

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 613 674**

51 Int. Cl.:

A01N 63/04 (2006.01)

A23B 7/155 (2006.01)

A23B 9/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.12.2009 PCT/CZ2009/000152**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.06.2011 WO2011063771**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2009 E 09810837 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.11.2016 EP 2503892**

54 Título: **Uso del organismo fúngico Pythium oligandrum**

30 Prioridad:

27.11.2009 CZ 20090794

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

25.05.2017

73 Titular/es:

**BIOPREPARÁTY, SPOL. S R.O. (100.0%)
Únetice 150
252 62 Únetice, CZ**

72 Inventor/es:

SUCHÁNEK, MARTIN

74 Agente/Representante:

POLO FLORES, Carlos

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 613 674 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

Uso del organismo fúngico *Pythium oligandrum*.

5 Campo de la invención

La invención se refiere al uso del organismo fúngico *Pythium oligandrum* en relación con el vehículo adecuado del agente, en especial en el área de la producción de plantas. En particular, se refiere a la nueva aplicación para la eliminación de causantes de pérdidas después de la cosecha, producidas por enfermedades fúngicas, levaduras y bacterias.

Antecedentes de la invención

Después de la forma química de revestimiento de semillas con fungicidas contra las enfermedades fúngicas, se empezó a usar una nueva forma de protección biológica en los años setenta del siglo 20, que usaba células vivas de microorganismo antagonista contra los fitopatógenos. Se refiere, p. ej., a la preparación, en el caso de la aplicación a las semillas de la remolacha azucarera, que estimula el crecimiento de las plantas en crecimiento y que las protege contra la pudrición de acuerdo con el documento CS AO N° 199 906 /1980 / de Veselý D. titulado "Agent stimulating when applied on the sugar beet seeds the growth of the descended plants and protecting them against scarlet fever", así como el documento CS AO No. 204 208 /1981/ Veselý D., Hejdánek S. con el título "Method of production of the preparation stimulating, in case of application to the seeds of sugar beet, the growth of growing plants and protecting them against scarlet fever", o CS AO N° 213659 /1986/, Veselý D., Hejdánek S. "Preparation for the protection of sugar beet against rotting on the basis of oospore of the mycoparasite *Pythium oligandrum*." El último documento citado CS AO N° 213659 se patentó en otros 12 países: USA 4259317, Canadá 1132270, República Federal Alemana 2927224, República Democrática Alemana 157491, Reino Unido 2027448, Francia 7917494, Japón 1337470, Dinamarca 156291, Bélgica 877474, Austria 363734, Italia 1122032, Hungría 183040, y resuelve la protección contra la pudrición de la remolacha azucarera/caída de plántulas, que son causados por hongos fitopatógenos del suelo. Los mismos problemas se resuelven también con otra invención CS AO N° 247 378 /1986/, Stanek M., Veselý D., titulada "Preparation for protection of growing plants of sugar beet against rotting", y también el modelo de utilidad CZ N° 393 /1993/, Veselý, D. titulado "Preparation for support of growth of plants and/or their protection" (en Eslovaquia el correspondiente modelo de utilidad SK N° 429), que resuelve exclusivamente la protección frente a la caída de plántulas de plantas que germinan y centrado en vivero forestal.

De otra bibliografía de patentes extranjeras, se concedieron 2 patentes en los EE.UU. para la protección biológica contra la caída de plántulas de plantas que germinan. El documento US 4.574.083 /1986/ Baker R., R. Lifshitz: "Isolates of *Pythium* species, which are antagonistic to *Pythium ultimum*", que trata del uso de especies de *Pythium* sp., que son antagonistas del hongo fitopatógeno del suelo *Pythium ultimum*, que producen caída de plántulas de las plantas que germinan, y también el documento US 5.961.971 /1999/, que corresponde al documento WO 98/16110/1998/, Martin F. N.: "Biocontrol of fungal soil-borne pathogens by *Pythium oligandrum*", que identifican 3 aislados no patógenos del organismo fúngico *Pythium oligandrum* eficaz contra la caída de plántulas de plantas que germinan y crecen del tomate y otras especies vegetales, que son causadas por organismos fúngicos fitopatógenos de la familia *Pythium*.

También hay varias publicaciones científicas sobre el tema de la aplicación del organismo fúngico *Pythium oligandrum* contra la caída de plántulas de diferentes plantas en crecimiento incluyendo especies vegetales: por ejemplo aplicación con éxito de *Pythium oligandrum* para la protección del pepino contra la caída de plántulas, que es causada por el fitopatógeno *Pythium splendens*: Larsen H. /1985/ titulado "Bekaempelse af *Pythium* med specielt henblik pa biologisk bekaempelse vha antagonist" (Tesis, Veterinary and Agriculture Univerzity, Copenhagen, Dinamarca); también Thinggaard K. /1985/ con el título "Interspecific antagonism: The use of *Pythium oligandrum* to control root rot of cucumber caused by *Pythium splendens*" (6° Curso escandinavo de postgrado en fitopatología. "Sene pathosystems", p.p. 21-28, Noviembre de 1985 en Sverige), y Thinggaard K., K. Larsen y J. Hockenhull /1988/ con el título "Antagonistic *Pythium* against pathogenic *Pythium* on cucumber roots" (Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 18, pág. 91-94).

En la bibliografía científica, *Pythium oligandrum* se identifica siempre en relación con enfermedades de las raíces de plantas en crecimiento y con el micoparasitismo como el único tipo de efecto, remítase, p. ej., a Veselý D. /1987/ titulado "Biological control of damping-off pathogens by treating sugar-beet seed with a powdery preparation of the mycoparasite *Pythium oligandrum* in large-scale field trials", (pág. 445-449; En: Vančura V., Kunc F. /eds./ Interrelationships between microorganisms and plants in soil. Proceedings of an International Symposium Liblice,

- Czechoslovakia, June 22-27, 1987, Academia Publishing House of the Czechoslovak Academy of Sciences, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, Prague 1989), reconoce el uso satisfactorio de la biopreparación basada en *P. oligandrum* frente a la caída de plántulas de plantas de remolacha. En el ejemplo de la caída de plántulas de brotes de pepino, Kratka J. Bergmanová, A. Kudelova /1994/ titulado "Effect of *Pythium oligandrum* and *Pythium ultimum* on biochemical changes in cucumber *Cucumis sativus* L." (Ztschr. f. Pfl. Krankh. u. Pfl. Schutz, 101 /4/, pág. 406-413) estudiaban las relaciones entre el micoparásito *P. oligandrum* y la planta tratada con este, que se demuestran p. ej., por la estimulación del crecimiento de plantas.
- Al-Rawahi A. K., J. G. Hancock /1997/ titulado "Rhizosphere Competence of *Pythium oligandrum*", (*Phytopathology* Vol., 87, 9; 951-959), estudiaban la colonización de suelo rizosférico y no rizosférico con dicho organismo fúngico en las raíces de los brotes. Benhamou N., P. Rey, M. Chérif, J. Hockenull y Y. Tirilly /1997/ titulado " Treatment with the Mycoparasite *Pythiumoligandrum* Triggers Induction of Defence-related reactions in Tomato Roots When Challenged with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*" (*Phytopathology*, Vol. 87, 1: 108-122) presentaron pruebas de que *Pythium oligandrum* inicia respuestas de defensa en raíces del tomate contra el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* como el lado complementario del efecto del micoparasitismo. Miša D. /1997/ titulado "Efficiency of biological preparations against grey mould *Botrytis cinerea* Pers. et Fries /on grapevine" (Proceedings of the XIV Slovak and Czech Plant Protection Conference, en Nitra 3-4 de Septiembre de 1997, pág. 294-296), ensayó la eficacia de la preparación con *Pythium oligandrum* como el fungicida de contacto contra el moho gris de las uvas de la vid. Veselý D. /1998/ titulado "Pythium oligandrum as a biological agent stimulating seed-potato germination and suppressing potato late blight primary infection" (5.2. 98, 7th International Congress of Plant Pathology, Edimburgo) mediante el tratamiento de tubérculos de plantones de patatas, estimuló el crecimiento de brotes y radículas y se ralentizó el desarrollo de síntomas de la infección primaria de marchitamiento tardío de la patata.
- Benhamou N., P. Rey, K. Picard, Y. Tirilly /1999/ titulado "Ultrastructural and Cytochemical Aspects of the Interaction Between the Mycoparasite *Pythium oligandrum* and Soilborne Plant Pathogens" (*Phytopathology*, Vol. 89 6: 506-517), estudiaron las interacciones entre los oomicetos *Pythium oligandrum* y diferentes oomicetos del suelo y los fitopatógenos *P. ultimum*, *P. aphanidermatum*, *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, *Verticillium albo-atrum*, *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora megasperma*. Descubrieron que al menos dos mecanismos parecían ser responsables en el procedimiento del ataque de los oomicetos de *P. oligandrum* en los patógenos: micoparasitismo y antibiosis. Veselý D. /2000/ titulado "Polyversum as an effective seed dresser in wheat" (p. 120, Proceedings of 13th International EFOAM Scientific conference /Alf Oldi T., W. Lockeretz, V. Niggli /eds./ 28-31 de Agosto de 2000, Basilea), expusieron que *Pythium oligandrum* como revestimiento de semillas mejoraba las condiciones de salud de las raíces del trigo de invierno, de modo que también aumentaba sus rendimientos
- Además de las certificaciones y patentes de invenciones de los autores mencionados, dos publicaciones científicas tratan del tipo de producción de la preparación basándose en la aplicación del organismo fúngico *Pythium oligandrum*: Veselý D., S. Hejdánek /1984/ titulada "Microbial relations of *Pythiumoligandrum* and Problems in the Use of This Organism for the Biological Control of Damping-off in Sugar-beet" (*Zbl. Mikrobiol.* 139, pág. 257-265) comparan las ventajas y los problemas del cultivo en superficie estacionaria y los cultivos de sumersión. Mc Quilken M. P., J. M. Whipps y R. C. Cooke /1990/ titulada "Oospores of the biocontrol agent *Pythium oligandrum* bulk produced in liquid culture" (*Mycol. Res.* 94, 5, pág. 613-616) desarrollaron el procedimiento de producción de oosporas de *P. oligandrum* en cultivo estático y aireado en medio líquido.
- A partir de la revisión de Brožová J. /2002/ titulada "Exploitation of the mycoparasitic fungus *Pythium oligandrum* in plant protection" (*Plant Protection Science*, vol. 38 (1) 29-35), se conoce la explotación del hongo micoparásito *Pythium oligandrum* en la protección de plantas para la estimulación del crecimiento de plantas y para el control biológico en una amplia variedad de plantas de cultivo. No ataca su tejido sino que se encuentra en la superficie de la raíz, predominantemente en las regiones de hipocótilo - raíz principal, junto con los hongos fitopatógenos.
- Hýsek J., Vach M., Javůrek M. /2005/ con el título "Biological protection of the main cereals against fungal specific diseases" (*Commun. Agricult. Applied Biolog. Sci. Ghent University*, vol. 70 (3) 169-173), también describen que la aplicación de *Pythium oligandrum* como tratamiento de las semillas o como pulverización en una composición que además contiene fertilizantes da como resultado la represión de diferentes microorganismos fitopatógenos así como un mayor rendimiento de los cultivos de cereales trigo de invierno y cebada.
- Švecová M., Čížková D., Veselý D. /1998/ titulado "The effect of *Pythium oligandrum* Drechsler mycoparasite of fungal species of the genus *Ceratocystis* s.l." (*Lesnictví Prague*, vol. 44.(9) 411-420), describen las propiedades ventajosas de *Pythium oligandrum* en la represión de hongos que afectan a la madera, en particular la posibilidad de

usar el micoparásito *Pythium oligandrum* para afectar a la aparición de Ophiostomatales en la represión integrada de bosques-árboles.

Otro documento US 4.259.317 Veselý D, Hejdánek S. /1981/ con el título "Preparation for the protection of emerging sugar beets against damping-off, and methods of its production" se refiere a una preparación en polvo seco para aplicar sobre semillas de remolacha azucarera, conteniendo la preparación, como su constituyente activo, órganos de reproducción de *Pythium oligandrum* Drechsler, en particular las oosporas, en una concentración suficientemente alta de al menos 1.000.000 de oosporas por gramo. Dicha concentración hace posible la aplicación de aproximadamente 100.000 oosporas o más sobre cada semilla, lo que demuestra ser suficiente para asegurar la protección de las plantas de remolacha azucarera que brotan frente a la enfermedad de "caída de plántulas" o "pie negro".

Kunca A., Leontovyc R. /1999/ titulado "Relationship between beech bark wounds and bark necrosis and possible methods to control bark necrosis" (Lesnický časopis 45 (5/6) 317-324), también describe las propiedades ventajosas de *Pythium oligandrum* en la represión de hongos que afectan a la madera, así como la relación entre heridas de la corteza de haya y necrosis de la corteza y posibles procedimientos para controlar la necrosis de la corteza.

De acuerdo con Laing S.A.K. Deacon J.W. /1990/ titulado "Aggressiveness and fungal host ranges of mycoparasitic *Pythium* species" (*Soil Biol Biochem* 22 (7) 905-911), también se sabe que *Pythium oligandrum* es un organismo micoparásito agresivo como se pone de manifiesto por su capacidad para reducir las actividades celulares de hongos hospedantes en película de celulosa o papel de filtro.

Kurzawinska H., Mazur S. /2009/ con el título "The evaluation of *Pythium oligandrum* and chitosan in control of *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary on potato plants" (*Folia Horticulturae*, Vol. 21 (2) 12-23), determinaron el efecto de la fertilización de tubérculos y pulverización de la planta con *Pythium oligandrum* en las hojas superiores y tubérculos de patatas "Ibis" infestadas por *Phytophthora infestans*, observando una inhibición significativa de la infestación en hojas superiores y tubérculos.

Patkowska E. /2006/ "Effectiveness of grapefruit extract and *Pythium oligandrum* in the control of bean and peas pathogens" (*Journal of Plant Protection Research*, Vol. 46 (1) 15-28), describieron la eficacia del extracto de pomelo y *Pythium oligandrum* en la protección de la judía común, judía pinta y guisante frente a hongos patógenos transmitidos por el suelo cuando se fertilizan las semillas de especies de plantas particulares con estos medios.

Desde 1997, la preparación biofungicida con el efecto estimulador del crecimiento, cuya sustancia activa es el organismo fúngico *Pythium oligandrum* Drechsler, se ha fabricado y distribuido comercialmente, por la empresa Biopreparáty, s.r.o., en aproximadamente cincuenta países del mundo con diferentes nombres comerciales. Uno de los nombres es biofungicida Polyversum.

Resumen de la invención

La invención presentada resuelve el problema de la presencia de causantes de enfermedades microbianas que producen pérdidas después de la cosecha de plantas de cultivo.

La naturaleza de la invención es el uso del organismo fúngico *Pythium oligandrum* como un fuerte micoparásito y como agente activo, con el vehículo inorgánico y/u orgánico adecuado, en forma de preparación para la prevención y eliminación de la presencia de causantes de enfermedades microbianas que producen pérdidas después de la cosecha, por aplicación después de la cosecha o durante el almacenamiento de productos de plantas de cultivo.

Sorprendentemente, se han descubierto las ventajas de que:

1. Hay nuevas aplicaciones de preparaciones, cuya sustancia activa es *Pythium oligandrum* para la prevención de la presencia de causantes de enfermedades microbianas que producen pérdidas después de la cosecha, antes y durante el almacenamiento de productos y semillas de plantas de cultivo y todos los demás artículos de la producción agrícola tanto de plantas como de animales.

Sorprendentemente, se ha demostrado que la aplicación de la preparación, cuya sustancia activa es el organismo fúngico *Pythium oligandrum*, suprime significativamente los causantes de enfermedades fúngicas, de levaduras y bacterianas de los productos almacenados de la producción agrícola (p. ej., verduras, frutas, frutos de cáscara, cereales, mezclas de alimentación para animales y otros artículos agrícolas) y semiproductos y productos finales

antes de la aplicación final por el consumidor (personas, animales). La aplicación del organismo fúngico *Pythium oligandrum* después de la cosecha (p. ej., en el caso de cereales) da como resultado la menor presencia de residuos de hongos (micotoxinas) de, p. ej., la familia Fusarium (aflatoxinas) en artículos agrícolas. Hoy en día, la presencia de micotoxinas en la cadena alimentaria ha sido un riesgo real para la salud del consumidor.

5

2. Durante la aplicación de la preparación, cuya sustancia activa es *Pythium oligandrum*, sobre las paredes de almacenes y superficies de las tecnologías de almacenamiento (p. ej., silos, almacenes de alimentos con atmósfera controlada así como no controlada, bastidores y apiladores), bodegas, en las instalaciones de procesamiento de alimentos (p. ej., digestores, salas de preparación, salas de embalaje), superficie de embalaje para el almacenamiento de alimentos y semiproductos (p. ej., cajas y fundas para el transporte y almacenamiento), en la superficie del embalaje de transporte (p. ej., cajas para frutas, cajas para plátanos), en la superficie de bastidores de venta y en las superficies tanto internas como externas de embalaje de ventas, se suprimió de forma demostrable la microflora patógena, que causaba pudrición. Dichas aplicaciones prolongaban considerablemente el período de almacenamiento de artículos agrícolas almacenados.

10

3. Se puede aplicar el organismo fúngico *Pythium oligandrum* sobre materiales de papel de celulosa, que se usan directamente o como un semiproducto para la producción de materiales en embalaje (p. ej., embalajes con papel fino de piezas de fruta y verduras, bolsas y bolsas de transporte para frutas y verduras).

20 Ejemplos

Pythium oligandrum se puede usar para los fines mencionados antes para la aplicación en soluciones acuosas, en particular en forma de mezclas secas o cultivos líquidos, en polvo o en gránulos.

25 La aplicación de *Pythium oligandrum* como sustancia activa en soluciones acuosas en forma de mezclas secas

Para la aplicación de *Pythium oligandrum* como sustancia activa en forma de soluciones acuosas, en la forma de mezclas secas (polvos) como polvos humectables dirigidos a la aplicación en forma de suspensión después de dispersión en agua, se pueden usar tanto materiales minerales como orgánicos como la carga inerte de dichos polvos. Como materiales de carga adecuados para dicha aplicación, se pueden usar, p. ej., materiales de carga minerales y sintéticos producidos a partir de sílice, arcilla natural, vermiculita y diferentes materiales de silicato. Como otros materiales de carga adecuados, también se pueden seleccionar sulfatos (sulfato de calcio), silicatos (silicato de magnesio). Como sustancia tensioactiva en estos agentes humectantes, hay dos tipos de tensioactivos: aniónicos (activos aniónicos, aniónicos), y no iónicos (ni ionógenos, no iónicos). Los tensioactivos aniónicos son en especial los de tipo sulfatos de alquilo, alquil- o alquenil-sulfonato y alquilbencenosulfonato. Los tensioactivos no iónico son en especial productos de alcoholes superiores, pero también alquilfenoles y ácidos alifáticos con óxido de alquileo (es decir, bien con óxido de etileno o, como puede ser el caso, óxido de propileno). Los más preferidos son agentes humectantes de alquilbenceno- y alquilnaftaleno-sulfonatos, sulfatos, alcoholes alifáticos, aminas o amidas de ácido, ésteres de cadena larga de isetionato sódico, ésteres de 45 succinato sódico, sulfatos o sulfonatos de aceites vegetales y ditiarios no saturados con glicoles. Los dispersantes preferidos son metilcelulosa, poli(alcohol vinílico), lignina-sulfonato, alquilnaftalenosulfonatos poliméricos, naftalenosulfonatos de sodio, bisnaftalenosulfonato polimetilénico y sodio-50-N-metil-N-(de ácido cadena larga).

Dichos polvos humectables se presentan normalmente en la concentración de 0,5 por ciento en peso a 99 por ciento en peso. Si es necesario, una parte se puede sustituir por inhibidor de la corrosión o antiespumante o ambos.

45 Aplicación de *Pythium oligandrum* como sustancia activa en cultivos líquidos

Para la aplicación de *Pythium oligandrum* como sustancia activa en cultivos líquidos, los agentes humectantes más preferidos son alquilbenceno- y alquilnaftaleno-sulfonatos, alcoholes alifáticos sulfatados, aminas o amidas de ácidos, ésteres de cadena larga de isotionato sódico, ésteres de 45 sulfosuccinato sódico, aceites vegetales sulfatados o sulfonados.

50 Aplicación de *Pythium oligandrum* como sustancia activa en aceites emulsionados

55

Los aceites emulsionados son normalmente soluciones o suspensiones del material activo en disolventes mezclables sin agua junto con sustancias tensioactivas y/o emulsionantes. El aceite emulsionado se puede mezclar con la sustancia activa, con un disolvente orgánico. Los siguientes son adecuados: disolventes clorados, éteres no miscibles con agua, ésteres, cetonas o en una mezcla con hidrocarburos aromáticos.

Los emulsionantes más adecuados para el aceite emulsionado son alcoholes de alquilo de cadenas largas o mercaptanos polietoxilados, alcoholes de alquil-acrilo polietoxilados, ésteres de ácidos alifáticos y sorbitán, éteres de polisorbitán con ésteres de ácidos alifáticos, polietilenglicol con ésteres de ácidos alifáticos de colofonia, alquilol-amidas alifáticas. Condensados de sal de calcio y amina de sulfatos de alcoholes alifáticos, sulfonatos de aceites solubles en aceite, o preferiblemente mezclas de dichos componentes, deberían formar aproximadamente de 1 a 90 por ciento en peso de la composición total

Aplicación de *Pythium oligandrum* como sustancia activa en gránulos

10

Los gránulos son partículas físicamente estables de la composición que incluyen propágulos de la sustancia activa *Pythium oligandrum* con un vehículo orgánico o inorgánico. Con el propósito del lavado de la sustancia activa de los gránulos, se pueden añadir sustancias tensioactivas.

15 Aplicación de *Pythium oligandrum* como sustancia activa en agentes humectantes

Dichos agentes humectantes se usan como agentes humectantes adecuados que son de tipo aniónico o no iónico.

Tipo de preparación de *Pythium oligandrum*

20

El organismo fúngico *Pythium oligandrum* se desarrolla en fermentadores comunes en medio de maíz sin suministrar nutrición adicional. Después de separar el líquido sobrenadante por centrifugación o en el evaporador, el sedimento con la producción de oosporas se seca. Se pueden separar las oosporas del líquido sobrenadante en el secador por atomización de una forma ventajosa. La ventaja de esta forma es obtener un concentrado limpio de oosporas, prácticamente sin presencia del medio nutriente usado y tampoco de micelio que se destruye en la manipulación/secado/separación mencionados. Así se obtiene el concentrado, que se puede homogeneizar en cualquier momento con el vehículo inorgánico u orgánico adecuado del agente activo/material de carga interno.

25

Ensayo de la eficacia biológica de la preparación de *Pythium oligandrum* de acuerdo con la invención

30

Todos los ensayos fueron realizados por la empresa Biopreparáty spol. s.r.o. en el laboratorio de investigación. Las aplicaciones prolongaban la vida de almacenamiento; gracias a la eliminación de procesos de pudrición y moho, las posibilidades de almacenamiento y conservación de cultivos y productos alimenticios han mejorado rápidamente.

35 Acreditación y certificación

Se llevaron a cabo ensayos relativos al contenido de la sustancia activa *Pythium oligandrum*. Además de esto, se observó el desarrollo y progreso de la eficacia en mohos y fitoparásitos y su interacción mutua, lo cual se vigiló. La empresa Biopreparáty spol. s.r.o. asegura del cultivo e investigación de nuevas variedades cultivadas del microorganismo *Pythium oligandrum*. Gracias a la aplicación de diferentes suelos selectivos, el microorganismo *Pythium oligandrum* se cultiva para determinadas aplicaciones de modo que su impacto es tan eficaz como es posible. Otro procedimiento que realiza esta empresa, es la incubación y fermentación reales de los cultivos de *Pythium oligandrum*.

40

45 Campo de aplicación

La invención se puede usar como un nuevo procedimiento de aplicación en la prevención de la presencia de causantes de enfermedades microbianas durante el almacenamiento de productos y semillas y otros artículos de plantas.

50

REIVINDICACIONES

1. Un uso del organismo fúngico *Pythium oligandrum*, como agente activo, con el vehículo inorgánico y/u orgánico adecuado, en forma de preparación para la prevención y eliminación de la presencia de causantes de enfermedades microbianas que producen pérdidas después de la cosecha, por aplicación después de la cosecha o durante el almacenamiento de productos de plantas de cultivo.

2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que los productos de plantas de cultivo son en particular frutas, verduras, frutos de cáscara, cereales y otros cultivos.