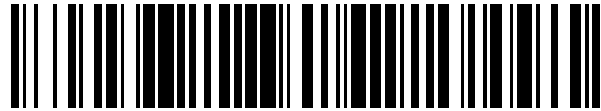


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 397 298**

51 Int. Cl.:

C05F 11/08 (2006.01)

C05G 3/02 (2006.01)

A01N 63/04 (2006.01)

A01P 15/00 (2006.01)

A01P 21/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.07.2008 E 08782316 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.10.2012 EP 2209755**

54 Título: **Composiciones de micorriza líquida**

30 Prioridad:

24.07.2007 US 951503 P

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

06.03.2013

73 Titular/es:

**NOVOZYMES A/S (100.0%)
KROGSHÖJVEJ 36
2880 BAGSVAERD, DK**

72 Inventor/es:

**WOODS, KRISTI y
DIVERS, ERIN**

74 Agente/Representante:

TOMAS GIL, Tesifonte Enrique

ES 2 397 298 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

Composiciones de micorriza líquida

5 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

10 [0001] La presente invención se refiere a composiciones de micorriza líquida y a métodos para colonizar una planta, hierba, ramificación o arbusto con una o más micorrizas. Específicamente, se refiere a composiciones que mejoran la capacidad de las micorrizas para colonizar raíces de planta, dando como resultado eficacia superior de formulaciones de tratamiento vegetal que contienen las micorrizas.

15 Descripción de técnica relacionada

[0002] Las micorrizas son asociaciones simbióticas entre hongos y raíces de plantas. En una asociación micorrizal, el hongo puede colonizar las raíces de una planta huésped bien intercelularmente, intracelularmente o extracelularmente. La simbiosis funcional proporciona una fuente de carbohidratos suficiente y adecuada para el simbionte fúngico. Los beneficios del simbionte vegetal pueden ser numerosos e incluir absorción de nutrientes y de agua mejorada, adquisición de carbono adicional, fuerza de sumidero aumentada para translocación de fotosintatos, producción aumentada de fitohormonas, resistencia mejorada a patógenos y tolerancia de metal pesado. Las micorrizas son órganos crucialmente importantes para la absorción de recursos para la mayoría de las plantas terrestres. En ausencia de un simbionte fúngico apropiado, muchas plantas terrestres sufren limitaciones de recursos y en última instancia crecimiento y estado físico reducido.

25 [0003] Las micorrizas se agregan a productos fertilizantes para incorporar micorrizas beneficiosas en las mezclas fertilizantes. Las mezclas fertilizantes actuales contienen micorrizas en forma de un producto seco granuloso o un producto en polvo humedecible. Las micorrizas no se han añadido a fertilizantes líquidos debido a problemas de estabilidad.

30 [0004] La producción de micorrizas es un desafío porque éstas poseen requisitos de crecimiento únicos. Las endomicorrizas (también llamadas micorrizas vesículo-arbusculares, MVA, o micorrizas arbusculares, MA) son simbiontes obligados con plantas. El método predominante usado para cultivar las endomicorrizas es con una planta huésped bajo condiciones controladas.

35 [0005] Bactericidas se usan comúnmente para eliminar la contaminación bacteriana indeseada. Los conservantes usados a índices bajos se diseñan para matar bacterias vegetativas mientras que las esporas quedan indemnes. Kathon (metilcloroisotiazolinona y metilisotiazolinona) y Bronopol (2-bromo-2-nitro-1,3-propanediol) son dos bactericidas usados como conservantes. Kathon tiene un espectro amplio antimicrobiano. Es eficaz contra bacterias, hongos, y levaduras gram-negativos y gram-positivos. Bronopol es eficaz para matar bacterias gram-positivas y gram-negativas. Dependiendo de la cantidad usada, el bactericida puede matar bacterias o mantenerlas en forma de espora.

[0006] CN 1420167 divulga inoculantes líquidos básicamente conectados con ectomicorrizas.

45 [0007] JP 4141023 divulga un medio líquido que comprende un estabilizador (ácido cítrico o su forma de sal) para proteger las esporas.

[0008] US 2004/0208852 divulga un método de colonización de una planta con micorriza.

50 [0009] WO 2006/060968 divulga un inoculante micorrizal líquido.

[0010] Schreiner et al. (Biol. Fertil. Soils, 1997, 24:18-26) describe los efectos de biocidas en micorrizas arbusculares.

55 [0011] Al-Garni (World Journal of Agricultural Sciences, 2006, 2(3): 303-310) describe la influencia de malatión y mancozeb en la colonización micorrizal.

[0012] West et al. (Journal of Ecology, 1993, 81 (2): 345-350) describen la influencia de tres biocidas en los socios fúngicos de las raíces de *Vulpia ciliata*.

60 [0013] Backman et al. (Nematropica, 1977,7(1): 13-17) describen el efecto de diferentes biocidas en la extensión de micorriza vesículo-arbuscular.

[0014] Es un objeto de la presente invención proporcionar una composición de micorriza líquida que comprende micorriza que aumenta la colonización micorrizal.

65

Resumen de la invención

[0015] En un primer aspecto, la presente invención se refiere a composiciones líquidas formadas por

(a) una o más micorrizas en una cantidad de 0,2-5% (p/v); y

(b) un bactericida en una cantidad de 50-3000 ppm seleccionado del grupo que consiste en

i. 2-bromo-2-nitro-1,3-propanadiol,

ii. cloruro de 1-(3-cloroalil)-3,5,7-triaza-1-azoniaadamantano,

iii. dibromonitrilopropionamida,

iv. 1,2-benzisotiazolin-3-ona,

v. 5-cloro-2-metil-4-isostiazolin-3-ona, 2-metil-4-isostiazolin-3-ona,

vi. diazolidinil urea,

vii. tris(hidroximetil)nitrometano,

viii. o-fenilfenato de sodio,

ix. arseniatos de cobre,

x. óxido de cobre,

xi. compuestos de arsénico, cobre, mercurio, y

xii. compuestos de amonio cuaternario.

[0016] Un segundo aspecto de la invención se refiere a métodos para aumentar la colonización con una o más micorrizas, que incluye la aplicación de una composición líquida del primer aspecto.

Descripción detallada de la invención

[0017] La presente invención se refiere a composiciones líquidas que comprenden una o más micorrizas y un bactericida y a métodos para aumentar la colonización micorrizal de una planta. La colonización mejorada de raíces por micorrizas conduce a mejorar el crecimiento y el rendimiento de la planta.

[0018] La micorriza está presente en las composiciones líquidas en una cantidad de 0,2-5%, preferiblemente 0,33-3,3% peso/volumen.

[0019] El bactericida está presente en una cantidad de 50-3000 ppm de la sustancia activa, preferiblemente 150-2000 ppm.

Micorrizas

[0020] Las micorrizas contenidas en las composiciones líquidas de la presente invención pueden ser cualquier micorriza. Los dos tipos más comunes de micorrizas son ectomicorrizas y endomicorrizas (más comúnmente conocidas como micorrizas arbusculares).

Endomicorrizas

[0021] Las micorrizas arbusculares, o MA (precedentemente conocidas como micorrizas vesículo-arbusculares), son un ejemplo de una micorriza que implica introducción de las hifas en las membranas celulares de la raíz de la planta para producir estructuras que son bien tipo globo (vesículas) o invaginaciones de ramificación dicotómica (arbusculos). Las hifas fúngicas no penetran de hecho en el protoplasto (es decir, el interior de la célula), sino que invaginan la membrana celular. La estructura de los arbusculos aumenta inmensamente el área de superficie de contacto entre la hifa y el citoplasma celular para facilitar la transferencia de nutrientes entre éstos.

[0022] Micorrizas arbusculares son formadas sólo por hongos en la división Glomeromycota, éstas se asocian típicamente a las raíces de plantas herbáceas, pero pueden también asociarse a plantas boscosas. La evidencia fósil y el análisis de secuencia de ADN sugieren que este mutualismo apareció hace 400-460 millones de años, cuando las primeras plantas fueron colonizando terreno. Las micorrizas arbusculares fueron probablemente de mucha ayuda entonces, protegiendo las plantas de condiciones adversas tal como la falta de agua y de nutrientes.

[0023] Los hongos micorrizales arbusculares son unos organismos bastante extraordinarios. En primer lugar, han sido asexuales durante muchos millones de años y, en segundo lugar, los individuos pueden contener muchos núcleos genéticamente diferentes (un fenómeno llamado heterocariosis).

[0024] Este tipo de asociación se encuentra en el 85% de todas las familias de plantas, en el medio natural, inclusive muchas especies de cosecha tal como granos.

[0025] Preferiblemente, la endomicorriza es del tipo Glomeromycota y de los géneros *Glomus* y *Gigaspora*. En una forma de realización preferida, la endomicorriza es una cepa de *Glomus*, tal como *Glomus aggregatum*, *Glomus brasilianum*, *Glomus clarum*, *Glomus deserticola*, *Glomus etunicatum*, *Glomus fasciculatum*, *Glomus intraradices*, *Glomus monosporum*, o *Glomus mosseae*, o una cepa de *Gigaspora margarita*.

Ectomicorrizas

- 5 [0026] Las ectomicorrizas, o EcM, típicamente se forman entre las raíces de plantas boscosas y hongos de las divisiones Basidiomycota, Ascomycota, o Zygomycota.
- [0027] Estas son micorrizas externas que forman una cobertura en las superficies de raíz y entre las células corticales de la raíz.
- 10 [0028] Además del manto formado por las micorrizas, la mayor parte de la biomasa del hongo se encuentra en ramificación en el suelo, con algunos que se extienden hasta el apoplasto, deteniéndose antes de la endodermis.
- [0029] Se encuentran en el 10% de las familias de plantas, la mayoría de las especies boscosas, incluidas las familias del roble, pino, eucaliptus, dipterocarpus y olivos.
- 15 [0030] Preferiblemente, la ectomicorriza es del filo Basidiomycota. En una forma de realización preferida, la ectomicorriza es una cepa de *Laccaria bicolor*, *Laccaria laccata*, *Pisolithus tinctorius*, *Rhizopogon amylopogon*, *Rhizopogon fulvigleba*, *Rhizopogon luteolus*, *Rhizopogon villosuli*, *Scleroderma cepa*, o *Scleroderma citrinum*.

Otras formas de micorrizas

- 20 [0031] Arbusculares y ectomicorrizas forman micorrizas ericoides con muchas plantas pertenecientes al orden de las Ericales, mientras que algunas Ericales forman micorrizas arbutoides y monotropoides. Todas las orquídeas son micoheterotróficas en alguna fase de su ciclo vital y forman micorrizas de orquídea con una serie de hongos basidiomicetos.
- 25 [0032] La micorriza puede ser una micorriza ericoide, preferiblemente del filo Ascomycota, tal como *Hymenoscyphous ericae* u *Oidiodendron sp.*
- [0033] La micorriza también puede ser una micorriza arbutoide, preferiblemente del filo Basidiomycota.
- 30 [0034] Además, la micorriza puede ser una micorriza monotripoide, preferiblemente del filo Basidiomycota.
- [0035] La micorriza también puede ser una micorriza de orquídea, preferiblemente del género *Rhizoctonia*.
- 35 [0036] El componente activo de la micorriza puede ser las esporas, hifas, micelio extramatricial arbuscular, glomalina y raicillas, colonizados por el hongo en cuestión.

Biocidas

- 40 [0037] Las composiciones líquidas de la presente invención comprenden un bactericida y pueden incluir además un bacteriostato. Un bactericida es un agente que mata bacterias y un bacteriostato es un agente, normalmente químico, que previene el crecimiento de bacterias pero que no necesariamente mata a éstas ni a sus esporas.

Bactericidas

- 45 [0038] El bactericida para uso en las composiciones líquidas de la presente invención puede ser un desinfectante, antiséptico o antibiótico.
- 50 [0039] Un desinfectante bactericida puede ser:
- clorina activa (es decir, hipocloritos, cloraminas, dicloroisocianurato y tricloroisocianurato, clorina mojada, dióxido de clorina, etc.),
 - oxígeno activo (peróxidos, tal como ácido peracético, persulfato de potasio, perborato sódico, percarbonato de sodio y perhidrato de urea),
 - 55 yodo (yodopovidona (povidona yodada; Betadine), solución de Lugol, tintura de yodo, agentes tensioactivos no iónicos yodados),
 - alcoholes concentrados (principalmente etanol, 1-propanol, también llamado n-propanol y 2-propanol, llamado isopropanol y mezclas de los mismos; además, 2-fenoxietanol y 1- y 2-fenoxipropanol),
 - 60 sustancias fenólicas (tal como fenol (también llamado "ácido carbólico"), cresoles (llamados "Lysol" en combinación con jabones de potasio líquido), fenoles halogenados (clorurados; brominados), tal como hexaclorofeno, triclosan, triclorofenol, tribromofenol, pentaclorofenol, Dibromol y sales derivadas),
 - tensioactivos catiónicos, tal como algunos cationes de amonio cuaternario (tal como benzalconio, bromuro o cloruro de cetil trimetilamonio, cloruro didecil dimetilamonio, cloruro de cetilpiridinio, cloruro de bencetonio) y otros, compuestos no cuaternarios, tal como clorhexidina, glucoprotamina, dihidrocloruro de octenidina, etc.),
 - 65 oxidantes fuertes, tal como ozono y soluciones de permanganato;
 - metales pesados y sus sales, tal como plata coloidal, nitrato de plata, cloruro de mercurio, sales de

fenilmercurio, sulfato cúprico, oxiclورو de cobre, etc. Los metales pesados y sus sales son los bactericidas más tóxicos y peligrosos para el entorno y por lo tanto, su uso se ha suprimido o eliminado firmemente; además, también

5 ácidos fuertes debidamente concentrados (ácidos fosfóricos, nítricos sulfúricos, amidosulfúricos y toluenosulfónicos) y

álcalis (sodio, potasio, hidróxidos de calcio), tal como de pH <1 o >13, particularmente bajo temperatura elevada (por encima de 60°C), matan bacterias.

[0040] Un antiséptico bactericida puede ser:

10

preparaciones de clorina debidamente diluida (p. ej., solución de Daquin, 0,5% de sodio o solución de hipoclorito de potasio, pH ajustado a pH 7-8, o 0,5-1% de solución de bencenosulfocloramida de sodio (cloramina B),

15

algunas preparaciones de yodo, tal como yodopovidona en varios galénicos (pomada, soluciones, emplastos para heridas), en el pasado también la solución de Lugol,

peróxidos como soluciones de perhidrato de urea y soluciones de ácido peracético pH-tamponadas 0,1-0,25%, alcoholes con o sin aditivos antisépticos, usados principalmente para antiseptia de piel,

ácidos orgánicos débiles, tal como ácido sórbico, ácido benzoico, ácido láctico y ácido salicílico,

20

algunos compuestos fenólicos, tal como hexaclorofeno, triclosano y Dibromol, y

compuestos catión-activos, tal como 0,05-0,5% benzalconio, 0,5-4% clorhexidina, 0,1-2% soluciones de octenidina.

[0041] Un bactericida antibiótico pueden ser antibióticos de penicilina, cefalosporinas y aminoglicósidos.

25

[0042] Otros antibióticos bactericidas incluyen fluoroquinolonas, nitrofuranos, vancomicina, monobactams, cotrimoxazola, y metronidazol.

[0043] Bactericidas preferidos son:

30

Halogen que contiene compuestos tal como:

Bronopol - activo 2-bromo-2-nitro-1,3-propanadiol

Dowicil 75 - activo cloruro de 1-(3-cloroalil)-3,5,7-triaza-1-azoniaadamantane

DBNPA - activo dibromonitropropionamida

35

OrganoSulfurs - incluye isotaizolonas tal como:

Proxel (Nipacide) - activo 1,2-benzisotiazolin-3-ona

Kathon - activo 5-cloro-2-metil-4-isostiazolin-3-ona, 2-metil-4-isostiazolin-3-ona

40

Compuestos que contienen nitrógeno tal como:

Germall II (diazolidinil urea)

Tris nitro (tris(hidroximetil)nitrometano)

45

Fenoles tal como:

Dowicide (o-fenilfenato de sodio)

50

Inorgánicos tal como:

arseniato de cobre

óxido de cobre

55

Organometálicos tal como:

compuestos de arsénico, cobre, mercurio

60

Compuestos de amonio cuaternario

Bacteriostáticos

[0044] Un bacteriostato es un agente químico o biológico que causa bacteriostasis. Evita que las bacterias se reproduzcan, sin dañarlas necesariamente de otra manera. Al eliminar el bacteriostato, las bacterias normalmente comienzan a crecer otra vez.

65

[0045] Los bacteriostatos para uso en las composiciones líquidas de la presente invención incluyen azida sódica y timerosal.

5 [0046] Otros bactericidas y bacteriostatos que se pueden usar en las composiciones líquidas de la presente invención son Glycopen, Ottasept (una combinación de Proxel y propilenoglicol), y EDTA (ácido tetraacético de etilendiamina, un agente quelante).

Otros componentes en las composiciones líquidas

10 [0047] Las composiciones líquidas de la presente invención pueden incluir uno o más de los siguientes componentes:

1. Ingredientes fertilizantes:

- 15 a. Fosfato de diamonio
b. Nitrato de potasio
c. Urea
d. Fosfato potásico
e. Bicarbonato de potasio
20 f. Lidoquest Fe13P
g. Lidoquest Mn13P
h. Lidoquest Zn13P
i. Cloruro de potasio (KCl)
j. Dihidro molibdato disódico
25 k. Hexahidrato de cloruro de cobalto
l. Hexahidrato de cloruro de níquel
m. Líquido de potasa cáustica
n. MKP
o. P-paraben/Nipasol
30 p. Tiosulfato de potasio
q. Hidróxido sódico

2. Sustancias no-nutricionales beneficiosas o bioestimulantes para las plantas

- 35 a. Extractos de alga (*Ascophyllum nodosum*)
b. Ácidos húmicos
c. Ácido ascórbico
d. Tiamina mononitrato
e. Sorbato de potasio (50% K Sorb)
40 f. Mioinositol
g. Glicina
h. Vitamina E (tocoferol alfa)

Métodos de colonización de una planta con micorriza

45 [0048] La presente invención también se refiere a métodos para aumentar la colonización con una o más micorrizas que comprenden la aplicación de una composición líquida de la presente invención a una planta, hierba, ramificación o arbusto.

50 [0049] La composición líquida se puede aplicar en agua mediante riego y sistemas de fertirrigación.

[0050] La invención es posteriormente definida en los siguientes párrafos:

Ejemplos

55 [0051] Un ensayo biológico de porcentaje de infección endomicorrizal medio (MIP, por su sigla en inglés) se inició para comprobar la infecciosidad micorrizal de una formulación micorrizal líquida tratada con bactericidas. El ensayo biológico de MIP se utiliza para determinar el efecto de colonización endomicorrizal en las raíces de plantas de maíz en el tratamiento aplicado. El ensayo biológico de MIP fue adaptado para utilizar 15 mL de líquido por recipiente.

60 [0052] La formulación micorrizal líquida evaluada fue MycoApply Ultra (Novozymes Biologicals), que es un inoculante micorrizal que contiene diferentes especies de endomicorrizas. Para un fertilizante listo para usar, la cantidad óptima de micorrizas que hay que añadir basada en el índice de aplicación del fertilizante listo para usar, la infecciosidad micorrizal y la eficacia de coste fue de 0,1 propágulos de micorrizas por 1,0 mL de fertilizante listo para usar. MycoApply Ultra contiene 286 propágulos por gramo, por lo tanto 0,00034 g de MycoApply Ultra en 1 mL de fertilizante listo para usar
65 proporcionarán la concentración deseada de propágulos micorrizales, 0,1 propágulos/mL.

[0053] El MycoApply Ultra fue evaluado con dos concentrados diferentes 10x (0,0034 g/mL) y 100x (0,034 g/mL). El bactericida usado en todos los tratamientos para la Prueba 1 fue 500 ppm de Kathon y 250 ppm de Bronopol. Había siete grupos de tratamiento, cada uno contenía 5 réplicas. Tratamiento 1 fue un control sólo de agua. Tratamiento 2 fue concentrado 10x MycoApply Ultra tratado con bactericida hecho 10 días antes del tratamiento. Tratamiento 3 fue concentrado 10x MycoApply Ultra tratado con bactericida hecho 24 horas antes del tratamiento. Tratamiento 4 fue concentrado 10x MycoApply Ultra no tratado y hecho directamente antes del tratamiento. Tratamiento 5 fue concentrado 100x MycoApply Ultra tratado con bactericida hecho 10 días antes del tratamiento. Tratamiento 6 fue concentrado 100x MycoApply Ultra tratado con bactericida hecho 24 horas antes del tratamiento. Tratamiento 7 fue concentrado 100x MycoApply Ultra no tratado y hecho directamente antes del tratamiento. Cada tratamiento fue mezclado en 100 mL de agua del grifo.

[0054] Se llenaron unos recipientes hasta 2 cm del máximo con un promedio de mezcla de 90:10 v/v de la mezcla de arena para turba. Dos semillas de maíz (*Zea Maize* 'Golden Bantam') fueron plantadas en cada recipiente y se asignaron grupos de tratamiento de forma aleatoria. En el día de siembra 15 mL de cada tratamiento correspondiente fue aplicado en cada recipiente. Tres tratamientos adicionales de 15 mL fueron aplicados semanalmente después del tratamiento inicial. Los recipientes fueron colocados en unas cámara de crecimiento recibiendo 10 horas de luz al día (tabla 1) y fueron regados tanto como fue necesario. Al germinar las semillas las plantas fueron reducidas a una semilla por recipiente. El maíz fue cosechado después de 4 semanas de crecimiento.

Tabla 1. Ciclo de cámara de crecimiento de 10 horas usado para cultivar maíz.

a.	6:00, 20°C, 55% HR, 2 Fluorescentes, 2 Incandescentes
b.	7:00, 22°C, 55% HR, 4 Fluorescentes, 2 Incandescentes
c.	10:00, 26°C, 65% HR, 6 Fluorescentes, 8 Incandescentes
d.	15:00, 24°C, 65% HR, 4 Fluorescentes, 4 Incandescentes
e.	18:00, 20°C, 55% HR, 0 Fluorescentes, 0 Incandescentes

[0055] En la cosecha el parámetro evaluado fue el porcentaje de colonización micorrizal.

[0056] La prueba 2 se preparó exactamente como la prueba 1, pero con la adición de 2 grupos más de tratamiento. MycoApply Ultra fue evaluado de nuevo con dos concentrados diferentes 10x (0,0034 g/mL) y 100x (0,034 g/mL). La prueba 2 usó los bactericidas 500 ppm de Kathon y 250 ppm de Bronopol, pero también añadió un tratamiento sólo de Kathon de 500 ppm. Había nueve grupos de tratamiento, cada uno contenía 5 réplicas. Tratamiento 1 fue un control sólo de agua. Tratamiento 2 fue concentrado 10x MycoApply Ultra tratado con 500 ppm de Kathon y 250 ppm de Bronopol hecho 10 días antes del tratamiento. Tratamiento 3 fue concentrado 10x MycoApply Ultra tratado con 500 ppm de Kathon solo hecho 10 días antes del tratamiento. Tratamiento 4 fue concentrado 10x MycoApply Ultra tratado con 500 ppm de Kathon y 250 ppm de Bronopol hecho 24 horas antes del tratamiento. Tratamiento 5 fue concentrado 10x MycoApply Ultra no tratado y hecho directamente antes del tratamiento. Tratamiento 6 fue concentrado 100x MycoApply Ultra tratado con 500 ppm de Kathon y 250 ppm de Bronopol hecho 10 días antes del tratamiento. Tratamiento 7 fue concentrado 100x MycoApply Ultra tratado con 500 ppm de Kathon solo hecho 10 días antes del tratamiento. Tratamiento 8 fue concentrado 100x MycoApply Ultra tratado con 500 ppm de Kathon y 250 ppm de Bronopol hecho 24 horas antes del tratamiento. Tratamiento 9 fue concentrado 100x MycoApply Ultra no tratado y hecho directamente antes del tratamiento. Cada tratamiento fue mezclado en 100 mL de agua del grifo. Los demás métodos siguen la prueba 1 exactamente.

Resultados:

[0057] En ambos ensayos en el curso de los estudios las plantas del tratamiento de concentrado 10X recibieron 0,204 g de MycoApply Ultra o 58,34 propágulos micorrizales y las plantas del tratamiento de concentrado 100X recibieron 2,04 g de MycoApply Ultra o 583,44 de propágulos micorrizales.

[0058] El porcentaje de colonización micorrizal produjo diferencias significativas ($\alpha = 0,05$) entre los grupos de tratamiento y el control (tabla 2). Las plantas cultivadas en los concentrados 100X tratados con bactericida, tanto los de 7 días como los de 24 horas, tuvieron un porcentaje de colonización micorrizal significativamente más alto que las plantas cultivadas en el concentrado 100X no tratado, el concentrado 10X no tratado y el control (tabla 2). Las plantas cultivadas en concentrado 100X de 7 días tratado con bactericida tuvieron un porcentaje de colonización micorrizal significativamente más alto en comparación con las plantas cultivadas en el concentrado 10X tratado con bactericidas (tabla 2). Las plantas cultivadas en los concentrados 10X, tanto los de 7 días como los de 24 horas, tuvieron un porcentaje de colonización micorrizal significativamente más alto comparado con las plantas de control (tabla 2).

[0059] Para la prueba 2 el porcentaje de colonización micorrizal no era estadísticamente diferente ($\alpha = 0,05$) entre grupos de tratamiento y el control (tabla 3). Las plantas cultivadas en el concentrado 100x tratado con 500 ppm de Kathon y 250 ppm de Bronopol de 24 horas tuvieron el porcentaje de colonización mayor y fueron estadísticamente diferentes de todos los grupos de tratamiento excepto el concentrado 100x con los mismos bactericidas de 7 días (tabla 3). Todos los grupos de tratamiento de concentrado 100x que contenían MU tratado con bactericida tuvieron un porcentaje de colonización estadísticamente mayor que el no tratado concentrado 100x (tabla 3). Todos los grupos de tratamiento de concentrado 10x que contenían MU tratado con bactericida tuvieron un porcentaje de colonización estadísticamente mayor que el concentrado 10x no tratado (tabla 3). Todos los grupos de tratamiento que contenían MU tratado con bactericida tuvieron un porcentaje de colonización estadísticamente mayor que el control (tabla 3).

Tabla 2

Efecto biocida en estudio de colonización micorrizal I

Tratamiento	Promedio en % de colonización	Desviación estándar	
Control	3,00	+/- 3,71	c
10X MycoApply Ultra con 500 ppm Kathon y 250 ppm Bronopol hecho 7 días antes del tratamiento	23,93	+/- 9,12	b
10X MycoApply Ultra con 500 ppm Kathon y 250 ppm Bronopol hecho 1 día antes del tratamiento	18,40	+/- 15,81	b
10X MycoApply Ultra sin biocidas	9,93	+/- 3,61	c
100X MycoApply Ultra con 500 ppm Kathon y 250 ppm Bronopol hecho 7 días antes del tratamiento	40,47	+/- 8,17	a
100X MycoApply Ultra con 500 ppm Kathon y 250 ppm Bronopol hecho 1 día antes del tratamiento	34,33	+/- 6,51	a
100X MycoApply Ultra sin biocidas	7,27	+/- 3,76	c

Tabla 3

Efecto biocida en el estudio de colonización micorrizal II

Tratamiento	Promedio en % de colonización	Desviación estándar	
Control	5,07	+/- 2,97	de
10X MycoApply Ultra con 500 ppm Kathon y 250 ppm Bronopol hecho 7 días antes del tratamiento	19,93	+/- 1,23	c
10X MycoApply Ultra con 500 ppm Kathon y 250 ppm Bronopol hecho 1 día antes del tratamiento	17,73	+/- 5,02	c
10X MycoApply Ultra con 500 ppm Kathon sólo hecho 1 día antes del tratamiento	21,00	+/- 4,64	ac
10X MycoApply Ultra sin biocidas	9,40	+/- 2,77	de
100X MycoApply Ultra con 500 ppm Kathon y 250 ppm Bronopol hecho 7 días antes del tratamiento	28,40	+/- 1,87	ac
100X MycoApply Ultra con 500 ppm Kathon y 250 ppm Bronopol hecho 1 día antes del tratamiento	18,42	+/- 4,87	c
100X MycoApply Ultra con 500 ppm Kathon sólo hecho 1 día antes del tratamiento	34,53	+/- 3,07	ab
100X MycoApply Ultra sin biocidas	14,67	+/- 6,89	cd

Conclusión:

[0060] En la prueba 1 el tratamiento de MycoApply Ultra con 500 ppm de Kathon y 250 ppm de Bronopol tuvo un efecto positivo en la infecciosidad micorrizal de MycoApply Ultra. El 100X MycoApply Ultra tratado con bactericida tuvo 5 veces mayor infecciosidad micorrizal que el 100X MycoApply Ultra no tratado. El 10X MycoApply Ultra tratado con bactericida tuvo 2 veces mayor infecciosidad micorrizal en comparación con el 10X MycoApply Ultra no tratado.

[0061] En la prueba 2 el tratamiento de MycoApply Ultra con 500 ppm de Kathon y 250 ppm de Bronopol y 500 ppm de Kathon tuvo un efecto positivo en la infecciosidad micorrizal de MycoApply Ultra. La prueba 2 fue configurada para duplicar los resultados obtenidos en la prueba 1. Los resultados de la prueba 2 imitan los resultados obtenidos en la prueba 1 y muestran que el tratamiento con Kathon y Bronopol aumenta la infecciosidad micorrizal.

[0062] Los resultados de ambos ensayos indican que la presencia de bactericida, específicamente Kathon y Bronopol, aumenta la capacidad de las micorrizas para germinar e infectar raíces.

REIVINDICACIONES

1. Composición líquida comprendiendo
- 5 (a) una o más micorrizas en una cantidad de 0,2-5% (p/v); y
(b) un bactericida en una cantidad de 50-3000 ppm seleccionado del grupo que consiste en
- i. 2-bromo-2-nitro-1,3-propanadiol,
 - ii. cloruro de 1-(3-cloroalil)-3,5,7-triaza-1-azoniaadamantano,
 - 10 iii. dibromonitrilopropionamida,
 - iv. 1,2-benzisotiazolin-3-ona,
 - v. 5-cloro-2-metil-4-isostiazolin-3-ona, 2-metil-4-isostiazolin-3-ona,
 - vi. diazolidinil urea,
 - vii. tris(hidroximetil)nitrometano,
 - 15 viii. o-fenilfenato de sodio,
 - ix. arseniatos de cobre,
 - x. óxido de cobre,
 - xi. compuestos de arsénico, cobre, mercurio y
 - xii. compuestos de amonio cuaternario.
- 20 2. Composición líquida de la reivindicación 1, donde una o más micorrizas son ectomicorrizas.
3. Composición líquida de la reivindicación 1, donde una o más micorrizas son endomicorrizas.
4. Composición líquida de la reivindicación 1, donde una o más micorrizas son micorrizas ericoides.
- 25 5. Composición líquida de la reivindicación 1, donde una o más micorrizas son micorrizas arbutoides.
6. Composición líquida de la reivindicación 1, donde una o más micorrizas son micorrizas monotripoides.
- 30 7. Composición líquida de la reivindicación 1, donde una o más micorrizas son micorrizas de orquídea.
8. Composición líquida de la reivindicación 1, que comprende además un bacteriostato.
9. Composición líquida de la reivindicación 8, donde el bacteriostato es azida sódica o timerosal.
- 35 10. Composición líquida de la reivindicación 1, donde una o más micorrizas están presentes en una cantidad de 0,2-5%, preferiblemente 0,33-3,3%.
- 40 11. Composición líquida de la reivindicación 1, donde el bactericida está presente en una cantidad de 50-3000 ppm, preferiblemente 150-2000 ppm de la sustancia activa.
12. Un método para aumentar la colonización con una o más micorrizas, comprendiendo la aplicación de una composición líquida de cualquiera de las reivindicaciones 1-11 a una planta, hierba, árbol o arbusto.