

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 387 488**

21 Número de solicitud: 201231004

51 Int. Cl.:
A01N 59/26 (2006.01)
A01N 65/00 (2009.01)
A01N 37/00 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **28.06.2012**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **24.09.2012**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
24.09.2012

71 Solicitante/s:
BIOFUNGITEK, SOCIEDAD LIMITADA
Parque Tecnológico de Bizkaia, edificio 800, 2ª
planta
48170 Zamudio, Bizkaia, ES

72 Inventor/es:
RODRÍGUEZ URRRA, Ana Belén;
UBEGUN LIZASO, Ainara y
UGALDE MARTÍNEZ, Unai Ona

74 Agente/Representante:
Durán Moya, Carlos

54 Título: **Composición protectora contra enfermedades de plantas y frutos que comprende sales de carbonato y agentes aceptadores de pares de electrones**

57 Resumen:

Composición protectora contra enfermedades de plantas y frutos que comprende sales de carbonato y agentes aceptadores de pares de electrones.

La presente invención se refiere a composiciones protectoras contra enfermedades de plantas y frutos tanto en cosecha como después de la cosecha que comprende sales de carbonato y agentes aceptadores de pares de electrones. En dichas composiciones se potencian las propiedades fitofortificantes que presentan algunos de los compuestos empleados en la formulación por sí solos. Además, dichas propiedades protectoras se ven potenciadas aún más si dicha composición comprende además aceites esenciales de origen natural.

ES 2 387 488 A1

COMPOSICIÓN PROTECTORA
CONTRA ENFERMEDADES DE PLANTAS Y FRUTOS
QUE COMPRENDE SALES DE CARBONATO
Y AGENTES ACEPTADORES DE PARES DE ELECTRONES

5

DESCRIPCIÓN

La presente invención se refiere a composiciones protectoras contra enfermedades de plantas y frutos, tanto en cosecha como después de la cosecha, que comprende sales de carbonato y agentes aceptadores de pares de electrones. En dichas composiciones se potencian las propiedades fitofortificantes que presentan algunos de los agentes empleados en la formulación por sí solos. Además, dichas propiedades protectoras se ven potenciadas aún más si dicha composición comprende además aceites esenciales de origen natural.

Los microorganismos que afectan a las cosechas y a los productos después de cosechados provocan pérdidas económicas considerables, siendo responsables tanto de la pérdida del valor comercial del producto como de la producción de micotoxinas perjudiciales para humanos y animales.

Durante el periodo de cosecha y tras la misma, es habitual la aplicación de sustancias químicas para el control del crecimiento de hongos y bacterias. Sin embargo, la aplicación de dichas sustancias puede conllevar a una serie de problemas, tales como la aparición de resistencia o los residuos de pesticidas en los alimentos, aspectos que son cada vez más restrictivos por las regulaciones legales.

Por tanto, existe la necesidad de desarrollar productos eficaces que presenten una actividad

protectora contra enfermedades de plantas y frutos después de la cosecha y que, además, sean inocuos para el ser humano y el medio ambiente.

Se ha encontrado, de forma sorprendente, que
5 una composición que comprende carbonatos de metales alcalinos o alcalinotérreos y agentes aceptadores de pares de electrones, presenta propiedades protectoras contra enfermedades de plantas y frutos de la cosecha y estimulantes en las plantas, muy superiores a las que
10 presentan cada uno de estos componentes por separado. Este efecto sinérgico se ve potenciado aún más cuando a dicha composición se añade un aceite esencial de origen natural.

Por lo tanto, un objetivo de la presente
15 invención es dar a conocer una composición protectora contra enfermedades de plantas y frutos tanto en cosecha como después de la cosecha que comprende un carbonato de metal alcalino o alcalinotérreo o mezclas de los mismos y un agente aceptador de pares de electrones o mezclas
20 de los mismos. Opcionalmente, la composición de la presente invención comprende además aceites esenciales de origen natural.

Los carbonatos de metales son sales del ácido carbónico, que están muy presentes en la naturaleza y
25 que se emplean en distintos sectores. Por ejemplo, el carbonato de sodio se usa en la metalurgia, en la fabricación de detergentes, como base débil en algunos procesos en los que hay que regular el pH, en el refinamiento del petróleo, en preparados farmacéuticos y
30 en las industrias textil y papelera. El carbonato de potasio se emplea en la fabricación de jabones, vidrio, productos químicos, en la elaboración de medicamentos, alimentos y pigmentos, y en la purificación de gases.

Tradicionalmente, los carbonatos de calcio y magnesio se han empleado en agricultura para corregir el pH del suelo.

Preferentemente, el carbonato de metal
5 alcalino o alcalinotérreo que se puede utilizar en la composición de la presente invención se selecciona del grupo que comprende carbonato de los siguientes metales: sodio, potasio, litio, calcio y magnesio. Más preferentemente, es carbonato de potasio.

10 Por otra parte, tal como se utiliza en el presente documento, la frase "aceptador de pares de electrones" se refiere a los compuestos ácido fosfónico y/o sus sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, y al ácido fosfórico y/o sus sales. También en el presente
15 documento dicha frase se refiere a ácidos orgánicos policarboxílicos tales como los ácidos málico, tartárico, malónico, cítrico, fumárico, succínico y maleico; ácidos orgánicos con un anillo aromático tales como los ácidos úrico, cinámico, salicílico y cafeico; y
20 ácidos orgánicos insaturados tales como el ácido sórbico.

Además, la composición de la presente invención puede comprender además un aceite esencial de origen natural.

25 Los aceites esenciales son mezclas complejas de moléculas naturales que se obtienen fundamentalmente a partir de plantas. Son metabolitos secundarios que generalmente son líquidos, volátiles y solubles en disolventes orgánicos. En la naturaleza pueden ser
30 sintetizados en diversos órganos de las plantas, tales como semillas, hojas, flores, células epidérmicas y frutos, entre otros, y juegan un papel importante en la

protección de las plantas contra infecciones bacterianas, víricas o fúngicas.

Entre los aceites esenciales que se pueden utilizar en la composición de la presente invención se encuentran aceite de tomillo (*Thymus vulgaris*), aceite de orégano (*Origanum vulgare*), aceite de clavo (*Syzygium aromaticum*), aceite de nuez moscada (*Myristica fragrans*), aceite de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), aceite de laurel (*Laurus nobilis*), aceite de naranja (*Citrus x sinensis*), el aceite de menta (*Mentha x piperita*), aceite de valeriana (*Valeriana officinalis*), aceite de citronela (*Cymbopogon nardos*), aceite de lavanda (*Lavanda angustifolia*), aceite de jojoba (*Simmondsia californica*), aceite de Rosemary (*Rosemarinus officianalis*), aceite de neem (*Azadirachta indica*), aceite de semillas de algodón (*Gossypium hirsutum*) o mezclas de los mismos.

Por el origen natural y baja toxicidad de estos compuestos, resultan muy atractivos para su uso en la agricultura, con la finalidad de obtener alimentos saludables y sin residuos, un requisito exigido cada vez mas rigurosamente por las autoridades regulatorias y los consumidores.

El término aceite esencial también se refiere a los componentes activos de los mismos y a sus mezclas, que son conocidos por un experto en la materia. Ejemplos no limitativos de componentes activos de aceites esenciales se pueden seleccionar del grupo que comprende monoterpenoides fenólicos tales como carvacrol y timol; alilbencenos tal como eugenol; fenoles monosustituidos tal como transcinamaldehído, monoterpenos cíclicos tal como limoneno, monoterpernos bicíclicos tal como

canfeno, y terpenos lineales tal como nerol, o mezclas de los mismos.

La composición de la presente invención se puede aplicar en la agricultura para la protección de los cultivos desde la etapa de la germinación hasta la cosecha, así como el almacenamiento y transporte de dichos cultivos, semillas, flores, granos o frutos.

Sin estar unidos a una teoría en particular, es posible que la propiedad potenciadora de la actividad sea debido a la alcalinización de la superficie foliar de las hojas de la planta, lo que resulta en un entorno desfavorable para el desarrollo de enfermedades fúngicas patógenas.

La cantidad de carbonato de metal alcalino o alcalinotérreo presente en la composición de la presente invención se encuentra en el intervalo de 0,001 a 99,999% en peso total de la composición. Por otra parte la cantidad del agente o agentes aceptadores de pares de electrones en la composición de la presente invención puede variar en el intervalo de 99,999 a un 0,001% en peso de la composición total.

La composición de la presente invención se puede preparar mezclando las sales de carbonato y el agente aceptador de pares de electrones mediante cualquier método de mezclado conocido en la técnica. Por lo general, dicha mezcla estará en forma sólida, en suspensión, en dispersión, en emulsión, pulverizada, micro o nanoencapsulada o en cualquier tipo de mezcla que permanezca estable a lo largo del tiempo o incorporada en polímeros, ceras o cualquier otro soporte similar.

Además, la composición de la presente invención se puede utilizar como tal, o se puede

utilizar para la formulación de un producto fitosanitario con diferentes compuestos utilizados en la técnica que aportan diferentes propiedades curativas, o con aditivos empleados que otorgan propiedades, tales como, surfactantes, polímeros, agentes alcalinizantes, agentes controladores de pH, entre otros muchos aditivos utilizados en las formulaciones de los productos empleados en la industria agrícola.

La composición se aplicará en disolución acuosa, que se podrá aplicar por cualquier método conocido en la técnica, tales como aspersion.

La composición de la invención puede comprender además agentes fertilizantes, que pueden seleccionarse del grupo que comprende compuestos que contienen nitrógeno y/o fósforo, tales como urea, hexamina, dicianodiamida, amelina, ácido cianúrico, nitrato de melamina, aminoácidos y similares o mezclas de los mismos.

La composición de la presente invención también puede comprender cualquier compuesto o con actividad química y/o biológica que se utilice en la agricultura, tales como, herbicidas, insecticidas, reguladores del crecimiento de las plantas y similares, o mezclas de los mismos.

La presente invención se describe a continuación con más detalle en referencia a varios ejemplos de realización. Estos ejemplos, sin embargo, no están destinados a limitar el alcance técnico de la presente invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Inhibición de la enfermedad *Botrytis cinerea* por diferentes composiciones según la presente invención.

Se cultivó *B. cinerea* en medio de cultivo Patata Dextrosa Broth (PDB) y se utilizó como testigo (control negativo). A dicho medio de cultivo se añadieron diferentes composiciones según la presente invención (invenciones 1, 2 y 3), tal como se muestra en la tabla 1. Se controló el pH para que los cultivos estuvieran en un intervalo de pH entre 7 y 8,5, alcalinizando o acidificando en caso necesario. Se cultivó durante 24h y posteriormente se leyó la densidad óptica (DO) a 405nm. Se calculó el porcentaje de inhibición mediante la siguiente formula;

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{[DO \text{ Testigo} - DO \text{ Prueba}]}{[DO \text{ Testigo}]} \cdot 100$$

15

(Sigue en página siguiente)

Tabla 1: Tratamiento de *B. cinerea* con diferentes composiciones según la presente invención.

TRATAMIENTO	PRUEBA	ENFERMEDAD	% INHIBICION
Medio de cultivo	Testigo	<i>Botrytis cinerea</i>	0%
Medio de cultivo + Carbonato Potásico (0,03% p/v)	Carbonato K 0,03%	<i>Botrytis cinerea</i>	10%
Medio de cultivo + Carbonato Potásico (0,05% p/v)	Carbonato K 0,05%	<i>Botrytis cinerea</i>	20%
Medio de cultivo + Fosfito potásico (0,03% p/v)	Fosfito K 0,03%	<i>Botrytis cinerea</i>	0%
Medio de cultivo + Fosfito potásico (0,05% p/v)	Fosfito K 0,05%	<i>Botrytis cinerea</i>	5%
Medio de cultivo + Carbonato potásico (0,05% p/v) + Fosfito potásico (0,05% p/v)	Carbonato K + Fosfito K (Invención 1)	<i>Botrytis cinerea</i>	80%
Medio de cultivo + Carvacrol (0,001% p/v)	Carvacrol	<i>Botrytis cinerea</i>	15%
Medio de cultivo + Carbonato potásico (0,03% p/v) + Fosfito potásico (0,03% p/v) + Carvacrol (0,001%)	Carbonato K + Fosfito K + Carvacrol (Invención 2)	<i>Botrytis cinerea</i>	83%
Medio de cultivo + Cinamaldehído (0,001% p/v)	trans-Cinamaldehído	<i>Botrytis cinerea</i>	12%
Medio de cultivo + Carbonato potásico (0,03% p/v) + Fosfito potásico (0,03% p/v) + Cinamaldehído(0,001%)	trans-Cinamaldehído (Invención 3)	<i>Botrytis cinerea</i>	81%

Como se observa en la tabla 1, la utilización de medio de cultivo solo (control negativo) no tuvo ningún efecto sobre la inhibición de *B. cinerea*. Además, el tratamiento con una composición con carbonato potásico y fosfito potásico presenta un efecto sinérgico en el poder inhibitorio en el crecimiento de *B.cinerea*, ya que el % de inhibición es muy superior a la suma de dicho efecto de cada uno de estos componentes por separado.

Por otra parte, al añadir un componente de un aceite esencial (carvacrol o t-cinamaldehído) a la

composición anterior también se observa un efecto sinérgico, siendo necesaria una concentración de carbonato y fosfito más baja para alcanzar un índice inhibitorio como el de la invención 1.

5 Ejemplo 2. Inhibición de la enfermedad *Fusarium oxysporum* por otras composiciones según la presente invención.

Se cultivó *F. oxysporum* en medio de cultivo Patata Dextrosa Broth (PDB) y se utilizó como testigo
 10 (control negativo). A dicho medio de cultivo se añadieron diferentes composiciones según la presente invención (invenciones 4, 5 y 6), tal como se muestra en la tabla 2. Se controló el pH para que los cultivos estuvieran en un intervalo de pH entre 7 y 8,5,
 15 alcalinizando o acidificando en caso necesario. Se cultivó durante 24h y posteriormente se leyó la densidad óptica (DO) a 405nm. Se calculó el porcentaje de inhibición mediante la siguiente formula;

20
$$\% \text{ Inhibición} = \frac{[DO \text{ Testigo} - DO \text{ Prueba}]}{[DO \text{ Testigo}]} \cdot 100$$

Tabla 2: Tratamiento de *F. oxysporum* con diferentes composiciones según la presente invención.

TRATAMIENTO	PRUEBA	ENFERMEDAD	% INHIBICION
Medio de cultivo	Testigo	<i>Fusarium oxysporum</i>	0%
Medio de cultivo + Carbonato Potásico (0,03% p/v)	Carbonato K 0,03%	<i>Fusarium oxysporum</i>	12%
Medio de cultivo + Carbonato Potásico (0,05% p/v)	Carbonato K 0,05%	<i>Fusarium oxysporum</i>	15%
Medio de cultivo + ácido fosfónico (0,017% p/v)	ácido fosfónico 0,03%	<i>Fusarium oxysporum</i>	10%
Medio de cultivo + ácido fosfónico (0,025% p/v)	ácido fosfónico 0,05%	<i>Fusarium oxysporum</i>	17%
Medio de cultivo + Carbonato potásico (0,05% p/v) + ácido fosfónico (0,017% p/v)	Carbonato K + ácido fosfónico (Invención 4)	<i>Fusarium oxysporum</i>	70%
Medio de cultivo + Carvacrol (0,001% p/v)	Carvacrol	<i>Fusarium oxysporum</i>	9%
Medio de cultivo + Carbonato potásico (0,05% p/v) + ácido fosfónico (0,017% p/v) + Carvacrol (0,001%)	Carbonato K + ácido fosfónico + Carvacrol (Invención 5)	<i>Fusarium oxysporum</i>	88%
Medio de cultivo + Cinamaldehído (0,001% p/v)	trans-Cinamaldehído	<i>Fusarium oxysporum</i>	12%
Medio de cultivo + Carbonato potásico (0,05% p/v) + ácido fosfónico (0,017% p/v) + Cinamaldehído(0,001%)	Carbonato K + ácido fosfónico + trans-Cinamaldehído (Invención 6)	<i>Fusarium oxysporum</i>	84%

Como se observa en la tabla 2, la suma de
 5 carbonato potásico y ácido fosfónico presenta un efecto
 sinérgico en el poder inhibitorio en el crecimiento de
F. oxysporum. La suma de un componente de un aceite
 esencial (carvacrol o t-cinamaldehído) presenta también
 un efecto sinérgico, siendo necesaria una concentración
 10 de carbonato y fosfónico más baja para alcanzar un
 índice inhibitorio, por ejemplo, como el de la invención
 4.

Ejemplo 3. Inhibición de la enfermedad *Botrytis cinerea* por composiciones según la presente invención.

Se cultivó *B. cinerea* en medio de cultivo Patata Dextrosa Broth (PDB) y se utilizó como testigo (control negativo). A dicho medio de cultivo se añadieron diferentes composiciones según la presente invención (invenciones 7, 8 y 9), tal como se muestra en la tabla 3. Se controló el pH para que los cultivos estuvieran en un intervalo de pH entre 7 y 8,5, alcalinizando o acidificando en caso necesario. Se cultivó durante 24h y posteriormente se leyó la densidad óptica (DO) a 405nm. Se calculó el porcentaje de inhibición mediante la siguiente formula;

15

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{[DO \text{ Testigo} - DO \text{ Prueba}]}{[DO \text{ Testigo}]} \cdot 100$$

Tabla 3: Tratamiento de *B. cinerea* con diferentes composiciones según la presente invención

TRATAMIENTO	PRUEBA	ENFERMEDAD	% INHIBICION
Medio de cultivo	Testigo	<i>B. cinerea</i>	0%
Medio de cultivo + Carbonato Potásico (0,03% p/v)	Carbonato K 0,03%	<i>B. cinerea</i>	10%
Medio de cultivo + Carbonato Potásico (0,05% p/v)	Carbonato K 0,05%	<i>B. cinerea</i>	20%
Medio de cultivo + ácido fosfónico (0,011% p/v)	ácido fosfónico 0,01%	<i>B. cinerea</i>	10%
Medio de cultivo + Fosfito magnésico (0,014% p/v)	Fosfito Mg 0,05%	<i>B. cinerea</i>	50%
Medio de cultivo + Carbonato potásico (0,05% p/v) + ácido fosfónico (0,011% p/v) + Fosfito Mg (0,014% p/v)	Carbonato K + ácido fosfónico + Fosfito Mg (Invención 7)	<i>B. cinerea</i>	90%
Medio de cultivo + Carvacrol (0,001% p/v)	Carvacrol	<i>B. cinerea</i>	15%
Medio de cultivo + Carbonato potásico (0,03% p/v) + ácido fosfónico (0,007% p/v) + Fosfito Mg (0,009% p/v) + Carvacrol (0,001%)	Carbonato K + ácido fosfónico + Fosfito Mg + Carvacrol (Invención 8)	<i>B. cinerea</i>	92%
Medio de cultivo + Cinamaldehído (0,001% p/v)	trans-Cinamaldehído	<i>B. cinerea</i>	12%
Medio de cultivo + Carbonato potásico (0,03% p/v) + ácido fosfónico (0,007% p/v) + Fosfito Mg (0,009% p/v) + Cinamaldehído (0,001%)	Carbonato K + ácido fosfónico + Fosfito Mg + trans-Cinamaldehído (Invención 9)	<i>B. cinerea</i>	90%

Como se observa en la tabla anterior, la suma de carbonato potásico, ácido fosfónico y fosfito magnésico presenta un efecto sinérgico en el poder inhibitorio en el crecimiento de *B. cinerea*. La suma de un componente de un aceite esencial (carvacrol o t-cinamaldehído) presenta un efecto sinérgico, siendo necesaria una concentración de carbonato, fosfónico y

fosfite más baja para alcanzar un índice inhibitorio como el de la invención 7.

5 Ejemplo 4. Inhibición de la enfermedad *Botrytis cinerea* por otras composiciones según la presente invención.

Se cultivó *B. cinerea* en medio de cultivo Patata Dextrosa Broth (PDB) y se utilizó como testigo (control negativo). A dicho medio de cultivo se añadieron diferentes composiciones según la presente
10 invención (invenciones 10, 11 y 12), tal como se muestra en la tabla 4. Se controló el pH para que los cultivos estuvieran en un intervalo de pH entre 7 y 8,5, alcalinizando o acidificando en caso necesario. Se cultivó durante 24h y posteriormente se leyó la densidad
15 óptica (DO) a 405nm. Se calculó el porcentaje de inhibición mediante la siguiente formula;

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{[\text{DO Testigo} - \text{DO Prueba}]}{[\text{DO Testigo}]} \cdot 100$$

20

Tabla 4: Tratamiento de *B.cinerea* con diferentes composiciones según la presente invención

TRATAMIENTO	PRUEBA	ENFERMEDAD	% INHIBICION
Medio de cultivo	Testigo	<i>Botrytis cinerea</i>	0%
Medio de cultivo + Carbonato Mg (0,03% p/v)	Carbonato Mg 0,03%	<i>Botrytis cinerea</i>	10%
Medio de cultivo + Carbonato Mg (0,05% p/v)	Carbonato Mg 0,05%	<i>Botrytis cinerea</i>	20%
Medio de cultivo + sodio dihidrógeno fosfato (0,03% p/v)	NaH ₂ PO ₄ 0,03%	<i>Botrytis cinerea</i>	0%
Medio de cultivo + sodio dihidrógeno fosfato (0,05% p/v)	NaH ₂ PO ₄ 0,05%	<i>Botrytis cinerea</i>	0%
Medio de cultivo + Carbonato Mg (0,05% p/v) + NaH ₂ PO ₄ (0,05% p/v)	Carbonato Mg + NaH ₂ PO ₄ (Invención 10)	<i>Botrytis cinerea</i>	70%
Medio de cultivo + Carvacrol (0,001% p/v)	Carvacrol	<i>Botrytis cinerea</i>	15%
Medio de cultivo + Carbonato Mg (0,03% p/v) + NaH ₂ PO ₄ (0,03% p/v) + Carvacrol (0,001%)	Carbonato Mg + NaH ₂ PO ₄ + Carvacrol (Invención 11)	<i>Botrytis cinerea</i>	75%
Medio de cultivo + Cinamaldehído (0,001% p/v)	trans-Cinamaldehído	<i>Botrytis cinerea</i>	12%
Medio de cultivo + Carbonato Mg (0,03% p/v) + NaH ₂ PO ₄ + Cinamaldehído(0,001%)	Carbonato Mg + NaH ₂ PO ₄ + trans-Cinamaldehído (Invención 12)	<i>Botrytis cinerea</i>	71%

Como se observa en la tabla anterior, la suma de carbonato potásico y sodio dihidrógeno fosfato presenta un efecto sinérgico en el poder inhibitorio en el crecimiento de *B.cinerea*. La suma de un componente de un aceite esencial (carvacrol o t-cinamaldehído) presenta un efecto sinérgico, siendo necesaria una concentración de carbonato y fosfato más baja para alcanzar un índice inhibitorio como el de la invención 10.

Ejemplo 5. Inhibición de la enfermedad *Phytophthora capsici* por composiciones según la presente invención.

Se cultivó *P. capsici* en medio de cultivo Patata Dextrosa Broth (PDB) y se utilizó como testigo (control negativo). A dicho medio de cultivo se añadieron diferentes composiciones según la presente invención (invenciones 13, 14 y 15), tal como se muestra en la tabla 5. Se controló el pH para que los cultivos estuvieran en un intervalo de pH entre 7 y 8,5, alcalinizando o acidificando en caso necesario. Se cultivó durante 24h y posteriormente se leyó la densidad óptica (DO) a 405nm. Se calculó el porcentaje de inhibición mediante la siguiente formula;

15

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{[DO \text{ Testigo} - DO \text{ Prueba}]}{[DO \text{ Testigo}]} \cdot 100$$

Tabla 5: Tratamiento de *P.capsici* con diferentes composiciones según la presente invención.

TRATAMIENTO	PRUEBA	ENFERMEDAD	% INHIBICION
Medio de cultivo	Testigo	<i>P.capsici</i>	0%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,03% p/v)	Carbonato K 0,03%	<i>P.capsici</i>	5%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,05% p/v)	Carbonato K 0,05%	<i>P.capsici</i>	12%
Medio de cultivo + ácido salicílico (0,01% p/v)	Ácido salicílico 0,03%	<i>P.capsici</i>	8%
Medio de cultivo + ácido salicílico (0,025%)	ácido salicílico 0,05%	<i>P.capsici</i>	14%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,05% p/v) + ácido salicílico (0,025% p/v)	Carbonato K + ácido salicílico (Invención 13)	<i>P.capsici</i>	67%
Medio de cultivo + Carvacrol (0,001% p/v)	Carvacrol	<i>P.capsici</i>	17%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,03% p/v) + ácido salicílico (0,01% p/v) + Carvacrol (0,001%)	Carbonato K + ácido salicílico + Carvacrol (Invención 14)	<i>P.capsici</i>	72%
Medio de cultivo + Eugenol (0,001% p/v)	Eugenol	<i>P.capsici</i>	14%
Medio de cultivo + Carbonato Mg (0,03% p/v) + ácido salicílico (0,01% p/v) + Eugenol (0,001%)	Carbonato Mg + ácido salicílico + Eugenol (Invención 15)	<i>P.capsici</i>	76%

Como se observa en la tabla anterior, la suma de carbonato potásico y ácido salicílico presenta un efecto sinérgico en el poder inhibitorio en el crecimiento de *P.capsici*. La suma de un componente de un aceite esencial (carvacrol o eugenol) presenta un efecto sinérgico, siendo necesaria una concentración de carbonato y salicílico más baja para alcanzar un índice inhibitorio como el de la invención 13.

Ejemplo 6. Inhibición de la enfermedad *Penicillium digitatum* por composiciones según la presente invención.

Se cultivó *P. digitatum* en medio de cultivo Patata Dextrosa Broth (PDB) y se utilizó como testigo (control negativo). A dicho medio de cultivo se añadieron diferentes composiciones según la presente invención (invenciones 16, 17 y 18), tal como se muestra en la tabla 6. Se controló el pH para que los cultivos estuvieran en un intervalo de pH entre 7 y 8,5, alcalinizando o acidificando en caso necesario. Se cultivó durante 24h y posteriormente se leyó la densidad óptica (DO) a 405nm. Se calculó el porcentaje de inhibición mediante la siguiente formula;

15

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{[DO \text{ Testigo} - DO \text{ Prueba}]}{[DO \text{ Testigo}]} \cdot 100$$

Tabla 6: Tratamiento de *P. digitatum* con diferentes composiciones según la presente invención.

TRATAMIENTO	PRUEBA	ENFERMEDAD	% INHIBICION
Medio de cultivo	Testigo	<i>P. digitatum</i>	0%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,03% p/v)	Carbonato K 0,03%	<i>P. digitatum</i>	13%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,05% p/v)	Carbonato K 0,05%	<i>P. digitatum</i>	20%
Medio de cultivo + ácido cítrico (0,01% p/v)	Ácido cítrico 0,01%	<i>P. digitatum</i>	15%
Medio de cultivo + ácido cítrico (0,017% p/v)	ácido cítrico 0,017%	<i>P. digitatum</i>	20%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,05% p/v) + ácido cítrico (0,017% p/v)	Carbonato K + ácido cítrico (Invención 16)	<i>P. digitatum</i>	68%
Medio de cultivo + Carvacrol (0,001% p/v)	Carvacrol	<i>P. digitatum</i>	17%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,03% p/v) + ácido cítrico (0,01% p/v) + Carvacrol (0,001%)	Carbonato K + ácido cítrico + Carvacrol (Invención 17)	<i>P. digitatum</i>	79%
Medio de cultivo + Eugenol (0,001% p/v)	Eugenol	<i>P. digitatum</i>	12%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,03% p/v) + ácido cítrico (0,01% p/v) + Eugenol (0,001%)	Carbonato K + ácido Cítrico + Eugenol (Invención 18)	<i>P. digitatum</i>	75%

Como se observa en la tabla anterior, la suma de carbonato potásico y ácido cítrico presenta un efecto sinérgico en el poder inhibitorio en el crecimiento de *P. digitatum*. La suma de un componente de un aceite esencial (carvacrol o eugenol) presenta un efecto sinérgico, siendo necesaria una concentración de carbonato y cítrico más baja para alcanzar un índice inhibitorio como el de la invención 16.

Ejemplo 7. Inhibición de la enfermedad *Penicillium digitatum* por otras composiciones según la presente invención.

Se cultivó *P. digitatum* en medio de cultivo Patata Dextrosa Broth (PDB) y se utilizó como testigo (control negativo). A dicho medio de cultivo se añadieron diferentes composiciones según la presente invención (invenciones 19, 20 y 21), tal como se muestra en la tabla 7. Se controló el pH para que los cultivos estuvieran en un intervalo de pH entre 7 y 8,5, alcalinizando o acidificando en caso necesario. Se cultivó durante 24h y posteriormente se leyó la densidad óptica (DO) a 405nm. Se calculó el porcentaje de inhibición mediante la siguiente formula;

15

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{[DO \text{ Testigo} - DO \text{ Prueba}]}{[DO \text{ Testigo}]} \cdot 100$$

(Sigue en página siguiente)

Tabla 7: Tratamiento de *P. digitatum* con diferentes composiciones según la presente invención.

TRATAMIENTO	PRUEBA	ENFERMEDAD	% INHIBICION
Medio de cultivo	Testigo	<i>P. digitatum</i>	0%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,03% p/v)	Carbonato K 0,03%	<i>P. digitatum</i>	13%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,05% p/v)	Carbonato K 0,05%	<i>P. digitatum</i>	20%
Medio de cultivo + ácido málico (0,015% p/v)	Ácido málico 0,015%	<i>P. digitatum</i>	5%
Medio de cultivo + ácido málico (0,025% p/v)	ácido málico 0,025%	<i>P. digitatum</i>	8%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,05% p/v) + ácido málico (0,025% p/v)	Carbonato K + ácido málico (Invención 19)	<i>P. digitatum</i>	63%
Medio de cultivo + Carvacrol (0,001% p/v)	Carvacrol	<i>P. digitatum</i>	17%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,03% p/v) + ácido málico (0,015% p/v) + Carvacrol (0,001%)	Carbonato K + ácido málico+ Carvacrol (Invención 20)	<i>P. digitatum</i>	87%
Medio de cultivo + Eugenol (0,001% p/v)	Eugenol	<i>P. digitatum</i>	12%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,03% p/v) + ácido málico (0,015% p/v) + Eugenol (0,001%)	Carbonato K + ácido málico + Eugenol (Invención 21)	<i>P. digitatum</i>	83%

Como se observa en la tabla anterior, la suma de carbonato potásico y ácido málico presenta un efecto sinérgico en el poder inhibitorio en el crecimiento de *P. digitatum*. La suma de un componente de un aceite esencial (carvacrol o eugenol) presenta un efecto sinérgico, siendo necesaria una concentración de carbonato y málico más baja para alcanzar un índice inhibitorio como el de la invención 19.

Ejemplo 8. Inhibición de la enfermedad *Botrytis cinerea* por otras composiciones según la presente invención.

Se cultivó *B. cinerea* en medio de cultivo Patata Dextrosa Broth (PDB) y se utilizó como testigo (control negativo). A dicho medio de cultivo se añadieron diferentes composiciones según la presente invención (invenciones 22, 23 y 24), tal como se muestra en la tabla 8. Se controló el pH para que los cultivos estuvieran en un intervalo de pH entre 7 y 8,5, alcalinizando o acidificando en caso necesario. Se cultivó durante 24h y posteriormente se leyó la densidad óptica (DO) a 405nm. Se calculó el porcentaje de inhibición mediante la siguiente formula;

15

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{[DO \text{ Testigo} - DO \text{ Prueba}]}{[DO \text{ Testigo}]} \cdot 100$$

(Sigue en página siguiente)

Tabla 8: Tratamiento de *B.cinerea* con otras composiciones según la presente invención.

TRATAMIENTO	PRUEBA	ENFERMEDAD	% INHIBICION
Medio de cultivo	Testigo	<i>Botrytis cinerea</i>	0%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,03% p/v)	Carbonato K 0,03%	<i>Botrytis cinerea</i>	7%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,05% p/v)	Carbonato K 0,05%	<i>Botrytis cinerea</i>	13%
Medio de cultivo + ácido maleico (0,015% p/v)	Ácido maleico 0,015%	<i>Botrytis cinerea</i>	5%
Medio de cultivo + ácido maleico (0,025% p/v)	ácido maleico 0,025%	<i>Botrytis cinerea</i>	7%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,05% p/v) + ácido maleico (0,025% p/v)	Carbonato K + ácido maleico (Invención 22)	<i>Botrytis cinerea</i>	64%
Medio de cultivo + Carvacrol (0,001% p/v)	Carvacrol	<i>Botrytis cinerea</i>	15%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,03% p/v) + ácido maleico (0,015% p/v) + Carvacrol (0,001%)	Carbonato K + ácido maleico+ Carvacrol (Invención 23)	<i>Botrytis cinerea</i>	73%
Medio de cultivo + Eugenol (0,001% p/v)	Eugenol	<i>Botrytis cinerea</i>	12%
Medio de cultivo + Carbonato K (0,03% p/v) + ácido maleico (0,015% p/v) + Eugenol (0,001%)	Carbonato K + ácido maleico + Eugenol (Invención 24)	<i>Botrytis cinerea</i>	70%

Como se observa en la tabla anterior, la suma de carbonato potásico y ácido maleico presenta un efecto sinérgico en el poder inhibitorio en el crecimiento de *B. cinerea*. La suma de un componente de un aceite esencial (carvacrol o eugenol) presenta un efecto sinérgico, siendo necesaria una concentración de carbonato y maleico más baja para alcanzar un índice inhibitorio como el de la invención 22.

Si bien la invención se ha descrito con respecto a ejemplos de realizaciones preferentes, éstos no se deben considerar limitativos de la invención, que se definirá por la interpretación más amplia de las
5 siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Composición protectora contra enfermedades de plantas y frutos que comprende un carbonato de metal alcalino o alcalinotérreo o mezclas de los mismos y un agente aceptador de pares de electrones o mezclas de los mismos.

2. Composición, según la reivindicación 1, caracterizada porque el carbonato de metal alcalino o alcalinotérreo se selecciona del grupo que comprende carbonato de los siguientes metales: sodio, potasio, litio, calcio y magnesio.

3. Composición, según la reivindicación 1 ó 2, caracterizada porque el carbonato de metal alcalino o alcalinotérreo es carbonato de potasio.

4. Composición, según la reivindicación 1, caracterizada porque el agente aceptador de pares de electrones es ácido fosfónico y/o sus sales de metales alcalinos y alcalinotérreos.

5. Composición, según la reivindicación 1, caracterizada porque el agente aceptador de pares de electrones es ácido fosfórico y/o sus sales.

6. Composición, según la reivindicación 1, caracterizada porque el agente aceptador de pares de electrones es un ácido orgánico policarboxílico tal como ácido málico, tartárico, malónico, cítrico, fumárico, succínico o maleico; o un ácido orgánico con un anillo aromático tal como ácidos úrico, cinámico, salicílico o cafeico; o un ácido orgánico insaturado tal como ácido sórbico.

7. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la cantidad de carbonato de metal alcalino o alcalinotérreo

presente en la composición está en el intervalo de 0,001 a 99,999% en peso de la composición total.

8. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque la cantidad del agente aceptador de pares de electrones en la composición está en el intervalo de un 99,999 a un 0,001% en peso de la composición total.

9. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque comprende además un aceite esencial de origen natural.

10. Composición, según la reivindicación 9, caracterizada porque el aceite esencial de origen natural se selecciona del grupo que comprende aceite de tomillo (*Thymus vulgaris*), aceite de orégano (*Origanum vulgare*), aceite de clavo (*Syzygium aromaticum*), aceite de nuez moscada (*Myristica fragrans*), aceite de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), aceite de laurel (*Laurus nobilis*), aceite de naranjo (*Citrus x sinensis*), aceite de menta (*Mentha x piperita*), aceite de valeriana (*Valeriana officinalis*), aceite de citronela (*Cymbopogon nardos*), aceite de lavanda (*Lavanda angustifolia*), aceite de jojoba (*Simmondsia californica*), aceite de Rosemary (*Rosemarinus officianalis*), aceite de neem (*Azadirachta indica*), aceite de semillas de algodón (*Gossypium hirsutum*) o mezclas de los mismos.

11. Composición, según la reivindicación 9 ó 10, caracterizada porque el aceite esencial de origen natural es un compuesto activo de dicho aceite esencial de origen natural, seleccionado del grupo que comprende monoterpenoides fenólicos tales como carvacrol y timol; alilbencenos tal como eugenol; fenoles monosustituidos tal como transcinamaldehído, monoterpenos cíclicos tal como limoneno, monoterpernos bicíclicos tal como

canfeno, y terpenos lineales tal como nerol, o mezclas de los mismos.

5 12. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque está en forma sólida, en suspensión, en dispersión, en emulsión, pulverizada, micro o nanoencapsulada o en cualquier tipo de mezcla que permanezca estable a lo largo del tiempo o incorporada en polímeros, ceras o cualquier otro soporte similar.

10 13. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque está formulada junto con aditivos tales como surfactantes, polímeros, agentes alcalinizantes, agentes controladores de pH, entre otros.

15 14. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque comprende además un fertilizante seleccionado del grupo que comprende compuestos que contienen nitrógeno y/o fósforo.

20 15. Composición, según la reivindicación 14, caracterizada porque el fertilizante que contiene nitrógeno y/o fósforo es urea, hexamina, dicianodiamida, amelina, ácido cianúrico, nitrato de melamina, aminoácidos y similares o mezclas de los mismos.

25 16. Composición, según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizada porque comprende además cualquier compuesto con actividad química y/o biológica que se utiliza en la agricultura.

30 17. Composición, según la reivindicación 16, caracterizada porque dicho compuesto con actividad química y/o biológica que se utiliza en la agricultura es un herbicida, un insecticida, un regulador del

crecimiento de las plantas y similares, o mezclas de los mismos.

18. Uso de la composición, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para la protección de los cultivos agrícolas contra enfermedades desde la etapa de la germinación hasta la cosecha.

19. Uso de la composición, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 17, para la protección de productos agrícolas tales como semillas, flores, granos o frutos durante su almacenamiento y transporte.



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201231004

②② Fecha de presentación de la solicitud: 28.06.2012

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	Base de datos WPI, semana 201009, Thomson Scientific, Londres, GB, [recuperado el 21.08.2012] Recuperado de: EPOQUE, N° de acceso 2009-S52272[09] & CN 101595870 A (SHEN-N) 09.12.2009	1-3,5-8,12-17
X	Base de datos WPI, semana 201135, Thomson Scientific, Londres, GB, [recuperado el 21.08.2012] Recuperado de: EPOQUE, N° de acceso 2011-E23117[35] & CN 101979490 A (ENGT-N) 23.02.2011	1,2,6-12,18,19
X	Base de datos WPI, semana 200157, Thomson Scientific, Londres, GB, [recuperado el 10.09.2012] Recuperado de: EPOQUE, N° de acceso 2001-515670[57] & DE 19959510 A (BURKHART) 19.07.2001	1-4,12-19

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
10.09.2012

Examinador
M. Ojanguren Fernández

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A01N59/26 (2006.01)

A01N65/00 (2009.01)

A01N37/00 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, CAS

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 10.09.2012

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-19	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-19	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	Base de datos WPI, semana 201009, Thomson Scientific, Londres, GB, [recuperado el 21.08.2012] Recuperado de: EPOQUE, N° de acceso 2009-S52272[09] & CN 101595870 A (SHEN-N) 09.12.2009	
D02	Base de datos WPI, semana 201135, Thomson Scientific, Londres, GB, [recuperado el 21.08.2012] Recuperado de: EPOQUE, N° de acceso 2011-E23117[35] & CN 101979490 A (ENGT-N) 23.02.2011	
D03	Base de datos WPI, semana 200157, Thomson Scientific, Londres, GB, [recuperado el 10.09.2012] Recuperado de: EPOQUE, N° de acceso 2001-515670[57] & DE 19959510 A (BURKHART) 19.07.2001	

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

El objeto de la presente solicitud es una composición protectora contra enfermedades en plantas y frutos que comprende un carbonato de metal alcalino o alcalinotérreo o mezclas de los mismos y un agente aceptador de pares de electrones o mezclas de los mismos. En concreto, en las reivindicaciones dependientes 4, 5 y 6, se indica que dicho agente puede ser ácido fosfórico o sus sales, ácido fosfónico o sus sales, o un ácido policarboxílico tal como ácido málico, tartárico, malónico, cítrico, fumárico, succínico, o maléico, o también, un ácido orgánico con un anillo aromático tal como ácido úrico, cinámico, salicílico o cafeico o por último un ácido orgánico insaturado tal como ácido sórbico.

El documento D1 divulga una composición granular efervescente para uso agrícola (fertilizante o pesticida) que comprende un ácido que puede ser fosfórico, tartárico, fumárico, málico, maleico, cítrico o succínico y un carbonato que puede ser entre otros: carbonato de litio, sódico, potásico, de magnesio o de calcio. Además comprende otros ingredientes como surfactantes, ligantes, agentes de relleno y lubricantes.

El documento D2 divulga una composición para eliminar microbios de la superficie de frutos y vegetales que comprende un ácido orgánico que puede ser ácido cítrico o málico, un surfactante, un extracto de plantas que puede ser eugenol, carvacrol o timol, y un agente potenciador seleccionado entre carbonato sódico o de magnesio.

El documento D3 divulga una composición fungicida que comprende fosfito sódico y carbonato potásico o sódico. Por lo tanto, a la vista de estos documentos las reivindicaciones 1 a 19 de la presente solicitud no tienen novedad ni actividad inventiva. (Art. 6.1 y 8.1 LP).