



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① Número de publicación: **2 303 809**

② Número de solicitud: 200801004

⑤ Int. Cl.:
A01N 55/02 (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN PREVIO

B2

⑫ Fecha de presentación: **09.04.2008**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **16.08.2008**

Fecha de la concesión: **30.03.2009**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **01.05.2009**

⑯ Fecha de publicación del folleto de la patente:
01.05.2009

⑰ Titular/es: **SERVALESA, S.L.**
Polígono Industrial Ingruinsa
Avda. D. Jerónimo Roure, Parc. 45
46520 Puerto Sagunto, Valencia, ES

⑱ Inventor/es: **Juanes Peris, José Helenio y**
Juanes Peris, Luis

⑳ Agente: **Carpintero López, Francisco**

㉔ Título: **Producto para uso agrícola a base de complejos orgánicos de cobre.**

㉕ Resumen:

Producto para uso agrícola a base de complejos orgánicos de cobre.

La invención define una composición para uso agrícola que comprende un principio activo que consiste en una mezcla de monogluconato de cobre y monogalacturonato de cobre. Asimismo, la invención define un procedimiento para preparar dicha composición y un método de aplicación de la misma. La composición de la invención permite evitar o reducir en plantas de muy diversas especies los ataques de diversas enfermedades de origen fúngico o bacteriano, así como mitigar los efectos de diversos factores de estrés de origen biológico o ambiental, actuando eficazmente de forma preventiva y curativa con concentraciones menores de cobre y, por tanto, con un menor impacto ambiental. Asimismo, activa y fortalece los mecanismos de defensa de las plantas, además de aumentar el vigor y el desarrollo de las mismas proporcionando, así, mayores cosechas y de mayor calidad.

ES 2 303 809 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Producto para uso agrícola a base de complejos orgánicos de cobre.

5 Campo de la invención

La invención se refiere al campo de los productos para uso agrícola. En particular, la invención se refiere a una composición a base de complejos orgánicos de cobre de origen natural destinada a evitar o reducir los daños de enfermedades en plantas cultivables, así como a inducir y estimular las defensas naturales de las mismas y a incrementar su vigor y salubridad.

Antecedentes de la invención

15 Como es bien conocido en el estado de la técnica, son muchas las enfermedades criptogámicas causadas en las plantas por hongos o bacterias vasculares endógenos y/o exógenos, tal como, por ejemplo, antracnosis, repilo, monilia, venturia, alternaria, negrilla, gomosis, mildiu, bacteriosis y otras.

20 Las técnicas actuales para combatir las enfermedades anteriormente mencionadas, se basan fundamentalmente en el uso de productos de cobre inorgánico, contemplando una serie de formulados de mayor o menor eficacia. Entre estos compuestos inorgánicos de cobre se pueden destacar el caldo bordelés (sulfato cúprico neutralizado con cal hidratada), el oxiclورو de cobre, el hidróxido de cobre y el óxido cuproso que son eficaces en el tratamiento de enfermedades en cultivos de diversas plantas tales como árboles, frutales, viñedos, olivos, etc. Así, por ejemplo, se ha usado el oxiclورو de cobre en tratamientos fungicidas para el control del chancro en alcornoque (Navarro *et al.*, Boletín de Sanidad Vegetal: Plagas, 30: 605-613, 2004). Igualmente, en el tratamiento del repilo del olivo, entre otras enfermedades de este cultivo, se utilizan habitualmente el caldo bordelés, el oxiclورو de cobre y el óxido cuproso (Barranco *et al.* 1998, Cultivo del olivo, Ed. Mundi-Prensa, Madrid).

30 Sin embargo, el uso de estos productos presenta un elevado grado de impacto medioambiental debido, fundamentalmente, al alto contenido del metal pesado que incorporan, así como a su mecanismo de acción, que actúa por contacto mediante la aplicación masiva del mismo sobre el cultivo, generando una acción tóxica del cobre (II) sobre el patógeno. Estas aplicaciones masivas de producto con alta riqueza en cobre generan graves problemas de residuos en las cosechas y productos derivados, así como de contaminación en las zonas de aplicación. (suelos, acuíferos, etc.). Además, estos residuos de cobre en las partes comercializables de los cultivos son difícilmente eliminables y sus posibles efectos negativos sobre los consumidores son evidentes.

40 Continúa existiendo en el estado de la técnica, por tanto, la necesidad de productos de uso agrícola alternativos para el tratamiento y prevención de enfermedades en cultivos que presenten una buena eficacia pero menores efectos adversos sobre el medioambiente.

A fin de reducir los problemas medioambientales, se ha propuesto recientemente un producto de cobre orgánico para combatir los patógenos de las plantas a base de una combinación de complejos monoméricos y poliméricos de cobre tal como pectinatos o poligalacturonatos (ES 2231015). Dicho producto, sin embargo, presenta los inconvenientes de una estabilidad físico-química baja debido al elevado peso molecular de sus componentes que provoca la formación de sólidos en suspensión dentro de la matriz de la disolución y, por tanto, una menor efectividad agronómica de la misma. Asimismo, en el mercado existen productos que contienen heptagluconato de cobre (Hidromix, Alibio Biomix, Dabquel mix, etc.) de origen sintético, por lo que, en su proceso de síntesis, incorporan materias inertes que pasan luego a la formulación final de los mismos.

50 Los presentes inventores han descubierto que el uso de una composición que contiene exclusivamente los complejos monoméricos de cobre monogluconato y monogalacturonato como principio activo, permite no sólo una mayor eficacia contra los patógenos y una mayor inocuidad sino, además, una importante acción como inductores y estimuladores de las defensas de las plantas y como potenciadores del vigor y salubridad de las mismas, lo que redundará en una mejor eficacia del control de la acción de los patógenos en plantas cultivables.

55 Por un lado, su concentración de cobre es mucho menor que la de los fungicidas o fertilizantes cúpricos tradicionales a base de sales de cobre, por lo que se reducen los problemas de contaminación. Por otro lado, al no contener cobre en forma iónica, este no puede cristalizar como una sal inorgánica y, por tanto, puede ser más fácilmente absorbido por vía radicular, cuando se aplica por fertirrigación, o mediante pulverización foliar, cuando se aplica por pulverización sobre las hojas. Su mecanismo de acción en la planta es, por tanto, sistémico. Por ello, no es necesaria una aplicación masiva de la composición ya que esta no actúa por contacto sino que, gracias a su sistemía y a su capacidad de inducir las respuestas defensivas de las plantas, se aplica en dosis y concentraciones mucho menores, con una eficacia igual o incluso mayor, como han demostrado numerosos ensayos de eficacia realizados. La presencia en la composición de complejos monoméricos de bajo peso molecular hace que sea mucho más sistémica, más fácilmente transportable por la savia vegetal y, por consiguiente, que tenga un efecto de inducción de las defensas naturales de la planta más acusado. Finalmente, al ser una composición de origen natural no contiene productos sintéticos, por lo que es inocua para las plantas, no presentando fitotoxicidad a las concentraciones de aplicación recomendadas.

En el estado de la técnica se conocen diversos inductores químicos que se usan en tratamientos para inducir mecanismos de defensa en las plantas. Estos compuestos inductores, también conocidos como elicitores, pueden ser de tipo abiótico tales como el ácido 2,6-dicloroisonicotínico (ácido isonicotínico, INA), el 3-aliloxi-1,2-benzisotiazol-1,1-dióxido (Probenazol), el S-metil benzo(1,2,3)tiadiazol-7-carbotiato (acibenzolar-S-metil, ASM, BTH, BION[®], etc.) y el ácido salicílico (SA) (De Meyer y col., 1999, “Nanogram amounts of salicylic acid produced by the rhizobacterium *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 activate the systemic acquired resistance pathway in bean”, MPMI, 12:450-458; Gorchach y col., 1996, “Benzothiadiazone, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat”, *Plant Cell*, 8:629-643; Kessmann y col., 1994, “Induction of systemic acquired disease resistance in plants by chemicals”, *Annu Rev Phytopathol*, 32:439-459; Pieterse y col., 1998, “A novel signaling pathway controlling induced systemic resistance in Arabidopsis”, *Plant Cell*, 10:1571-1580; y Sakamoto y col., 1999, “Chemical induction of disease resistance in rice correlated with the expression of a gene encoding a nucleotide binding site an leucine-rich repeats”, *Plant Mol Biol*, 40:847-855). Estos inductores químicos, sin embargo, podrían plantear problemas de tipo medioambiental. Recientemente, se han descrito elicitores de tipo biótico tal como la proteína harpin contenida en el producto registrado Messenger (United States Environmental Protection Agency (EPA), 2000, “Messenger: A Promising Reduced Risk Biopesticide, PESP (Pesticide Environmental Stewardship Program) Update. Vol. 3. Number 1).

Por otro lado, se conocen en el estado de la técnica diversos compuestos fitofortificantes para incrementar el vigor y la salubridad de los cultivos, de modo que tengan un crecimiento más rápido y equilibrado, se desarrollen y produzcan mejor y, además, potencien sus defensas para combatir plagas y enfermedades. Estos fitofortificantes, o bioestimulantes, suelen ser de origen natural tal como humus, aminoácidos, micronutrientes, extractos de algas, etc. Así, por ejemplo, se han empleado extractos de algas para promover el crecimiento de mandarinos y naranjos (Fornes *et al.*, 2002, “Effect of a seaweed extract on the productivity of “de Nules” clementine mandarin and Navelina orange”, *Botanica Marina* 45:486-489) o el crecimiento de pimientos (Arthur *et al.*, 2003, “Effect of a seaweed concentrate on the growth and yield of three varieties of *Capsicum annum*, *South African Journal of Botany* 69, 207-211).

Así pues, hasta la fecha no se han usado complejos orgánicos de cobre para inducir y estimular mecanismos de defensa en las plantas o para incrementar el vigor o la salubridad de las mismas.

La composición de la presente invención, por tanto, permite evitar o reducir en plantas de muy diversas especies los ataques de diversas enfermedades de origen fúngico o bacteriano, así como mitigar los efectos de diversos factores de estrés de origen biológico o ambiental, actuando eficazmente de forma preventiva y curativa, con concentraciones menores de cobre y, por tanto, con un menor impacto ambiental. Asimismo, activa y fortalece los mecanismos de defensa de las plantas, además de aumentar el vigor y el desarrollo de las mismas proporcionando, así, mayores cosechas y de mayor calidad.

Objeto de la invención

La presente invención, por tanto, tiene por objeto proporcionar una composición para uso agrícola que comprende un principio activo que consiste en una mezcla de monogluconato de cobre y monogalacturonato de cobre.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un procedimiento para la preparación de dicha composición.

Asimismo, otro objeto de la presente invención es proporcionar un método para evitar o reducir los daños de enfermedades en plantas cultivables, para inducir y estimular las autodefensas de las mismas y para aumentar su vigor y salubridad que comprende la aplicación de dicha composición a dichas plantas cultivables.

Descripción de las figuras

La figura 1 muestra la actividad inductora de resistencia de la composición de la invención en una planta *Arabidopsis thaliana* silvestre (Col-0) y el mutante *npr1-1* defectivo en la activación de la SAR (Resistencia Sistémica Adquirida), frente al hongo *Hyaloperonospora parasitica* NOCO2.

La figura 2 muestra la actividad inductora de resistencia de la composición de la invención en una planta *Arabidopsis thaliana* silvestre (Col-0) y el mutante *npr1-1* defectivo en la activación de la SAR, frente al hongo *Hyaloperonospora parasitica* NOCO2.

La figura 3 muestra la actividad inductora de resistencia de la composición de la invención en una planta *Arabidopsis thaliana* silvestre (Col-0), el mutante *npr1-1* defectivo en la activación de la SAR y el mutante *cpr1-5* que tiene activada de forma constitutiva la SAR, frente al hongo *Hyaloperonospora parasitica* NOCO2.

La figura 4 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Phytophthora infestans* en tomate de invernadero.

La figura 5 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, como inductor de respuesta de vigor en tomate de invernadero.

ES 2 303 809 B2

La figura 6 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada a través del riego, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Phytophthora infestans* en tomate de invernadero.

5 La figura 7 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada a través del riego, como inductor de respuesta de vigor en tomate de invernadero.

La figura 8 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Pseudoperonospora cubensis* en pepino de invernadero.

10 La figura 9 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, como inductor de respuesta de vigor en pepino de invernadero.

La figura 10 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada a través del riego, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Pseudoperonospora cubensis* en pepino de invernadero.

15 La figura 11 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada a través del riego, como inductor de respuesta de vigor en pepino de invernadero.

20 La figura 12 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Bremia lactucae* en lechuga cultivada al aire libre.

La figura 13 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, como inductor de respuesta de vigor en lechuga cultivada al aire libre.

25 La figura 14 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada a través del riego, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Bremia lactucae* en lechuga cultivada al aire libre.

La figura 15 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada a través del riego, como inductor de respuesta de vigor en lechuga cultivada al aire libre.

30 La figura 16 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Phytophthora cactorum* en fresa cultivada bajo túnel de plástico.

35 La figura 17 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, como inductor de respuesta de vigor en fresa cultivada bajo túnel de plástico.

La figura 18 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada a través del riego, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Phytophthora cactorum* en fresa cultivada bajo túnel de plástico.

40 La figura 19 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada a través del riego, como inductor de respuesta de vigor en fresa cultivada bajo túnel de plástico.

La figura 20 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Venturia inaequalis* en manzano.

45 La figura 21 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Venturia inaequalis* en manzano.

50 La figura 22 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, como inductor de respuesta de vigor en manzano.

La figura 23 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Venturia pyrina* en peral.

55 La figura 24 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Venturia pyrina* en peral.

La figura 25 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, como inductor de respuesta de vigor en peral.

60 La figura 26 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Monilinia spp* en melocotonero.

65 La figura 27 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, como inductor de respuesta de vigor en melocotonero.

La figura 28 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Plasmopara viticola* en viña.

ES 2 303 809 B2

La figura 29 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar 1 semana después, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Plasmopara viticola* en viña.

5 La figura 30 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, como inductor de respuesta de vigor en viña.

La figura 31 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Spilopcea oleagina* en olivo variedad picual.

10 La figura 32 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Spilopcea oleagina* en olivo variedad picual.

La figura 33 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, como inductor de respuesta de vigor en olivo variedad picual.

15 La figura 34 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Spilopcea oleagina* en olivo variedad manzanillo.

20 La figura 35 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, para mitigar la progresión de la infección del hongo *Spilopcea oleagina* en olivo variedad manzanillo.

La figura 36 muestra la eficacia de la composición de la invención, aplicada mediante pulverización foliar, como inductor de respuesta de vigor en olivo variedad manzanillo.

25 **Descripción detallada de la invención**

La presente invención proporciona una composición para uso agrícola, en adelante “composición de la invención”, que comprende un principio activo que consiste en una mezcla de monogluconato de cobre y monogalacturonato de cobre.

30 En el contexto de la invención el término “mezcla de monogluconato de cobre y monogalacturonato de cobre” se refiere a una mezcla formada exclusivamente por monogluconato y galacturonato de cobre (II), sin presencia de otros complejos que supongan ligandos de tipo no monomérico.

35 La misión de estos complejos monoméricos de cobre orgánicos es la de, a través de sus capacidades sistémicas debidas a su bajo peso molecular, ejercer una acción inductora de las defensas vegetales de los cultivos, con el fin de mitigar los efectos de enfermedades criptogámicas causadas por hongos o bacterias vasculares endógenos y/o exógenos.

40 Estos dos complejos moleculares orgánicos, monogluconato y monogalacturonato de cobre, hacen que en la disolución no existan cationes de Cu (II) de modo que el Cu (II) no puede cristalizar como una simple sal de cobre, pudiendo ser absorbido por fertirrigación y a través de la membrana semipermeable de la hoja, translocándose por la savia.

45 En una realización particular, la composición de la invención comprende un 15-30% en peso de principio activo respecto al peso total de composición. En una realización preferida, la composición de la invención comprende un 23% en peso de principio activo respecto al peso total de composición.

50 Así pues, el contenido de cobre de la composición de la invención es del orden del 5,5% en peso, mientras que en los productos inorgánicos de cobre tradicionales (oxicloruros, hidróxidos, sulfatos, etc.) las concentraciones de dicho metal varían entre un 25% y un 70% en peso. La acción eficaz de la composición de la invención, por tanto, se consigue con un impacto ambiental y con un riesgo para el agricultor mucho menor.

55 La composición de la invención, además del principio activo previamente descrito, puede contener otros componentes o aditivos que faciliten su formulación para su posterior aplicación. Así, en una realización particular, la composición de la invención comprende uno o más aditivos seleccionados de entre un tensioactivo y un regulador del pH.

60 Como tensioactivo o mojante puede emplearse cualquier compuesto con propiedades surfactantes del estado de la técnica como, por ejemplo, un alcohol graso etoxilado tal como tridecil alcohol etoxilado, nonilfenol etoxilado, octilfenol etoxilado, etc. (Polioxol 030085/85 de Cognis, Berol 907 de Akzo Nobel o Triton de Dow, por ejemplo), un derivado del sorbitán (Tween 20 o Tween 80, por ejemplo), u otro adecuado que será seleccionado por el experto. Asimismo, como regulador de pH puede emplearse cualquier compuesto acidificante del estado de la técnica adecuado tal como un ácido inorgánico u orgánico (ácido cítrico, ácido láctico o ácido acético, por ejemplo). En una realización preferida, el tensioactivo es un alcohol etoxilado C₈-C₁₈ y el regulador de pH es un ácido carboxílico de bajo peso molecular.

ES 2 303 809 B2

En otro aspecto de la invención, se proporciona un procedimiento para la preparación de la composición de la invención previamente descrita, en adelante "procedimiento de la invención", que comprende las etapas de:

5 (a) disolver en agua un 30-50% en peso, respecto al peso total de composición final, de pectina a una temperatura de 55-65°C y añadir un 4-6% en peso, respecto al peso total de composición final, de al menos una enzima pectinasa;

(b) hacer pasar una corriente de dióxido de carbono por la solución obtenida en la etapa (a) y añadir un 0,3-0,6% en peso, respecto al peso total de composición final, de al menos una enzima reductasa; y

10 (c) añadir a la solución obtenida en la etapa (b) una sal soluble de cobre.

Para preparar la solución de pectina de la etapa (a) se selecciona una pectina alimentaria proveniente de frutas (manzana, melocotón y cítricos, fundamentalmente), preferiblemente de baja metoxilación y no amidada, característi-
15 cas ambas de la pectina que redundan en un mayor rendimiento de obtención de ácido galacturónico en la reacción de hidrólisis enzimática de la etapa (a).

Dicha disolución se prepara a una temperatura adecuada del orden de 55-65°C y con agitación en un reactor de agitación cerrado u otro dispositivo del estado de la técnica apropiado. Seguidamente se añade un 4-6% en peso de una o más enzimas hidrolíticas pectinasas alimentarias tal como, por ejemplo, poligalacturonasa y pectin liasa, añadiendo aproximadamente un 2% en peso de ácido cítrico para rebajar el pH de tal manera que la viscosidad de la disolución de pectina no sea demasiado elevada para la reacción con la enzima. A continuación se mantiene agitando el tiempo necesario para que la reacción se produzca en toda su extensión que será del orden de 24 horas. Las
20 condiciones descritas de alta temperatura, bajo pH, elevada concentración de enzimas hidrolíticas y prolongado tiempo de agitación, conducen a una hidrólisis total de los polímeros pectínicos, rindiendo monómeros de ácido galacturónico con una escasa presencia de poligalacturonatos y pectinatos.

En una realización particular del procedimiento de la invención, en la etapa (a) se disuelve un 40% en peso, respecto al peso total de composición final, de pectina a una temperatura de 60°C y se añade un 5% en peso, respecto al peso
30 total de composición final, de al menos una enzima pectinasa.

En la etapa (b), se elimina el oxígeno del aire presente en el reactor mediante inyección de dióxido de carbono para disponer de un medio no oxidante. Se agrega entonces un 0,3-0,6% en peso de al menos una enzima reductasa, tal como, por ejemplo, D-galacturonato reductasa, para obtener ácido glucónico por reducción del ácido galacturónico, manteniendo la agitación unas 3 horas hasta el final de la reacción. La pequeña cantidad de reductasa empleada así
35 como el relativamente poco tiempo de agitación conducen a la obtención de un equilibrio adecuado entre las formas monogluconato y galacturonato.

En una realización particular del procedimiento de la invención, en la etapa (b) se añade un 0,5% en peso, respecto al peso. total de composición final, de al menos una enzima reductasa.

En la etapa (c), se adiciona al reactor un 25% de sulfato de cobre comercial y se continua la agitación 3 horas hasta su disolución completa, tras lo cual se habrá obtenido una mezcla homogénea de complejos estables de monogluconato y galacturonato de cobre más una pequeña cantidad de complejos inestables que tienden a precipitar, que son de mayor
45 tamaño molecular debidos a la hidrólisis parcial de la pectina alimentaria utilizada.

La composición así obtenida, se somete después a una centrifugación para eliminar la fracción precipitada de complejos de cobre a base de ligandos poliméricos, los cuales no se mantienen en disolución acuosa debido a su elevado peso molecular. Tras la centrifugación, se separa una pequeña fase sólida, que se desprecia, y una fase líquida
50 de color azul intenso. Esta fase líquida se deja decantar un mínimo de cuatro-cinco días en tanques de maduración para que se depositen en el fondo las pequeñas partículas de complejos precipitados y se pueda obtener, finalmente, una solución clara de color azul intenso sin sólidos en suspensión, con un pH final entre 3 y 4, a la que se añadirán los diversos aditivos mencionados anteriormente para preparar la composición de la invención.

55 Finalmente, la composición de la invención así preparada se envasa en recipientes adecuados para ser distribuida y aplicada en el sector agrícola, tal como, por ejemplo en recipientes de polietileno.

La composición de la invención así obtenida se aplicará por fertirrigación o por pulverización foliar a las dosis adecuadas según cultivos, períodos vegetativos y otras circunstancias no especificadas, logrando así una acción sistémica
60 del cobre.

La composición de la invención, tal y como se ha indicado, se puede emplear mediante aplicación sobre las hojas de las plantas o a través del riego, ya que su efecto se manifiesta igualmente mediante mecanismos de resistencia química inducida (CIR) y procesos sistémicos y naturales de defensa de la planta. Este hecho hace que no sea necesario un exhaustivo cubrimiento del árbol en aplicación foliar, simplificando, de esa manera, el trabajo del agricultor. Efectivamente, dado que su mecanismo de acción se traslada por la planta y a que el propio producto es sistémico, no es necesaria una aplicación masiva al estilo de los productos de cobre tradicionales para obtener un resultado adecuado. Además, la posibilidad de ser utilizado en riego, además de la obvia comodidad de aplicación, introduce

ES 2 303 809 B2

una variable mayor de seguridad, ya que el impacto sobre la fauna útil es nulo. Como han mostrado los numerosos ensayos realizados, no se han observado efectos adversos sobre artrópodos útiles. El riesgo sobre los organismos no objetivo se considera insignificante. De la misma manera, debido a su específico modo de acción, el potencial de crear resistencias es extremadamente bajo. Por el contrario, la composición de la invención podría formar parte de un plan de tratamientos para limitar la aparición de resistencias a fungicidas específicos.

En el mismo sentido, la composición de la invención no presenta riesgos de acumulación de residuos en la cosecha ni en los productos derivados de la misma (aceites, vinos...). Es acorde, por tanto, con los objetivos de producción integrada y puede ser empleada en agricultura ecológica, como lo certifican diversas entidades acreditadas (CERTICAE, CERTIPLANET y SOHISCERT). Así pues, la composición de la invención suma a su eficacia y seguridad un gran respeto por el medio ambiente.

La composición de la invención no muestra riesgos de fitotoxicidad ni es tóxico para los aplicadores. Por las características de la formulación, la composición de la invención presenta un perfil toxicológico muy favorable, en clara ventaja respecto a la mayoría de formulados empleados como fungicidas. Se han llevado a cabo estudios de toxicidad aguda de diverso tipo así como de potencial alergénico por parte del laboratorio de ensayo acreditado RCC CIDA SA que ha concluido que la composición de la invención se considera sin clasificar como producto de riesgo y no es necesario asignarle ninguna frase alusiva.

Así, en otro aspecto de la invención, se proporciona un método para evitar o reducir los daños de enfermedades en plantas cultivables, que comprende aplicar a las mismas la composición de la invención mediante fertirrigación o pulverización foliar.

En la pulverización foliar, se disuelve la dosis necesaria de la composición de la invención en la suficiente cantidad de agua para facilitar un reparto uniforme del producto sobre el cultivo. Debe asegurarse un correcto calibrado del equipo de aplicación.

En la aplicación a través del sistema de riego se seguirán las normas usuales en los tratamientos de fertigación.

La composición de la invención permite mitigar los daños que pueden causar enfermedades producidas por hongos tales como: *Alternaria brassicae* ("negrón" de las crucíferas), *Alternaria plurisepta* ("negrón" de las cucurbitáceas), *Alternaria solani* ("negrón" de la patata y tomate) y otras alternariosis, *Ascochyta fabae* ("antracnosis" de las habas), *Ascochyta hortorum* ("viruela" o "antracnosis" de la berenjena), *Ascochyta pisi* ("antracnosis" del guisante), *Cercospora beticola* ("cercospora" de la remolacha), *Colletotrichum coccodes* ("antracnosis" de la berenjena, pimiento y tomate), *Coniothyrium sp.* ("podredumbre negra"), *Diaporthe citri* ("fomopsis" de los cítricos), *Diplocarpon rosae* ("antracnosis" o "mancha negra" de rosas), *Glomerella lagenarium* ("antracnosis" del melón y otras cucurbitáceas), *Glomerella lindemuthiana* ("antracnosis" de la judía, haba, etc.), *Microdochium panattonianum* ("antracnosis" de la lechuga), *Monilia fructuigena* y *Monilia laxa* ("momificado" de las frutas de hueso y pepita), *Mycosphaerella fragariae* ("antracnosis" o "mancha negra" de la fresa), *Mycosphaerella rabiei* ("rabia" del garbanzo), *Pseudoperonospora humuli* ("mildiu" del lúpulo), *Phragmidium mucronatum* ("roya" del rosas), *Phytophthora capsici* ("mildiu" de la berenjena y pimiento), *Phytophthora citrophthora* y *Phytophthora hibernalis* ("aguado" de los cítricos), *Phytophthora infestans* ("mildiu" de la patata y del tomate), *Plasmopara viticola* ("mildiu" de la vid), *Pseudoperonospora humuli* ("mildiu" del lúpulo), *Pseudoperonospora cubensis* ("mildiu" del pepino), *Bremia lactucae* ("mildiu" de la lechuga), *Phytophthora cactorum* ("mildiu" de la fresa), *Spilosea oleagina* ("repilo"), *Stigmata carpophila* ("cribado"), *Taphrina deformans* ("abolladura"), *Uromyces spp.* ("royas" de las leguminosas), *Venturia cerasi* ("moteado" del cerezo), *Venturia inaequalis* ("moteado" del manzano), *Venturia pirina* ("moteado" del peral) y otras muchas enfermedades producidas por hongos endoparásitos en arbustos ornamentales, cítricos, fresa, frutales de hueso, frutales de pepita, frutales subtropicales, hortalizas, industriales, olivo, ornamentales, herbáceas, cereales, rosas y vid.

En el ámbito de las enfermedades causadas por bacterias, la composición de la invención permite mitigar los daños que pueden causar: *Agrobacterium tumefaciens*, *Clavibacter michiganensis*, *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, *Xylophilus (Xanthomonas) ampelina* y otras, en hortalizas, frutales, parral de vid y vid.

El uso de la composición de la invención permite, además, neutralizar las deficiencias de cobre en la planta que se manifiestan con necrosis en las hojas, que toman una apariencia de marchitez y oscuridad o que, en ocasiones, aparecen fuertemente enrolladas y con el ápice blanco, y con una disminución de la calidad de frutos y granos, apreciándose, en general, un desarrollo anormal de las plantas.

Análogamente, en otro aspecto de la invención, se proporciona un método para inducir y estimular las autodefensas de plantas cultivables, caracterizado porque comprende aplicar a las mismas la composición de la invención mediante fertirrigación o pulverización foliar.

La composición de la invención favorece la catalización de la biosíntesis de polifenoles y fitoalexinas, sustancias producidas como mecanismo de defensa natural de las plantas que son tóxicas para hongos y bacterias, por lo que limitan la dispersión del patógeno. La composición de la invención, por tanto, actúa como fungistático y bacteriostático a la vez que genera autodefensas frente a enfermedades de origen fúngico o bacteriano.

ES 2 303 809 B2

Análogamente, en otro aspecto de la invención, se proporciona un método para aumentar el vigor y la salubridad de plantas cultivables, caracterizado porque comprende aplicar a las mismas la composición de la invención mediante fertirrigación o pulverización foliar.

5 La composición de la invención favorece la fotosíntesis y el desarrollo de los tejidos vegetales, con lo que las plantas de los cultivos tratados con la misma presentan un notable aumento de vigor, tanto en relación a los no tratados como en relación a los tratados con productos convencionales. La composición de la invención, por tanto, puede considerarse como un producto fortificante, que contribuye a mejorar la vegetación de los cultivos, induciendo respuestas de defensa frente a estrés abiótico que se traducen en plantas vigorosas con excelente brillo y color. Unas plantas más
10 vigorosas, además, son menos susceptibles de sufrir daños por ataques de patógenos.

La dosis de aplicación, así como los intervalos de tiempo entre aplicaciones, vendrán determinados por el tipo de planta a tratar, el hongo o la bacteria en cuestión y el tipo de aplicación (pulverización foliar o fertirrigación).

15 Finalmente, la composición de la invención es muy estable y homogénea por lo que no necesita de agitación constante en la cuba de aplicación y no presenta tampoco ningún riesgo de obturación de boquillas o goteros.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención y no deben ser considerados como limitativos del alcance de la misma.

20 Ejemplo I

Preparación de una composición para uso agrícola que contiene un 23% en peso de monogluconato y monogalacturonato de cobre

25 En un reactor de agitación cerrado se introducen agua a una temperatura de 60 grados centígrados, un 40% de pectina alimentaria de melocotón de baja metoxilación y no amidada y un 5% de poligalacturonasa y pectin liasa comerciales, añadiendo un 2% de ácido cítrico. A continuación se mantiene la agitación durante 24 horas hasta que finalice la reacción.

30 Seguidamente se inyecta dióxido de carbono para eliminar el oxígeno del reactor y se añade un 0,5% de D-galacturonato reductasa comercial para obtener ácido glucónico por reducción del ácido galacturónico, manteniendo la agitación 3 horas hasta el final de la reacción.

35 Por último se añade al reactor un 25% de sulfato de cobre comercial y se continúa la agitación 3 horas hasta disolución completa. Dicha disolución se somete entonces a una centrifugación para eliminar la fracción precipitada de complejos de cobre a base de ligandos poliméricos. Tras la centrifugación, se separa una pequeña fase sólida, que se desprecia, y una fase líquida de color azul intenso. Esta fase líquida se deja decantar cinco días en tanques de maduración para que se depositen en el fondo las pequeñas partículas de complejos precipitados y se pueda obtener,
40 finalmente, una composición en forma de un líquido claro de color azul intenso sin sólidos en suspensión, con un valor de pH final entre 3 y 4 y con un 23% en peso de monogluconato y monogalacturonato de cobre.

Ejemplo I

45 *Capacidad de la composición obtenida en el Ejemplo I para inducir resistencia frente al oomiceto biotrofo Hyaloperonospora parasítica NOCO2 en la planta dicotiledónea Arabidopsis thaliana*

Se efectuaron una serie de experimentos independientes en el Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas de la Universidad Politécnica de Madrid.

50 Para analizar la capacidad de la composición obtenida en el Ejemplo I para inducir resistencia en la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, se realizaron los experimentos con plantas silvestres (Col-0) y los mutantes *npr1-1* y *cpr1-5* (fondo genético Col-0) que tienen, respectivamente, inactivada y activada de forma constitutiva la SAR o Resistencia Sistémica Adquirida (Glazebrook y col., 2001, *Genes controlling expression of defense response in Arabidopsis: 2001 status. Curr. Opin. Plant Biol.* 4, 301-308).

55 Se trataron plántulas de los tres genotipos de 9 ó 14 días de edad, que habían sido germinadas y crecidas en tierra según protocolos descritos (Berrocal-Lobo y col., 2002, *Constitutive expression of Ethylene-Response-Factor 1 in Arabidopsis confers enhanced resistance to several necrotrophic fungi*. *Plant Journal* 29, 23-32), con agua (tratamiento control) o con diferentes concentraciones de la composición obtenida en el Ejemplo I (25 ml/l, 2,5 ml/l ó 0,25 ml/l), y dos días mas tarde se inocularon con el hongo oomiceto biotrofo *Hyaloperonospora parasítica NOCO2*, que es virulento en plantas Col-0, fondo genético de las plantas silvestres y de los mutantes analizados. En un primer experimento, se determinó que concentraciones de la composición de 1 ml/l o inferiores no tenían efectos fitotóxicos sobre las plántulas.

65 Tras este análisis preliminar de la fitotoxicidad de la composición en *Arabidopsis thaliana* se realizaron tres experimentos (Experimentos 1-3), en los que se trataron plántulas silvestres (Col-0), y mutantes *npr1-1* o *cpr1-5*, de 9 ó 14 días de edad, con agua (tratamiento control, 0 ml/l) o con diferentes concentraciones de la composición obtenida

ES 2 303 809 B2

en el Ejemplo I (2,5 ml/l ó 0,25 ml/l, en experimento 1 y 2; 1 ml/l y 0,25 ml/l en experimento 3). Se utilizaron al menos 40 plántulas de cada genotipo para cada uno de los tratamientos ensayados. Dos días mas tarde se inocularon las plantas tratadas con el oomiceto biotrofo *Hyaloperonospora parasitica* NOCO2, que es virulento en plantas Col-0, fondo genético de las plantas silvestres y mutantes analizados, y se siguió microscópicamente el progreso de la enfermedad. Se determinó entre 10-14 días después de la inoculación el nivel de infección de las plántulas inoculadas mediante la cuantificación del número de esporas producidas por el oomiceto por miligramo de peso fresco de las plantas (Llorente y col., 2005, *Erecta receptor-like kinase and heterotrimeric G protein from Arabidopsis are required for resistance to the necrotrophic fungus Plectosphaerella cucumerina*. Plant Journal 43, 165-180).

Los resultados se muestran en las Figuras 1-3 en las que los asteriscos indican valores significativamente diferentes ($p < 0,01$, t-test) de los genotipos respectivos sin tratar (0 ml/l). Los datos representan la media de al menos 40 plantas (\pm error estándar).

Tal y como se observa en dichas Figuras 1-3, el número de esporas de *Hyaloperonospora parasitica* por miligramo de peso fresco de plántulas era significativamente inferior en las plántulas Col-0 tratadas con 2,5 ml/l (Exp. 1 y 2), 1 ml/l (Exp. 3) ó 0,25 ml/l (Exps. 1-3), que en las no tratadas (0 ml/l). El nivel de resistencia de las plántulas Col-0 tratadas con la composición obtenida en el Ejemplo I dependía de la concentración aplicada del compuesto, alcanzándose niveles de protección superiores al 80-90% para concentraciones de 2,5 ml/l y 1 ml/l. Concentraciones de 0,25 ml/l de la composición obtenida en el Ejemplo I conferían niveles de protección superiores al 60% en las plántulas Col-0 (Figuras 1-3). Los niveles de protección observados son similares a los del mutante *cpr1-5* (incluido en el experimento como control de resistencia a *H. parasitica* NOCO2) que presenta un alto nivel de resistencia a *Hyaloperonospora parasitica* NOCO2 (Glazebrook 2001, *supra*; Figura 3).

Con el objetivo de determinar si el modo de acción de la composición obtenida en el Ejemplo I era similar al del inductor denominado BION/BTH, un activador de la SAR, se incluyó en los análisis el mutante *npr1-1* que tiene bloqueada la ruta de activación de la SAR y no responde al tratamiento con BION/BTH (Cao y col., 1996, *The Arabidopsis NPR1 gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats*. Cell 88, 57-63; Glazebrook, 2001, *supra*). Tal y como se observa en las Figuras 1-3, el número de esporas de *Hyaloperonospora parasitica* por miligramo de peso fresco de plántulas *npr1-1* era significativamente inferior en aquellas plántulas que habían sido tratadas con 2,5 ml/l (Exp. 1 y 2), 1 ml/l (Exp. 3) ó 0,25 ml/l (Exps. 1-3), que en las plántulas no tratadas (0 ml/l). El nivel de resistencia de las plántulas *npr1-1* tratadas con la composición obtenida en el Ejemplo I dependía de la concentración aplicada, alcanzándose niveles de protección superiores al 80-90% para concentraciones de 2,5 ml/l y 1 ml/l. Concentraciones de 0,25 ml/l de la composición conferían niveles de protección entre 60%-30% aproximadamente en las plántulas *npr1-1* (Figuras 1-3). Los niveles de protección observados son similares a los del mutante *cpr1-5* que presenta un alto nivel de resistencia a *Hyaloperonospora parasitica* NOCO2 (Glazebrook 2001, *supra*; Figura 3).

De dichos resultados puede concluirse, por tanto, que la composición obtenida en el Ejemplo I induce resistencia en *Arabidopsis thaliana* frente a *Hyaloperonospora parasitica* a concentraciones de 0,25 ml/l, siendo esta actividad dependiente de la dosis utilizada. Asimismo, confiere resistencia en el mutante *npr1-1*, que no responde al inductor BION/BTH y que tienen bloqueada la activación de la SAR. Su actividad en plantas silvestres Col-0 y *npr1-1* es esencialmente equivalente, lo que sugiere que el modo de acción de la composición ensayada difiere del descrito para el BION/BTH.

Ejemplo 2

Aplicación de la composición obtenida en el Ejemplo I para mitigar el ataque de Phytophthora infestans (mildiu) sobre tomate en invernadero

Ensayo en aplicación foliar

Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I con intervalos medios de 14-21 días, a dosis de 300 g/hl. Asimismo, se aplicó el producto estándar Cupravit 35 WP (oxicloruro cuprocálcico, polvo mojable), a dosis de 500 g/hl. Se midió el número de hojas atacadas por parcela.

El ensayo fue realizado por UNICOM S.L. (EOR 50/03), en Campohermoso (Almería), en la finca "Las Maravillas", sobre tomate variedad Tovi.

En cuanto a la eficacia mitigante sobre el ataque del patógeno, se observó acción fungistática preventiva de la composición ensayada, frenando la progresión de la enfermedad en la planta. Los resultados obtenidos son mejores que los obtenidos con Cupravit 35 WP.

En la Figura 4 se muestra la eficacia de la composición ensayada para contener o mitigar la progresión de la infección del patógeno *Phytophthora infestans*, retrasando la necesidad de intervenir con fungicidas específicos o curativos.

En ningún momento se observaron síntomas de intolerancia con ninguna de las dosis ensayadas. El cultivo de tomate toleró perfectamente todas las aplicaciones.

ES 2 303 809 B2

Con la composición ensayada se consiguió un aspecto más natural en el brillo y verdor de las hojas, comportándose como inductor de respuesta de vigor (Véase la Figura 5).

5 *Ensayo en aplicación a través del riego*

Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I con intervalos medios de 7-16 días, a dosis de 3 l/ha. Asimismo, se aplicó el producto estándar Cupravit 35 WP (oxicloruro cuprocálcico, polvo mojable), a dosis de 4 l/ha. Se midió el número de hojas atacadas por parcela.

10 El ensayo fue realizado por UNICOM S.L. (EOR 50/03), en Campohermoso (Almería), en la finca “Las Maravillas”, sobre tomate variedad Tovi (Ensayo UNO 13-2006. Dispositivo RCB - 4 repeticiones).

15 Como puede verse en la Figura 6, y al igual que en el ensayo de aplicación foliar, tratamientos continuados con la composición ensayada aplicada a través del riego, frenaron la progresión del ataque de *Phytophthora infestans* sobre tomate en invernadero. El nivel de ataque del patógeno fue notablemente menor que en las parcelas tratadas con Cupravit 35 WP.

20 En ningún momento se observaron síntomas de intolerancia con ninguna de las dosis ensayadas. El cultivo de tomate toleró perfectamente todas las aplicaciones.

Con la composición ensayada se consiguió un aspecto más natural en el brillo y verdor de las hojas, comportándose como inductor de respuesta de vigor (Véase la Figura 7).

25 Ejemplo 3

Aplicación de la composición obtenida en el Ejemplo I para mitigar el ataque de Pseudoperonospora cubensis (mildiu) sobre pepino en invernadero

30 *Ensayo en aplicación foliar*

35 Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I con intervalos medios de 14-21 días, a dosis de 300 g/hl. Asimismo, se aplicó el producto estándar Cupravit 35 WP (oxicloruro cuprocálcico, polvo mojable), a dosis de 500 g/hl. Se determinó el porcentaje de superficie foliar atacada.

El ensayo fue realizado por UNICOM S.L. (EOR 50/03), en Carchuna (Granada), en la finca “Las Chuchas”, sobre pepino holandés variedad Brasilia (Ensayo UNO 14-2006. Dispositivo RCB - 4 repeticiones).

40 En cuanto a la eficacia mitigante sobre el ataque del patógeno, se observó acción fungistática preventiva de la composición ensayada, frenando el inicio de ataque del patógeno. Los resultados obtenidos son mejores que los obtenidos con Cupravit 35 WP.

45 En la Figura 8 se muestra la eficacia de la composición ensayada respecto a la superficie foliar atacada por el patógeno *Pseudoperonospora cubensis* (Ensayo UNO 15-2006. Dispositivo RCB - 4 repeticiones).

En ningún momento se observaron síntomas de intolerancia con ninguna de las dosis ensayadas. El cultivo de pepino toleró perfectamente todas las aplicaciones.

50 Con la composición ensayada se consiguió un aspecto más natural en el brillo y verdor de las hojas, comportándose como inductor de respuesta de vigor (Véase la Figura 9). La aplicación continuada de formulados WP provocó en las hojas cierto “acartonamiento” (endurecimiento) y dejó “marcas” (restos) en las mismas que influyen negativamente en el aspecto de la planta, hecho éste que no ocurre con la composición de la invención ensayada.

55 *Ensayo en aplicación a través del riego*

60 Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I con intervalos medios de 7-11 días, a dosis de 3 l/ha. Asimismo, se aplicó el producto estándar Cupravit 35 WP (oxicloruro cuprocálcico, polvo mojable), a dosis de 4 l/ha. Se midió el número de plantas atacadas por parcela.

El ensayo fue realizado por UNICOM S.L. (EOR 50/03), en Carchuna (Granada), en la finca “Las Chuchas”, sobre pepino holandés variedad Brasilia. (Ensayo UNO 16-2006. Dispositivo RCB - 4 repeticiones).

65 El ataque se originó en un período muy corto en el tiempo (4-5 días), hecho que suele ser bastante frecuente en este cultivo. Si, además, las condiciones le son favorables, los días siguientes al fuerte inicio de ataque (“explosión”), la infestación se extiende rápidamente por todo el invernadero.

ES 2 303 809 B2

Como puede verse en la Figura 10, y al igual que en el ensayo de aplicación foliar, tratamientos continuados con la composición ensayada aplicada a través del riego, frenaron el inicio y la progresión del ataque de *Pseudoperonospora cubensis* sobre pepino en invernadero. El nivel de ataque del patógeno fue notablemente menor que en las parcelas tratadas con Cupravit 35 WP.

Todas las dosis ensayadas fueron perfectamente toleradas por el cultivo y en ningún momento se observaron síntomas de fitotoxicidad.

Con la composición ensayada se consiguió un aspecto más natural en el brillo y verdor de las hojas, comportándose como inductor de respuesta de vigor (Véase la Figura 11).

Ejemplo 4

Aplicación de la composición obtenida en el Ejemplo I para mitigar el ataque de Bremia lactucae (mildiu) sobre lechuga cultivada al aire libre

Ensayo en aplicación foliar

Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I a dosis de 2,5 l/hl, 3 l/hl y 4 l/hl. Asimismo, se aplicó el producto estándar KDOS (hidróxido cúprico), a una dosis de 2,5 kg/hl. Se determinó el porcentaje de plantas con ataque significativo.

El ensayo fue realizado por SICOP (EOR 50/03), en Zafarraya (Granada), sobre lechuga, variedad Isasa, cultivada al aire libre (Ensayo SIFF07003GR019: Dispositivo RCB - 4 repeticiones, 12 m² por parcela elemental).

En cuanto a la eficacia mitigante sobre el ataque del patógeno, se observó que la aplicación continuada de la composición ensayada, evitó la rápida progresión de la enfermedad en la planta. Los resultados obtenidos son mejores que los obtenidos con KDOS.

En la Figura 12 se muestra la eficacia de la composición ensayada para contener o mitigar la progresión de la infección del patógeno *Bremia lactucae*.

Los resultados de las evaluaciones de tolerancia no mostraron ningún síntoma de daños sobre el cultivo.

En cuanto al vigor, los resultados obtenidos muestran claramente la actividad inductora de la composición ensayada, traducida en plantas con más brillo, mayor desarrollo y uniformidad (Véase la Figura 13).

Ensayo en aplicación a través del riego

Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I a dosis de 2,5 l/ha, 3 l/ha y 4 l/ha. Asimismo, se aplicó el producto estándar KDOS (hidróxido cúprico), a una dosis de 2,5 kg/ha. Se determinó el porcentaje de plantas con ataque significativo.

El ensayo fue realizado por SICOP (EOR 50/03) en Valencia, sobre lechuga Romana cultivada al aire libre (Ensayo SIFF07005VA014: Dispositivo RCB - 4 repeticiones, 6 m² por parcela elemental).

Como puede verse en la Figura 14, y al igual que en el ensayo de aplicación foliar, el número de plantas con ataque significativo de *Bremia*, fue sensiblemente menor en las parcelas tratadas con la composición ensayada, en relación a las tratadas con el producto estándar de referencia.

Los resultados de las evaluaciones de tolerancia no mostraron ningún síntoma de daños sobre el cultivo. Asimismo, se redujeron significativamente el riesgo de fitotoxicidad, los problemas de plazo de espera y de presencia de residuos en el cultivo.

Al igual que en la aplicación foliar, los resultados obtenidos con la composición ensayada aplicada a través del riego, muestran claramente la actividad inductora de la misma sobre el aumento de vigor, lo que se traduce en plantas con más brillo, y mayor desarrollo y uniformidad (Véase la Figura 15).

Ejemplo 5

Aplicación de la composición obtenida en el Ejemplo I para mitigar el ataque de Phytophthora cactorum (mildiu) sobre fresa cultivada bajo túnel de plástico

Ensayo en aplicación foliar

Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I a dosis de 2,5 l/hl y 3 l/hl. Asimismo, se aplicó el producto estándar KDOS (hidróxido cúprico), a una dosis de 2,5 Kg/hl. Se determinó el porcentaje de plantas con síntomas de ataque por parcela.

ES 2 303 809 B2

El ensayo lo realizó la empresa SICOP (EOR 50/03), en Almonte, provincia de Huelva, en la finca Agrodoñana Integral, sobre fresa variedad Ventana (Ensayo SIFF07001AA002: Dispositivo RCB - 4 repeticiones, 4 m² por parcela elemental).

5 En cuanto a la eficacia mitigante sobre el ataque del patógeno, se observó que la aplicación continuada de la composición ensayada, evitó la rápida progresión de la enfermedad en la planta. Los resultados obtenidos son mejores que los obtenidos con KDOS.

10 En la Figura 16 se muestra la eficacia de la composición ensayada para contener o mitigar la progresión de la infección del patógeno *Phytophthora cactorum* (mildiu de la fresa). Así, puede observarse que 10 días después de la 3ª aplicación, las plantas se mantuvieron en niveles mínimos de ataque en relación al testigo, e incluso en relación al producto estándar de referencia.

15 Las evaluaciones de tolerancia confirmaron la ausencia de riesgos de fitotoxicidad después de aplicaciones repetidas de la composición ensayada, incluso a la dosis máxima.

20 Asimismo, se ha constatado la eficacia global de la composición ensayada sobre la salubridad de las plantas, incluida la mejora vegetativa y el vigor de las mismas, que fue notablemente mejor que en las parcelas testigo o en las tratadas con el producto estándar (Véase la Figura 17).

Ensayo en aplicación a través del riego

25 Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I a dosis de 1,5 l/ha, 2,5 l/ha y 3 l/ha. Asimismo, se aplicó el producto estándar KDOS (hidróxido cúprico), a una dosis de 2,5 kg/ha. Se determinó el porcentaje de plantas muertas o con síntomas de ataque por parcela.

30 El ensayo fue realizado por la empresa SICOP (EOR 50/03), en Almonte, provincia de Huelva, en la finca Agrodoñana Integral, sobre fresa variedad Ventana (Ensayo SIFF00AA003: Dispositivo RCB - 4 repeticiones, 6 m² por parcela elemental).

35 En cuanto a la eficacia mitigante sobre el ataque del patógeno, se observó que la aplicación continuada de la composición ensayada, evitó la rápida progresión de la enfermedad en la planta. Los resultados obtenidos son mejores que los obtenidos con KDOS.

40 En la Figura 18 se muestra la eficacia de la composición ensayada para contener o mitigar la progresión de la infección del patógeno *Phytophthora cactorum* (mildiu de la fresa). Así, puede observarse que 10 días después de la 3ª aplicación, las plantas se mantuvieron en niveles mínimos de ataque en relación al testigo, e incluso en relación al producto estándar de referencia, cuya eficacia fue totalmente insuficiente.

45 El evaluador destacó que numerosas plantas que, en la evaluación inicial se clasificaron como afectadas, después de las aplicaciones de la composición ensayada, mostraron síntomas de recuperación, observándose principalmente nuevas emisiones de hojas.

Las evaluaciones de tolerancia confirmaron la ausencia de riesgos de fitotoxicidad después de aplicaciones repetidas de la composición ensayada, incluso a la dosis máxima. Asimismo, se redujeron significativamente los problemas de plazo de espera y de presencia de residuos en el cultivo.

50 Asimismo, se ha constatado un claro fortalecimiento general de las plantas que muestran mayor vigor y mejor salubridad (Véase la Figura 19).

Ejemplo 6

55 *Aplicación de la composición obtenida en el Ejemplo I para mitigar el ataque de Venturia inaequalis (moteado) sobre manzano*

Ensayo en aplicación foliar

60 Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I a dosis de 250 ml/hl, 300 ml/hl y 500 ml/hl. Asimismo, se aplicó el producto estándar KDOS (hidróxido cúprico) a una dosis de 250 g/hl. Se determinó el porcentaje de frutos limpios, con menos de 3 manchas, o con más de 3 manchas de moteado. Por otro lado, se calculó el porcentaje de frutos limpios por parcela.

65 El ensayo lo realizó la empresa SICOP (EOR 50/03), en Xixona, provincia de Alicante, en una finca de la Cooperativa Valenciana, sobre manzano variedad Starking (Ensayo SIFF07009VA010: Dispositivo RCB - 4 repeticiones, 4 árboles por parcela elemental).

ES 2 303 809 B2

En cuanto a la eficacia mitigante sobre el ataque del patógeno, se observó que la aplicación continuada de la composición ensayada, evitó la rápida progresión de la enfermedad en la planta. Los resultados obtenidos son mejores que los obtenidos con KDOS.

5 En las Figuras 20 y 21 se muestra la eficacia de la composición ensayada para contener o mitigar la progresión de la infección del patógeno *Venturia inaequalis* (moteado del manzano). Así, puede observarse que, a pesar de que el ataque del patógeno fue notable sobre fruto, el resultado con cualquiera de las dosis de la composición ensayada fue superior al obtenido con el producto estándar en cuanto al menor número de frutos evaluados con más de 3 manchas (Figura 20) o en cuanto al número de frutos limpios (Figura 20 y Figura 21).

10 Las evaluaciones de tolerancia confirmaron la ausencia de riesgos de fitotoxicidad después de aplicaciones repetidas de la composición ensayada, incluso a la dosis máxima.

15 Asimismo, se ha constatado que, al igual que se ha comentado en los ensayos anteriores sobre cultivos anuales, también sobre cultivos perennes destaca la capacidad de la composición ensayada para inducir repuestas de mejora sobre el vigor del cultivo (Véase la Figura 22).

Ejemplo 7

20 *Aplicación de la composición obtenida en el Ejemplo I para mitigar el ataque de Venturia pyrina (moteado) sobre peral*

Ensayo en aplicación foliar

25 Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I a dosis de 250 ml/hl, 300 ml/hl y 500 ml/hl. Asimismo, se aplicó el producto estándar KDOS (hidróxido cúprico) a una dosis de 250 g/hl. Se determinó el porcentaje de frutos limpios, con 1 mancha, con 2-3 manchas, o con más de 3 manchas de moteado. Por otro lado, se calculó el porcentaje de frutos limpios.

30 El ensayo lo realizó la empresa SICOP (EOR 50/03), en Fuente Vaqueros, provincia de Granada, en la finca Haza Pedro Ruiz, propiedad de D. Manuel Martín, sobre peral variedad Blanquilla, de 8 años, con riego localizado (Ensayo SIFF07011GRO20: Dispositivo RCB - 4 repeticiones, 6 árboles por parcela elemental).

35 En cuanto a la eficacia mitigante sobre el ataque del patógeno, se observó que la aplicación continuada de la composición ensayada, evitó la rápida progresión de la enfermedad en la planta. Los resultados obtenidos son mejores que los obtenidos con KDOS.

40 En las Figuras 23 y 24 se muestra la eficacia de la composición ensayada para contener o mitigar la progresión de la infección del patógeno *Venturia pyrina* (moteado del peral). Así, puede observarse que, a pesar de que el ataque del patógeno fue notable sobre fruto, el resultado con cualquiera de las dosis de la composición ensayada fue superior al obtenido con el producto estándar en cuanto en cuanto al menor número de frutos evaluados con más de 3 manchas (Figura 23) o en cuanto al número de frutos limpios (Figura 23 y Figura 24).

45 La tolerancia fue total a cualquiera de las dosis ensayadas, no observándose ningún síntoma de fitotoxicidad.

Asimismo, se ha constatado que, al igual que en el caso del ensayo sobre manzano, la respuesta de aumento de vigor fue notoria en relación al testigo y al producto estándar (Véase la Figura 25).

50 Ejemplo 8

Aplicación de la composición obtenida en el Ejemplo I para mitigar el ataque de Monilinia spp (momificado) sobre melocotonero

55 *Ensayo en aplicación foliar*

60 Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I a dosis de 250 ml/hl, 300 ml/hl y 500 ml/hl. Asimismo, se aplicó el producto estándar KDOS (hidróxido cúprico) a una dosis de 250 g/hl. Se determinó el porcentaje de frutos limpios, con 1 mancha, con 2-3 manchas, o con más de 3 manchas de moteado. Por otro lado, se calculó el porcentaje de frutos atacados por parcela.

65 El ensayo lo realizó la empresa SICOP (EOR 50/03), en Turís, provincia de Valencia, sobre la variedad Ambra (Ensayo SIFF07006VA016: Dispositivo RCB - 4 repeticiones, 4 árboles por parcela elemental).

En cuanto a la eficacia mitigante sobre el ataque del patógeno, se observó que la aplicación continuada de la composición ensayada, evitó la rápida progresión de la enfermedad en la planta. Los resultados obtenidos son mejores que los obtenidos con KDOS.

ES 2 303 809 B2

En la Figura 26 se muestra la eficacia de la composición ensayada para contener o mitigar la progresión de la infección del patógeno *Monilinia spp* (momificado del melocotonero). Así, puede observarse que los resultados para la dosis máxima de la composición ensayada, 500 ml/hl, fueron superiores que los obtenidos con el producto estándar. Las dosis de composición ensayada de 250 y 300 ml/hl, depararon eficacias similares a la obtenida con el producto estándar.

La composición ensayada no presentó ningún riesgo de intolerancia, ni problemas de residuos.

Asimismo, se ha constatado que los tratamientos con la composición ensayada se traducen en la planta en un claro fortalecimiento general, mostrando mayor vigor y mejor salubridad (Véase la Figura 27).

Ejemplo 9

15 *Aplicación de la composición obtenida en el Ejemplo I para mitigar el ataque de Plasmopara viticola (mildiu) sobre viña*

Ensayo en aplicación foliar

20 Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I a dosis de 250 ml/hl, 300 ml/hl y 500 ml/hl. Asimismo, se aplicó el producto estándar KDOS (hidróxido cúprico) a una dosis de 250 g/hl. Se efectuaron dos evaluaciones con un intervalo de 1 semana, y se determinó para cada una de ellas el porcentaje de hojas limpias y el porcentaje de hojas con 5-30%, con 40-60% y con más del 70% de superficie foliar atacada.

25 El ensayo lo realizó la empresa SICOP (EOR 50/03), en Bollullos del Condado, provincia de Huelva, en la finca “La Parrilla”, sobre la variedad Zalema, de 47 años (Ensayo SIFF07012GR044: Dispositivo RCB - 4 repeticiones, 49 m² por parcela elemental).

30 En cuanto a la eficacia mitigante sobre el ataque del patógeno, se observó que la aplicación continuada de la composición ensayada, evitó la rápida progresión de la enfermedad en la planta. Los resultados obtenidos son mejores que los obtenidos con KDOS.

35 En las Figuras 28 y 29 se muestra la eficacia de la composición ensayada para contener o mitigar la progresión de la infección del patógeno *Plasmopara viticola* (mildiu de la viña). Así, puede observarse que los resultados para cualquiera de las dosis de la composición ensayada fueron superiores que los obtenidos con el producto estándar en cuanto al número de hojas limpias, o en cuanto al menor número de hojas evaluadas hasta 80% de superficie foliar atacada.

40 Se destaca que el nivel de ataque de mildiu (*Plasmopara viticola*) fue considerable en el transcurso del ensayo, lo cual permitió analizar con mayor objetividad los datos aportados. El momento de iniciarse las aplicaciones, considerando el carácter preventivo de las aplicaciones, fue óptimo.

45 Las favorables condiciones para el desarrollo de la enfermedad permitieron evaluar prontamente los primeros focos detectados de mildiu en hojas, ataque que se incrementó notablemente en la evaluación posterior.

La tolerancia del cultivo fue total, no evaluándose ningún síntoma de fitotoxicidad ni riesgo por la presencia de residuos.

50 Asimismo, se ha constatado que los tratamientos con la composición ensayada se traducen en la planta en un claro fortalecimiento general, mostrando mayor vigor y mejor salubridad (Véase la Figura 30).

Ejemplo 10

55 *Aplicación de la composición obtenida en el Ejemplo I para mitigar el ataque de Spilocea oleagina (repilo) sobre olivo*

10.1 Ensayo n° 1

60 *Ensayo en aplicación foliar*

Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I a dosis de 400 ml/hl. Asimismo, se aplicó el producto estándar SC (sulfato cuprocálcico) al 20% a una dosis de 800 g/hl. Se determinó la intensidad y frecuencia del ataque, así como el repilo latente.

65 El ensayo lo realizó la empresa PROMO-VERT (EOR 19/97), en Aznalcollar, provincia de Sevilla, en la finca “El Prado”, sobre la variedad Picual (Ensayo 06 F OL SA 01: Dispositivo - 4 repeticiones, 4 árboles por parcela elemental).

ES 2 303 809 B2

En cuanto a la eficacia mitigante sobre el ataque del patógeno, se observó que la aplicación continuada de la composición ensayada, evitó la rápida progresión de la enfermedad en la planta. Los resultados obtenidos son mejores que los obtenidos con el producto estándar SC.

5 En las Figuras 31 y 32 se muestra la eficacia de la composición ensayada para contener o mitigar la progresión de la infección del patógeno *Spilotea oleagina* (repilo del olivo). Así, puede observarse que los resultados para una dosis de 400 ml/hl de la composición ensayada son similares a los obtenidos con el producto estándar. La actividad respecto a la frecuencia de ataque está para ambos productos entre el 60 y el 70% (Figura 31).

10 En cuanto al porcentaje de ataque en brotes (intensidad de ataque) ha sido suficiente para evaluar este ensayo, en este caso la dosis de la composición ensayada de 400 ml/hl supera al producto estándar con un valor del 75% de actividad, que en este caso fue para mitigar los daños del patógeno (Figura 31).

15 La evaluación de repilo latente muestra un aumento en los testigos desde el 5,5% inicial hasta el 12,5% de hojas afectadas, mientras que en el caso de la composición ensayada a 400 ml/hl y el producto estándar, se quedó en un 4% y un 5% de hojas afectadas, respectivamente, al final del ensayo (Figura 32).

20 También se realizó una evaluación de la defoliación causada por *Spilotea* mediante la pesada de las hojas a la recolección de aceitunas. Se observó una media de 34 g en los testigos, mientras que para la composición ensayada a 400 ml/hl y el producto estándar la defoliación fue inapreciable con 3 g en cada caso.

La tolerancia del cultivo fue total, no observándose ninguna sintomatología de fitotoxicidad.

25 Asimismo, se ha constatado que los tratamientos con la composición ensayada se traducen en la planta en un claro fortalecimiento general, mostrando mayor vigor y mejor salubridad (Véase la Figura 33).

10.2 Ensayo nº 2

Ensayo en aplicación foliar

30 Se aplicó la composición obtenida en el Ejemplo I a dosis de 400 ml/hl. Asimismo, se aplicó el producto estándar SC (sulfato cuprocálcico) al 20% a una dosis de 800 g/hl. Se determinó la intensidad y frecuencia del ataque, así como el repilo latente.

35 El ensayo lo realizó la empresa PROMOVERT (EOR 19/97), en Puebla del Río, provincia de Sevilla, en la finca "El Aceitunillo", sobre la variedad Manzanillo (Ensayo 06 F OL SA 02: Dispositivo - 4 repeticiones, 3 ó 4 árboles por parcela elemental).

40 En cuanto a la eficacia mitigante sobre el ataque del patógeno, se observó que la aplicación continuada de la composición ensayada, evitó la rápida progresión de la enfermedad en la planta. Los resultados obtenidos son mejores que los obtenidos con el producto estándar SC.

45 En las Figuras 34 y 35 se muestra la eficacia de la composición ensayada para contener o mitigar la progresión de la infección del patógeno *Spilotea oleagina* (repilo del olivo). Así, puede observarse que los resultados para una dosis de 400 ml/hl de la composición ensayada son similares a los obtenidos con el producto estándar, con una buena actividad que llega a ser del 80% para ambos.

50 En cuanto a la intensidad de ataque, este sufre un aumento desde el 0,7% inicial al 8,8% en los testigos. En el caso de la composición ensayada a 400 ml/hl, se obtienen valores de actividad que alcanzan el 86% (Figura 34).

La evaluación de repilo latente reproduce un aumento en los testigos que va desde el 3,8% inicial al 27% en las parcelas testigo. Es significativamente más bajo para la composición ensayada a 400 ml/hl y para el producto estándar con valores del 7% y 8%, respectivamente, al final del ensayo (Figura 35).

55 La tolerancia del cultivo fue total, no observándose ningún síntoma de fitotoxicidad sobre el cultivo.

Asimismo, se ha constatado que los tratamientos con la composición ensayada se traducen en la planta en un claro fortalecimiento general, mostrando mayor vigor y mejor salubridad (Véase la Figura 36).

60

65

ES 2 303 809 B2

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición para uso agrícola **caracterizada** porque comprende un principio activo que consiste en una mezcla de monogluconato de cobre y monogalacturonato de cobre.
2. Composición según la reivindicación 1, **caracterizada** porque comprende un 15-30% en peso de principio activo.
- 10 3. Composición según la reivindicación 2, **caracterizada** porque comprende un 23% en peso de principio activo.
4. Composición según la reivindicación 1, **caracterizada** porque comprende uno o más aditivos seleccionados de entre un tensioactivo y un regulador del pH.
- 15 5. Composición según la reivindicación 4, **caracterizada** porque el tensioactivo es un alcohol etoxilado C₈-C₁₈ y el regulador de pH es un ácido carboxílico de bajo peso molecular.
6. Procedimiento para la preparación de la composición para uso agrícola de las reivindicaciones 1-5, **caracterizado** porque comprende las etapas de:
- 20 (a) disolver en agua un 30-50% en peso, respecto al peso total de composición final, de pectina a una temperatura de 55-65°C y añadir un 4-6% en peso respecto al peso total de composición final de al menos una enzima pectinasa;
- (b) hacer pasar una corriente de dióxido de carbono por la solución obtenida en la etapa (a) y añadir un 0,3-0,6% en peso, respecto al peso total de composición final, de al menos una enzima reductasa; y
- 25 (c) añadir a la solución obtenida en la etapa (b) una sal soluble de cobre.
7. Procedimiento según la reivindicación 6, **caracterizado** porque en la etapa (a) se disuelve un 40% en peso, respecto al peso total de composición final, de pectina a una temperatura de 60°C y se añade un 5% en peso, respecto al peso total de composición final, de al menos una enzima pectinasa.
- 30 8. Procedimiento según la reivindicación 6, **caracterizado** porque en la etapa (b) se añade un 0,5% en peso, respecto al peso total de composición final, de al menos una enzima reductasa.
- 35 9. Método para evitar o reducir los daños de enfermedades en plantas cultivables, **caracterizado** porque comprende aplicar a las mismas la composición para uso agrícola de las reivindicaciones 1-5 mediante fertirrigación o pulverización foliar.
- 40 10. Método para inducir y estimular las autodefensas de plantas cultivables, **caracterizado** porque comprende aplicar a las mismas la composición para uso agrícola de las reivindicaciones 1-5 mediante fertirrigación o pulverización foliar.
- 45 11. Método para aumentar el vigor y la salubridad de plantas cultivables, **caracterizado** porque comprende aplicar a las mismas la composición para uso agrícola de las reivindicaciones 1-5 mediante fertirrigación o pulverización foliar.
- 50
- 55
- 60
- 65

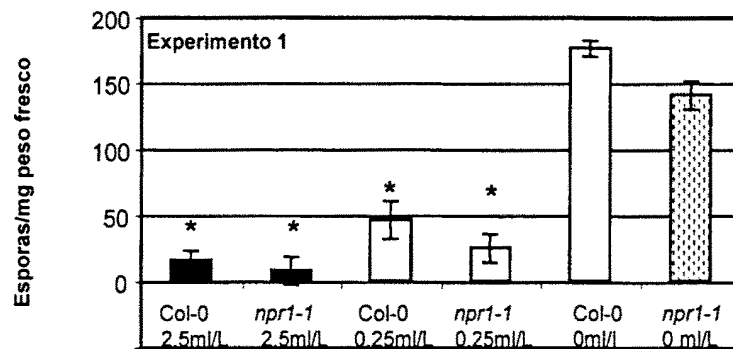


Figura 1

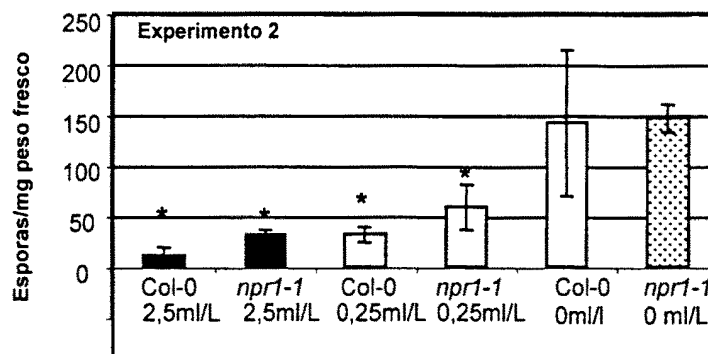


Figura 2

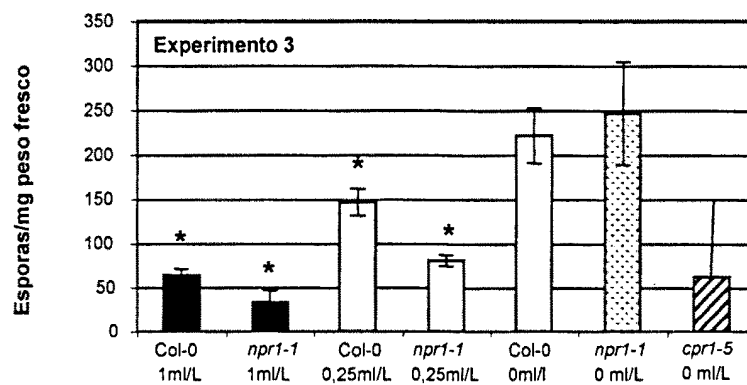


Figura 3

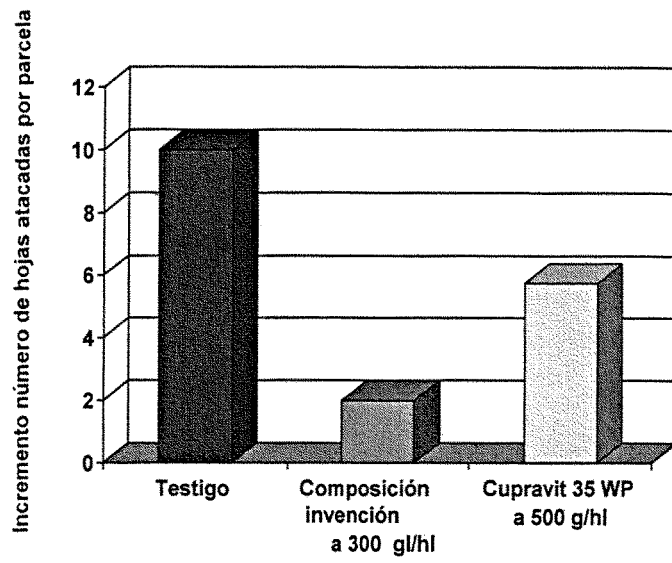


FIG. 4

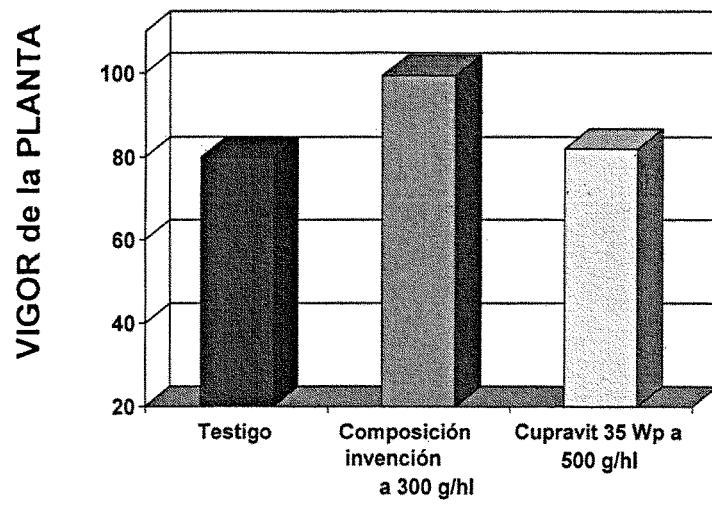


FIG. 5

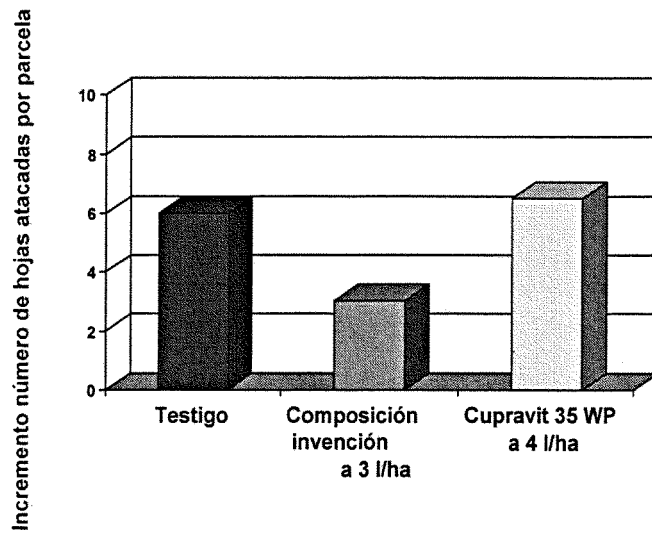


FIG. 6

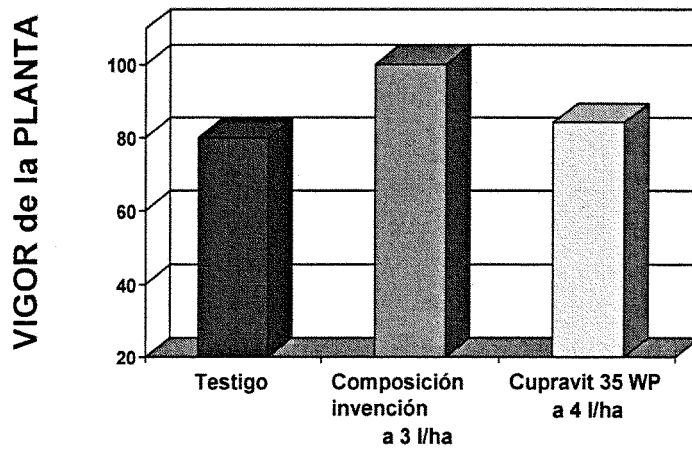


FIG. 7

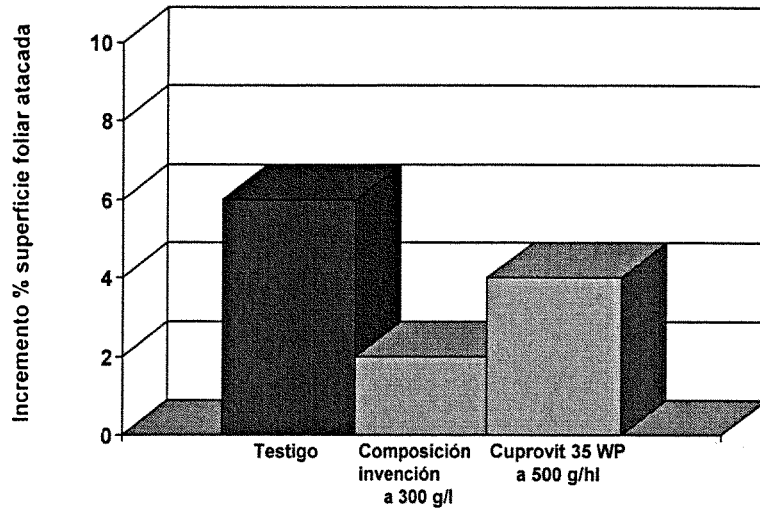


Fig. 8

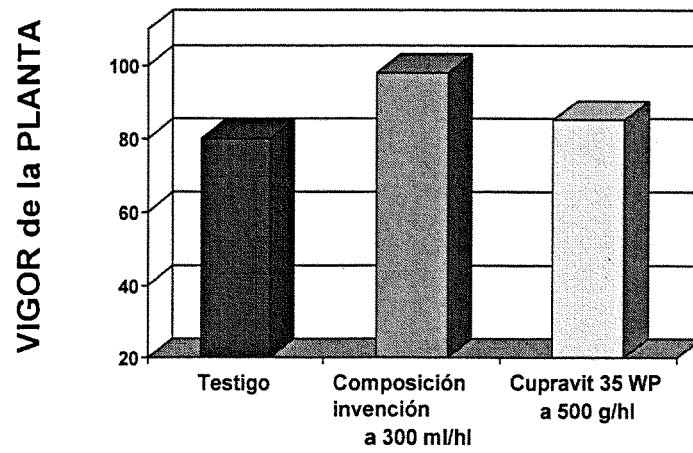


Fig. 9

Incremento número de plantas atacadas por parcela

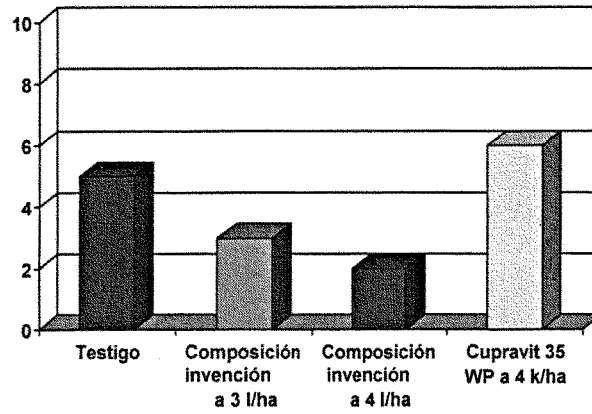


Fig. 10

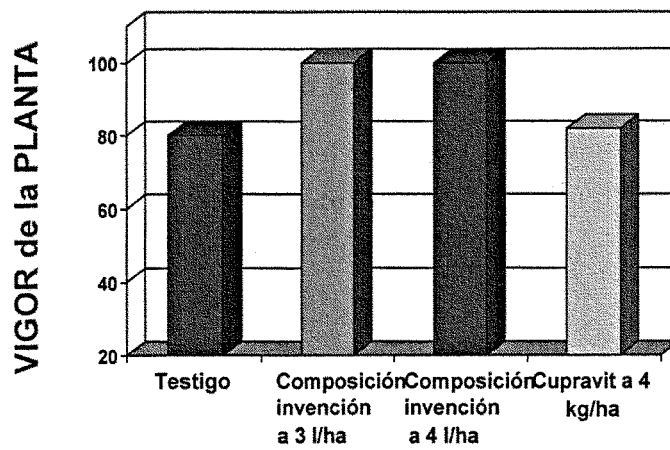


Fig. 11

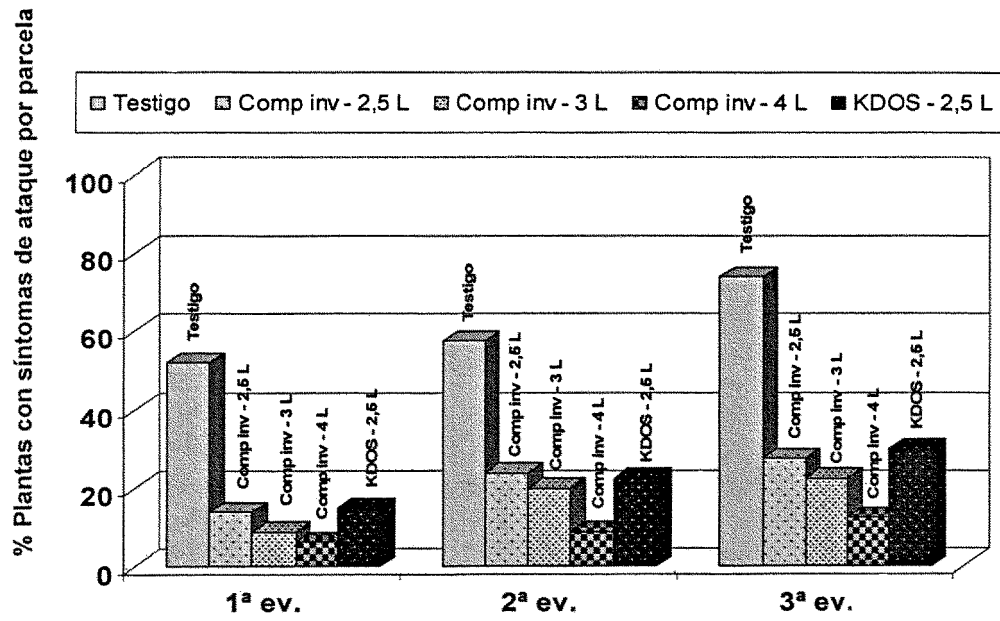


Fig. 12

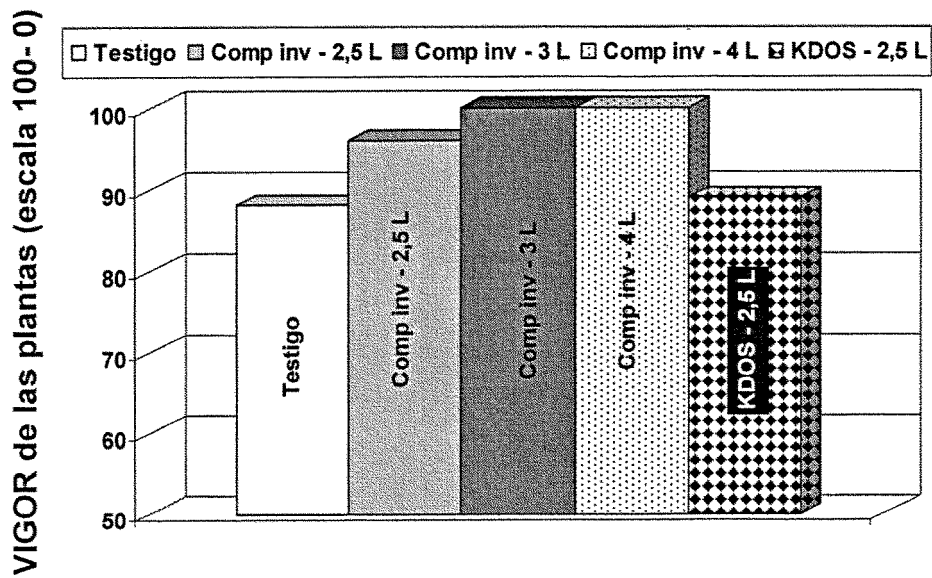


Fig. 13

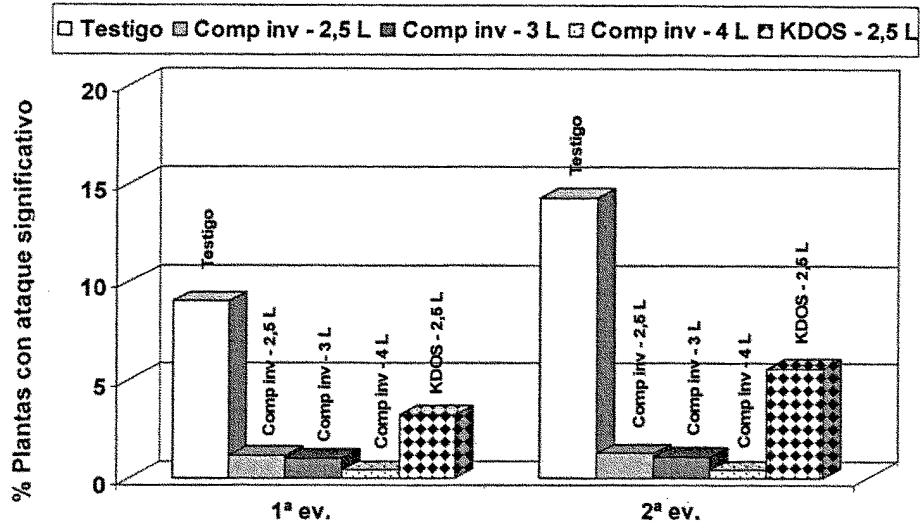


Fig. 14

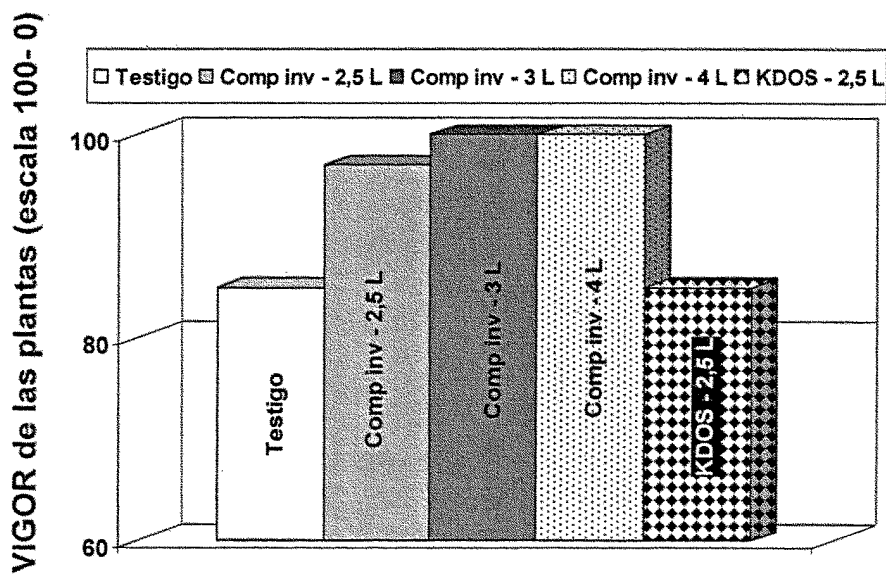


Fig. 15

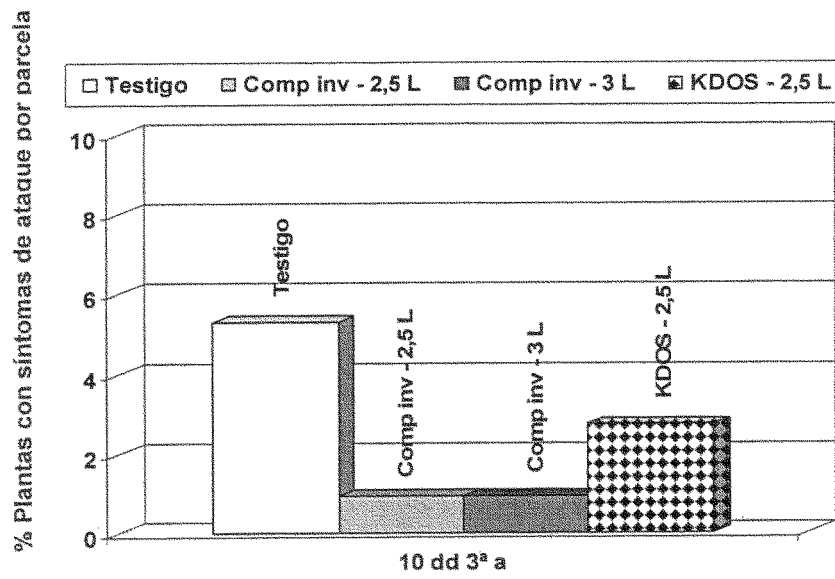


Fig. 16

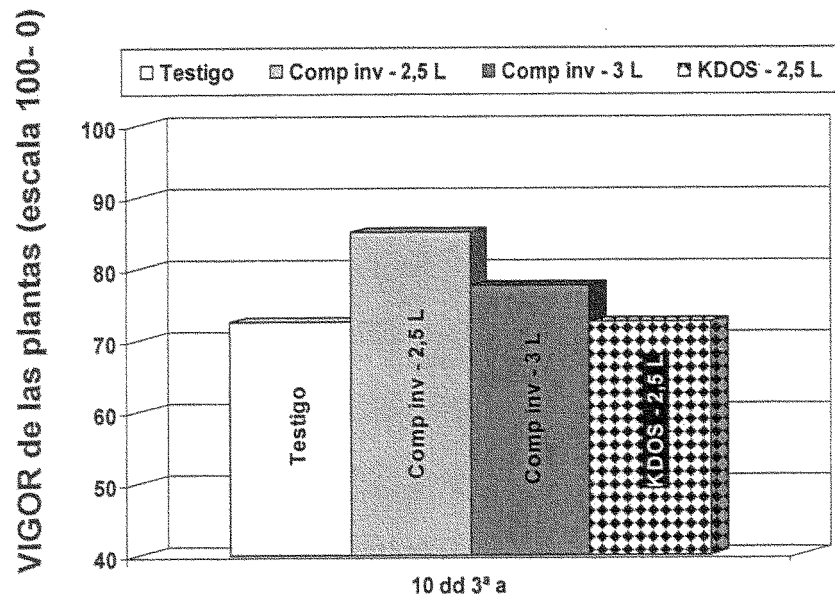


Fig. 17

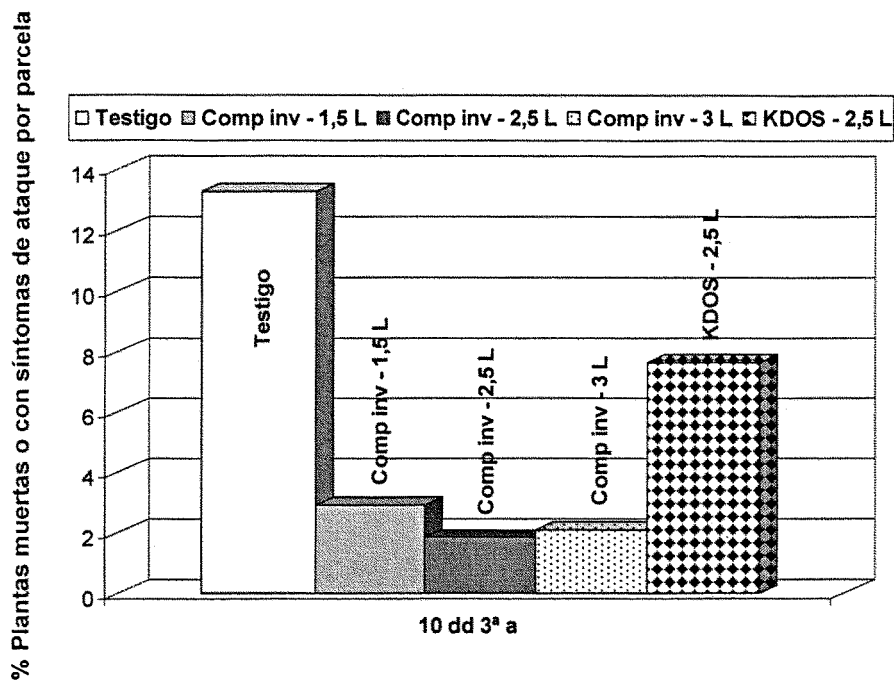


Fig. 18

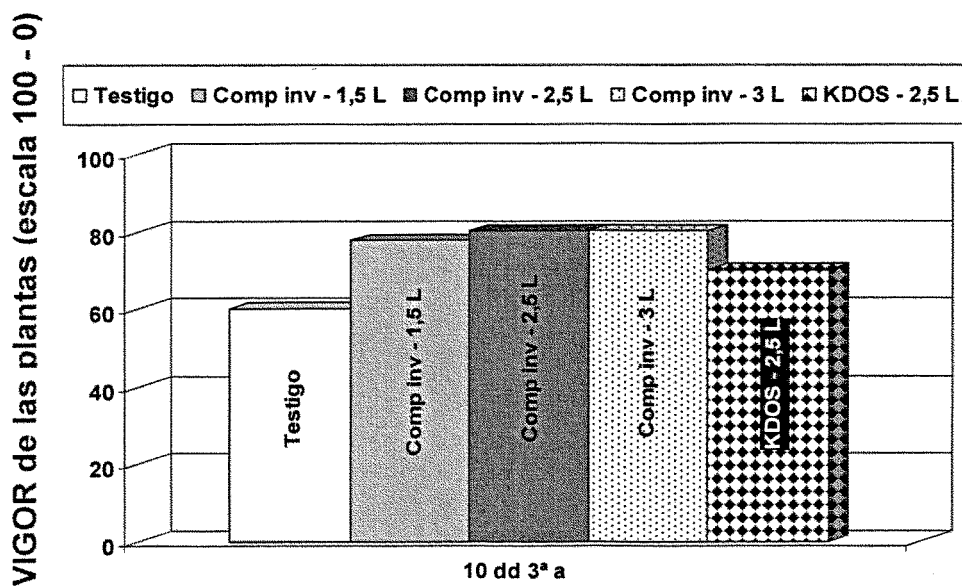


Fig. 19

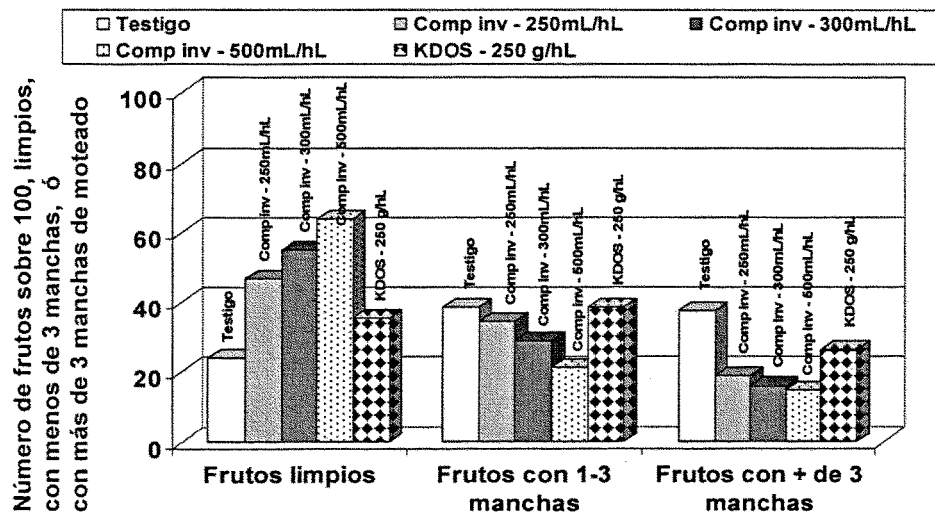


Fig. 20

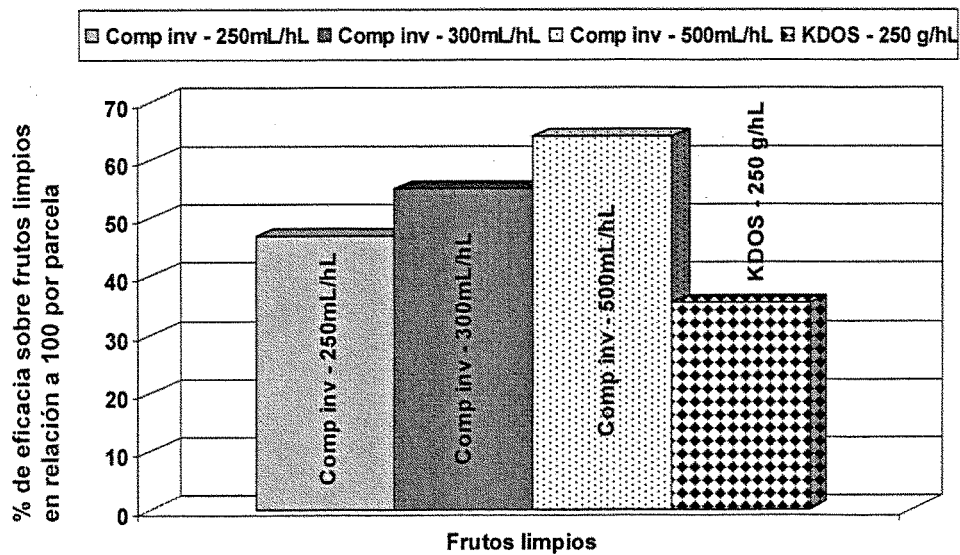


Fig. 21

VIGOR de los árboles (escala 100 - 0)

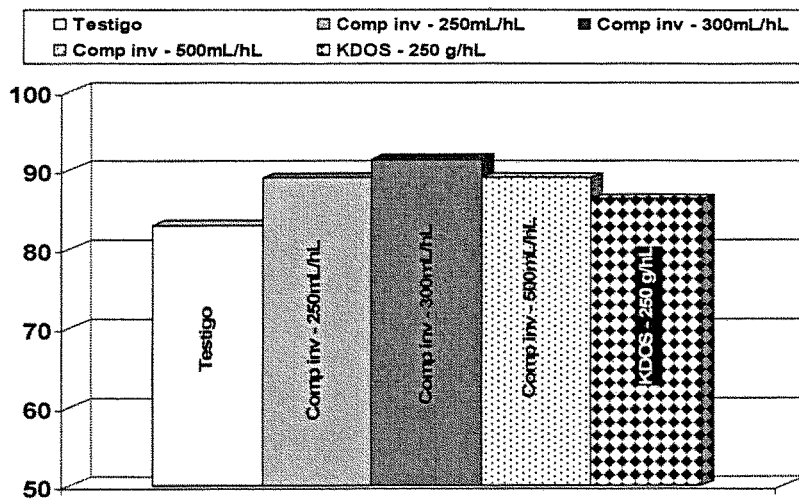


Fig. 22

Número de frutos sobre 100, limpios, con 1 mancha, con 2-3 manchas, ó con más de 3 manchas de moteado

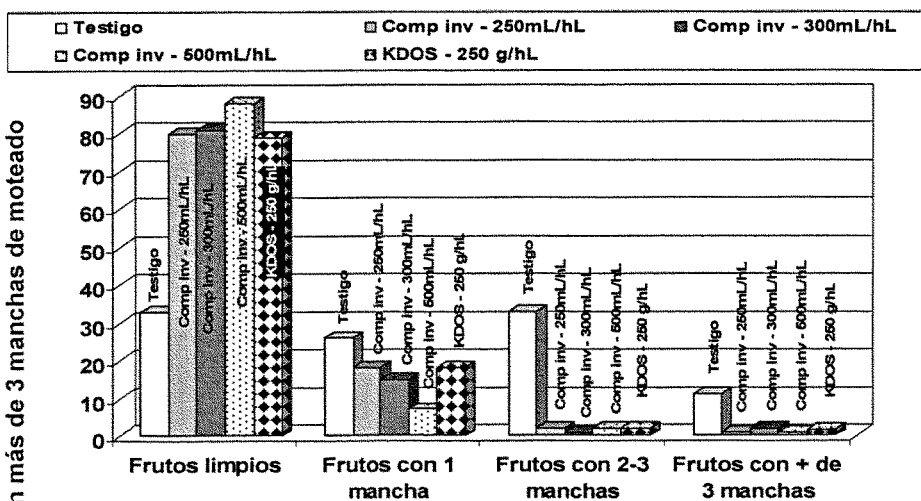


Fig. 23

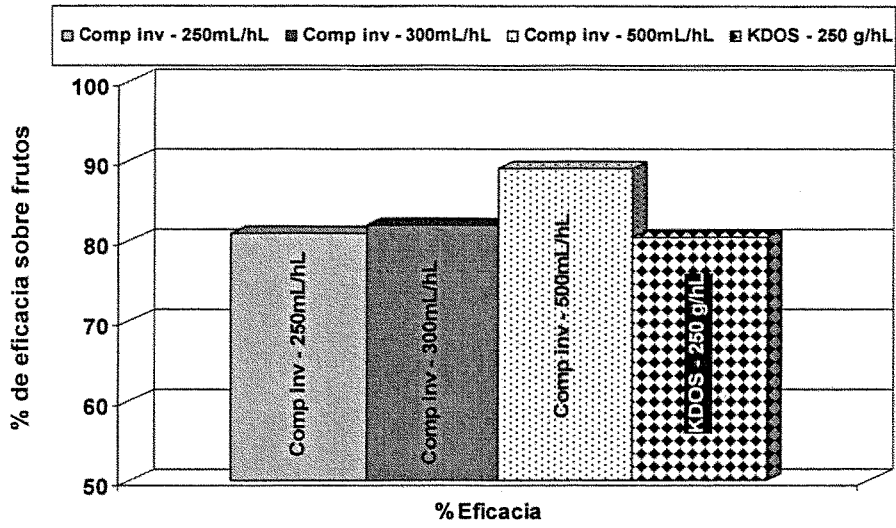


Fig. 24

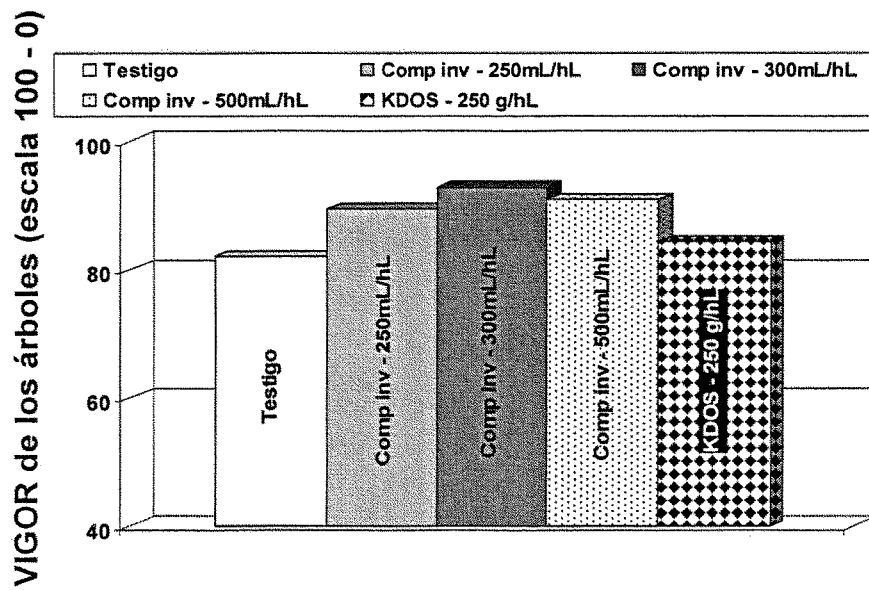


Fig. 25

Número de frutos atacados sobre 100 por parcela

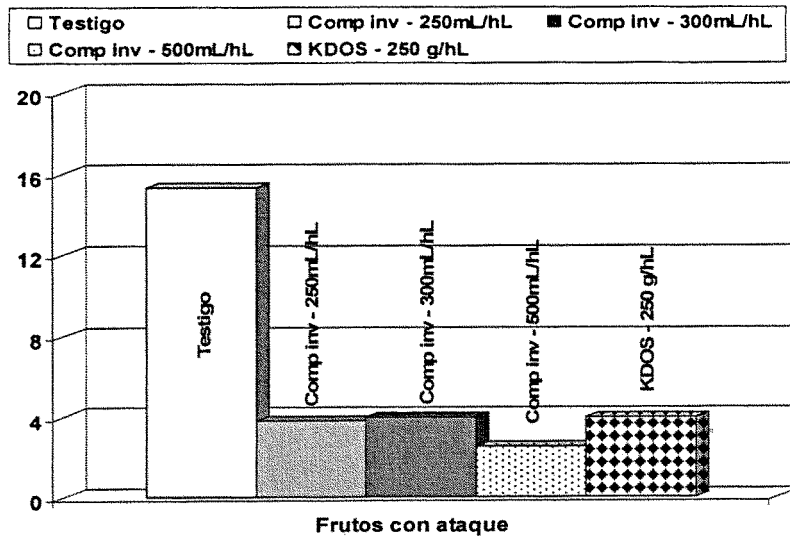


Fig. 26

VIGOR de los árboles (escala 100 - 0)

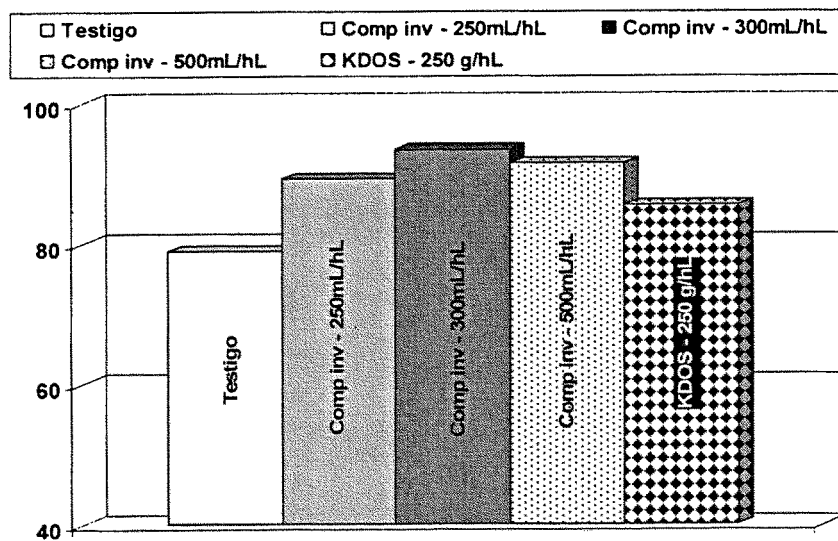


Fig. 27

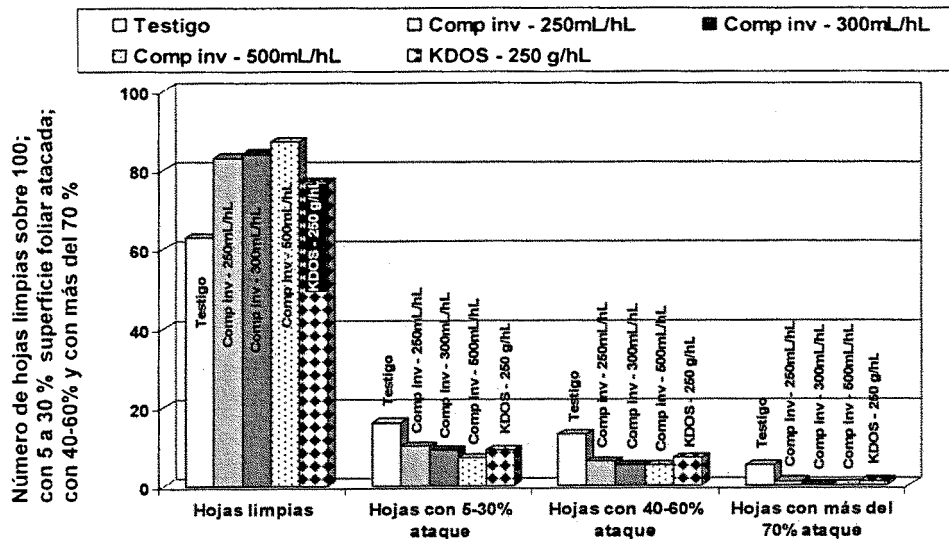


Fig. 28

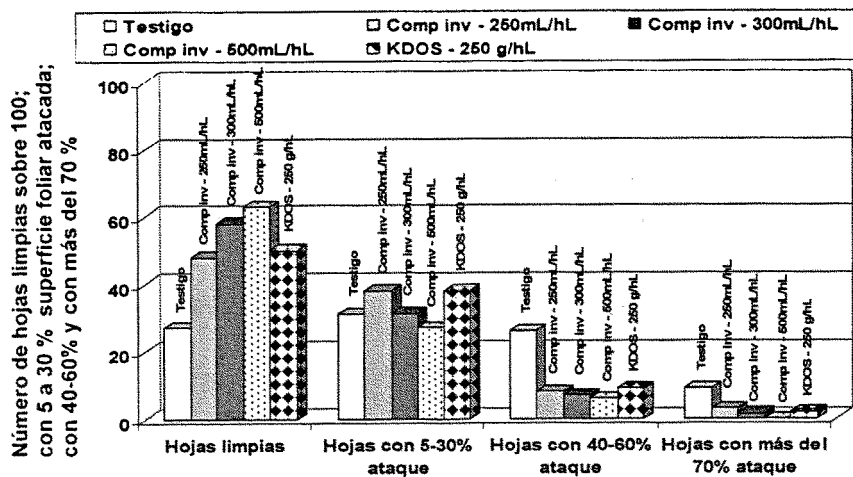


Fig. 29

VIGOR de las cepas (escala 100 - 0)

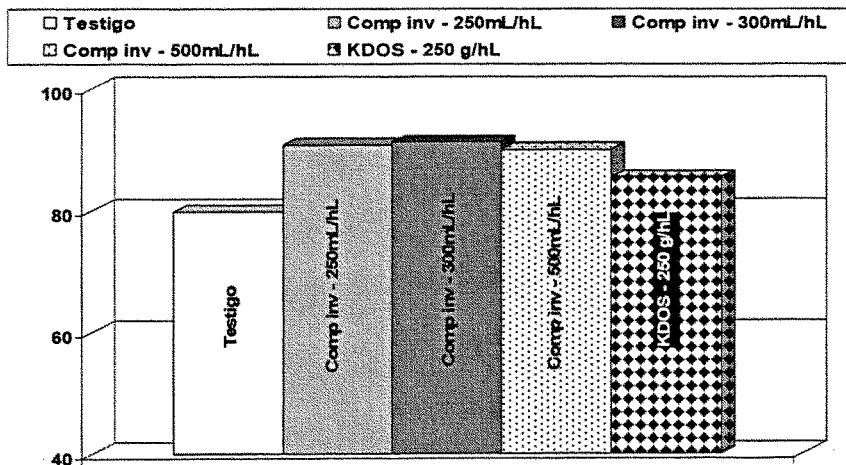


Fig. 30

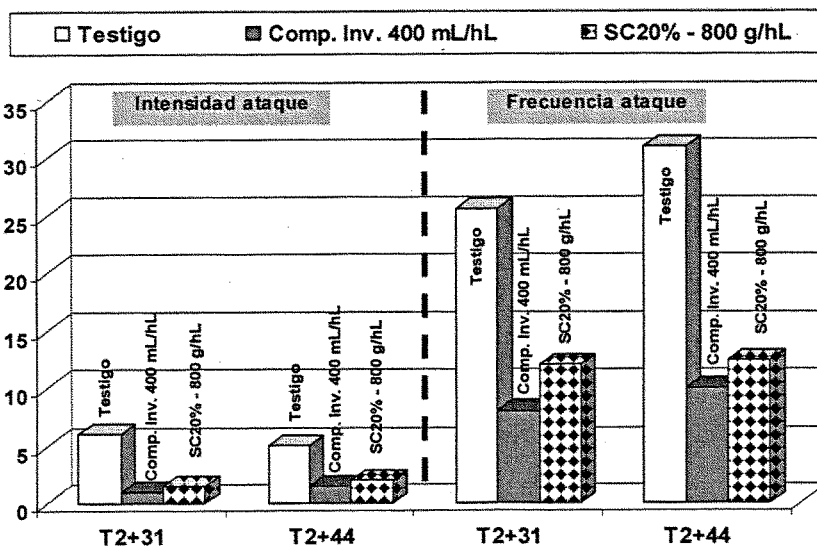


Fig. 31

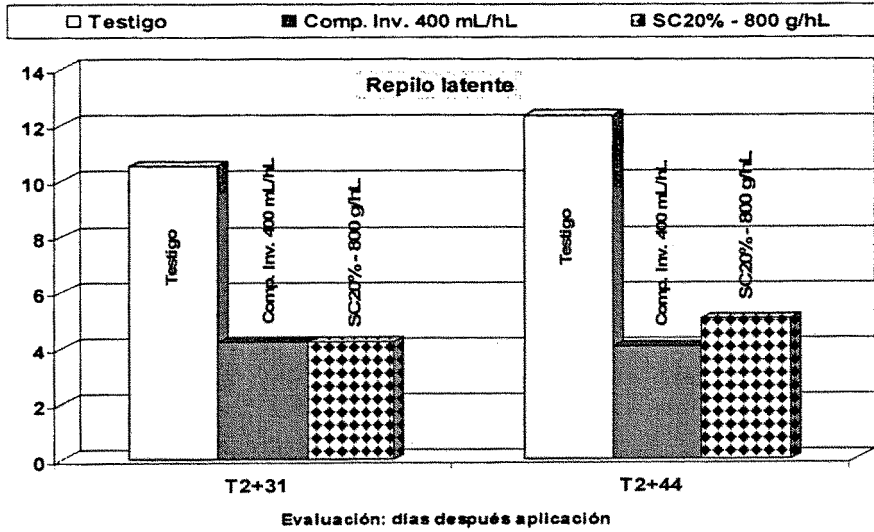


Fig. 32

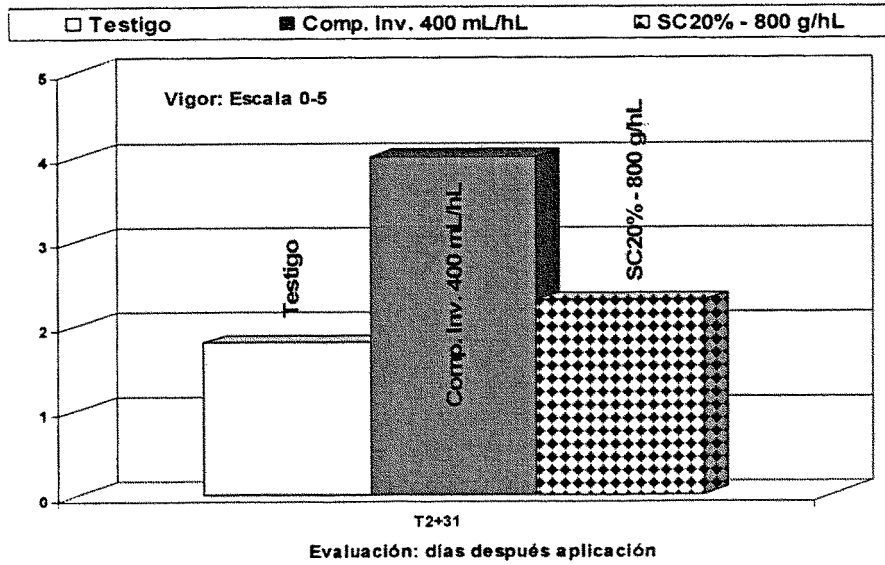


Fig. 33

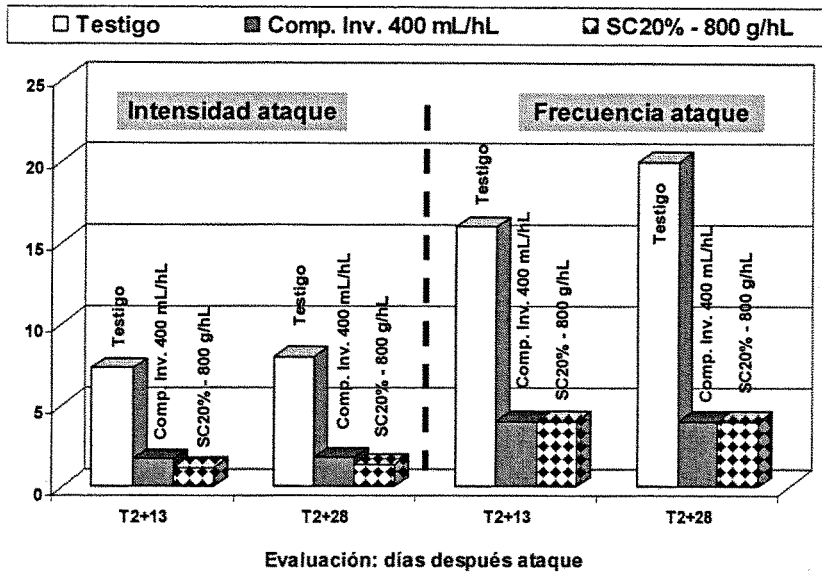


Fig. 34

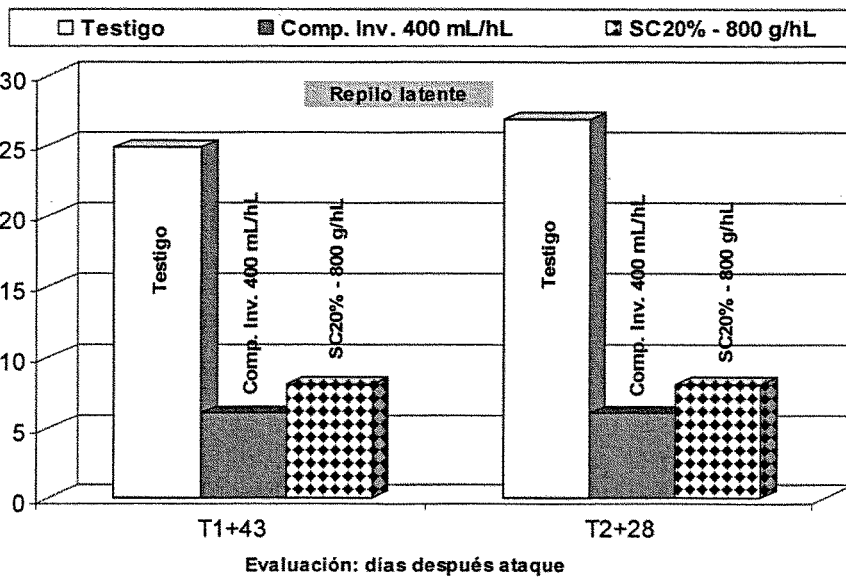


Fig. 35

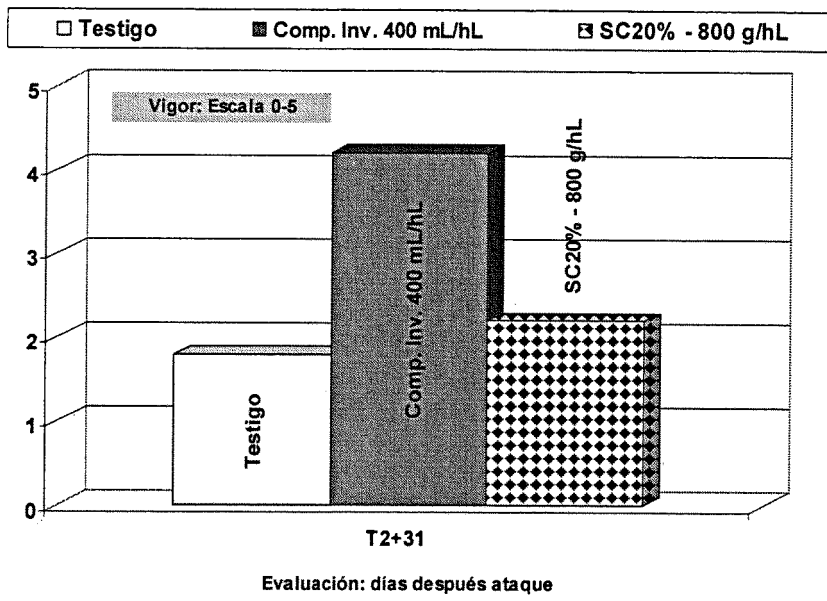


Fig. 36



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 303 809

② Nº de solicitud: 200801004

③ Fecha de presentación de la solicitud: **09.04.2008**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **A01N 55/02** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	ES 2231015 A1 (SERVALESA S.L.) 01.05.2005, resumen; reivindicaciones.	1-11
A	EP 713645 A1 (OTSUKA KAGAKU KAABUSHIKI KAISHA) 29.05.1996, resumen; reivindicación 2.	1-11
A	HODGE J.E. et al. Metal chelation by glucose-ammonia derivatives, Agricultural and food chemistry; vol 11(2), páginas 126-129 (1963).	1-11

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

22.07.2008

Examinador

M. Ojanguren Fernández

Página

1/1