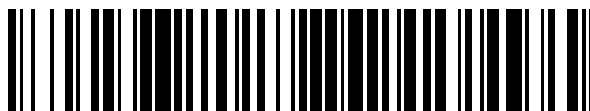


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 541 533**

51 Int. Cl.:

**A01N 59/00** (2006.01)

**A01N 59/08** (2006.01)

**A01G 17/02** (2006.01)

**A01P 3/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2012 E 12735887 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2015 EP 2734044**

54 Título: **Agente para el tratamiento de los troncos de vid**

30 Prioridad:

**18.07.2011 FR 1156522**

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

**21.07.2015**

73 Titular/es:

**FINANCIERE MERCIER (100.0%)  
16 rue de la Chaignée  
85770 Vix, FR**

72 Inventor/es:

**MERCIER, MIGUEL y  
ZEKRI, OLIVIER**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 541 533 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

Agente para el tratamiento de los troncos de vid

La invención concierne a un procedimiento de producción de plantas de vid que comprende diversas etapas de limpieza y desinfección de los troncos de vid.

- 5 Las enfermedades de la madera (eutipiosis, esca y BDA), consideradas durante largo tiempo como secundarias, se han convertido en una preocupación creciente de los viticultores. En ausencia de medios de lucha preventivos o curativos, las medidas profilácticas preconizadas se siguen muy desigualmente.

10 Estudios realizados en vivero han demostrado que ciertos hongos responsables de las tres enfermedades fúngicas principales del deterioro de la vid, que son la eutipiosis (*Eutypa lata*), la esca (implicación de *Phaeoacremonium chlamydospora*, *Phaeoacremonium aleophilum*, *Fomitiporia mediterranea* y *E. lata*) y el Black Dead Arm (*Botryosphaeria obtusa*, *Botryosphaeria dothidea parva* y *stevensii*) están presentes durante las etapas de producción de las plantas. Laurent BERNOS indica que "algunas [de estas etapas] han podido ser identificadas, tales como la rehidratación, la estratificación (para *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phomopsis viticola* y ciertas *Botryosphaeriaceae*). Hasta el día de hoy, no existe medio alguno de desinfección eficaz, cualquiera que sea la etapa de producción de las plantas. Únicamente el tratamiento con agua caliente utilizado para la lucha contra la flavesencia dorada muestra una eficacia parcial sobre algunos de estos hongos" (véase Recherche et évaluation de procédés permettant la production de plants indemnes de champignons associés aux maladies du bois (programme Casdar) en Les Maladies du Bois de la Vigne, 16-17 noviembre 2010, Villefranche/Saône

15 Compte Rendu, redactado por Philippe Larignon, IFV (Institut Français de la Vigne et du Vin), [http://www.vignevin-sudouest.com/publications/fiches-pratiques/documents/MDB-2010\\_000.pdf](http://www.vignevin-sudouest.com/publications/fiches-pratiques/documents/MDB-2010_000.pdf)).

20 En particular, EP 347731 describe la utilización de peróxido de hidrógeno o de ozono para tratar las vides contra los parásitos ([0005]). Dicho documento no sugiere en ningún caso, ni propone sustituir estos productos por el anolito neutro.

25 WO 2009/106645 describe un procedimiento de limpieza de instalaciones agroalimentarias por utilización de una solución acuosa que contiene un anolito particular, y no se refiere entre ellas a la descontaminación de los troncos de vid.

WO 01/58265 contempla la utilización de dióxido de cloro para el control de parásitos presentes en los suelos (tal como los insectos y los nematodos).

30 Es tanto más importante asegurarse de que las plantas de vid procedentes de los viveros estén exentas al máximo de gérmenes de estos hongos cuanto que no existe método alguno de lucha química o biológica eficaz en este momento en el viñedo, no estando ya homologado el arsenito de sodio, por ser demasiado tóxico para el hombre y para el medio ambiente. Debe indicarse que la asociación de la carbendazida y de fluzilazol dispone de una homologación provisional contra la esca, haciéndose la aplicación por encalado de la lesión inmediatamente después de la poda.

35 En la vid, el mejor método de lucha contra estos patógenos es la profilaxis, y particularmente la eliminación de los troncos muertos, o la aplicación muy rápida después de la poda de alquitrán o almáciga sobre las lesiones.

Los Solicitantes han demostrado que es posible utilizar el anolito neutro para descontaminar los troncos de vid, particularmente durante la producción de plantas de vid en vivero, y que este producto permite obtener resultados muy positivos en cuanto a la presencia de hongos patógenos.

40 El anolito neutro es igualmente utilizable para la descontaminación y la desinfección del conjunto de los instrumentos y del material utilizados en la producción de plantas de vid.

45 A partir de una mezcla de agua y sal, las instalaciones producen, por una técnica de electrólisis de membrana, un biocida denominado anolito neutro. Esta solución posee un poder desinfectante muy fuerte, (bactericida, virucida, fungicida y algicida). Su poder oxidante actúa igualmente sobre el biofilm en las canalizaciones. Además, el anolito neutro genera una dinamización del agua. En el seno del sistema de producción del desinfectante, una corriente eléctrica circula en una solución saturada de sal entre dos elementos metálicos, denominados ánodo y cátodo. La salmuera producida se disocia y genera dos productos: el anolito ácido (pH entre 2 y 5) y el catolito: pH entre 11 y 13. Estas dos soluciones se mezclan en la bolsa de almacenamiento. El producto final, denominado anolito neutro, se caracteriza por un pH neutro y un potencial rédox superior a 750 mV (el del agua clorada es 400 mV).

50 El anolito neutro es ya conocido como agente desinfectante y se utiliza en diferentes dominios de la agricultura, particularmente en la desinfección de los cultivos. Así, en los dominios de la agricultura y de la horticultura, se ha descrito este producto como de posible utilización para la desinfección en el almacenamiento de los cereales y las semillas o la purificación del agua de riego para la pulverización de las mieses a fin de disminuir los parásitos. El mismo puede preservar igualmente el ensilado contra la contaminación.

La concentración de anolito neutro puede modificarse por mezcla con agua. Así, se obtiene una composición concentrada al 10% (en volumen) de anolito neutro mezclando 9 volúmenes de agua con 1 volumen de anolito neutro. Por tanto, si no se añade agua, la solución está concentrada al 100%.

5 Sin embargo, este producto no ha sido utilizado o propuesto nunca para la producción de plantas de vid, que son "maderas", y cuyos patógenos se encuentran a la vez en el interior y en el exterior. Así, este producto consigue producir impacto sobre las cortezas, pero también en los tejidos vasculares.

10 Puede indicarse también que Vignes et al (Les maladies du bois. Tests de méthodes de désinfection en pépinière dans le Compte-rendu du colloque sur les maladies du bois de la vigne des 16 et 17 novembre 2010, op. cit.) no citan el anolito neutro en los productos contemplados para desinfectar las plantas de vid, habiendo testado por el contrario varios desinfectantes posibles.

Por otra parte, los Solicitantes han demostrado que la aplicación del anolito neutro permite preservar los hongos favorables (tales como los *Trichoderma* que tienen efecto contra ciertos patógenos) introducidos en el curso de la producción de las plantas.

15 La invención se refiere por tanto a la utilización de anolito neutro para descontaminar los troncos de vid. Esta utilización se efectúa particularmente en vivero durante la producción de plantas de vid, pero puede efectuarse igualmente en campo abierto.

La invención se refiere igualmente a un método de producción de plantas de vid que comprende al menos una etapa de puesta en contacto de las cepas, los injertos o las plantas de vid (obtenidas después de la realización del injerto), con anolito neutro.

20 Como todos los vegetales, la vid puede multiplicarse por siembra, esqueje o injerto. De hecho, la necesidad de injertar en la gran mayoría de los terrenos ha estimulado a los encargados de los viveros a modificar el proceso.

Los esquejes de cepa se cortan durante el periodo vegetativo (invierno) a aproximadamente 30 cm de longitud, y los de los injertos a varios cm, en el momento de la poda.

Los esquejes se "limpian", calibran y conservan a baja temperatura, en medio saturado de humedad.

25 Para confeccionar las plantas, las cepas se llevan de nuevo a la longitud deseada, y se remojan luego en una solución desinfectante. Los injertos se cortan y se rehidratan.

30 Los mismos se ensamblan a continuación por medio de una entalladura. Existen varios tipos de entalladura. En todos los casos, ésta debe permitir el desarrollo satisfactorio del callo de soldadura, y ser lo suficientemente sólida para soportar las manipulaciones ulteriores. Se utiliza generalmente un injerto en omega, que no requiere ligadura y permite un ritmo muy rápido de injerto.

35 Generalmente, y con el fin de evitar las contaminaciones y proteger la soldadura, los puntos de injerto se remojan en una cera aséptica y estanca al aire, a fin de consolidar el injerto y evitar la desecación de los tejidos. Los ensamblajes (injertos parafinados) se dejan cicatrizar a continuación horizontalmente en recipientes llenos de arena o de otro mineral (tal como la vermiculita) húmedo en una estufa. Estos recipientes (cajas de madera) se hacen estancos por medio de un film plástico. Esta operación permite la formación del callo de soldadura en unos cuantos días solamente.

Después de la cicatrización, las cajas se vacían de su agua y se ponen en una cámara caliente entre 25°C y 28°C y con una higrometría de 70 a 80%. Para evitar la desecación de los injertos, se extiende sobre las cajas un film y virutas de madera u otro elemento (vermiculita).

40 El mantenimiento en la cámara caliente desencadena la estratificación: el callo de soldadura aumenta de grosor, y se desarrollan los brotes y las raicillas.

El objetivo de la estratificación o activación del desarrollo es por tanto obtener un tejido de soldadura que proporciona un anillo entre el injerto y la cepa, preparar el talón de la cepa para la emisión de las futuras raíces, y dejar desarrollar el brote del injerto con las dos o tres primeras hojuelas.

45 Las plantas injertadas-soldadas se ponen a continuación en tierra en vivero o en campo abierto, generalmente de mayo a noviembre/diciembre, para dejar que se desarrolle un buen sistema radicular sobre el talón de la cepa y obtener un vástago sobre el injerto.

Las plantas listas para ser vendidas se retiran luego del suelo, se clasifican, se acondicionan y se conservan en cámara fría hasta la entrega.

50 En un modo de realización del método según la invención, ésta presenta una etapa de aplicación de anolito neutro sobre las cepas y los injertos durante la fase de rehidratación que precede a la etapa de injerto.

## ES 2 541 533 T3

- 5 Para esta aplicación, se prefiere que el anolito neutro tenga una concentración comprendida entre 3 y 50% (en volumen), preferentemente entre 3 y 30%, y de modo más preferido entre 3 y 10%. La elección de la concentración se determina en función del origen y del estado inicial del material vegetal muestreado. De hecho, si el riesgo de contaminación de las cepas y los injertos es importante, se utilizará una composición más concentrada en anolito neutro.
- En este modo de realización, la aplicación se efectúa con preferencia por inmersión total del material vegetal en la solución de anolito neutro durante un periodo comprendido entre 10 y 48 horas, con preferencia entre 10 y 24 horas, de modo más preferible entre 10 y 15 horas. La duración de aplicación depende principalmente del estado de deshidratación de las maderas.
- 10 En un modo de realización preferido, se sumerge el material vegetal en una solución de anolito neutro concentrada al 6% durante 12 horas.
- Es preferible renovar la solución desinfectante entre cada baño, a fin de garantizar un mantenimiento de las capacidades desinfectantes. Sin embargo, esta solución puede conservarse igualmente para 2 o 3 aplicaciones.
- 15 En un modo de realización del método según la invención, éste comprende una etapa de aplicación de anolito neutro sobre las plantas de vid después del injerto, durante la fase de cicatrización.
- Esta aplicación se realiza durante el almacenamiento de los ensamblajes en los recipientes, y con preferencia por hidratación de la arena u otro mineral utilizado con una solución de anolito neutro de una concentración superior a 80%, con preferencia igual a 100%.
- 20 En un modo de realización del método según la invención, éste comprende una etapa de aplicación de anolito neutro sobre las plantas de vid durante la fase de estratificación.
- En este modo de aplicación, el anolito neutro se utiliza preferentemente a una concentración comprendida en 3 y 10%. El mismo se aplica por vaporización al nivel de los brotes en fase de apertura. Por otra parte, la solución de anolito neutro así concentrada se utiliza en cajas-paleta al nivel del talón.
- 25 Esta etapa se practica a partir del momento en que se retira el sombrerete de vermiculita y las plantas se mantienen en cámara caliente, a una temperatura comprendida entre 25 y 29°C, con preferencia alrededor de 28-29°C con agua al nivel del talón (5 cm de agua en las cajas). La frecuencia de vaporización es variable, y se aplica a fin de mantener el medio ambiente con una tasa de humedad elevada (70 a 80% de humedad) (se efectúan así generalmente varias vaporizaciones por día).
- 30 El método puede presentar igualmente una etapa de aplicación de anolito neutro sobre las plantas de vid durante la fase de crecimiento, después que las mismas se han plantado en tierra, en vivero o en campo abierto.
- Para esta aplicación, se utiliza con preferencia anolito neutro con una concentración que puede alcanzar hasta 50%, comprendida con preferencia entre 15 y 50%. La aplicación se realiza por vaporización sobre las hojas o por goteo durante el riego de las plantas.
- 35 El anolito neutro se utiliza a partir de la etapa de 4 hojas. Cuando las plantas están enraizadas en campo, se renueva con preferencia la aplicación aproximadamente cada 7 días en periodo húmedo y cada 14 días en periodo seco.
- Por último, es posible igualmente utilizar el anolito neutro para la preparación de las plantas injertadas antes del acondicionamiento y almacenamiento en cámara fría durante la preparación para la entrega.
- 40 Esta aplicación se efectúa sobre las plantas raíz injertadas-soldadas por inmersión de las raíces desnudas en una solución de anolito neutro de concentración superior a 75%, con preferencia igual a 100%, durante un periodo comprendido con preferencia entre 1 y 5 horas. Este último tratamiento puede repetirse antes de la entrega de las plantas si la duración de almacenamiento excede de 2 meses.
- Por otra parte, es particularmente interesante desinfectar todo el material y los elementos susceptibles de estar en contacto con el material vegetal utilizando una solución de anolito neutro de concentración superior a 75%, con preferencia igual a 100%. Esta desinfección se efectúa con preferencia al menos una vez al día.
- 45 En otro modo de realización, se utiliza el anolito neutro sobre vides enraizadas en campo abierto. En este modo de realización, el anolito neutro se utiliza para ayudar a combatir o prevenir las infecciones fúngicas en campo abierto. En particular, se puede utilizar el anolito neutro durante la poda de las vides, pulverizando la lesión inmediatamente después de la poda. Se utiliza con preferencia una solución de anolito neutro con una concentración comprendida entre 3 y 75%, con preferencia entre 25 y 50%.
- 50 Esta utilización no es exclusiva de la utilización de alquitrán o almáciga sobre las lesiones de poda.

La invención se refiere así a un procedimiento de producción de una planta de vid injertada-soldada que comprende al menos una etapa seleccionada entre

- a) una etapa consistente en podar una cepa y un injerto
- b) una etapa consistente en ensamblar dichas cepa e injerto a fin de formar un ensamblaje
- 5 c) una etapa que comprende la cicatrización del ensamblaje para formar un callo de soldadura y la estratificación de dicho callo
- d) una etapa de crecimiento de la planta de vid,

caracterizándose dicho procedimiento porque se aplica una solución de anolito neutro a las plantas en curso de producción durante dicha etapa.

10 En un modo de realización particular, dicha etapa es la etapa a).

En un modo de realización particular, dicha etapa es la etapa b).

En un modo de realización particular, dicha etapa es la etapa c).

En un modo de realización particular, dicha etapa es la etapa d).

15 En un modo de realización particular, el procedimiento comprende al menos dos etapas durante las cuales se exponen las plantas de vid en curso de producción al anolito neutro. En un modo de realización particular, las dos etapas durante las cuales se exponen las plantas de anolito neutro son las etapas a) y b). En otro modo de realización, se trata de las etapas a) y c). En otro modo de realización, se trata de las etapas b) y c). En otro modo de realización, se trata de las etapas a) y d). En otro modo de realización, se trata de las etapas b) y d). En otro modo de realización, se trata de las etapas c) y d).

20 En un modo de realización particular, el procedimiento comprende al menos tres etapas durante las cuales se exponen las plantas de vid en curso de producción al anolito neutro. En un modo de realización particular, las tres etapas durante las cuales se exponen las plantas al anolito neutro son las etapas a), b) y c). En otro modo de realización, se trata de las etapas a), b) y d). En otro modo de realización, se trata de las etapas a), c) et d). En otro modo de realización, se trata de las etapas b), c) et d).

25 En un modo de realización particular, el procedimiento comprende las cuatro etapas a) a d) y se exponen las plantas de vid durante la producción al anolito neutro en el curso de las cuatro etapas a) a d). Las condiciones de aplicación del anolito neutro son preferentemente las arriba descritas.

30 La presente invención revela por tanto que el anolito neutro como agente descontaminante de la madera de vid, a la vez como agente profiláctico (prevención) particularmente durante la preparación de las plantas de vid, y como agente curativo.

La utilización de anolito neutro permite así la producción de plantas de vid sanas, exentas de los hongos identificados como responsables de las enfermedades de la madera. El procedimiento según la invención no pretende suprimir toda la flora simbiótica de la vid sino reducir significativamente las tasas de inóculo de los hongos patógenos presentes e impedir la proliferación de éstos durante el proceso de producción de las plantas de vid.

### 35 EJEMPLOS

Ejemplo 1 - Ensayo comparativo *in vivo* del tratamiento al anolito neutro con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (agua oxigenada), Désogerme (Biofungicida - laboratorio A.C.I., designado T1) y H<sub>2</sub>O.

40 Se han realizado ensayos comparativos "*in vivo*" e "*in vitro*" para evaluar si el agua, el agua oxigenada, el Désogerme y el anolito neutro (100%) tenían acción sobre 8 hongos considerados como patógenos y asociados a las diferentes enfermedades de la madera.

El ensayo *in vivo* ha consistido en evaluar un conjunto de 1025 plantas provenientes de 4 cepa y 5 variedades diferentes (para limitar el efecto de la variedad). Las plantas han sido objeto de muestreos antes y después del tratamiento.

45 El tratamiento ha consistido en sumergir los troncos en las diferentes soluciones que son objeto del ensayo y durante un periodo de 12 horas, es decir la duración de rehidratación habitual de los troncos en el vivero (una noche).

50 Las tomas de muestra de la madera antes y después del tratamiento han sido analizadas, por extracción de los ADN totales de las muestras de madera extraídas, y evaluación por un diagnóstico molecular (análisis PCR) de la presencia o ausencia de estos 8 hongos: *Botryosphaeria obtusa*, *Botryosphaeria dothidea*, *Eutypa lata*, *Fomitiporia punctata*, *Phaeacremonium aleophilum*, *Phaeomonelia chlamydospora*, *Phaeoacremonium* spp. y *Cylindrocarpon*

*destructans*.

Los resultados obtenidos se presentan en la tabla I.

Variedad	Con TEC (50°C- 45 min)				Sin TEC			
	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	T1	Anolito Neutro	H <sub>2</sub> O	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	T1	Anolito Neutro	H <sub>2</sub> O
SO <sub>4</sub> (203)	B.obt			B.obt	E.lata	B.obt		B.obt
R110(151)	B.obt	B.obt		B.obt				B.obt
Sauv.B (905)				B.obt				B.obt
Merlot.N (182)	B.obt							B.obt

Tabla 1 – Comparativa de tratamiento de desinfección de madera *in vivo*

(TEC: tratamiento con agua caliente)

- 5 Se representan sólo 2 cepas y 2 variedades, dado que son los/las más significativos(as) en términos de representatividad vitícola. Los resultados indican que sólo se ha encontrado el ADN de dos hongos en las muestras.

La presencia del nombre de un hongo (B. opt para *Botryosphaeria obtusa*) en esta tabla indica que este hongo se ha encontrado al menos una vez entre los individuos evaluados. Si no se indica nada, es que el mismo no se ha encontrado en ningún caso.

- 10 Estos resultados demuestran que el anolito neutro presenta una eficacia satisfactoria contra *Botryosphaeria obtusa*. No obstante, es difícil concluir en cuanto a los otros patógenos que no han sido identificados ni siquiera antes del tratamiento.

- 15 La utilización de la técnica de nefelometría ha permitido confirmar estos resultados: así, la utilización de anolito neutro a una concentración de 25% ha permitido inhibir el crecimiento de los agentes patógenos *Neofusiccum parvum* y *Diplodia seriata* (inhibición entre 80 y 95%). La inhibición ha sido de 40-50% a una concentración de 6%.

Ejemplo 2 - Ensayo comparativo *in vivo* del tratamiento al anolito neutro con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (agua oxigenada), Désogerme (Biofungicida - laboratorio A.C.I., designado T1), y H<sub>2</sub>O.

- 20 Es por esto por lo que se ha realizado un ensayo *in vitro*, a fin de comparar el efecto del agua, el agua oxigenada, el Désogerme y el anolito neutro (100%) sobre 8 hongos considerados como patógenos y asociados a las diferentes enfermedades de la madera.

Cepas de estos 8 hongos arriba mencionados han sido depositadas sobre medio de cultivo poco discriminante (Medio PDA - Agar Patata-Dextrosa).

- 25 Se han añadido a continuación 10 ml de cada solución en cajas de Petri con las cepas de hongos inoculadas, que se han dejado durante 12 horas. Después de este periodo, se han vertido los 10 ml y se ha observado el crecimiento de los hongos durante varias semanas midiendo el radio de micelio formado o no a medida del crecimiento de los hongos, a una temperatura de aproximadamente 25°C.

Estos experimentos *in vitro* han permitido poner de manifiesto una ausencia de crecimiento para todos los hongos puestos en contacto con el anolito neutro, lo que no ha sucedido para las otras soluciones testadas.

- 30 Se puede indicar, no obstante, que el agua hidrogenada presenta cierta eficacia de inhibición del crecimiento de los hongos.

Ejemplo 3 - Tasa de recuperación después de la plantación, ensayo comparativo *in vivo* del tratamiento al anolito neutro con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (agua oxigenada), Désogerme (Biofungicida - laboratorio A.C.I., designado T1), y H<sub>2</sub>O.

El resultado de recuperación después de la plantación (crecimiento de las plantas) es muy importante, dado que el tratamiento no debe ser traumatizante para las plantas de vid.

- 35 La evaluación de la tasa de población se ha realizado sobre más de 500 plantas, y el porcentaje de recuperación es el mencionado en la tabla II.

	Anolito Neutro	T1	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Testigo H <sub>2</sub> O
8 días después de la plantación	74.5%	74.7%	59%	79.4%
20 días después de la plantación	95.9%	94.9%	94.8%	95%

Tabla II - Tasa de recuperación de las plantas tratadas después de diferentes tratamientos

5 Se observa que el agua oxigenada altera la madera cuando la misma se pone en contacto con los esquejes durante la fase de rehidratación. El anolito aporta resultados similares o incluso superiores en términos de desinfección sin alterar la madera. La integridad fisiológica de la planta sigue siendo el elemento más importante a tener en cuenta cuando se realiza la plantación de una vid. Como consecuencia, el agua oxigenada presenta un interés inferior al anolito neutro como agente de desinfección contra los patógenos de la vid.

Ejemplo 4 - Mantenimiento de la presencia de hongos favorables

10 Durante la producción de las plantas de vid, es posible inocularlas con *Trichoderma atroviride*, que exhibe un efecto contra los hongos responsables de las enfermedades de la madera de vid. Las plantas han sido inoculadas con los *Trichoderma* por inmersión en varios puntos y varios momentos en una solución de *Trichoderma* con una concentración de 10<sup>7</sup> esporas/ml).

Las evaluaciones sobre las plantas inoculadas con *Trichoderma* se han realizado siguiendo el mismo tipo de protocolo que en el ejemplo 1, es decir por inmersión de plantas de vid listas para ser comercializadas durante 12 horas en el anolito neutro al 100%.

15 La evaluación se ha realizado en primer lugar visualmente por observación en cajas de Petri del crecimiento del hongo a partir de rodajas de madera tomadas sobre las muestras de las plantas testadas, y luego por identificación molecular por PCR para validar la identidad exacta de la cepa de *Trichoderma* en crecimiento.

20 Todas las cajas sembradas con arandelas de madera procedentes de plantas con *Trichoderma* y remojadas luego en el anolito neutro al 100% durante 12 horas ha revelado la presencia de *Trichoderma* en la caja y por análisis PCR.

Esto demuestra que este *Trichoderma* no se ve afectado suficientemente por el anolito neutro para desaparecer. La inhibición es sólo de 12% para una concentración de anolito neutro de 6%, y de 54% para una concentración de 25%, tal como se mide por nefelometría.

Ejemplo 5 - Otro protocolo

25 El sistema puede perfeccionarse utilizando concentraciones de anolito neutro adaptadas al estado fisiológico de la planta.

De hecho, la aplicación de anolito neutro al 100% durante 12 horas puede revelarse traumatizante para la madera, a pesar de los resultados positivos de recuperación.

30 Las dosis y los tiempos de recuperación se han reducido, pero el anolito neutro se ha aplicado en diversos momentos.

Una etapa de aplicación de anolito neutro sobre las cepas y los injertos durante la fase de rehidratación que precede a la etapa de injerto.

35 Se aplica así el anolito neutro a una concentración entre 3 y 50% (en función del origen y el estado inicial del material vegetal apartado como muestra) sobre las cepas y los injertos después de recogida y almacenamiento de las troncos, durante la fase de rehidratación anterior a la etapa de injerto. La aplicación se realiza por inmersión total del material vegetal en la solución durante un periodo que puede alcanzar desde 12 a 48 horas según el estado de deshidratación.

Se exponen igualmente las plantas de vid al anolito neutro durante las etapas de cicatrización (concentración 100%) y estratificación (concentración 3 a 10%) después del injerto.

40 El anolito neutro se aplica también a una concentración que puede alcanzar hasta 50% sobre las plantas de vid durante la fase de crecimiento.

Este protocolo da igualmente resultados positivos, dado que la cuasi-totalidad de las plantas producidas (98 sobre 100 testadas) están totalmente exentas de hongos en el límite de los instrumentos de diagnóstico.

Ejemplo 6 - Ensayos en campo abierto

## ES 2 541 533 T3

Los resultados de la aplicación en campo abierto sobre viñedo in situ son igualmente muy esperanzadores, a pesar de un año relativamente preservado en términos de presión fúngica tipo mildiu u oídium.

Así, la parcela que ha recibido sólo anolito neutro al 50%, una vez por semana, a guisa de tratamiento fitosanitario, no acusa signo alguno de contaminación fúngica.



**Reivindicaciones**

1. Utilización de anolito neutro para descontaminar los troncos de vid.
2. Utilización según la reivindicación 1, caracterizada por que se efectúa durante la producción de plantas de vid.
- 5 3. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizada por que presenta una etapa de aplicación de anolito neutro sobre las cepas e injertos durante la fase de rehidratación que precede a la etapa de injerto.
4. Utilización según la reivindicación 3, caracterizada por que la concentración de anolito neutro durante la fase de rehidratación está comprendida entre 3 y 50% (en volumen).
- 10 5. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizada por que comprende una etapa de exposición de las plantas de vid al anolito neutro durante la etapa de cicatrización después del injerto.
6. Utilización según la reivindicación 5, caracterizada por que la concentración de anolito neutro durante la etapa de cicatrización es superior a 80%.
7. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada por que comprende una etapa de aplicación de anolito neutro sobre las plantas de vid durante la fase de estratificación.
- 15 8. Utilización según la reivindicación 7, caracterizada por que la concentración de anolito neutro durante la fase de estratificación está comprendida entre 3 y 10% (en volumen).
9. Utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizada por que comprende una etapa de aplicación de anolito neutro sobre las plantas de vid durante la fase de crecimiento.
- 20 10. Utilización según la reivindicación 9, caracterizada por que la concentración de anolito neutro durante la fase de crecimiento es inferior o igual a 50%.
11. Utilización según la reivindicación 1, caracterizada por que se efectúa sobre vides enraizadas en campo abierto.
12. Procedimiento de producción de una planta de vid injertada-soldada que comprende al menos una etapa seleccionada entre
  - a) una etapa consistente en podar una cepa y un injerto
  - 25 b) una etapa consistente en ensamblar dichas cepa e injerto a fin de formar un ensamblaje
  - c) una etapa que comprende la cicatrización del ensamblaje para formar un callo de soldadura y la estratificación de dicho callo
  - d) una etapa de crecimiento de la planta de vid,
- 30 caracterizado por que se aplica una solución de anolito neutro a las plantas en curso de producción durante esta etapa.
13. Procedimiento según la reivindicación 12, caracterizado por que comprende al menos dos etapas seleccionadas entre a), b), c), y d), durante las cuales se exponen las plantas en curso de producción a una solución de anolito neutro.
- 35 14. Procedimiento según la reivindicación 12 o 13, caracterizado por que comprende al menos tres etapas seleccionadas entre a), b), c), y d) durante las cuales se exponen las plantas en curso de producción a una solución de anolito neutro.
15. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 12 a 14, caracterizado por que el mismo comprende las cuatro etapas a), b), c), y d) y porque se exponen las plantas en curso de producción a una solución de anolito neutro durante cada una de las etapas.