

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 715 037**

51 Int. Cl.:

A01G 24/00 (2008.01)

C05F 11/08 (2006.01)

A01N 65/00 (2009.01)

C05G 3/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.11.2013 PCT/EP2013/073999**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.05.2014 WO14076263**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.11.2013 E 13789844 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2019 EP 2920133**

54 Título: **Composición para el enterramiento de raíces de plantas**

30 Prioridad:

15.11.2012 FR 1260889

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

31.05.2019

73 Titular/es:

**AGRAUXINE (100.0%)
2 rue Henri Becquerel
49070 Beaucouzé, FR**

72 Inventor/es:

**COUTANT, ANTOINE;
REVEILLAUD, MAUD-CÉCILE y
BLAL, BACHAR**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 715 037 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 enterramiento de raíces de plantas

5 La invención se refiere al campo de los fertilizantes, y especialmente de los productos destinados a mejorar, estimular la nutrición, el desarrollo y el crecimiento de las plantas.

10 El enterramiento consiste en recubrir las raíces de un rosal, de un árbol o de un arbusto, o de cualquier otra planta, de una mezcla que ayudará al enraizamiento durante la plantación. Así, el enterramiento favorece la cicatrización de las partes cortadas y ayuda a los rosales y arbustos y otras plantas a formar nuevas raíces y raicillas más rápidamente.

15 Se puede preparar uno mismo su abono de tierra, utilizando una mezcla líquida tradicionalmente constituida de tierra de jardín, de agua y de estiércol de vaca, para recubrir las raíces de la planta.

Sin embargo, los abonos con tierra comerciales pueden contener otros compuestos destinados a favorecer un enraizamiento aún más rápido. Se puede así añadir unas hormonas de esquejes, pero también unos hongos micorrícicos.

20 Una micorriza es el resultado de la asociación simbiótica entre unos hongos y las raíces de las plantas. Se trata de una simbiosis entre la planta y el hongo. Los filamentos externos del micelio se combinan con las raíces de las plantas y constituyen así una verdadera prolongación del sistema radicular que explorará el suelo en la periferia de la raíz. La red miceliana en el suelo puede así alcanzar hasta varios millones de km/hectárea, multiplicando la zona de prospección de las raíces por 20 a 25. El micelio no está dividido, fluyendo así las transferencias de agua y elementos minerales.

25 Esta asociación es generalmente de tipo simbiótico, contribuyendo el hongo a reciclar la necromasa de su hospedante, en beneficio de sus dos descendencias.

30 Las endomicorrizas son la forma más extendida. Se pueden citar en particular las endomicorrizas de arbusculos o arbusculares (AM). Así, los hongos micorrícicos arbusculares colonizan aproximadamente el 80% de las plantas vasculares terrestres, es decir, más de 400 000 especies, aunque hay menos de 200 especies de hongos endomicorrícicos. Así, siendo poco específico en su relación de simbiosis, cada especie posee un gran potencial de adaptabilidad y una amplia diversidad genética.

35 Desde un punto de vista celular, las endomicorrizas arbusculares atraviesan la pared celulósica pero no penetran la membrana plásmica de la célula vegetal, limitándose a provocar una invaginación de la membrana de esta. Esto tiene por efecto aumentar la superficie de contacto entre la hifa y la célula de la planta y así facilitar el intercambio de metabolitos entre las dos parejas.

40 Las endomicorrizas arbusculares son en gran parte unos hongos de la división de los Glomeromicetos que han perdido la reproducción sexuada. Las hifas se extienden en la parénquima cortical de la raíz, formando unas vesículas que contienen unas reservas, y unas estructuras ramificadas, los arbusculos. Se reproducen por lo tanto únicamente de manera asexual. Sin embargo, las hifas de individuos diferentes se pueden fusionar, lo que hace posible un intercambio genético y una forma de parasexualidad.

45 La micorrización de las plantas por los hongos micorrícicos permite mejorar varios procesos fisiológicos de las plantas, especialmente, la nutrición mineral e hídrica, la regulación hormonal, la estimulación de los mecanismos de defensas. Estos efectos conducen a una mayor resistencia de las plantas al estrés del trasplante o de la plantación permitiendo así obtener un mejor porcentaje de enraizamiento de las plantas durante esta etapa crucial en la implantación de ciertos cultivos (viticultura, arboricultura, cultivos ornamentales, etc.).

50 Entre los hongos endomicorrícicos, se puede citar el género *Glomus sp* y más precisamente la cepa *Glomus spp* codificada LPA Val1, principio activo del producto Solrize® desarrollado por la solicitante, y que ha obtenido una homologación en Francia (n° 1020004). Solrize® permite micorrizar las plantas y tiene por efecto:

- ✓ optimizar su enraizamiento;
- ✓ homogeneizar la plantación;
- 60 ✓ mejorar su resistencia al estrés (abiótico y biótico);
- ✓ favorecer su arraigamiento;

✓ mejorar su nutrición;

✓ disminuir la aportación de insumos.

5 El producto Solrize® se presenta en forma de granulado y contiene el hongo endomicorrícico *Glomus sp* en una concentración mínima de 10 propágulos por gramo. El producto comercial Solrize® se puede utilizar en abono de tierra. En este caso, se comercializa bajo el nombre de Solrize® Pralin por la solicitante. Un saco de Solrize® Pralin contiene 3,5 kg de Solrize® y 1 bolsita de 1 kg de abono de tierra. El embadurnado está principalmente constituido de arcilla y de un agente espesante. El producto terminado se obtiene añadiendo agua a estos dos elementos, y mezclando el conjunto a fin de obtener una pasta homogénea. La formulación de Solrize® Pralin es muy adecuada para micorrizar (por lo tanto tratar) las plantas de raíces desnudas, justo en el momento de su plantación. Esto se refiere especialmente a las plantas de vid, plantas de árboles frutales, arbustos ornamentales, etc. La formulación de la preparación Solrize® Pralin es particularmente muy adecuada el abono con tierra de plantas que se manipulan poco, incluso nada, antes o en el momento de la plantación en el agujero. En efecto, el Solrize® Pralin permite una buena adherencia del producto sobre las raíces de las plantas pero, la arcilla utilizada en su formulación, se seca bastante rápido. Este secado conlleva una pérdida de adherencia del producto a las raíces de la planta que tiene como consecuencia una pérdida de sustancia activa aplicada a las raíces, especialmente si se manipulan demasiado las plantas o si el plazo entre el enterramiento y la plantación es importante. Este riesgo de pérdida de sustancia activa sobre las raíces puede por lo tanto provocar una variabilidad de la dosis de producto Solrize por planta, incluso una pérdida de la expresión de los efectos reivindicados del producto Solrize debido especialmente a dosis insuficientes de producto por planta.

El Solrize® Pralin permite obtener excelentes resultados para el enraizamiento de las plantas. Sin embargo, en un interés permanente de optimización del tiempo de trabajo, cada vez más plantaciones se hacen por los arboricultores proveedores de las plantas. En este caso, las plantaciones se mecanizan, y las plantas se preparan a veces el día anterior, y se agrupan en contenedores. Este procedimiento permite un rendimiento por hora (número de plantas plantadas/hora) más elevado pero la mecanización conlleva una manipulación incrementada de las plantas. Frente a esta mecanización de la plantación, la preparación Solrize® Pralin no es necesariamente la más apropiada.

Por lo tanto, la solicitante ha buscado desarrollar una nueva formulación de enterramiento, que sea apropiada para este nuevo contexto de plantación, es decir que permita la preparación de plantas "enterradas" varias horas antes de la plantación, y que permite una manipulación de las plantas así enterradas.

35 El documento US 2007/163173 describe un polímero de almidón injertado y reticulado, para realizar un gel para remojar las raíces de las plantas. El almidón injertado y reticulado posiblemente no se puede calificar probablemente como poliósido ramificado.

40 El documento WO 2004/005219 describe una composición para la inoculación de rizobios durante la germinación y el crecimiento de plantas. Sin embargo, esta composición no contiene poliósido ramificado y está destinada a recubrir las semillas (véase la página 12, último párrafo) mientras que la composición según la invención está destinada al enterramiento, es decir para recubrir las raíces.

45 El documento US 5,344,471 describe unas composiciones para enterramiento para aportar un microorganismo micorrícico a las raíces de plantas. Numerosas composiciones potenciales (metilcelulosa, carboximetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, etc.) están listadas, así como numerosos microorganismos.

El documento US 4,975,105 D4 divulga una composición para el enterramiento de plantas, que comprende un polímero superabsorbente tal como almidón reticulado y un hongo micorrícico.

50 El documento US 6,258,749 divulga una formulación que se puede utilizar para el enterramiento de las plantas, que comprende uno o varios poliácilglucósidos y una sustancia de interés agronómico tal como nutrientes (hierro, manganeso).

55 Ninguno de estos documentos describe ni sugiere el problema técnico que busca resolver la solicitante en el ámbito de la presente invención, es decir, la posibilidad de preparar unas composiciones de enterramiento mucho antes de la utilización y/o preparar las plantas abonadas y conservarlas varias horas o varios días antes de la plantación. Por otra parte, las composiciones se preparan por solubilización de un polímero en un sistema acuoso, después de la adición del agente de interés (endomicorrícico), lo que necesita dos etapas de intervención y de mezcla (el polímero con el sistema líquido y después el sistema polimérico con el agente de Interés).

65 En un primer aspecto, la invención se refiere a una composición para enterramiento/recubrimeinto de raíces de granulometría inferior o igual a 5 mm que comprende un polisacárido ramificado, siendo este polisacárido la goma xantana, así como una sustancia de interés que se desea aportar a la planta. Otro objeto de la invención es la utilización de un polisacárido ramificado para la preparación de una composición destinada a recibir un principio

activo o una sustancia de interés y utilizarse para el enterramiento/recubrimiento de raíces de plantas, siendo este polisacárido la goma xantana. Dicho principio activo comprende un hongo endomicorrícico o un microorganismo antifúngico y puede también comprender cualquier microorganismo o cualquier otra sustancia destinada a aportarse a una planta que se desea plantar, entre otras cosas para mejorar la recuperación del crecimiento, permitir luchar contra patógenos o enfermedades, o mejorar la producción de biomasa de las plantas. Puede también tratarse de una combinación de principios activos.

Esta composición se denomina también Mycogel®.

Después de la adición de agua, dicha composición se presenta en forma de un gel, lo que permite especialmente una buena adhesión a las raíces de plantas.

También es un objeto de la invención un método de aportación de una sustancia de interés a las raíces de una planta, que comprende las etapas de (i) integrar dicha sustancia de interés en una composición que comprende un polisacárido ramificado, siendo este polisacárido la goma xantana y siendo dicha sustancia de interés un hongo endomicorrícico o un microorganismo antifúngico, a fin de obtener una composición de enterramiento (o preparar una composición de enterramiento que contiene dicha sustancia de interés y un polisacárido ramificado) y (ii) aplicar esta composición de enterramiento a las raíces de dicha planta (especialmente por remojo de las raíces en dicha composición de enterramiento). La aplicación de esta composición de enterramiento a las raíces de la planta podrá por lo tanto dar lugar al recubrimiento de dichas raíces, permitiendo así la aportación de la sustancia de interés a la planta.

De manera general, una sustancia de interés es una sustancia que se utiliza en el campo agronómico para su aplicación sobre plantas o vegetales, especialmente a fin de mejorar la salud, el crecimiento y/o el desarrollo de biomasa de estas plantas o vegetales.

Una sustancia de interés (principio activo) puede así comprender unos microorganismos, en particular fúngicos (hongos endomicorrícicos o exomicorrícicos, hifomicetos, ascomicetos de los cuales *Trichoderma spp*, *Actinomicetos*, *Deuteromicetos*), bacterias (en particular *Bacillus* y *Lactobacillus spp*, *Paenibacillus spp*, *Azospirillum spp*, *Pseudomonas spp*) o bien sustancias naturales de tipo oligosacáridos, péptidos, glicolípidos, extractos de plantas o de algas, aceites esenciales. En el ámbito de la invención, la sustancia de interés es un hongo endomicorrícico o un microorganismo antifúngico.

Se describe también una composición de granulometría inferior o igual a 5 mm, que comprende:

- unas partículas de polisacárido ramificado, siendo este polisacárido la goma xantana, de un diámetro superior a 70 micrones, preferentemente superior a 100 micrones, de manera más preferida superior a 150 micrones, e inferior a 177 micrones,

- un principio activo de interés que es un hongo endomicorrícico o un microorganismo antifúngico que se presenta en forma "seca" (tal como un microorganismo o sustancia natural secada o liofilizada, o unas esporas o propágulos para los microorganismos fúngicos),

- eventualmente unas partículas de una matriz neutra (tal como arcilla) que estabilizan el principio activo.

Preferentemente, esta composición presenta una A_w (actividad acuosa) inferior o igual a 0,95. Esta composición es por lo tanto sólida (por oposición a una composición líquida, en suspensión en un líquido, pastosa o gelificada), y es preferiblemente particular. El tamaño de las partículas en esta composición es variable según los componentes. Así, las esporas de hongo son generalmente más pequeñas que las partículas de goma xantana, que son en sí más pequeñas que las partículas de matriz neutra. Por el contrario, se busca una cierta homogeneidad para el tamaño de cada uno de los componentes.

Normalmente, la actividad acuosa se mide en pequeñas muestras contenidas herméticamente en un compartimiento de medición provisto con un elemento sensible a la humedad. Durante la medición sucesiva de varias muestras, el elemento sensible atraviesa un ciclo de humedad completo a cada medición. Esta operación no debe influir en la exactitud de la medición, ni provocar una histéresis de la señal de salida. Finalmente, los aditivos volátiles no deben influir al elemento sensible. Los elementos sensibles de humedad Hygromer® e Hygrolyt® de Rotronic (Suiza), o LabSwift-aw® de Novasina (Suiza) responden a estos criterios.

Esta medición de la actividad acuosa es por lo tanto común y bien conocida en la técnica.

Esta composición permite obtener una composición de enterramiento por adición de una cantidad apropiada de agua.

En particular, esta composición contiene entre 6 y 15 g de polisacárido ramificado, siendo este polisacárido la goma xantana, si se desea añadir un litro de agua.

La cantidad de principio activo se determina en función de la naturaleza del principio activo. Para un hongo endomicorrízico, se utilizan entre 3000 y 4000 propágulos por 1 litro de agua. Para un *Trichoderma*, se utilizan entre 0,05 y 0,2 g/l de esporas, preferentemente entre 0,08 y 0,12 g/l (10^8 a 10^9 CFU por gramo).

El polisacárido ramificado es la goma xantana.

Preferentemente, el principio activo es un hongo endomicorrízico, tal como se enumera a continuación, especialmente del género *Glomus sp.*, que pertenece al grupo de los glomeromicetos. Se estabilizan preferiblemente los propágulos con arcilla o cualquier otro soporte neutro.

En otro modo de realización, el principio activo es un hongo del género *Trichoderma*.

En otro modo de realización, el principio activo es una mezcla de *Trichoderma* y de *Glomus*.

La invención se refiere en particular a la utilización de un polisacárido ramificado, siendo este polisacárido la goma xantana, para la preparación de una composición que contiene también un hongo endomicorrízico (u otra sustancia de interés según la reivindicación 1), y destinada a enterrar/recubrir las raíces. La composición así obtenida es la composición particular y es directamente utilizable para el enterramiento después de que se haya añadido la cantidad de agua necesaria). Se describen también los métodos de preparación de una composición, que comprende la mezcla de la goma xantana y de una sustancia de interés (en particular un hongo endomicorrízico), con o sin adición ulterior de agua.

Así, la invención se refiere a la utilización de un polisacárido ramificado, siendo este polisacárido la goma xantana, para la preparación de una composición destinada a aportar una sustancia de interés a las raíces de una planta por enterramiento. En un modo de realización particular, dicha composición se ha preparado algunos días (el día anterior, 2 ó 3 días, incluso hasta 7 días, o un mes) antes de la aplicación sobre la planta.

Se desea que la composición destinada al enteramiento pueda permitir una buena dispersión de la sustancia de interés, y que se pueda impregnar las raíces fácilmente (en particular por remojo, lo que significa que se puede hacer la composición líquida, especialmente trabajándola mecánicamente) y que esta composición persista (se solidifique) en las raíces de la planta diana después de la aplicación sobre esta. Se trata por lo tanto preferiblemente de una composición gelificada a temperatura ambiente, pero que se licúa cuando se trabaja. Esto permite así la conservación y la manipulación de las plantas después de la aplicación de la composición sobre las raíces.

La utilización de un polisacárido ramificado (y especialmente toma xantana) permite así obtener un gel que se licúa cuando se trabaja (por cizallamiento) y en el que el hongo (o cualquier otra sustancia de interés, formulada) se mezcla previamente (en el gel) de manera homogénea, para después sumergir las plantas con raíces desnudas por manojo (de 25 o 50 plantas) directamente en un gran recipiente, y esto desde el granero antes de la plantación. Este gel se endurece después del remojo de las plantas para una mejor fijación y limitación de las pérdidas a la manipulación (transportes, etc.). Se prefiere que la eficacia de micorrización (o de la sustancia de interés) deba mantenerse, incluso acentuada. Finalmente, esta composición "gelosa a base de polisacárido ramificado" presenta una aptitud al envejecimiento y a la conservación para una utilización espaciada en 2 a 3 días. Este polisacárido ramificado (goma xantana) tiene así unas propiedades gelificantes preferiblemente cuando se pone en contacto con agua.

Se describe una composición para el enterramiento que comprende un hongo endomicorrízico (u otra sustancia de interés según la reivindicación 1) y un polisacárido ramificado, siendo este polisacárido la goma xantana. Esta composición se presenta preferiblemente en forma de un gel cuya viscosidad disminuye cuando se mezcla. Así, la viscosidad del gel disminuye bajo el efecto de fuerzas de cizallamiento.

Se describe así la utilización de un hongo endomicorrízico (u otra sustancia de interés según la reivindicación 1) y de un polisacárido ramificado, siendo este polisacárido la goma xantana, para la preparación de una composición destinada al enterramiento de las raíces de una planta.

En efecto, la solicitante ha demostrado que se puede utilizar un polisacárido ramificado, siendo este polisacárido la goma xantana, para la preparación de una composición destinada a aportar un hongo endomicorrízico (o cualquier otra sustancia de interés) a una planta, en particular a sus raíces. La preparación de esta composición (gel) se puede realizar el mismo día o bien algunos días (el día anterior, 2, 3, incluso hasta 7 días) antes de la fecha de utilización (aplicación sobre la planta) de este último y puede conservarse así. El plazo de utilización óptimo del gel varía de 2 a 7 días en función de la temperatura de conservación de la preparación realizada.

El polisacárido ramificado (goma xantana) es biodegradable, es decir que se puede degradar por los microorganismos del suelo sin dejar residuos tóxicos. Este polisacárido no presentará por lo tanto toxicidad alguna para el medioambiente o para los seres vivos. Se puede utilizar especialmente la goma xantana que ha recibido una autorización de salida al mercado como aditivo alimenticio.

Un polisacárido ramificado descrito aquí no es el galactomanano. En particular, este polisacárido ramificado, que es la goma xantana, es tal que comprende varias unidades de osas en sus ramificaciones, en particular 3 unidades ósicas.

5 El polisacárido ramificado está constituido por una combinación de glucosa, manosa, ácido glucurónico y ácido pirúvico. Se trata de la goma xantana (CAS: 11138-66-2; EINECS: 234-394-2), de fórmula bruta $C_{35}H_{49}O_{29}$.

10 Esta goma xantana se presenta, preferentemente, en una forma pulverulenta cuyas partículas tienen un tamaño inferior a 177 micrones. En efecto, se prefiere utilizar una goma xantana de 80 MESH.

15 La noción de MESH se utiliza para definir la fineza de los abrasivos. En inglés, MESH significa "MALLA" y el valor asociado expresa el número de mallas por pulgada. Así, la unidad Mesh expresa el número de mallas de un tamiz por pulgada (1 pulgada o inch = 2,54 cm). En consecuencia, cuando más mallas haya, más elevada es la cifra Mesh, y más fino será el tamiz. Así, el tamaño de las partículas más grandes susceptibles de pasar a través del tamiz será entonces más pequeño.

20 Así, unas partículas de 80 Mesh tienen un tamaño máximo de 177 micrones. En el ámbito de la presente invención, se podrían utilizar unas partículas de 100 Mesh (tamaño máximo de 149 micrones). La composición según la invención se prepara por mezcla del hongo endomicorrícico con el polisacárido ramificado, siendo este polisacárido la goma xantana, después de adición de agua en esta mezcla. El agua puede ser agua fría o agua tibia.

25 El tamaño de las partículas de goma xantana resulta importante para la realización de la Invención. En efecto, una granulometría fina (200 mesh) permitirá obtener una hidratación más rápida de la goma, pero con riesgo de grumos. Un producto más grueso permite obtener una mejor dispersión y evitar la formación de grumos, especialmente en las condiciones de trabajo en los campos o en el taller (condiciones de baja agitación). Es la razón por la que se prefieren utilizar las partículas de tamaños antes mencionados (177 micrones). En resumen, el tamaño de las partículas es preferiblemente inferior a 250 micrones, preferentemente inferior a 70 mesh, o 200 micrones ya que es inferior a 177 micrones, y superior a 100 mesh (o 150 micrones).

30 Si se formula con grandes aparatos, se puede llegar hasta utilizar unas partículas de 200 mesh (74 micrones).

35 El tamaño de las partículas es así superior a 70 micrones y de manera más preferida 100 micrones, de manera más preferida 150 micrones.

40 En un modo de realización preferida, una composición para el enterramiento obtenida mediante la realización de la composición descrita aquí comprende sólo dicho hongo endomicorrícico, la goma xantana, así como agua (y eventualmente un soporte neutro que estabiliza el hongo, tal como la arcilla). En otro modo de realización, la composición contiene sólo la sustancia de interés, dicho polisacárido ramificado así siendo este polisacárido la goma xantana, así como agua (y eventualmente un soporte neutro que estabiliza el hongo, tal como arcilla). Así, en estos modos de realización, la composición no contiene más que un solo compuesto que tiene una actividad sobre la planta.

45 En otro modo de realización, se pueden añadir otros compuestos a esta composición, tales como hormonas de esquejes o, por supuesto, otros microorganismos o sustancias beneficiosas que pueden tener unos efectos complementarios del Solrize® (*Trichoderma spp*, *Bacillus* y *Lactobacillus spp*, *Paenibacillus spp*, *Azospirillum spp*, *Pseudomonas spp*, hifomicetos, ascomicetos, actinomiceto, deuteromicetos, oligosacáridos, péptidos, glicolípidos, extractos de plantas o de algas, aceites esenciales, etc.).

50 Se puede citar cualquier tipo de hongo (endomicorrícico o ectomicorrícico) en el ámbito de la presente invención. Sin embargo, se utiliza preferentemente un hongo endomicorrícico arbuscular, y en particular un hongo del género *Glomus sp* y que pertenece al grupo de los glomeromicetos y en particular la cepa de *Glomus sp* LPA Val1, principio activo del producto Solrize® desarrollado por la solicitante, que ha obtenido una homologación en Francia (n° 1020004). Solrize® se presenta en forma de arcilla que contiene unas esporas y micelio de *Glomus sp* asociados a las partículas de arcillas y a unos fragmentos de raíces de plantas.

55 El experto en la materia podrá determinar las cantidades de cada uno de los productos a aportar para realizar una composición de enterramiento, sabiendo que se desea aportar entre 3 y 10 g de inóculo micorrícico por planta abonada (es decir entre 30 y 100 propágulos) según el tamaño del sistema radicular.

60 En el caso de la utilización de otra sustancia de interés, el experto en la materia determinará la cantidad a aportar a la planta, lo que permitirá identificar la concentración a utilizar en función de la cantidad media de producto que se encontrará en las raíces de esta planta.

65 Por otro lado, el experto en la materia podrá determinar la cantidad de goma xantana a añadir en la composición para obtener la viscosidad y el comportamiento mecánico apropiado.

5 En un modo de realización, la composición comprende entre 3000 y 4000 propágulos de dicho hongo endomicorrízico, entre 7 y 15 g de dicha goma xantana, para 1 litro de agua. Esta cantidad de goma xantana es la cantidad preferida para el conjunto de las aplicaciones consideradas en la solicitud. Se pueden utilizar también entre 6 y 10 g de goma xantana para 1 litro de agua. Se utilizan así al menos de 6 g, preferentemente al menos 7 g de goma xantana para 1 litro de agua, y como máximo 15 g, preferentemente como máximo 12 g de goma xantana para 1 litro de agua.

10 Como ya se ha visto antes, la invención se refiere también a la utilización de una composición tal como se ha descrito anteriormente, para realizar un enterramiento, o como biofertilizante.

15 Este enterramiento o esta utilización como biofertilizante se puede efectuar sobre cualquier tipo de planta susceptible de formar una endomicorriza. Se realiza especialmente sobre cualquier cultivo que puede ser objeto de plantación. Se considera así una utilización en los campos de la arboricultura frutal, la viticultura, los árboles y arbustos de ornamento, la silvicultura, los cultivos leguminosos.

20 Se pueden citar los cultivos hortícolas, tales como melón, tomate, fresa, berenjena, pimientos, calabacín, lechuga, judías, los árboles frutales tal como manzanos, perales, ciruelos, cerezos, etc., cualquier planta hortícola o de cultivo florales (incluyendo los rosales). Se puede citar también una utilización para los árboles (nogal, fresno, plátano, álamo, serbal, etc.) o los arbustos (laurel, boj, millepertuis, lilos, buddleia, etc.).

25 Se ha demostrado especialmente que esta composición se puede utilizar en las plantas de vid procedentes de viveros tradicionales.

La invención se refiere también a un método de plantación de una planta, que comprende la etapa de plantar una planta en un sustrato que permite el crecimiento de la planta, caracterizado porque las raíces de la planta se recubren por una composición según la invención. Dicho sustrato puede ser tierra, mantillo o cualquier otro sustrato adaptado a la planta en cuestión. Puede también contener elementos tales como turba o arcilla.

30 En un modo de realización preferido, el recubrimiento de las raíces de la planta se ha realizado más de 12 horas, de manera más preferida más de 24 horas, de manera más preferida más de dos días, incluso de una o incluso dos semanas, antes de la etapa de plantación de la planta, especialmente para las plantas de vid. Las plantas se conservan directamente en la composición de enterramiento según la invención, o se sumergen en la composición y se retiran de esta, endureciendo así la composición y adhiriéndose sobre las raíces de las plantas que se conservan entonces hasta la plantación.

35 Los ejemplos muestran en particular que se pueden conservar los pies de vid en la composición según la invención más de tres semanas y al menos un mes.

40 **Ejemplos**

Ejemplo 1: Ensayo de varios productos

45 Se han ensayado los siguientes productos:

- Guar 25: compuesto principalmente de galactomanano (polímero lineal compuesto de una cadena de monómeros de manosa ((1,4)-beta-D-manopiranos) a los que se ramifican por un puente 1-6 una unidad de galactosa).
- Xanthan 80 (Danisco®, goma xantana 80 mesh): polisacárido ramificado que comprende 4 unidades óxicas en las ramificaciones.
- LBG 246 (goma caraba): propiedades espesantes debido al galactomanano.
- FD 175 (alginato): polímero lineal formado de dos monómeros unidos juntos: el manuronato y el gluturonato,

55 Se ensayó el poder gelificante de estos productos.

Nombre	Dosis ensayada 1%	Dosis ensayada 0,2%	Conclusión
LBG 46 Caroube	Aspecto muy líquido, con pocos grumos	Aspecto muy líquido, con pocos grumos	Goma muy líquida

Alginate FD 175	Aspecto más bien viscoso pero con muchos grumos	Aspecto más bien viscoso pero con muchos grumos	Goma más bien de tendencia viscosa y gelificante
Guar tipo 250	Aspecto líquido con algunos grumos	Aspecto líquido con grumos	goma muy líquida
Xanthan 80	Aspecto muy viscoso con algunos grumos	Aspecto menos viscoso, menos grumos (base de partida)	goma viscosa y gelificante

5 Desde un punto de vista de textura (pegajoso), la xantana y el alginato parecen más pegajosos que el guar y la algarroba, y serían por lo tanto las mejores para responder a las expectativas de los arboricultores, especialmente en lo que se refiere a la capacidad de presentarse en forma líquida para mezclar la sustancia de interés y aplicar el producto sobre las raíces, y en solidificar ulteriormente (en las raíces), lo que permite una manipulación de las plantas abonadas (especificaciones).

A la vista de estos resultados, solo el alginato y la goma xantana parecen utilizables en la aplicación considerada.

10 Sin embargo, cabe señalar que pareció difícil disolver estas gomas en agua, incluso en reducidas dosis. Los resultados son los mismos con agua caliente.

Ejemplo 2: Mejora de la solubilidad

15 Se han ensayado diferentes dispersantes para intentar resolver el problema de disolución de las gomas en agua

Nombre del agente pegajoso	Aspecto	Conclusión
LBG 46 Caroube	No homogéneo, el aceite sube, muy líquido	Gel demasiado líquido
Alginate FD 175	No homogéneo, el aceite sube, líquido	Gel demasiado líquido
Guar type 250	Mezcla homogénea, líquida, ligeramente espesa pero no mucho	Gel que se acerca a las especificaciones esperadas
Xanthan 80	Mezcla muy homogénea, aspecto gelatinoso	Gel que corresponde a las especificaciones esperadas

Protocolo aplicado: 5 g de dispersante + 0,5 g de agente pegajoso + 97 ml de agua

20 Otros ensayos han mostrado que la goma xantana es el producto que permite obtener una composición que presenta las mejores propiedades de viscosidad esperadas.

En particular, se ha realizado un ensayo que consistió en remojar una planta de vid en todas las soluciones preparadas a fin de evaluar la adherencia de los geles alrededor de las raíces.

25 Los resultados son los más prometedores para la xantana.

Ejemplo 3: Determinación de una realización fácil de la composición

30 La realización de la composición consiste en mezclar el producto Solrize® Standard con el polvo del agente pegajoso seleccionado (en este caso la xantana en este ejemplo), y después añadir agua a fin de obtener un producto homogéneo y pegajoso. Este principio es simple de realizar para el usuario.

Conviene que la preparación de esta nueva formulación sea tan simple como la del producto Solrize Pralin: el agente pegajoso se mezcla directamente con Solrize® y después se añade agua.

5 Los ensayos realizados sobre los diferentes productos muestran que solo la xantana permite obtener una composición que cumplen los criterios buscados para el producto (mezcla fácil, buena adherencia de la preparación a las raíces y las plantas).

En efecto, los ensayos con alginato dan un producto que se endurece con el tiempo. Los ensayos con guar o algarroba dan unas composiciones demasiado líquidas.

10

Ejemplo 4: Preparación de diferentes composiciones

Composición de la preparación ensayada	Cantidad de Solrize® (g/planta de vid)	D+1	D+2	D+3	D+7
175 g Solrize® +12 g xantana +850 ml H ₂ O	5,83g Solrize®/planta	Producto homogéneo, se adhiere bien a las raíces	Duro en la parte superior, pero después de la mezcla, igual D+1, por lo tanto satisfactorio	Igual a D+2	Empieza a endurecerse, algunos grumos después de la mezcla
175 g Solrize® +18 g xantana +850 ml H ₂ O	5,2g Solrize®/planta	Producto homogéneo, se adhiere bien a las raíces	Duro en la parte superior, pero después de la mezcla, igual D+1, por lo tanto satisfactorio	Empieza a endurecerse, algunos grumos después de la mezcla	Se ha endurecido, algunos grumos después de la mezcla
175 g Solrize® +24 g xantana +850 ml H ₂ O	4,8 g Solrize®/planta	Producto homogéneo, se adhiere bien a las raíces	Duro en la parte superior, pero después de la mezcla, igual D+1, por lo tanto satisfactorio	Empieza a endurecerse bien, algunos grumos después de la mezcla	Se ha endurecido, difícil de mezclar sin hacer grumos
175 g Solrize® +30 g xantana +850 ml H ₂ O	4 g Solrize®/planta	Producto homogéneo, se adhiere bien a las raíces	Duro en la parte superior, pero después de la mezcla, igual D+1, por lo tanto satisfactorio	Empieza a endurecerse bien, algunos grumos después de la mezcla	Se ha endurecido, difícil de mezclar sin hacer grumos

15 Los productos se evaluaron a temperatura ambiente, y se efectuó un control manual de la adherencia a las raíces de una planta de vid, utilizados como modelo.

Se constata que las composiciones pueden conservarse durante al menos dos días, incluso durante más tiempo.

Se realizaron otras composiciones que comprenden:

20

360 g de Solrize®, 850 ml a 1,5l de agua y diversas cantidades de goma Xanthan 80.

Se observa que los mejores resultados se obtienen cuando se añaden entre 7 y 15 g de Xanthan 80.

25 Se ha constatado que la composición que comprende 360 g de Solrize®, 1 litro de agua y 10 g de Xanthan 80, parece presentar las propiedades más favorables.

Ejemplo 5: Ensayo de aplicación de la composición seleccionada sobre plantas de vid

Se ensaya por lo tanto una composición que comprende 360 de Solrize®, 1000 ml de agua y 10 g de Xanthan 80.

5

Número de plantas de vid que pueden abonarse	Cantidad de gel+Solrize® (g/Planta de vid)	Cantidad de gel (g/Planta de vid)	Cantidad de Solrize® (g/Planta de vid)
120	11 a 13 g/plantas	6 a 8 g/plantas	3 g/plantas

Se midió el pH de la composición a lo largo del tiempo:

- 10 pH gel = 7,15 (D+1)
- pH gel + Solrize® = 7,01 (D+1)
- pH gel + Solrize® = 7,70 (D+2)
- 15 pH gel + Solrize® = 7,00 (D+3)
- pH gel + Solrize® = 6,90 (D+4)
- 20 pH gel + Solrize® = 6,90 (D+5)
- La conservación del producto a temperatura ambiente no conlleva olor antes de D+4 mientras que el Solrize® Pralin emite olores a partir de 24h después de la realización.
- 25 A 4°C, la conservación puede alcanzar 7 días después de la preparación sin que se advierta ningún olor particular. El olor refleja una evolución del producto que puede conllevar una alteración de sus propiedades.
- Por otro lado, un análisis económico ha permitido calcular que el coste de producción de las composiciones según la invención es significativamente menos importante que el coste de producción del Solrize® Pralin.
- 30 Por lo tanto, la composición sigue siendo particularmente estable a lo largo del tiempo una vez preparada, permitiendo así una cierta flexibilidad en su utilización.

Ejemplo 6: Ensayo de micorrización de las plantas

- 35 Procedimiento
- Se abonan unas plantas de judías, de vid, de sorgo y de crisantemo con la ayuda de una preparación de ensayo realizada en base a resultados obtenidos durante ensayos descritos anteriormente.
- 40 ✓ Formulación de enterramiento ensayada: 360 g Solrize® + 10 g Xanthan 80 + 1l H₂O.
- ✓ tierra para maceta/plantación: realización en contenedores (maceta) de 4l;
- ✓ modalidades:
- 45 * Control (no abonados): 5 plantas (macetas) por especie, es decir 20 macetas;
- * "Solrize Gel": 10 plantas por especie abonadas con la ayuda de la preparación ensayada descrita anteriormente, es decir 40 macetas;
- 50 ✓ soporte de cultivo: mantillo Prorize de la compañía Aquiland (33000 Landiras Francia).
- ✓ Duración del cultivo: 6 semanas.
- 55 Resultados
- Después de 6 semanas de cultivo (plazo suficiente para obtener unas raíces micorrizadas, aparición de los puntos de infección entre Glomus y las raíces de plantas), las raíces de todas las plantas se extraen para controlar la

colocación de la micorrización. Las 5 plantas controles (no tratadas con la composición) eran negativas (no micorrizadas), lo que permite validar el ensayo.

5 El conjunto de las 40 plantas tratadas (abonadas) con la composición han mostrado una presencia de la micorrización.

Estos resultados permiten demostrar que la composición según la invención permite una micorrización de las plantas.

10 Se llevaron a cabo otros ensayos, especialmente en viñedo en condiciones reales de plantación, obre plantas de vid y han permitido validar el interés técnico de tal formulación de enterramiento "Gel" así como su eficacia obteniendo especialmente buenos porcentajes de arraigo y una mejor calidad de plantas, significativamente diferente de la modalidad control no abonada.

15 **Ejemplo 7: Ensayo de compatibilidad con unas esporas de *Trichoderma***

Preparación del Mycogel®:

20 * Solrize®Pro (Agrauxine): 360 g

* Goma xantana: 10 g

* agua: 1l

25 *Trichoderma*:

* esporas puras de *Trichoderma*: 0,1g/l (10^8 a 10^9 CFU/g)

Control microbiológico:

30 Determinación de CFU *Trichoderma*/g sobre medio PDA (agar de patata y dextrosa) y determinación de CFU bacteria/g sobre medio PCA (recuento en placa agar).

35 El Mycogel y las esporas de *Trichoderma* se mezclan y después se almacenan a temperatura ambiente y a 4°C durante una semana.

Se realiza una extracción para las dos modalidades (temperatura ambiente y a 4°C) y se realiza el control microbiológico.

40 La extracción se mezcla en sal de triptona durante 30 minutos, después se realizan unas diluciones sucesivas. La lectura de las cajas se realiza después de 72 horas de incubación.

Parámetros medidos:

45 * CFU *Trichoderma* por g

* CFU contaminante por g

Resultados

50

Modalidades	Mezcla Mycogel + espora <i>Trichoderma</i> a temperatura ambiente	Mezcla Mycogel + espora <i>Trichoderma</i> a 4°C
CFU <i>Trichoderma</i> viable/g	$1,67 \times 10^7$ CFU/g	$1,02 \times 10^7$ CFU/g
CFU bacteria viable/g	$3,01 \times 10^5$ CFU/g	$1,97 \times 10^5$ CFU/g

Conclusión:

55 La mezcla Mycogel® y *Trichoderma* es compatible. Además, no se observa diferencia en términos de supervivencia, sea cual sea la temperatura de conservación del gel.

Ejemplo 8: Ensayo de conservación del Mycogel®

- 5 Aplicación del protocolo
- Planta hospedante: Vid
- Contenedor: cubo de 3l
- 10 Solrize® Standar: Lote n° 33
- Dosis de Mycogel®: tratar 120 plantas de vid
- 15 * Solrize®Pro: 360 g
- * Goma xantana: 10 g
- * Agua: 1l
- 20 Parámetros medidos: 2 veces/mes
- * Seguimiento del olor que emana de los cubos.
- * Medición del PH

25 **Resultados**

30 El Mycogel® formulado puede conservarse sin problema durante 1 mes a 4°C. Más allá, se libera un olor relacionado con la fermentación del Mycogel, a pesar de que no se observa casi ninguna variación de pH.

Estos resultados muestran que los viticultores pueden remojar el pie de vid en el Mycogel® y conservarlo a 4°C durante algunas semanas antes de la plantación.

35 Por el contrario, se desaconseja almacenar los pies de vid en el Mycogel® durante 6 meses antes de la plantación.

La conservación del gel solo (sin Solrize®) ha dado el mismo tipo de resultados: el gel se puede conservar durante 1 mes a 4°C, y se libera más allá un olor relacionado con la fermentación del gel. En los seis meses de conservación, no se observa casi ninguna variación de PH.

40 **Porcentaje de micorrización**

Todas las modalidades a +6 meses, +4 meses y +2 meses para las vides a 4°C y frescas se han trasplantado en macetas de 1l con un sustrato Faliénor®, y después colocadas en invernadero. Debido al mantenimiento del pH, se sospecha que la micorrización seguirá siendo posible y de calidad. Los ensayos están en curso.

45 **Ejemplo 9: Conservación de plantas abonadas antes de la plantación**

50 Se han ensayado también los porcentajes de micorrización para plantas conservados en Mycogel® a 4°C durante un mes.

Se han puesto en remojo diez pies de vid en el Mycogel y después se colocaron a 4°C. Después de cuatro semanas, los pies de vid se retiraron de la cámara fría a 4°C y se trasplantaron a macetas de 1l con sustrato Faliénor® y después se colocaron en invernadero.

55 Después de 9 semanas de cultivo, solo el porcentaje de micorrización es observado en los 10 pies de vid.

Número de planta de vid	Porcentaje de micorrización en %	Media del porcentaje de micorrización en %
1	25%	21,2% Estructuras internas poco desarrolladas (presencia de micelio externo, vesícula)
2	30%	
3	20%	
4	15%	

ES 2 715 037 T3

5	ND	
6	25%	
7	15%	
8	10%	
9	22%	
10	29%	

Cabe señalar que el porcentaje de micorrización es del 21,2% para la vid. La conservación de los pies de vid en el Mycogel a 4°C durante 1 mes no afecta su eficacia y por lo tanto la micorrización de la vid.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición destinada al enterramiento de una planta después de la adición de agua, de granulometría inferior o igual a 5 mm que comprende un polisacárido ramificado, así como una sustancia de interés, caracterizada por que dicho polisacárido ramificado es la goma xantana, presentándose dicha goma xantana en una forma pulverulenta, de partículas que tienen un tamaño inferior a 177 micrones, siendo dicha sustancia de interés un hongo endomicorrízico o un microorganismo antifúngico.
- 10 2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que dicho hongo endomicorrízico es un glomeromiceto.
3. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que dicho microorganismo antifúngico es un *Trichoderma*.
- 15 4. Composición según una de la reivindicación 1, caracterizada por que comprende un hongo endomicorrízico y un microorganismo antifúngico.
- 20 5. Composición según la reivindicación 4, caracterizada por que dicho microorganismo antifúngico es un *Trichoderma*.
6. Composición según una de las reivindicaciones 1, 2 y 4 a 5, caracterizada por que la sustancia de interés es un hongo endomicorrízico y que están presentes entre 3000 y 4000 propágulos de dicho hongo endomicorrízico en la composición apta para el enterramiento de las plantas después de la adición de un litro de agua.
- 25 7. Composición según una de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada por que se añade entre 6 y 15 g de dicha goma xantana, para 1 litro de agua para obtener una composición apta al enterramiento de las plantas.
- 30 8. Método de preparación de una composición para enterramiento de una planta, que comprende una etapa de adición de agua en una composición según una de las reivindicaciones 1 a 7.
9. Utilización de una composición preparada mediante el método según la reivindicación 8, para realizar un enterramiento sobre las raíces de una planta.
- 35 10. Método para aportar una sustancia de interés a las raíces de una planta, que comprende las etapas de (i) preparar una composición de enterramiento por el método según la reivindicación 8 y (ii) aplicar esta composición de enterramiento a las raíces de dicha planta.
- 40 11. Método según la reivindicación 10, caracterizado por que dicha composición se ha preparado algunos días antes de la aplicación sobre la planta.
12. Método de plantación de una planta, que comprende la etapa de plantar una planta en un sustrato que permite el crecimiento de la planta, caracterizado por que las raíces de la planta se recubren por una composición preparada por el método según la reivindicación 8.
- 45 13. Método según la reivindicación 12, caracterizado por que el recubrimiento de las raíces de la planta se ha realizado más de 12 horas antes de la etapa de plantación de la planta.