistura de Preventol Bit 20 N (1,0 (p/p)), goma de xantano (2,0 (p/p)) e água (97,0 (p/p)).

O processo para preparar a suspensão concentrada de acordo com a invenção compreende os seguintes passos:

- misturar o composto II com propilenoglicol, água, um tensioactivo polimérico (ex., Atlox 4913), uma mistura de tensioactivos não iónicos (ex., Atlox 4894), um álcool isodecílico etoxilado (ex., Rhodasurf 860/P) e um anti-espuma (ex., AF 9030);
- dispersar o composto I, sob agitação, na solução previamente preparada;

- passar a suspensão assim obtida através de um moinho de esferas refrigerado (por exemplo, um "Dyno-mill"), a fim de reduzir o tamanho das partículas;
- ajustar a viscosidade por adição da solução espessante sob agitação.

O exemplo de formulação acima descrito pretende ser ilustrativo, e não limitar de qualquer forma a presente invenção.

TESTES DE ESTABILIDADE:

Os testes de estabilidade foram realizados sob as seguintes condições:

Um teste de estabilidade acelerado em que uma amostra de formulação é armazenada numa estufa durante 2 semanas a $54 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e as suas propriedades físico-químicas e técnicas são comparadas com as de uma amostra do mesmo lote que não foi submetida ao teste. Este teste pretende representar uma simulação do comportamento de uma formulação após um período de 2 anos de armazenamento.

Um teste de estabilidade a baixa temperatura, realizado a $0 \pm 2^{\circ}\text{C}$ durante uma semana.

Os presentes testes foram conduzidos de acordo com a seguinte legislação e normas, que são aqui incluídos como referências:

- Regulamento (EC) N° 1107/2009 de 21 Outubro de 2009 e Regulamento da Comissão (EU) N° 545/2011 de 10 Junho de 2011.

- Manual on the Development and Use of FAO e WHO Specifications for Pesticides, Novembro 2010 - segunda revisão da primeira edição.

- CIPAC Handbooks Vol. 1A a N, Collaborative International Pesticides Analytical Council.

A. SC de dimetomorfe com propamocarbe-hidrocloreto

A Tabela 1 apresenta as propriedades físicas e químicas da formulação SC de dimetomorfe e propamocarbe-hidrocloreto, preparada de acordo com o exemplo acima antes e após o teste de estabilidade acelerado.

Tabela 1: Resultado do teste de estabilidade acelerado.

		Antes de teste de armazenamento acelerado	Após teste de armazenamento acelerado
Teores (g/L)	Dimetomorfe	88,82	85,90
	Propamocarbe-HCl	504,87	503,37
Determinação de pH		5,7	5,7
Suspensibilidade (%)	Dimetomorfe	99	97
	Propamocarbe-HCl	99	98
Espontaneidade de dispersão (%)	Dimetomorfe	95	96
	Propamocarbe-HCl	96	94
Espuma persistente (mL de espuma) após 1 minuto		40	42
Peneiração por via húmida (% de material > 75µm) (% de material > 75 µm)		0,02	0,03
Distribuição de tamanho de partícula	10,00% < (µm)	0,72	0,71
	50,00% < (µm)	2,20	2,14
	90,00% < (µm)	6,89	6,27
	95,00% < (µm)	9,82	8,40
Capacidade de escoamento (%)	Resíduo	2,2	3,2

Os resultados acima demonstram que o dimetomorfe e propamocarbe-hidroclorato na formulação SC não apresentam, após o ensaio acelerado, uma percentagem de degradação relativa superior a 5 %, o que está de acordo com o "Manual on the Development and Use of FAO and WHO Specifications for Pesticides, November 2010".

A suspensibilidade da composição foi avaliada pelo método CIPAC MT 184. A FAO especifica um mínimo de 60 % presente em suspensão após 30 minutos a 30 °C em água D CIPAC padrão. A

Tabela 1 mostra resultados de suspensibilidade, antes e após o ensaio acelerado, para ambas as substâncias activas próximo de 100 , o que está bem acima do mínimo exigido.

A espontaneidade de dispersão em foi determinada de acordo com o método CIPAC MT 160, utilizando água D CIPAC padrão a 30 ± 1 °C, e revela que ambas as substâncias activas estão bem dispersas (acima de 90), antes e após o ensaio acelerado.

A capacidade de escoamento em foi determinada de acordo com o método CIPAC MT 148.1. O teste de capacidade de escoamento é uma medida directa de como a viscosidade pode influenciar o produto, nomeadamente o manuseamento, em particular a facilidade ou dificuldade em remover todo o conteúdo da embalagem agroquímica e lavar a embalagem por motivos ambientais. O resíduo da composição de acordo com a invenção após verter o conteúdo da embalagem foi de 2,2 e 3,2 antes e após o teste acelerado, um valor muito baixo e interessante em termos de utilização final e questões ambientais.

A Tabela 2 apresenta as propriedades físicas e químicas da formulação SC de dimetomorfe e propamocarbe-hidrocloreto acima, antes e após o teste de estabilidade a baixa temperatura.

Tabela 2: Resultado do teste de estabilidade a baixa temperatura.

		Antes de teste de congelamento/ descongelamento	Após teste de congelamento/ descongelamento
Teores (g/L)	Dimetomorfe	88,82	88,49
	Propamocarbe-HCl	504,87	501,21
Suspensibilidade ()	Dimetomorfe	99	99
	Propamocarbe-HCl	99	99
Peneiração por via húmida (de material > 75 µm)		0,02	0,02

Após o teste de estabilidade a baixa temperatura, os teores de ambas as substâncias activas permaneceram praticamente inalterados.

Também se pode verificar que não ocorreram alterações significativas ao nível do tamanho da partícula antes e após estes testes. Este facto é de grande importância do ponto de vista da utilização final da composição, de acordo com a presente invenção, particularmente no que diz respeito à eficácia de pulverização no campo.

AC O FUNGICIDA

O estudo seguinte foi realizado de forma a evidenciar os efeitos sinérgicos da combinação fungicida dos compostos dimetomorfe e propamocarbe-hidrocloreto.

Os resultados dos bioensaios das duas substâncias activas em relação a *Phytophthora infestans* para os dois compostos individuais dimetomorfe (DMM) e propamocarbe-HCl (PMC) bem como

para a combinação destas são apresentados na Tabela 3. O potencial efeito sinérgico da referida combinação é determinado nos níveis de EC50, EC70 e EC90, calculado a partir da curva de dose-resposta completa da combinação dos compostos.

A Tabela 3 apresenta os cálculos da eficácia esperada (E), para a combinação dos compostos (dimetomorfe+propamocarb-HCl) com os dados da actividade fungicida (= eficácia) aplicando a fórmula de Colby. A comparação deste valor (E) com a eficácia (bio-avaliada) da combinação do composto (M) demonstra a existência de um efeito sinérgico se E é (consideravelmente) inferior a M. Os dados mostram um efeito sinérgico evidente da combinação dos compostos dimetomorfe e propamocarbe-hidrocloreto (DMM: 90 g/L + PMC: 500 g/L) em todos os três níveis de concentração de ensaio de EC50, EC70 e EC90 seleccionados, uma vez que E é inferior a M em todos os casos.

Material e método

A análise de sensibilidade de um isolado a partir de um mono esporângio de *Phytophthora infestans* constitui a base das investigações e das conclusões resultantes. Este isolado resulta de um original não seleccionado de sensibilidade "selvagem" relativamente ao dimetomorfe, e é um representativo do correntemente predominante, e provavelmente também não seleccionado, nível de sensibilidade ("tipo selvagem") relativamente ao propamocarbe-hidrocloreto.

A base da análise de sensibilidade *in vivo* é o sistema de discos foliares destacados com o tratamento de plantas intactas inteiras, um dia antes de preparar os conjuntos de ensaio e

antes da inoculação (sistema de ensaio protectivo). Os tratamentos com fungicidas são preparados com uma solução a 0,05 de Uniperol. As diferentes concentrações de fungicidas são graduadas logaritmicamente por um factor de 2, de forma a obter-se uma avaliação exacta da EC para a sensibilidade relativamente à combinação de compostos activos (primeiro ensaio: DMM + PMC). Plantas de batateira jovens da variedade "Bintje" são pulverizadas com as respectivas soluções fungicidas até à condição de escorrimento.

Um dia após a pulverização e logo antes de ser realizada a inoculação, os conjuntos de ensaio são preparados por corte de partes de folha do material vegetal tratado e colocados em meio de agár (0,6 de agár) em placas de Petri descartáveis com 6 cm de diâmetro. Para cada concentração, é utilizada uma placa de Petri em separado para evitar interacções de fase gasosa entre o material vegetal tratado de forma diferente. Cada placa de Petri contém 3-5 partes de folha como replicados de diferentes folhas tratadas com a mesma concentração fungicida. Durante o período de inoculação, as folhas são expostas à suspensão de zoósporos do isolado durante cerca de 1-2 minutos. O ensaio isolado é directamente obtido das "folhas de propagação", que são transferidas para tubos de 7,5 mL. É adicionada aos tubos aproximadamente 5 mL de H₂O destilada e a suspensão é preparada por agitação dos tubos várias vezes. A concentração para a suspensão de esporos é ajustada a ca. 100000 esporos/mL. Após um período de 2 h de ausência de luz, humidade e baixas temperaturas a 2-4°C, para promover a libertação de zoósporos, cada conjunto de ensaio é inoculado por cima por dispersão da suspensão de esporos do isolado de ensaio com um micro-pulverizador num sistema de pulverização. Após a inoculação, as placas de Petri com as partes de folha tratadas de forma

diferente são novamente separadas entre si para evitar interacções de fase gasosa.

O ensaio é então incubado na câmara climatizada, durante 6 dias (18°C, ca. 50 $\mu\text{mol/m}^2\text{s}$, fotoperíodo de 16/8 h, 80 de humidade relativa). As placas de Petri com o material de planta tratado de forma diferente, correspondente às várias modalidades ensaiadas, são separados entre si para evitar interacções de fase gasosa.

Após o período de incubação, o material de ensaio é pontuado macroscopicamente relativamente à cobertura/desenvolvimento (formação de esporos) da doença, a cada concentração de fungicida em relação ao respectivo controlo não tratado (em). A partir da dose-resposta resultante, são calculados os valores EC50, EC70 e EC90 para os compostos individuais, bem como para a combinação dos compostos (Calculado) por análise de Probit [WEBER, E., Grundriß der biologischen Statistik; 8) Auflage, Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart-New York, 1980]. Estas concentrações são então utilizadas para a análise da respectiva eficácia dos compostos individuais, bem como a combinação composto (**M**edido). A partir dos valores medidos de eficácia dos compostos individuais, é calculada a eficácia **E**sperada (em) da combinação utilizando a equação de Colby (COLBY, S.R., Calculating synergistic and antagonistic responses of herbicide combination, Weeds, 15, pp 20-22, 1967).

$$E = x + y - x \times y/100$$

em que:

E é a eficácia esperada, em percentagem, quando se utiliza a mistura dos compostos activos I e II nas concentrações a e b.

x é a eficácia, em percentagem, quando se utiliza o composto activo I na concentração a;

y é a eficácia, em percentagem, quando se utiliza o composto activo II na concentração b.

Se o valor esperado (E) da combinação é inferior ao valor medido (M), é expresso um efeito fungicida sinérgico com a combinação dos dois compostos I e II.

Os resultados dos testes foram calculados utilizando as fórmulas acima e são apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Eficácia preventiva em folha inoculada com *Phytophthora infestans*

		<u>Eficácia preventiva em folhas inoculadas com <i>Phytophthora infestans</i> ()</u>	
		Medida (M)	Esperada (E)
	[a.i.], g/L		
EC50			
I	3,26	17	
II	18,11	0	
I+II	3,26+18,11	41	17,00
EC70			
I	4,11	36	
II	22,82	0	
I+II	4,11+22,82	78	36,00
EC90			
I	5,75	85	
II	31,88	0	
I+II	5,75+31,88	93	85,00

Quando as folhas são tratadas com uma suspensão que contém a mistura dos dois ingredientes activos de acordo com a invenção, a eficácia observada é superior em todas as EC, quando comparado com os resultados obtidos pelos ingredientes activos sozinhos.

Surpreendentemente, existe um maior controlo fungicida quando as folhas são tratadas com a composição de acordo com a presente invenção, em comparação com os ingredientes activos aplicados *per se*. A composição fungicida da presente invenção não é apenas uma mistura de ambos os ingredientes, resultando na agregação das propriedades apresentadas individualmente, ao

invés a formulação de acordo com a invenção apresenta sinergismo proporcionando uma propriedade inesperada para um gama alargada de EC's relevantes.

Os resultados do ensaio mostram que as misturas de acordo com a invenção aumentaram a actividade sinérgica contra o míldio da batateira (*Phytophthora infestans*). Isto é devido a uma acção biológica acrescida e, consequentemente, um efeito tóxico melhorado relativamente aos fungos alvo, quando comparado com o efeito de ambas as substâncias activas isoladamente. O objecto da presente invenção alcançou, portanto, um efeito técnico e prático surpreendente.

Setúbal, 29 de Maio de 2013

REIVINDICAÇÕES

1. Composição fungicida sinérgica caracterizada por consistir em dimetomorfe e propamocarbe-hidrocloreto sob a forma de uma suspensão concentrada em que:
 - a dose de dimetomorfe está no intervalo de 72 g/L a 90 g/L, e
 - a dose de propamocarbe-hidrocloreto está no intervalo de 400 g/L a 500 g/L.
2. Composição fungicida de acordo com a reivindicação 1, caracterizada por a dose de dimetomorfe ser de 90 g/L e a dose de propamocarbe-hidrocloreto ser de 500 g/L.
3. Composição fungicida de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, caracterizado por compreender ainda tensioactivos, agentes anti-congelantes e modificadores de reologia.
4. Composição fungicida de acordo com a reivindicação 3, caracterizado por os referidos agentes tensioactivos serem seleccionados de entre o grupo que compreende agentes de dispersão, activadores biológicos e agentes anti-espuma.
5. A composição fungicida de acordo com a reivindicação 4, caracterizado por a referida activadores biológicos serem álcoois C₁₁ a C₁₄ etoxilados ramificados.

6. Utilização da composição fungicida caracterizada por ser utilizada para tratar o míldio da batateira (*Phytophthora infestans*), míldio do tomateiro (*Phytophthora infestans*) e míldio da alface (*Bremia lactucae*).
7. Processo para o tratamento de culturas de fungos patogénicos, caracterizado pelo facto de uma composição de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 5, ser aplicada às culturas no intervalo de 144 g/ha a 180 g/ha de dimetomorfe e 800 g/ha a 1000 g/ha de propamocarbe-hidrocloreto.

Lisboa, 29 de Maio de 2013