

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 581 857**

51 Int. Cl.:

A01N 25/00 (2006.01)

A01N 43/90 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.12.2012** **E 12812993 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.04.2016** **EP 2793570**

54 Título: **Composición para el tratamiento de semillas**

30 Prioridad:

22.12.2011 EP 11195253

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

07.09.2016

73 Titular/es:

**DSM IP ASSETS B.V. (100.0%)
Het Overloon 1
6411 TE Heerlen, NL**

72 Inventor/es:

**SCHREURS, FREDERIK JAN HENDRIK;
STARK, JACOBUS y
DE RIJK, ANGELIQUE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 581 857 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

Composición para el tratamiento de semillas

Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones para el tratamiento de semillas, así como a su producción y usos.

5 Antecedentes de la invención

10 El campo de la agricultura produce cultivos de muchas variedades tales como, entre otros, legumbres, frutas, lechugas, trigo, cebada, maíz y arroz. Muchos de estos cultivos se cultivan a partir de semillas que varían en su capacidad innata para resistir un daño físico debido a las condiciones de almacenamiento o medioambientales desfavorables, todo lo cual afecta a su posterior capacidad de desarrollarse en plantas adultas. Además de ello, las semillas son susceptibles al daño por parte de patógenos vegetales, incluyendo hongos, bacterias, virus y nematodos, y son vulnerables a los insectos, aves, roedores y otros organismos que dependen de ellos como fuente de alimentación. Los hongos son uno de los grupos económicamente más importantes de patógenos vegetales y son responsables de grandes pérdidas anuales de alimentos, fibras y piensos comerciales.

15 Para reducir las pérdidas de rendimiento debido a, por ejemplo, el deterioro por hongos, una fracción significativa de las semillas es tratada actualmente con uno o más productos agroquímicos sintéticos. El uso de productos agroquímicos sintéticos para reprimir patógenos vegetales, sin embargo, ha aumentado los costos para los agricultores y ha causado efectos perjudiciales sobre el ecosistema. Los consumidores y los reguladores gubernamentales por igual están cada vez más preocupados con los riesgos medioambientales asociados con la producción y el uso de productos agroquímicos sintéticos para la protección de las semillas frente a patógenos.

20 Además, la aplicación de productos agroquímicos a las semillas propiamente dichas está plagada de problemas tales como unión de los productos agroquímicos al suelo, la aglomeración de las semillas debido a la aplicación de los productos agroquímicos y el uso de equipos de aplicación de productos químicos caros y complejos. Además, las semillas pueden verse afectadas adversamente por los productos agroquímicos, dado que estos productos químicos pueden ser tóxicos para las semillas y las plantas que brotan de las semillas. Una toxicidad de este tipo limita la cantidad de estos productos agroquímicos que con seguridad se pueden aplicar a las semillas. Un efecto indeseable de la toxicidad es la reducción de la tasa y/o velocidad de germinación, o incluso la ausencia total de germinación de las semillas que han sido tratadas. Típicamente, la tasa de germinación y/o la velocidad de las semillas que han sido tratadas con un producto agroquímico que es tóxico disminuyen con el tiempo después de haber aplicado la sustancia química, limitando con ello la vida útil de las semillas tratadas. La toxicidad de los productos agroquímicos ha sido abordada de varias maneras.

Se utiliza ampliamente la inclusión de productos químicos que mejoran los efectos tóxicos de los productos agroquímicos junto con las semillas. Esta solución, sin embargo, requiere la aplicación a las semillas de un componente químico adicional, a menudo caro.

35 Otra manera de superar el efecto tóxico es encapsular el producto agroquímico en una matriz que limita su movimiento. Este método puede limitar el contacto del producto agroquímico con las semillas y las plántulas que brotan, permitiendo al mismo tiempo que el producto químico esté disponible más tarde durante la germinación y el crecimiento inicial de la planta a medida que el producto químico se libera de la matriz. El funcionamiento correcto de la tecnología de encapsulación depende de una cuidadosa adaptación de las propiedades físicas y químicas del producto agroquímico y la matriz de encapsulación. Ninguno de los dos, matriz y proceso de encapsulación, es adecuado para la encapsulación de todos los productos agroquímicos ahora en uso para el tratamiento de semillas. Además de ello, la matriz de encapsulación es susceptible al agrietamiento.

45 Todavía otra manera de superar el efecto tóxico es cubrir la semilla con una capa relativamente gruesa de material inerte sobre la que se aplica el producto agroquímico de tal manera que no esté directamente en contacto con la semilla (véase el documento WO 2004/049778). Sin embargo, una desventaja de este método es que es necesaria una dosis alta de producto agroquímico para que sea eficaz, lo cual conduce todavía a un posible efecto tóxico del producto agroquímico para las semillas. Además, debido a la alta dosis, las propiedades físico-químicas del

recubrimiento pueden cambiar de manera significativa, produciendo indirectamente un efecto negativo debido a un cambio en el equilibrio de oxígeno/agua en el recubrimiento.

5 Una alternativa adicional incluye la siembra simultánea de gránulos que contienen semillas y pastillas que contienen productos agroquímicos tales como pastillas independientes (véase el documento US 2006/0150489). Una desventaja de esta solución es que deben hacerse dos pastillas independientes, lo cual es engorroso y caro. Además, esta solución puede estimular el uso irregular de los gránulos que contienen productos agroquímicos, ya que no hay o solamente existe un control limitado en el tiempo de aplicación, velocidad y ubicación de los gránulos.

El documento US 4.344.979 utiliza peróxidos para revestir semillas y mejorar la germinación.

10 Por lo tanto, existe una necesidad significativa de composiciones de recubrimiento para el control de patógenos de semillas que, por una parte, posean un menor riesgo de contaminación y peligros medioambientales que los productos agroquímicos que se utilizan actualmente y que, por otra parte, no sean tóxicos para las semillas.

Sumario de la Invención

15 Una gran parte de los daños a las plantas de cultivo que es provocado por microorganismos fitopatógenos se produce tan pronto como cuando las semillas son atacadas durante el almacenamiento y después de que las semillas se hayan introducido en el suelo, durante e inmediatamente después de la germinación de las semillas. Esta fase es particularmente crítica, ya que las raíces y los brotes de las plantas en crecimiento son particularmente sensibles e incluso daños menores pueden conducir a la deformación o la muerte de toda la planta. Por ello, es de particular interés es dejar que las semillas germinen lo más rápido posible. De acuerdo con la presente invención, se ha descubierto que natamicina se puede utilizar para mejorar y acelerar la germinación de las semillas.

Descripción detallada de la Invención

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a un método para mejorar la germinación de semillas, comprendiendo dicho método la etapa de poner en contacto con natamicina la semilla, el medio a ser plantado con la semilla o ambos.

25 El fungicida de polieno mejora la germinación de las semillas en un 1 a 15%, preferiblemente 5 a 15% después de 14 a 16 días de incubación de las semillas a 20-30°C. En una realización, natamicina mejora la germinación de la semilla en al menos un 1%, al menos un 3%, al menos un 5%, al menos un 8%, al menos un 10%, preferiblemente al menos un 15%, más preferiblemente al menos un 20% y lo más preferiblemente al menos un 25% después de 14 a 16 días de incubación de las semillas a 20- 30°C. En detalle, las semillas se incubaron en una habitación estéril de germinación profesional con temperaturas y condiciones de luz establecidas. Las semillas se plantaron en un papel en rollo estéril de acuerdo con procedimientos ISTA (International Seed Testing Association) bien conocidos (véase el Manual de Normas Internacionales para el Análisis de Semillas, Edición 2011, Capítulo 5, publicado por International Seed Testing Association, Suiza). Las semillas plantadas se sometieron al siguiente ciclo durante 14 a 16 días: 12 horas de oscuridad a 20°C, seguido de 12 horas de luz a 30°C; la humedad estaba entre 98 y 100%.

35 Fungicidas de polieno son natamicina, nistatina, anfotericina B, trienina, etruscomicina, filipina, chainina, dermostatina, linfosarcina, candidicina, aureofungina A, aureofungina B, hamicina A, hamicina B y lucensomicina. En una realización, la semilla, el medio a ser plantado con la semilla o ambos también puede ser contactados por dos o más fungicidas de polieno diferentes, siendo uno natamicina. Ha de entenderse que derivados de fungicidas de polieno, tales como natamicina, incluyendo, pero no limitados a sales o solvatos de fungicidas de polieno, tales como natamicina, o formas modificadas de los fungicidas de polieno, tales como natamicina, también puede ponerse en contacto con la semilla, medio a ser plantado con la semilla o ambos. Ejemplos de productos comerciales que contienen natamicina son los productos con el nombre de marca Delvovid®. Productos de este tipo son producidos por DSM Food Specialties (Países Bajos), y pueden ser sólidos que contienen, p. ej., 50% (p/p) de natamicina o líquidos que comprenden, p. ej., entre 0,5-50% (p/v) de natamicina. Dichos productos comerciales pueden ponerse en contacto con la semilla, el medio a ser plantado con la semilla o ambos.

45 "Un medio a ser plantado con la semilla", tal como se utiliza en esta memoria, significa cualquier entorno de cultivo adecuado para el cultivo de una planta y/o plántula a partir de una semilla tal como el suelo y otros medios de crecimiento (naturales o artificiales). La natamicina se puede aplicar, por ejemplo, el suelo en el surco, bloques de cultivo, canalones o en bandas en T. La natamicina se puede aplicar al mismo tiempo que se siembran las semillas.

En una realización, la natamicina se puede aplicar a través del agua de riego a la semilla, el medio a ser plantado con la semilla o de ambos.

"Semilla", tal como se utiliza en esta memoria, significa cualquier fase de reposo de una planta que se separa físicamente de la fase vegetativa de una planta. El término "reposo" se refiere a un estado en el que la planta conserva la viabilidad, dentro de límites razonables, a pesar de la ausencia de luz, agua y/o nutrientes esenciales para el estado vegetativo (es decir, no semilla). Las semillas pueden ser almacenadas durante períodos prolongados de tiempo y se pueden utilizar para volver a desarrollar otra planta individual de la misma especie. En particular, el término "semilla" se refiere a semillas verdaderas, pero no abarca los propágulos de plantas tales como retoños, cormos, bulbos, frutos, tubérculos, granos, esquejes y brotes. En otras palabras, las semillas son un óvulo maduro de gimnospermas y angiospermas que se desarrollan después de la fertilización y que contienen un embrión rodeado por una cubierta protectora. Alternativamente, las semillas artificiales no necesitan fertilización. Otros tejidos de almacenamiento de reservas de alimentos tales como, p. ej., el endospermo pueden estar presentes en semillas maduras.

Las semillas de variedades de plantas de todo tipo que se utilizan en agricultura, en invernaderos, en el sector forestal, en la construcción de jardines o en viñedos pueden ponerse en contacto con natamicina. En particular, esto se refiere a las semillas de cereales, maíz, triticale, teff, cacahuete, canola, colza, amapola, aceituna, coco, hierbas, cacao, soja, algodón, remolacha, (p. ej., remolacha azucarera y remolacha forrajera), arroz (se puede utilizar cualquier arroz, pero se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en *Oryza sativa* sp. japonica, *Oryza sativa* sp. javanica, *Oryza sativa* sp. indica, e híbridos de los mismos), sorgo, mijo, teff, espelta, trigo, trigo duro, cebada, avena, centeno, girasol, caña de azúcar, césped, pasto, alfalfa o tabaco. La natamicina también se puede utilizar para el tratamiento de las semillas de las plantas frutales incluyendo, pero no limitado a, frutas rosáceas, por ejemplo manzanas y peras; frutos con hueso, por ejemplo, melocotones, nectarinas, cerezas, ciruelas y albaricoques; frutos cítricos, por ejemplo, naranjas, pomelos, limas, limones, naranjas chinas, mandarinas y satsumas; frutos secos, por ejemplo pistachos, almendras, nueces, café, cacao y nueces de pacana; frutas tropicales, por ejemplo, mango, papaya, piña, dátiles y plátanos; y uvas; y hortalizas, incluyendo, pero no limitado a las verduras de hoja, por ejemplo, endivias, canónigo, rúcula, hinojo, globo (lechuga arropollada) y ensalada de hojas sueltas, acelga, espinaca y achicoria; brásicas, por ejemplo, coliflor, brócoli, col china, col rizada (kale de invierno o berzas), colirrábano, coles de Bruselas, lombarda, repollo blanco y rizada; hortalizas de fruto, por ejemplo, berenjenas, pepinos, pimentón, pimientos (chiles), calabacín, tomates, calabacines, melones, sandías, calabazas y maíz dulce; hortalizas de raíz, por ejemplo, apio nabos, jicama, zanahorias, nabos suecos, rábanos, rábano picante, remolacha, salsifíes, apio; legumbres, por ejemplo, guisantes y habas; y hortalizas de bulbo, por ejemplo, puerros, ajos y cebollas. La natamicina también se puede utilizar para el tratamiento de las semillas de ornamentales, por ejemplo, rosas, pensamiento, alegría de la casa, petunias, begonias, Lisianthus, girasol, ageratum, crisantemo y geranio. En una realización preferida, la natamicina se utiliza para el tratamiento de semillas de tomates, coles (p. ej., col china, col rizada (kale de invierno o berzas), colirrábanos, coles de Bruselas, lombarda, repollo blanco y col de Milán), cebolla, pimentón, berenjenas, lechuga (p. ej., endivias, canónigo, rúcula, hinojo, globo (lechuga arropollada) y ensalada de hojas sueltas, acelga, espinaca y achicoria), maíz, arroz, soja y cucurbitáceas (p. ej., pepinos, calabazas, sandías y melones).

Las semillas pueden ser semillas transgénicas, es decir, semillas de una planta transgénica. Tal como se utiliza en esta memoria, "planta transgénica" significa una planta o progenie de la misma derivada de una célula vegetal transformada o de protoplastos, en donde el ADN de la planta contiene una molécula de ADN exógena introducida no presente originalmente en una planta nativa, no transgénica de la misma cepa.

De acuerdo con la presente invención, para mejorar su germinación las semillas se tratan mediante la aplicación de natamicina a las semillas. Aunque el presente método se puede aplicar a las semillas en cualquier estado fisiológico, se prefiere que las semillas estén en un estado suficientemente duradero de modo que no se incurra en un daño significativo durante el proceso de tratamiento de las semillas. Por lo general, las semillas son semillas que han sido recogidas del campo; retirado de la planta; y/o separadas del fruto y cualquier mazorca, vaina, tallo, cáscara externa, y pulpa circundante u otro material vegetal que no sea semillas. Las semillas son preferiblemente también biológicamente estables hasta el punto de que el tratamiento no provocaría un daño biológico a las semillas. En una realización, por ejemplo, el tratamiento se puede aplicar a las semillas que han sido recolectadas, limpiadas y secadas a un contenido de humedad específico. En una realización alternativa, las semillas se pueden secar y después cebar con agua y/u otro material y luego volver a secar antes, durante o después del tratamiento con el fungicida de polieno.

La natamicina se puede aplicar "pura", es decir, sin ningún diluyente o componentes adicionales presentes. Sin embargo, la natamicina se aplica típicamente a las semillas en forma de una composición y/o revestimiento y/o

formulación. Ergo, la composición y/o el revestimiento y/o la formulación de acuerdo con la invención puede ser una mezcla (física) de natamicina y al menos un otro componente. Sin embargo, la composición y/o el revestimiento y/o la formulación también puede ser cualquier combinación de natamicina y al menos otro componente, no siendo necesario que natamicina y el al menos otro componente esté presente en la misma composición y/o revestimiento y/o formulación. Un ejemplo de una composición y/o revestimiento y/o formulación de acuerdo con la invención en la que natamicina y el al menos otro componente no están presentes juntos en la misma composición y/o revestimiento y/o formulación es un kit de partes. En un kit de partes, dos o más componentes de un kit se envasan por separado, es decir, no están pre-formulados. Como tal, los kits incluyen uno o más recipientes separados tales como viales, latas, botellas, bolsos, bolsas o botes, conteniendo cada uno de los recipientes un componente separado para una composición agroquímica. Ejemplos de ello son kits de dos componentes, tres componentes o incluso de cuatro componentes. Las semillas se pueden poner en contacto con natamicina utilizando cualquier tratamiento de semillas adecuado y, especialmente, técnicas de desinfección de semillas conocidas en la técnica tales como revestimiento de semillas (p. ej., granulación de las semillas, incrustación, revestimiento de película), espolvoreo de semillas e imbibición de las semillas (p. ej., el remojo de semillas, cebado). Aquí, "tratamiento de las semillas" se refiere a todos los métodos que ponen a las semillas y natamicina en contacto unas con otras, y "desinfección de las semillas" se refiere a métodos de tratamiento de semillas que proveen a las semillas de una cantidad de natamicina, es decir, que generan una semilla que comprende la natamicina. En principio, el tratamiento se puede aplicar a las semillas en cualquier momento desde la cosecha de las semillas hasta la siembra de las semillas. Las semillas pueden ser tratadas inmediatamente antes de, o durante la plantación de la semilla. Sin embargo, el tratamiento también puede llevarse a cabo durante varias semanas o meses, por ejemplo hasta 13 meses, antes de plantar la semilla, por ejemplo en forma de un tratamiento de desinfección de las semillas. El tratamiento se puede aplicar a las semillas sin sembrar. Tal como se utiliza en esta memoria, la expresión "semillas no sembradas" pretende incluir semillas en cualquier periodo desde la cosecha de las semillas hasta la siembra de las semillas en el suelo con el propósito de la germinación y el crecimiento de una planta. Las semillas también se pueden tratar después de la siembra, p. ej., mediante la aplicación de la natamicina al suelo o medio, en lugar de directamente a la semilla. Sin embargo, mediante la aplicación del tratamiento a las semillas antes de la siembra de las semillas se simplifica la operación. De esta manera, las semillas se pueden tratar, por ejemplo, en una ubicación central y luego se pueden dispersar para la plantación. Esto permite que la persona que planta las semillas evite la manipulación y uso de la natamicina y simplemente maneje y plante las semillas tratadas de una manera que sea convencional para las semillas no tratadas regulares, lo que reduce la exposición humana. Las semillas a tratar pueden ser semillas cebadas o no cebadas. El cebado de las semillas se realiza para llevar las semillas al mismo nivel de germinación en condiciones controladas. Ejemplos de técnicas de cebado son el osmo-cebado y el cebado en tambor. Estas técnicas de cebado son conocidas por el experto en la materia.

Habitualmente, se emplea un dispositivo que es adecuado para el tratamiento de semillas, por ejemplo un mezclador de componentes sólidos o sólidos/líquidos, hasta que la natamicina se distribuya uniformemente sobre las semillas. La natamicina se puede aplicar a las semillas mediante cualquier metodología de tratamiento de semillas estándar, incluyendo, pero no limitado a, la mezcla en un recipiente (p. ej., botella, bolsa, vaso, revestidor giratorio, lecho fluidizado o pulverizador), aplicación mecánica, volteo, pulverización e inmersión. Si es apropiado, esto es seguido por el secado de las semillas. El tratamiento de semillas mediante pulverización es un método habitualmente utilizado para el tratamiento de un gran volumen de semillas de arroz. Para este fin, una disolución obtenida por dilución de una composición (p. ej., un FS, LS, DS, WS, SS y ES) se pulveriza continuamente sobre las semillas en una cámara de pulverización y luego se seca a temperatura elevada (p. ej. de 25 a 40°C) en una cámara de secado.

En otra realización, las semillas pueden ser sometidos a revestimiento o imbibición (p. ej., remojo). "Revestimiento" designa cualquier proceso que dota a las superficies exteriores de las semillas, parcial o completamente, de una capa o capas de material no vegetal. Revestimiento es el más comúnmente utilizado para los cultivos de grandes hectáreas tales como de arroz, maíz y también semillas de verduras. De acuerdo con este método, las semillas se limpian y después de ello se revisten con una formulación diluida utilizando, por ejemplo un mezclador con olla rotativo durante aproximadamente varios minutos y seguido por la rotación reversible. Después, se secan las semillas.

"Imbibición" se refiere a cualquier proceso que resulta en la penetración de natamicina en las partes germinables de la semilla y/o su envoltura natural, bagazo (interior), grano, cáscara, vaina y/o integumento. De acuerdo con el método de remojo, las semillas se limpian y se empaquetan en una bolsa que está sumergida en el volumen equivalente de disolución química con el volumen de la semilla, en donde la disolución química se obtiene normalmente mediante dilución de una formulación tal como FS, LS, DS, WS, SS y ES. Después, las semillas se secan. El remojo se aplica con mayor frecuencia para las semillas de arroz.

La invención también se refiere a un tratamiento de semillas que comprende proveer semillas con un revestimiento que comprende una natamicina y a un tratamiento de las semillas que comprende la imbibición de las semillas con una natamicina. El revestimiento también puede comprender la pulverización de una natamicina sobre las semillas, al tiempo que se agitan las semillas en una pieza de equipo apropiada, tal como un volteador o una granuladora de bandeja. El revestimiento también puede llevarse a cabo humedeciendo la superficie externa de las semillas y aplicando la natamicina a las semillas humedecidas y secando las semillas obtenidas. Las semillas pueden ser humedecidas, por ejemplo, por pulverización con agua o una disolución acuosa. Si las semillas son sensibles a expandirse en agua, pueden ser humedecidas con una disolución acuosa que contiene un agente anti-expansión.

El revestimiento se puede aplicar a las semillas utilizando técnicas y máquinas de revestimiento convencionales tales como técnicas de lecho fluido, el método de molino de rodillos, dispositivos de tratamiento de semillas roto-estáticos y revestidores de tambor. También pueden ser útiles otros métodos tales como la técnica de lecho efervescente. Las semillas pueden ser pre-clasificadas antes del revestimiento. Después del revestimiento, las semillas se secan típicamente y después se transfieren a una máquina clasificadora para la clasificación. El secado puede llevarse a cabo mediante ventilación natural, pero también de acuerdo con cualquier técnica que es en sí misma conocida tal como el paso de una corriente forzada de aire, opcionalmente calentada, sobre las semillas, que se pueden disponer, para este fin, en aparatos tales como tamices.

Cuando se revisten semillas a gran escala (por ejemplo a escala comercial), las semillas pueden ser introducidas en el equipo de tratamiento (tal como un volteador, un tambor, una placa, un mezclador o un granulador de bandeja), ya sea en peso o en caudal. La cantidad de natamicina que se introduce en el equipo de tratamiento puede variar en función del peso de la semilla a revestir, de la superficie específica de las semillas, de la concentración de la natamicina, la concentración deseada de las semillas acabadas, y similares. La natamicina se puede aplicar a las semillas por una diversidad de medios, por ejemplo mediante una boquilla de pulverización o un disco giratorio. La cantidad de natamicina se determina típicamente por la tasa requerida de fungicida de polieno necesaria para que sea eficaz. A medida que las semillas caen al equipo de tratamiento, las semillas pueden ser tratadas (por ejemplo, por nebulización o pulverización con la natamicina) y son hechas pasar a través del equipo de tratamiento bajo movimiento continuo/volteo, en donde se pueden revestir de manera uniforme y secar antes de su almacenamiento o uso. En otra realización, un peso conocido de las semillas puede ser introducido en el equipo de tratamiento. Un volumen conocido de natamicina puede ser introducido en el equipo de tratamiento a una velocidad que permita que la natamicina sea aplicada de manera uniforme sobre las semillas. Polvo para la incrustación se puede añadir de forma manual o mediante un alimentador de polvo automatizado. Durante la aplicación, las semillas se pueden mezclar, por ejemplo mediante rotación o volteo. Opcionalmente, las semillas se pueden secar o secar parcialmente durante la operación de volteo. Tras completarse el revestimiento o la incrustación, las semillas tratadas se pueden retirar a una zona para su posterior secado o procesamiento adicional, uso o almacenamiento. En aún otra realización, las semillas se pueden recubrir en un equipo de tratamiento comercial de tamaño laboratorio tal como un volteador, un mezclador o un granulador de bandeja mediante la introducción de un peso conocido de las semillas en el equipo de tratamiento, añadiendo la cantidad deseada de natamicina, volteando o haciendo rotar las semillas y colocándolas en una bandeja para que se sequen a fondo. En otra realización, las semillas también se pueden revestir mediante colocando la cantidad conocida de semillas en una botella de cuello estrecho o recipiente con una tapa. Mientras se voltean, se pueden añadir la cantidad deseada de natamicina al receptáculo. Las semillas se voltean hasta que estén revestidas, con incrustaciones o granuladas con la natamicina. Después del revestimiento, incrustación o granulación, las semillas opcionalmente se pueden secar, por ejemplo en una bandeja. Si es necesario, el secado puede realizarse por métodos convencionales. Por ejemplo, se puede emplear un desecante o calor suave (tal como por debajo de aproximadamente 40°C) para producir un revestimiento seco o incrustante.

Alternativamente, el revestimiento también puede hacerse mediante la aplicación de un "agente de pegajosidad" tal como una carga o aglutinante en forma de una película adhesiva sobre las semillas de modo que la natamicina en forma de un polvo puede ser unido a las semillas para formar un revestimiento, incrustación o gránulo. Por ejemplo, una cantidad de semillas se puede mezclar con un agente de pegajosidad y, opcionalmente, se puede agitar para fomentar un revestimiento uniforme de las semillas con el agente de pegajosidad. En la segunda etapa, la semilla revestida con el agente de pegajosidad se puede mezclar entonces con la mezcla en polvo de natamicina. La formulación seca de natamicina puede contener otros componentes tal como se comenta a continuación. La mezcla de semillas y natamicina se puede agitar, por ejemplo mediante volteo, para fomentar el contacto del agente de pegajosidad con el material en polvo, provocando de esta manera que el material en polvo se adhiera a las semillas.

Como ya se ha indicado anteriormente, la natamicina puede estar comprendida en una composición y/o revestimiento y/o formulación (todo designado como composición de aquí en adelante). La composición puede comprender uno o más componentes adicionales. Los componentes incluyen, pero no se limitan a otros plaguicidas (tales como fungicidas, acaricidas, miticidas, insecticidas, repelentes de insectos, repelentes de aves, rodenticidas,

- 5 molusquicidas, nematocidas, bactericidas y fumigantes), herbicidas, adyuvantes, humectantes, nutrientes, ceras, agentes anti-oxidación, coloides protectores activadores de genes, tensioactivos, minerales, agentes de hibridación químicos, pigmentos, auxinas, agentes de pegajosidad, antibióticos y otros fármacos, atrayentes biológicos, colorantes, agentes dispersantes, disolventes, soportes sólidos, reguladores del crecimiento, feromonas, agentes espesantes, colorantes, protectores, fertilizantes, agentes anticongelantes, agentes de control biológico (p. ej., bacterias y/u hongos que se producen de forma natural o recombinantes), diluyentes líquidos, aglutinantes (p. ej., para servir como una matriz para el fungicida de polieno), cargas (p. ej., polvos finos de tipo orgánico o mineral para la protección de las semillas durante condiciones de estrés), plastificantes (para mejorar la flexibilidad, adherencia y/o capacidad de dispersión), agentes de secado, solubilizantes, agentes dispersantes, agentes antiespumantes.
- 10 La composición que se utiliza para el tratamiento de las semillas en la presente invención puede estar en forma de un concentrado soluble (SL, LS), un concentrado dispersable (DC), un concentrado emulsionable (EC), una suspensión (SC, OD, FS), una emulsión (EW, EO, ES), una suspensión de partículas en un medio acuoso (p. ej., agua), una pasta, un polvo dispersable en agua o soluble en agua (WP, SP, SS, WS), una pastilla, un gránulo dispersable en agua o soluble en el agua (WG, SG), un gránulo seco (GR, FG, GG, MG), una formulación de gel
- 15 (GF), un polvo para espolvoreo (DP, DS), por nombrar sólo unos pocos. Concentrados solubles en agua (LS), concentrados capaces de fluir (FS), polvos para tratamiento en seco (DS), polvos dispersables en agua para tratamiento en suspensión (WS), polvos solubles en agua (SS), emulsiones (ES), concentrados emulsionables (EC) y geles (GF) se emplean generalmente para los fines de tratamiento de semillas. Estas composiciones se pueden aplicar a semillas, diluidas o sin diluir. En una realización preferida, la composición que comprende natamicina
- 20 comprende, además, una carga, un aglutinante o ambos. En otras palabras, las semillas se pueden poner en contacto con una composición que comprende natamicina, una carga y/o un aglutinante. Alternativamente, las semillas también se pueden poner en contacto con los componentes separados. La puesta en contacto se puede hacer al mismo tiempo o por separado. Por ejemplo, las semillas se pueden poner en contacto con una composición que comprende una carga y natamicina y, posteriormente, con una composición que comprende una carga y un
- 25 aglutinante. Combinaciones alternativas están dentro del alcance del técnico experto.

En una realización preferida, la carga se selecciona del grupo que consiste en un carbonato, harina de madera, tierra de diatomeas y una combinación de los mismos. En una realización preferida, la carga es un carbonato. Ejemplos de carbonatos son carbonato de calcio, carbonato de magnesio o una combinación de los mismos. En una realización preferida, la carga es carbonato de calcio.

- 30 En una realización preferida, el aglutinante se selecciona del grupo que consiste en lignosulfonato, polivinilpirrolidona y una combinación de los mismos. La polivinilpirrolidona es un polímero soluble en agua hecho a partir del monómero N-vinilpirrolidona ((C₆H₉NO)_N). El peso molecular depende del número de unidades de monómero. El lignosulfonato se puede añadir como lignosulfonato de cobre, lignosulfonato de zinc, lignosulfonato de magnesio, lignosulfonato de manganeso, lignosulfonato de sodio, lignosulfonato de calcio, lignosulfonato de amonio,
- 35 o una combinación de los mismos.

- En general, la cantidad de natamicina que se aplica a las semillas oscilará entre aproximadamente 10 gramos y aproximadamente 4000 gramos de natamicina por 100 kg de semillas. Preferiblemente, la cantidad de natamicina estará dentro del intervalo de aproximadamente 50 gramos a aproximadamente 3000 gramos fungicida de polieno por 100 kg de semillas, más preferiblemente dentro del intervalo de aproximadamente 100 gramos a
- 40 aproximadamente 2000 gramos de natamicina por 100 kg de semillas.

Ergo, la presente invención también se refiere a una composición de tratamiento de semillas que comprende una carga, un aglutinante y natamicina. En una realización adicional, la carga es carbonato de calcio. En otra realización, el aglutinante es lignosulfonato, polivinilpirrolidona o una combinación de los mismos.

- 45 En una realización, la natamicina está presente en una cantidad de 0,05% a 50% del peso total de la composición. Si se formula como una suspensión o suspensión espesa, la concentración de natamicina en la composición es preferiblemente de 0,05% a 25% del peso total de la composición, preferiblemente de 0,1% a 20% del peso total de la composición. En general, la proporción de carga puede variar dentro de límites muy amplios. Es generalmente entre 0,1 y 99% del peso total de la composición y de preferencia entre 0,5% y 99% del peso total de la composición.

- 50 En un aspecto adicional, la invención se refiere a una semilla que comprende una carga, un aglutinante y natamicina. En una realización la semilla comprende una composición de tratamiento de semillas de acuerdo con la presente invención. La semilla puede ser manipulada, transportada, almacenada y distribuida en forma de semillas que no comprenden estos compuestos. De igual manera, se pueden sembrar y regar de la misma manera que las

5 semillas que no comprenden estos compuestos, así como utilizando un equipo convencional. Típicamente, la presente invención es aplicable a semillas de cultivos a ser cultivados en el suelo o macetas de trasplante, aunque puede aplicarse a otras plantas y medios de cultivo sin apartarse del alcance de la invención. Se ha encontrado que los tratamientos de acuerdo con la presente invención pueden impartir efectos deseados de larga duración del fungicida de polieno a las semillas y las plantas resultantes, sin necesidad de repetir el tratamiento.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un medio para el cultivo de una planta, que comprende una carga, un aglutinante y natamicina. En una realización, el medio para el cultivo de una planta comprende una composición de tratamiento de semillas de acuerdo con la presente invención.

10 En aún otro aspecto, la presente invención se refiere a un método para el cultivo de una planta, comprendiendo dicho método las etapas de a) sembrar una semilla de acuerdo con la presente invención, sembrar una semilla en un medio de acuerdo con la presente invención o sembrar una semilla de acuerdo con la presente invención en un medio de acuerdo con la presente invención, y b) dejar que la planta crezca a partir de la semilla. Las semillas pueden ser sembradas manual o mecánicamente. La planta puede ser cultivada y desarrollada de acuerdo con una manera usual. Obviamente, tiene que añadirse una cantidad suficiente de agua y nutrientes para lograr el crecimiento de la planta.

15 Un aspecto adicional de la presente invención se refiere al uso de natamicina para mejorar la germinación de la semilla.

20 El uso de natamicina para mejorar el desarrollo de las raíces de las plántulas es otro aspecto de la presente invención. El término "raíz", tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a partes de una planta que normalmente, con el fin de cumplir sus funciones fisiológicas, se encuentran debajo de la superficie del suelo. Preferiblemente, el término designa las partes de una planta que están por debajo de la semilla y han surgido directamente de esta última, o de otras raíces, pero no de brotes o follaje. La raíz crece del meristemo de la raíz que es un grupo de células que se encuentran localizadas en el extremo distal de la radícula y raíces adventicias. El meristemo de la raíz sirve como el sitio de proliferación de la raíz, la producción de nuevas células que se diferencian en tejidos de la raíz específicos, es decir, epidermis, corteza, endodermis, periciclo y procambium, y la punta de la raíz, que protege y lubrica la raíz a medida que crece en el suelo. Los pelos de la raíz se producen a partir de la epidermis después de la germinación a través de la interacción con la corteza.

25 Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un método para aumentar la masa total de raíces de las plántulas que proceden de semillas, comprendiendo dicho método la etapa de poner en contacto las semillas, el medio a ser plantado con las semillas o ambos con natamicina. En una realización, las semillas son semillas con incrustaciones de natamicina.

30 Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un método para aumentar la masa total de las plántulas procedentes de semillas, comprendiendo dicho método la etapa de poner en contacto las semillas, el medio a ser plantado con las semillas o ambos con natamicina. En una realización, las semillas son semillas con incrustaciones de natamicina.

35 Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un método para aumentar la masa seca promedio de plántulas individuales procedentes de semillas, comprendiendo dicho método la etapa de poner en contacto las semillas, el medio a ser plantado con las semillas o ambos con natamicina. En una realización, las semillas son semillas con incrustaciones de natamicina.

40 Formas de realización y características descritas en esta memoria para un aspecto de la invención también se refieren a los otros aspectos de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1

Incrustación de semillas de arroz

En este ejemplo, semillas de arroz fueron provistas de incrustaciones con las composiciones de revestimiento tal como se muestra en la Tabla 1. Las semillas de arroz fueron provistas de incrustaciones utilizando el siguiente método. Cincuenta gramos de carbonato de calcio y 2,5 ó 9 gramos de producto natamicina se mezclaron para hacer una mezcla de natamicina. El producto de natamicina utilizado era Delvodic®, un producto que comprende 50% (p/p) de natamicina. A continuación, un kilogramo de semillas se colocó en una bandeja y se humedeció a través de un disco giratorio dentro de un dispositivo de revestimiento giratorio. Después de humedecer y poco antes de que las semillas de arroz comenzaran a pegarse unas a otras, se añadió la mezcla de natamicina a las semillas. Después de que las semillas hubieran absorbido la mezcla de polvo y tuvieran una apariencia seca, las semillas se humedecieron de nuevo y se añadió una mezcla que comprendía 950 gramos de carbonato de calcio y 400 gramos de una suspensión lignosulfonato (que comprende 133 gramos de lignosulfonato y 267 gramos de agua) o una mezcla que comprende 950 gramos de carbonato de calcio y 200 gramos de una disolución de polivinilpirrolidona (que comprende 10 gramos de polivinilpirrolidona y 190 gramos de agua). Después de que las semillas hubieran absorbido la mezcla de polvo, las mismas se mantuvieron en la bandeja y se hicieron rodar durante 5-10 minutos. Después de ello, se retiraron de la bandeja y se colocaron en un secador durante 60 minutos a una temperatura de 25 a 35°C. Después del secado, las semillas se hicieron pasar a través de una criba separadora para eliminar el polvo, los elementos en blanco (es decir, incrustaciones sin semilla como el centro) y dobles (es decir, incrustaciones con dos o más semillas como el centro). Tras la criba separadora, las semillas con incrustaciones se pesaron y se utilizaron en los siguientes experimentos.

Ejemplo 2

20 *Germinación de semillas de arroz con incrustaciones*

En este ejemplo, semillas de arroz (*Oryza sativa*) con incrustaciones, preparadas como se describe en el Ejemplo 1 y semillas de arroz sin tratar se sometieron a germinación de la siguiente manera. Semillas con incrustaciones y semillas no tratadas se dispusieron en un rollo de papel estéril. En total, se pusieron 100 semillas en el rollo de papel estéril. El experimento se realizó por cuadruplicado (es decir, 400 semillas por tratamiento). El proceso de germinación se realizó de acuerdo con el proceso bien conocido de la ISTA (véase el Manual de Normas Internacionales para el Análisis de Semillas, Edición 2011, Capítulo 5, páginas 5-41, publicado por International Seed Testing Association, Suiza). Cada uno de los papeles estériles se colocó en 100 ml de agua y se incubó a 20-30°C en un armario de germinación estéril durante 14 días. Las semillas plantadas fueron sometidas al ciclo siguiente durante estos 14 días: 12 horas en la oscuridad a 20°C, seguido de 12 horas de luz a 30°C; la humedad estaba entre 98 y 100%. Después de 14 días, el porcentaje de germinación se estableció como sigue. Los rollos de papel estériles con las semillas en su interior fueron extraídos del armario de germinación estéril, los rollos fueron abiertos y se realizó la clasificación de las plántulas de acuerdo con las normas ISTA (véase el Manual de Normas Internacionales para el Análisis de Semillas, Edición 2011, Capítulo 5, páginas 5-41, publicado por International Seed Testing Association, Suiza).

35 Los resultados se dan en la Tabla 2. Muestran claramente que germina un porcentaje sustancialmente mayor de semillas de arroz, cuando éstas están con incrustaciones con natamicina. El incremento en la germinación se ve en diversas concentraciones de natamicina (p. ej., 2,5 gramos de producto de natamicina por kg de semillas, así como 9,0 gramo de producto de natamicina por kg de semillas).

40 Además, el aumento en la germinación se observa en composiciones de revestimiento que comprenden diferentes constituyentes, p. ej., una composición de revestimiento que comprende carbonato de calcio y lignosulfonato de calcio y una composición de revestimiento que comprende carbonato de calcio y polivinilpirrolidona.

De lo anterior se puede concluir que se puede utilizar natamicina para aumentar la germinación de las semillas.

Ejemplo 3

Germinación de semillas de arroz con incrustaciones después del almacenamiento

45 En este ejemplo semillas de arroz (*Oryza sativa*) con incrustaciones, preparadas como se describe en el Ejemplo 1 y semillas de arroz sin tratar se almacenaron durante dos meses. Después del almacenamiento, se sometieron a germinación de la siguiente manera. Semillas con incrustaciones y semillas no tratadas se colocaron en un rollo de papel estéril. En total, 100 semillas se colocaron en el rollo de papel estéril. El experimento se realizó por cuadruplicado (es decir, 400 semillas por tratamiento). El proceso de germinación se realizó de acuerdo con el

- proceso bien conocido de la ISTA (véase el Manual de Normas Internacionales para el Análisis de Semillas, Edición 2011, Capítulo 5, páginas 5-41, publicado por International Seed Testing Association, Suiza). El papel estéril se colocó en 100 ml de agua y se incubó a 20-30°C en un armario de germinación estéril durante 16 días. Las semillas plantadas fueron sometidas al ciclo siguiente durante estos 16 días: 12 horas en la oscuridad a 20°C, seguido de 12 horas de luz a 30°C; la humedad estaba entre 98 y 100%. Después de 16 días, el porcentaje de germinación se estableció como sigue. Los rollos de papel estériles con las semillas en su interior fueron extraídos del armario de germinación estéril, los rollos fueron abiertos y se realizó la clasificación de las plántulas de acuerdo con las normas ISTA (véase el Manual de Normas Internacionales para el Análisis de Semillas, Edición 2011, Capítulo 5, páginas 5-41, publicado por International Seed Testing Association, Suiza).
- 5
- 10 Los resultados se dan en la Tabla 3. Muestran claramente que germina un porcentaje sustancialmente mayor de semillas de arroz, cuando éstas están con incrustaciones con natamicina. El incremento en la germinación se ve en diversas concentraciones de natamicina (p. ej., 2,5 gramos de producto de natamicina por kg de semillas, así como 9,0 gramo de producto de natamicina por kg de semillas), proporcionando 9,0 gramos de producto de natamicina por kg de semillas el incremento más alto.
- 15 Además, el aumento en la germinación se observa en composiciones de revestimiento que comprenden diferentes constituyentes, p. ej., aglutinantes. Sin embargo, el mayor incremento en la germinación se observa cuando las semillas están provistas de incrustaciones con carbonato de calcio, polivinilpirrolidona y natamicina.

De lo anterior se puede concluir que la natamicina se puede utilizar para aumentar la germinación de las semillas después de que éstas hayan sido almacenadas. Además, se puede concluir que se prefiere el revestimiento con carbonato de calcio, polivinilpirrolidona y natamicina.

20

Ejemplo 4

Desarrollo de las raíces de semillas de arroz con incrustaciones

En este ejemplo semillas de arroz (*Oryza sativa*) con incrustaciones, preparadas como se describe en el Ejemplo 1 y semillas de arroz sin tratar se sometieron a germinación, esencialmente como se describe en el Ejemplo 2. Después de 16 días, se determinó el peso de las raíces de las plántulas obtenidas. El pesaje se realizó como sigue. En primer lugar, las raíces mojadas se cortaron con un bisturí en el punto de unión con los cotiledones. A continuación, se pesaron las raíces mojadas. El peso de las raíces se define en esta memoria como masa total (masa seca y contenido de agua).

25

Los resultados se dan en la Tabla 4. Muestran claramente que el desarrollo de las raíces en las plántulas que proceden de semillas con incrustaciones de natamicina es mejor que el desarrollo de raíces en las plántulas que proceden de semillas no tratadas o semillas que han sido provistas de incrustaciones sin natamicina.

30

Ejemplo 5

Desarrollo de plántulas procedentes de semillas de arroz con incrustaciones o no tratadas

En este ejemplo semillas de arroz (*Oryza sativa*) con incrustaciones, preparadas como se describe en el Ejemplo 1 y semillas de arroz no tratadas se sometieron a germinación tal como se describe en el Ejemplo 2. Después de 16 días, las plántulas se recogieron y se determinó el peso total de las plántulas recolectadas. El peso de las plántulas es el peso total de los brotes y las raíces. El pesaje se realizó como sigue. En primer lugar, las raíces mojadas y los brotes se cortaron con un bisturí en el punto de unión con los cotiledones. A continuación, se pesaron las raíces mojadas y los brotes. El peso de las raíces y de los brotes se define en esta memoria como masa total (masa seca y contenido de agua).

35

40

Los resultados se dan en la Tabla 5. Muestran claramente que el peso de las plántulas que proceden de semillas con incrustaciones de natamicina es mayor que el peso de las plántulas de semillero que proceden de semillas no tratadas o de semillas que han sido provistas de incrustaciones sin natamicina.

Ejemplo 6

Desarrollo de la masa en seco de semillas de arroz con incrustaciones

5 En este ejemplo semillas de arroz (*Oryza sativa*) con incrustaciones, preparadas como se describe en el Ejemplo 1 y semillas de arroz no tratadas se sometieron a germinación tal como se describe en el Ejemplo 2. Después de 16 días, las raíces mojadas y los brotes se cortaron con un bisturí en el punto de unión con cada una de las plántulas obtenidas. Se determinó el peso de las raíces y los brotes por plántula, y después de ello las raíces y los brotes se secaron en un horno durante 30 minutos a 130°C. Después del secado, se sacaron del horno las raíces y los brotes secos, se enfriaron en un desecador y se determinó de nuevo el peso de las raíces y los brotes por plántulas individual. A la diferencia entre el peso antes y el peso después del secado se la alude como el contenido de agua de las raíces. El peso después del secado se define como masa seca.

10 Los resultados se dan en la Tabla 6. Muestran claramente que la masa seca media de las raíces y los brotes por plántula individual que procede de semillas de arroz con incrustaciones de natamicina es mayor que la masa seca media de las raíces y brotes por plántula individual que se origina a partir de semillas de arroz no tratadas o de semillas de arroz que han sido provistas de incrustaciones sin natamicina.

15 Por lo tanto, se produce más masa seca por plántula individual después de la aplicación de natamicina. La producción de masa seca se puede correlacionar con la estimulación del crecimiento, dado que masa seca se produce durante el crecimiento de la plántula o planta.

Ejemplo 7

Germinación de semillas de arroz con incrustaciones de natamicina o peróxido de calcio

20 Semillas de arroz (*Oryza sativa*) con incrustaciones se prepararon tal como se describe en el Ejemplo 1, excepto por el hecho de que se utilizaron para la incrustación las siguientes composiciones de revestimiento:

- Control (sin tratamiento),
- Composición A: idéntica a la composición 4 en la Tabla 1, aplicada en 1 kg de semilla tal como se describe en el Ejemplo 1,
- 25 - Composición B: mezcla total de 1 kg de carbonato de calcio, 0,2 kg disolución de polivinilpirrolidona (que comprende 10 gramos de polivinilpirrolidona y 190 gramos de agua) y peróxido de calcio al 30% (p/p) se añadió por completo a 1 kg de semilla.

Las semillas de arroz con incrustaciones y no tratadas se sometieron al proceso de germinación descrito en el Ejemplo 2. Después de 14 días, se determinó el porcentaje de germinación tal como se describe en el Ejemplo 2.

30 Los resultados (véase la Tabla 7) revelan que el porcentaje de semillas germinadas era claramente superior a las semillas con incrustaciones de natamicina. Además de ello, el porcentaje de germinación de las semillas con incrustaciones de natamicina excede del porcentaje de germinación de las semillas con incrustaciones de peróxido de calcio. Por lo tanto, la natamicina supera al peróxido de calcio como un estimulante del crecimiento.

Ejemplo 8

Desarrollo de la masa en seco de semillas de arroz con incrustaciones de natamicina o peróxido de calcio

35 Semillas de arroz (*Oryza sativa*) con incrustaciones se prepararon tal como se describe en el Ejemplo 1, excepto por el hecho de que se utilizaron para la incrustación las siguientes composiciones de revestimiento:

- Control (sin tratamiento),
- Composición A: idéntica a la composición 6 en la Tabla 1, aplicada en 1 kg de semilla como se describe en el Ejemplo 1,
- 40 - Composición B: mezcla total de 1 kg de carbonato de calcio, 0,2 kg de disolución de polivinilpirrolidona (que comprende 10 gramos de polivinilpirrolidona y 190 gramos de agua) y peróxido de calcio al 10% (p/p) se añadió por completo a 1 kg de semilla,
- Composición C: mezcla total de 1 kg de carbonato de calcio, 0,2 kg de disolución de polivinilpirrolidona (que comprende 10 gramos de polivinilpirrolidona y 190 gramos de agua) y peróxido de calcio al 30% (p/p) se añadió por completo a 1 kg de semilla,
- 45 - Composición D: idéntica a la composición 3 en la Tabla 1, aplicada en 1 kg de semilla como se describe en el Ejemplo 1,

- Composición E: mezcla total de 1 kg de carbonato de calcio, 0,4 kg de disolución de lignosulfonato (que comprende 133 gramos de lignosulfonato y 267 gramos de agua) y peróxido de calcio al 10% (p/p) se añadió por completo a 1 kg de semilla,
- Composición F: mezcla total de 1 kg de carbonato de calcio, 0,4 kg de disolución de lignosulfonato (que comprende 133 gramos de lignosulfonato y 267 gramos de agua) y peróxido de calcio al 30% (p/p) se añadió por completo a 1 kg de semilla.

Las semillas de arroz con incrustaciones y no tratadas se sometieron al proceso de germinación descrito en el Ejemplo 2. Después de 14 días, el peso seco total de las raíces y los brotes por plántula se determinó de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo 6.

- 10 Los resultados (véase la Tabla 8) demuestran claramente que la masa seca media de las raíces y los brotes por plántula individual que procedían de semillas de arroz con incrustaciones de natamicina era mayor que la masa seca media de las raíces y los brotes por plántula individual que procedían de semillas de arroz no tratadas o semillas de arroz que habían sido provistas de incrustaciones con peróxido de calcio. Además de ello, el uso de peróxido de calcio al 30% dio realmente como resultado una disminución de la masa seca media de las raíces y los brotes por
- 15 plántula en comparación con semillas no tratadas. Se observó esta masa seca más alta de las plántulas de las semillas con incrustaciones de natamicina cuando se utilizó polivinilpirrolidona o lignosulfonato como aglutinante individual en la composición de revestimiento.

Por lo tanto, se produce más masa seca por plántula individual después de la aplicación de natamicina, lo que demuestra que la natamicina es el estimulante del crecimiento preferido en comparación con peróxido de calcio.

20 Ejemplo 9

Desarrollo de las raíces de semillas de maíz con incrustaciones

En este ejemplo se prepararon semillas de maíz (*Zea mays*) con incrustaciones, esencialmente como se describe en el Ejemplo 1, con la condición de que se utilizaron las siguientes composiciones de revestimiento para incrustar 1 kg de semillas de maíz.

- 25 - Composición A: 0,6 kg de carbonato de calcio, 0,5 kg de disolución de polivinilpirrolidona (que comprende 25 gramos de polivinilpirrolidona y 475 gramos de agua),
- Composición B: 0,6 kg de carbonato de calcio, 0,5 kg de disolución de polivinilpirrolidona (que comprende 25 gramos de polivinilpirrolidona y 475 gramos de agua), 18 gramos de producto natamicina (es decir, Delvacid®, un producto que comprende natamicina al 50% (p/p)).

- 30 Semillas con incrustaciones y no tratadas se colocaron en un rollo de papel estéril. En total, se colocaron 25 semillas en el rollo de papel estéril. El experimento se realizó ocho veces (es decir, 200 semillas por tratamiento). El proceso de germinación se realizó de acuerdo con el proceso bien conocido de la ISTA (véase el Manual de Normas Internacionales para el Análisis de Semillas, Edición 2011, Capítulo 5, páginas 5-46, publicado por International Seed Testing Association, Suiza). Cada uno de los papeles estériles se colocó en 75 ml de agua y se incubó a 20-
- 35 30°C en un armario de germinación estéril durante 14 días. Las semillas plantadas fueron sometidas al ciclo siguiente durante estos 14 días: 12 horas en la oscuridad a 20°C, seguido de 12 horas de luz a 30°C; la humedad estaba entre 98 y 100%. Después de 14 días, los rollos de papel estériles con las semillas en su interior fueron extraídos del armario de germinación, los rollos se abrieron y se determinó la masa seca media de las raíces por plántula individual de la siguiente manera. Las raíces mojadas se cortaron con un bisturí en el punto de unión con
- 40 cada una de las plántulas obtenidas. Se determinó el peso de las raíces por plántula y posteriormente las raíces se secaron en un horno durante 30 minutos a 130°C. Después del secado, se retiraron raíces secas del horno, se enfriaron en un desecador y se determinó de nuevo el peso de las raíces por plántula individual. A la diferencia entre el peso antes y el peso después del secado se la alude como el contenido de agua de las raíces. El peso después del secado se define como masa seca.

- 45 Los resultados se dan en la Tabla 9. Demuestran claramente que la masa seca media de las raíces por plántula individual que procede de semillas de maíz con incrustaciones de natamicina es mayor que la masa seca media de las raíces por plántula individual que procede de semillas de maíz que han sido provistas de incrustaciones sin natamicina.

El ejemplo se repitió con composiciones en las que en lugar de carbonato de calcio se utilizó el polvo de granulación Y5 (que comprenden aproximadamente 3% (p/p) de sulfatos, aproximadamente 30% (p/p) de calcio, aproximadamente 30% (p/p) de carbonatos y aproximadamente 35% (p/p) de sílice). Los resultados eran equiparables a los resultados con carbonato de calcio, debido a que la masa seca media de las raíces por plántula individual que procede de semillas de maíz con incrustaciones de natamicina es mayor que la masa seca media de las raíces por plántula individual que procede de semillas de maíz que han sido provistas de incrustaciones sin natamicina.

Por lo tanto, se produce más masa seca por plántula individual después de la aplicación de natamicina. La producción de masa seca se puede correlacionar con la estimulación del crecimiento, dado que masa seca se produce durante el crecimiento de la plántula o planta.

Ejemplo 10

Germinación de semillas de cebolla revestidas

En este ejemplo, semillas de cebolla (*Allium cepa*) se dejaron sin tratar o se revistieron con una de las siguientes composiciones.

Composición A: 1,5 gramos de polivinilpirrolidona, 3 gramos de producto natamicina (es decir, Delvolid®, un producto que comprende natamicina al 50% (p/p)),
 Composición B: 1,5 gramos de polivinilpirrolidona, 6 gramos de producto natamicina (es decir, Delvolid®, un producto que comprende natamicina al 50% (p/p)),
 Composición C: 1,5 gramos de polivinilpirrolidona, 9 gramos de producto natamicina (es decir, Delvolid®, un producto que comprende natamicina al 50% (p/p)),
 Composición D: 1,5 gramos de polivinilpirrolidona, 15 gramos de producto natamicina (es decir, Delvolid®, un producto que comprende natamicina al 50% (p/p))

El revestimiento se realizó de acuerdo con el siguiente método. Las composiciones anteriormente mencionadas se disolvieron en 30 ml de agua para preparar disoluciones acuosas. A continuación, un kilogramo de semillas se colocó en un dispositivo de revestimiento rotatorio y las respectivas disoluciones se aplicaron a las semillas. Las semillas se hicieron girar durante 45 segundos con las disoluciones respectivas. Las disoluciones se dispersaron uniformemente sobre las semillas a través del disco giratorio del dispositivo de revestimiento rotatorio. A continuación, las semillas se retiraron del dispositivo de revestimiento rotatorio y se dispusieron en un secador durante 15 minutos a una temperatura de 25-40°C.

A continuación, las semillas de cebolla revestidas y las semillas de cebolla no tratadas fueron sometidas a germinación. Para ello, semillas revestidas y semillas no tratadas se colocaron en un rollo de papel estéril. En total, 100 semillas se colocaron en el rollo de papel estéril. El experimento se realizó por cuadruplicado (es decir, 400 semillas por tratamiento). El proceso de germinación se realizó de acuerdo con el proceso bien conocido de la ISTA (véase el Manual de Normas Internacionales para el Análisis de Semillas, Edición 2011, Capítulo 5, páginas 5-32, publicado por International Seed Testing Association, Suiza). Cada uno de los papeles estériles se colocó en 50 ml de agua y se incubó a 15-20°C en un armario de germinación estéril durante 12 días. Las semillas plantadas fueron sometidas al ciclo siguiente durante estos 12 días: 16 horas en la oscuridad a 20°C, seguido de 8 horas de luz a 20°C; alternativamente, 16 horas en la oscuridad a 15°C, seguido de 8 horas de luz a 20°C; la humedad estaba entre 98 y 100%. Después de 12 días, el porcentaje de germinación se estableció como sigue. Los rollos de papel estériles con las semillas en su interior fueron extraídos del armario de germinación, los rollos se abrieron y la clasificación de las plántulas se realizó de acuerdo con las normas ISTA (véase el Manual de Normas Internacionales para el Análisis de Semillas, Edición 2011, Capítulo 5, páginas 5-32, publicado por International Seed Testing Association, Suiza).

Los resultados se dan en la Tabla 10. Demuestran claramente que un porcentaje sustancialmente mayor de semillas de cebolla germina cuando éstas se revisten con natamicina. El incremento en la germinación se observa en diversas concentraciones de natamicina.

De lo anterior se puede concluir que la natamicina se puede utilizar para mejorar la germinación de las semillas.

Ejemplo 11

Germinación de semillas de sandía revestidas

Semillas de sandía (*Citrullus lanatus*) se dejaron sin tratar o se revistieron con una composición que comprende 1,5 gramos de polivinilpirrolidona y 9 gramos de producto natamicina (es decir, Delvovid®, un producto que comprende natamicina al 50% (p/p)) por kg de semilla. Esta composición se aplicó como se describe en el Ejemplo 10.

- 5 Posteriormente, las semillas fueron germinadas en bandejas de estéril, turba de coco tamponada (es decir, con nitrato de calcio a pH de 6,7), que es un medio de crecimiento estable comúnmente utilizado y aceptado para, p. ej., simular la germinación de semillas en la industria hortícola. Las 50 semillas plantadas por tratamiento fueron sometidas a una temperatura ambiente de mínimamente 1,4°C durante la noche y como máximo 26,9°C durante el tiempo del día (temperatura media 13,6°C) durante 19 días y fueron regadas de forma continua a la capacidad del campo. La humedad relativa media durante el ensayo fue del 72%. Durante el ensayo, las bandejas con turba de coco se regaron 3 a 5 veces al día. Las bandejas se perforaron en la parte inferior, conduciendo a la separación directa del exceso de agua. De esta manera, la turba de coco podría mantenerse a la capacidad del campo. Después de 15, 17 y 19 días, el porcentaje de germinación se determinó de acuerdo con las normas ISTA (véase el Manual de Normas Internacionales para el Análisis de Semillas, Edición 2011, Capítulo 5, páginas 5-32, publicado por International Seed Testing Association, Suiza).

Los resultados de la Tabla 11 muestran que un porcentaje significativamente mayor de semillas de sandía germinó cuando estaban revestidas con natamicina. Después de 15, 17 y 19 días de incubación, el porcentaje de germinación de las semillas revestidas con natamicina excedía del porcentaje de germinación de las semillas no tratadas con 18, 34 y 38%, respectivamente.

- 20 Por lo tanto, la aplicación de natamicina en semillas de sandía estimula claramente la germinación de estas semillas.

Ejemplo 12*Germinación de semillas de tomate con incrustaciones, cebadas en tambor*

- 25 Semillas de tomate (*Solanum lycopersicum*) fueron cebadas (es decir, llevadas al mismo nivel de germinación) utilizando cebado en tambor. Posteriormente, las semillas de tomate cebadas fueron no tratadas o bien provistas de incrustaciones con la composición 6 de la Tabla 1 de acuerdo con el método descrito en el Ejemplo 1. Posteriormente, 100 semillas por tratamiento se sometieron al proceso de germinación tal como se describe en el Ejemplo 11. Después de 10 y 19 días, el porcentaje de germinación se determinó utilizando el método ISTA descrito en el Ejemplo 11.

- 30 Los resultados en la Tabla 12 demuestran que un porcentaje significativamente mayor de semillas de tomate cebadas germinaba con incrustaciones de natamicina. Después de 10 y 19 días de incubación, el porcentaje de germinación de las semillas de tomate cebadas con incrustaciones de natamicina excedía el porcentaje de germinación de las semillas de control en un 10%.

A partir de estos resultados se puede concluir que la aplicación de la natamicina a semillas de tomate conduce a la germinación de semillas mejorada.

- 35 Ejemplo 13

Germinación de semillas de berenjena revestidas, osmo-cebadas

- 40 Semillas de berenjena (*Solanum melongena*) fueron cebadas (es decir, llevados al mismo nivel de germinación) utilizando osmo-cebado. Posteriormente, las semillas de berenjena cebadas fueron no tratadas adicionalmente o fueron revestidas con una composición que comprende 1,5 gramos de polivinilpirrolidona y 9 gramos de producto natamicina (es decir, Delvovid®, un producto que comprende natamicina al 50% (p/p)) por kg de semilla. Esta composición se aplicó como se describe en el Ejemplo 10. Las semillas cebadas no revestidas y revestidas germinaron utilizando el proceso de germinación ISTA descrito en el Ejemplo 10, excepto por el hecho de que cada uno de los tratamientos consistía en cuatro réplicas de 50 semillas cada una (es decir, un total de 200 semillas por tratamiento). Además, las semillas plantadas se sometieron al siguiente ciclo de 14 días: 16 horas en la oscuridad a

ES 2 581 857 T3

20°C, seguido de 8 horas de luz a 30°C; la humedad estaba entre 98 y 100%. Después de 14 días, el porcentaje de germinación se evaluó tal como se describe en el Ejemplo 10.

5 Los resultados de la Tabla 13 demuestran claramente que germinaba un mayor porcentaje de la semilla de berenjena osmo-cebadas cuando se revisten con natamicina. Por lo tanto, la aplicación de natamicina a semillas de berenjena estimula su germinación.

Tabla 1: Composiciones de revestimiento para incrustar 1 kg de semillas de arroz.

Composición	Carbonato de calcio (kg)	Lignosulfonato (kg)	Polivinilpirrolidona (kg)	Producto natamicina (g/kg de semillas)
1	1	0,133	0	0
2	1	0	0,01	0
3	1	0,133	0	2,5
4	1	0	0,01	2,5
5	1	0,133	0	9
6	1	0	0,01	9

Tabla 2: Porcentaje de germinación después de 14 días de incubación de semillas de arroz con incrustaciones y no tratadas.

Composición	Porcentaje de germinación (%)
Control (no tratadas)	82
1	89
2	86
3	94
4	94
5	94
6	95

10

Tabla 3: Porcentaje de germinación después de 16 días de incubación de semillas de arroz almacenadas con incrustaciones y no tratadas.

Composición	Porcentaje de germinación (%)
Control (no tratadas)	64
1	72
2	78
3	71
4	84
5	80
6	91

Tabla 4: Masa total (masa seca y contenido de agua) de las raíces de plántulas procedentes de semillas de arroz con incrustaciones y no tratadas.

Composición	Masa total de raíces (en gramos)
Control (no tratadas)	2,16
1	2,63
2	3,06
5	3,21
6	3,29

5 Tabla 5: Masa total (masa seca y contenido de agua) de plántulas procedentes de semillas de arroz con incrustaciones y no tratadas.

Composición	Masa total de plántulas (en gramos)
Control (no tratadas)	14,19
1	17,65
2	19,10
5	20,18
6	20,37

Tabla 6: Masa seca media de plántulas individuales procedentes de semillas de arroz con incrustaciones y no tratadas.

Composición	Peso medio de masa seca por plántula (en gramos)	Incremento de porcentaje en la masa seca media comparado con semillas no tratadas (%)
Control (no tratadas)	0,0065	-
1	0,0084	28
2	0,0089	36
3	0,0093	42
4	0,0098	50

10 Tabla 7: Porcentaje de germinación después de 14 días de incubación de las semillas de arroz con incrustaciones de natamicina o peróxido de calcio.

Composición	Porcentaje de germinación (%)
Control (no tratadas)	70
A (natamicina)	76
B (peróxido de calcio)	72

Tabla 8: Masa seca media de plántulas individuales procedentes de semillas de arroz con incrustaciones de natamicina o peróxido de calcio.

5

Composición	Peso medio de masa seca por plántula (en gramos)	Incremento de porcentaje en la masa seca media comparado con semillas no tratadas (%)
Control (no tratadas)	0,0041	-
A (natamicina)	0.0054	33
B (peróxido de calcio)	0,0043	7
C (peróxido de calcio)	0,0033	-19
D (natamicina)	0,0048	18
E (peróxido de calcio)	0,0042	3
F (peróxido de calcio)	0,0024	-40

Tabla 9: Masa seca media de las raíces por plántula individual procedente de semillas de maíz con incrustaciones y no tratadas.

Composición	Incremento de porcentaje en masa seca media comparado con semillas no tratadas (%)
Control (no tratadas)	-
A	4
B	17

10 Tabla 10: Porcentaje de germinación después de 12 días de incubación de semillas de cebolla revestidas y no tratadas.

Composición	Porcentaje de germinación (%)
Control (no tratadas)	73
A	79
B	80
C	85
D	85

Tabla 11: Porcentaje de germinación después de 15, 17 y 19 días de incubación de semillas de sandía revestidas y no tratadas.

Composición	Porcentaje de germinación (%) durante la incubación (días)		
	15 días	17 días	19 días
Control (no tratadas)	12	16	22
Revestidas con natamicina	30	50	60

5 Tabla 12: Porcentaje de germinación después de 10 y 19 días de incubación de semillas de tomate con (sin) incrustaciones, cebadas en tambor.

Composición	Porcentaje de germinación (%) durante la incubación (días)	
	10 días	19 días
Control (cebadas en tambor)	70	75
Cebadas en tambor + revestidas con natamicina	80	85

Tabla 13: Porcentaje de germinación después de 14 días de incubación de semillas de berenjena revestidas (no revestidas).

Composición	Porcentaje de germinación (%)
Control (osmo-cebadas)	41
Osmo-cebadas + revestidas con natamicina	45

REIVINDICACIONES

1. Un método para mejorar la germinación de una semilla, comprendiendo dicho método la etapa de poner en contacto la semilla, el medio a ser plantado con la semilla o ambos con natamicina.
- 5 2. Un método de acuerdo con la reivindicación 1, caracterizado por que natamicina está comprendida en una composición.
3. Un método de acuerdo con la reivindicación 2, caracterizado por que la composición comprende, además, una carga, un aglutinante o ambos.
4. Un método de acuerdo con la reivindicación 3, caracterizado por que la carga se selecciona del grupo que consiste en un carbonato, harina de madera, tierra de diatomeas y una combinación de los mismos.
- 10 5. Un método de acuerdo con la reivindicación 3 ó 4, caracterizado por que el aglutinante es lignosulfonato, polivinilpirrolidona o una combinación de los mismos.
6. Un método de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que natamicina está presente en una cantidad de 10 gramos a 4000 gramos de natamicina por 100 kg de semillas.
- 15 7. Una composición de tratamiento de semillas que comprende una carga, un aglutinante y natamicina, caracterizada por que la carga se selecciona del grupo que consiste en un carbonato, harina de madera, tierra de diatomeas y una combinación de los mismos.
8. Una composición de tratamiento de semillas de acuerdo con la reivindicación 7, caracterizada por que el aglutinante es lignosulfonato, polivinilpirrolidona o una combinación de los mismos.
- 20 9. Una composición de tratamiento de semillas de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, caracterizada por que natamicina está presente en una cantidad de 0,05 a 50% del peso total de la composición.
10. Una semilla que comprende una carga, un aglutinante y natamicina.
11. Una semilla que comprende una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
12. Un medio para cultivar una planta, que comprende una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.
- 25 13. Un método para el cultivo de una planta, comprendiendo dicho método las etapas de:
 - a) sembrar una semilla de acuerdo con la reivindicación 10 u 11, sembrar una semilla en un medio de acuerdo con la reivindicación 12 o sembrar una semilla de acuerdo con la reivindicación 10 u 11 en un medio de acuerdo con la con la reivindicación 12, y
 - b) dejar que la planta crezca a partir de la semilla.
- 30 14. Uso de natamicina para mejorar la germinación de semillas.
15. Uso de natamicina para mejorar el desarrollo de raíces a partir de plántulas.