

MINISTERIO DE INDUSTRIA Y ENERGIA

Registro de la Propiedad Industrial



ESPAÑA

Concedido el Registro de acuerdo con los datos que figuran en la presente descripción y según el contenido de la Memoria adjunta.

(19) ES	(11) NUMERO	(10) A1
(21)	462.550	
(22)	FECHA DE PRESENTACION	
	12 septiembre 1977	

20 OCT. 1973

PATENTE DE INVENCION

(30) PRIORIDADES:	(32) FECHA	(33) PAIS
(31) NUMERO		
722 767	13 septiembre 1976	Estados Unidos
77 06 300	3 marzo 1977	Francia

(47) FECHA DE PUBLICIDAD	(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL	(62) PATENTE DE LA QUE ES DIVISIONARIA
	C12B; A01N	

(54) TITULO DE LA INVENCION

"PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE UN PRODUCTO MICOFUNGICIDA".

(71) SOLICITANTE (ES)

Don Jacques RICARD

DOMICILIO DEL SOLICITANTE

Sigtuna (Suecia) Herrhagsvagen 26

(72) INVENTOR (ES)

el solicitante

(73) TITULAR (ES)

(74) REPRESENTANTE

Don Ignacio PONTI GRAU

Esta invención tiene por objeto un procedimiento de fabricación de un producto micofungicida mencionado que comprende esporas o propágulos de los comensales inmunizadores antes citados, caracterizado en el hecho de que se
5 inocula granos de cereales, tales como los de cebada u otras plantas, previamente triturados, humedecidos, acidificados y luego esterilizados, con Soytalidium lignicola ATCC 16.675, Trichoderma polysporum Rifai ATCC 20.475, Trichoderma viride sensu Bisby cepa CG BINAB.INRA I 030
10 (Instituto Pasteur), como comensales inmunizadores, después de lo cual se los incuba, se los seca y se los reduce a polvo.

Este procedimiento puede fácilmente ser explotado industrialmente de la manera siguiente:

15 Se llena de grano unos sacos de materia plástica de una capacidad de 0,5 a 50 Kg, de grano, o más. Se añade al contenido de los sacos agua acidificada con un ácido (láctico, acético, sulfúrico, etc.) hasta un pH inferior a 4,5 y una pequeña cantidad de sulfato de cobre. Se
20 soldan los sacos al calor, al vacío y se los coloca en un autoclave.

Una vez fuera del autoclave, los sacos se colocan horizontalmente en una cinta móvil para ser enfriados mediante ducha o ventilación, siendo inoculados después
25 con una aguja que perfora los sacos al pasar. La perforación es precedida por la colocación de una muñequilla esterilizadora con alcohol y seguida por la aplicación de un tapón no tejido en materia plástica adhesiva. La in-

yección de una suspensión inoculante de propágulos es seguida de una descarga de aire para hinchar ligeramente el saco. Se depositan luego los sacos en los estantes de carretillas para un almacenaje provisional en una sala de incubación iluminada. En cuanto aparecen las primeras esporas, se depositan de nuevo los sacos sobre la cinta móvil para efectuar las operaciones siguientes:

- 1) evacuación de los gases mediante una aguja aspirante;
- 2) una ligera compresión bajo rodillo destinada a "desmenuzar" los bloques de granos enlazados de micelio en trozos aproximadamente de 3 a 5 cm³;
- 3) hinchar de nuevo los sacos con aire fresco.

Esta operación se repite dos veces con 2 o 3 días de intervalo en incubación según la saturación de esporas contenidas en los bloques. La segunda vez se baja el rodillo de forma que los trozos se desmenucen en bloques de 1 a 2 cm³. La tercera vez, los bloques son desmenuzados totalmente, transformando el contenido de los sacos en grano machacados separados como lo estaban en el momento del llenado de los sacos. No obstante al final del procedimiento, los granos son verdes, negros o amarillos según su saturación de esporas del comensal inmunizador. El contenido de los sacos se vierte a continuación sobre una cinta de mallas de aproximadamente 1 mm² para un secado al vacío o por corriente de aire caliente. Los granos saturados de propágulos, una vez secos con menos de 10% de humedad, son molidos en partículas de 30 a 300 micrones y empaquetados.

Si los granos saturados de comensal inmunizador y particularmente de Trichoderma, son secados y molidos, tal como ha sido expuesto anteriormente, la harina que se obtiene contiene por lo general hasta 5×10^9 esporas/g.

5 Aunque esta concentración sea suficiente para un gran número de aplicaciones, se ha constatado que para algunas de ellas y particularmente para el tratamiento de Botrytis en la viña, era necesario tener concentraciones del orden de 15×10^9 esporas, o más. Por otra parte, cuando el micofungicida debe ser utilizado en forma de pulve-
10 ralizaciones, la dimensión máxima de las partículas tiene que ser de 10 micrones aproximadamente. Las esporas de Trichoderma tienen, generalmente, un diámetro del orden de 3 micrones, pero la harina mencionada contiene partí-
15 culas que sobrepasan los 30 micrones.

Se ha descubierto, según otra característica de la invención, que podían obtenerse productos micofungicidas que respondan a las exigencias citadas, procediendo a una extracción de las esporas contenidas en los granos a fin de eliminar gran parte del soporte y obtener un pol-
20 vo de esporas mucho más concentrado y un residuo de granos enriquecidos en amino-ácidos.

Tal y como ha sido indicado anteriormente, se puede efectuar la extracción mediante dos modos operato-
25 rios diferentes, el primero -que es preferible- consiste en extraer en seco las esporas que revisten los granos después de la incubación mediante una operación de sacudido o de frotación seguida de un tamizado, quedando así

los granos sobre el tamiz y pasando a través de éste el polvo concentrado de esporas.

Otro modo operatorio (extracción por vía húmeda) consiste en poner los granos incubados en agua acidificada (por ejemplo con ácido láctico, acético, sulfúrico, etc.), con un pH inferior a 4,5 para evitar toda contaminación bacteriana significativa.

Después de un tiempo en el agua acidificada con agitado, se tamiza la pasta y se obtiene así, por una parte una suspensión fina de esporas y, por otra parte, granos impregnados de micelio. Para la utilización, se centrifuga la suspensión de esporas, se la seca y se la tritura para reducirla a la dimensión particular deseada.

Es preferible utilizar el modo de extracción por vía seca, porque no se produce en este caso ninguna contaminación bacteriana, mientras que este riesgo existe en la extracción por vía húmeda.

Mediante el procedimiento de extracción citado, es posible obtener un polvo de esporas que contiene de 1×10^9 a 30×10^9 esporas/g y en general entre 25×10^9 y 30×10^9 esporas/g.

La invención proporciona especialmente los productos principales siguientes:

- A) concentrados para la pulverización de árboles frutales, de la tierra contra los hongos incrustantes, de la viña o para el remojo de los esquejes de flores, de viña o patatas;
- B) comprimidos para las flores, las plantas de invernadero,

los viveros, los cultivos de hortalizas, las vides, los árboles secos, los postes telefónicos o eléctricos de madera;

- 5 C) granulados para los abonos compuestos, los suelos tratados con vapor o fumigantes y sembrados diversos;
 D) polvo para el recubrimiento de las semillas.

Los diferentes productos micofungicidas de la invención pueden ser utilizados particularmente para:

- 10 a) el remojo de los esquejes de claveles contra Eusarium;
 b) el tratamiento del pepino contra Phomopsis sclerotioides;
 c) el tratamiento de los sembrados de piceas y de pinos silvestres contra Armillaria y el Fomes annosus;
 15 d) el tratamiento de la viña y de los árboles frutales contra la Armillaria (putrefacción de las raíces); para el tratamiento de los planteles jóvenes de viña, 100 g de comprimidos de Trichoderma son mezclados en el contenido de las macetas utilizadas para los planteles. Estos planteles en macetas son dispuestos entonces en los viñedos de producción;
 20 e) el tratamiento de los olmos contra Graphium ulmi; para este tratamiento puede utilizarse por ejemplo de 5 a 30 comprimidos de producto micofungicida por árbol, cada comprimido conteniendo al menos 50×10^6 esporas/g;
 25 f) el tratamiento de los postes de pino contra Lentinus Lepideus;
 g) el tratamiento de los sembrados de cebollas contra el carbón;
 h) el tratamiento de las semillas de remolacha azucarera

monogermen para protegerlas contra Phomabetae y Pythium ultimum (destrucción de los sembrados);

i) el tratamiento de los tomates de invernadero;

5 j) el tratamiento de la tierra contra los hongos incrustantes. Para este tratamiento se utiliza ventajosamente una suspensión que contenga 5 g/litro de concentrado del tipo mencionado (20×10^6 a 20×10^9 esporas/g) a razón de un litro más o menos por m^2 de tierra.

10 Los ejemplos no limitativos siguientes son proporcionados a título ilustrativo de la invención:

EJEMPLO 1

15 Se introduce aproximadamente 250 g de cebada triturada y 250 g de arroz, 14 ml de una solución a 0,4% de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, 400 ml de una solución acuosa de CH_3COOH 0,5M y de acetato de sodio 0,5M en sacos de materia plástica termoestable. Se cierra el saco fijando un tapón de algodón en la obertura y se deja en un autoclave durante dos horas a $121^\circ C$. Una vez enfriados, se inocula los sacos con T. viride ATCC 20.476. Se los incuba seguidamente a $20-22^\circ C$ durante 10 días, con luz ordinaria, y se amasa suavemente si es necesario para obtener una esporulación uniforme (que se hace evidente por la aparición de conidios verdes) en toda la masa del substrato.

25 Puede seguidamente tratarse el contenido de los sacos mediante dos modos operatorios distintos:

A. Preparación de polvo de Trichoderma

Se seca el contenido a $45^\circ C$ en una corriente de aire caliente. Cuando la humedad es inferior a 20% en peso, se tritura el producto en una trituradora de martillos

provista de un tamiz de 0,6 mm. El polvo obtenido puede contener hasta 10×10^9 esporas/g y especialmente de 50×10^6 a 10×10^9 esporas/g. Puede mezclarse con agentes de acondicionamiento acuoso y utilizarse en pulverización para luchar contra enfermedades fungidas de árboles frutales y de las setas cultivadas, entre otras utilizaciones en forma de pulverización. Se cuentan las esporas en el microscopio, según las técnicas descritas por Gindrat y Ricard (Técnica de recuento de conidios de Trichoderma viride dispersados en inoculantes a base de harina de cebada Plant Disease Reporter 1976-60 p. 321-325). Para un segundo tipo de utilización, puede igualmente transformarse el polvo en granulados sin aditivos, para la inoculación de árboles o de postes sensibles al ataque de Stereum, Ceratocystis, Lentinus o Poria spp.

Para un tercer tipo de utilización, puede mezclarse el polvo con corteza fresca o enriquecida con abonos compuestos, con o sin turba como sustrato de desarrollo de plantas sembradas en invernadero, vivero, o plantas en macetas sensibles al ataque de agentes patógenos de los vegetales tales como Phomopsis, Pythium, Verticillium, Fusarium spp.

Para un cuarto tipo de utilización, puede añadirse el polvo a ingredientes corrientes para la protección de semillas a fin de luchar, por ejemplo, contra la pythium de las semillas monogerminales de la remolacha (Phoma betae).

B. Preparación de esporas "puras" de Trichoderma y de un

alimento para animales.

Se introduce en cada saco 1,5 litros de agua acidificada (ácido láctico, acético, sulfúrico, etc.) y taponada a pH 4,0 aproximadamente, pero netamente por debajo de 4,5 a fin de evitar una contaminación bacteriana significativa, particularmente de Enterobacteriacidas. Se sacude luego el saco mediante un dispositivo mecánico, durante 30 minutos. Se pasa el contenido por un tamiz, obteniendo así una suspensión de esporas verde oscuro y granos impregnados de micelio.

(a) Se secan los granos, obteniendo así un alimento para animales, rico en aminoácidos, como consecuencia de la proliferación fungida que convierte nitrógeno barato, procedente por ejemplo de sales de amonio, en constituyentes celulares de las hifas comprendiendo aminoácidos.

(b) Se centrifuga la suspensión de esporas, se la seca y se la tritura, obteniendo así un polvo de esporas que contiene más de 1×10^9 esporas y hasta 30×10^9 esporas/g, a menudo entre 25 y 30×10^9 esporas/g. Estas esporas poseen las fuerzas de Van der Waals habituales de las micropartículas y constituyen un excelente producto micofungicida para pulverizar sin ningún aditivo. Cuando algunas restricciones particulares lo exigen las preparaciones pueden incluso esterilizarse con gas o por calentamiento, porque las esporas matadas, en concentraciones suficientes, ejercen todavía una acción micofúngica probablemente a causa de las enzimas inmovilizadas en la superficie.

EJEMPLO 2

Ciento cuarenta y seis olmos alcanzados por la enfermedad han sido escogidos. Estos árboles tenían un diámetro que oscilaba entre menos de 20 cm a 80 cm. La gravedad de la enfermedad se calculaba por la proporción de hojas dañadas.

Setenta y ocho árboles inoculados de diversas maneras han sido comparados a cuarenta y siete árboles testigos.

Las inoculaciones han sido efectuadas con un Trichoderma viride ATCC 20.476 cultivado, en granos de cebada triturados. Los granos han sido molidos y convertidos en harina que contiene al menos 50×10^6 esporas variables por gramo de peso seco. La harina ha sido comprimida en granulados de aproximadamente 3 mm de diámetro y 20 mm de longitud, pesando una media de 0,5 g cada uno. Mediante taladrado o perforación, se han abierto agujeros de tamaño apropiado a una altura conveniente para colocar de 5 a 20 granulados por árbol, regularmente espaciados siguiendo un círculo o una espiral. Las inoculaciones han sido efectuadas en marzo o julio. Los resultados han sido perceptibles en julio del año siguiente basándose en la variación de las alteraciones experimentadas por las hojas.

Veintiún árboles han sido tratados con granulados de corteza en vez de granulados de Trichoderma para determinar los efectos eventuales de las conexiones mecánicas.

Las alteraciones experimentadas por las hojas aumentan para un 40,4% de los árboles testigos. Se observa una proporción casi igual para los árboles inoculados

en marzo. Entre los que fueron inculados en julio, el porcentaje de árboles que presentan un aumento de la alteración es de 12,52. Doce de los árboles "inoculados" con granulados de corteza han presentado un aumento de la alteración, o sea 57,1% de este grupo.

Escoger el momento oportuno parece ser importante para dominar la enfermedad con propágulos de Trichoderma.

Se pueden esperar tales relaciones si las inoculaciones de Trichoderma actúan por concentración de sus metabolitos en el sistema vascular del árbol. Cuando el árbol reacciona rápidamente a la lesión mecánica causada por la introducción de los granulados de Trichoderma, no se produce más que una dispersión ligera o nula de los metabolitos que provienen del hongo introducido.

Aunque el efecto terapéutico de los granulados de Trichoderma sea provocado directamente por la extracción de metabolitos solubles en el agua o indirectamente por el crecimiento de las hifas, o por la extracción de los conidios de los granulados, debe producirse en el árbol cierta distribución del contenido de los granulados. Un bloqueo de los vasos en los lugares donde los granulados son introducidos impediría a las inoculaciones de Trichoderma de actuar de la manera deseada. Es sabido que la rapidez de estas reacciones varía en momentos diversos durante el curso del periodo de crecimiento.

EJEMPLO 3

Una pulverización de propágulos de Trichoderma

viride sensu Bisby ATCC 20.476 en la tierra a razón de 100×10^6 por litro y de 1 litro por m^2 es eficaz para la lucha contra Verticillium malthousei, agente responsable de la enfermedad "des moles", por lo que se requieren substitutivos. La producción industrial de la seta Agaricus bisporus constituye un sistema en el cual los efectos de la lucha por medios biológicos son evidentes y los ciclos son cortos, contrariamente a los árboles de los bosques en los cuales una concentración de Trichoderma micoparásita ha sido obtenida anteriormente. Propágulos de Trichoderma que se derivan de esta concentración de Trichoderma han sido probados en la tierra en bandejas de producción y comparados con el Benomyl en condiciones industriales.

15 Propágulos de Trichoderma viride sensu Bisby cultivados en granos de cebada triturados con una concentración de aproximadamente 20×10^6 conidios por gramo de peso seco han sido mezclados con un agente mojante ordinario y un homogeneizante. El polvo ha sido puesto en suspensión en el agua y aplicado de manera habitual para las pulverizaciones de fungicidas contra las enfermedades de "la hille seca" en la producción industrial de los hongos. La eficacia de la pulverización de Trichoderma en dos concentraciones (2,5 g/l y 5g/l) ha sido medida por el rendimiento de carpoforos sanos por bandeja y también por la recogida de sombrerillos enfermos. Se la ha comparado a observaciones análogas en bandejas habiendo sido pulverizadas (1) con benlate, (2) con agentes de condicionamiento

del agua y harina de cebada sin propágulos de Trichoderma, (3) con agentes de condicionamiento del agua solos y (4) no habiendo sido pulverizados.

5 Las observaciones han sido referidas en base de una bandeja de 2,2 m² y de 4 ejemplares idénticos. Las bandejas han sido situadas en una instalación industrial. Los sombrerillos de las setas han sido recogidos cotidianamente.

10 El rendimiento de sombrerillos atacados por la enfermedad hasta 52 días después de haber sido puestos en las cajas está indicado en la figura 1 del dibujo anexo, empezando por los resultados del primer periodo de crecimiento al cabo de 24 días. La tendencia es la misma, pero para todos los parámetros, excepto uno, se observa
15 una dispersión con el tiempo. La excepción es la pulverización con agentes de condicionamiento del agua y harina de cebada pero sin propágulos de Trichoderma. Este tratamiento conduce a un rendimiento aproximadamente mediano al cabo de 24 días, pero da el segundo rendimiento de setas enfermas al final de la experiencia, más bajo que las
20 bandejas testigo. Todos los demás parámetros daban resultados relativos coherentes, las bandejas pulverizadas con berlate a 2 g/m² dando el rendimiento más bajo de sombrerillos atacados por la enfermedad (1,878 g por bandeja).
25 La cifra más elevada fue registrada por el testigo que no había sido pulverizada, con 3,458 g por bandeja. Las bandejas que habían sido pulverizadas con concentrado de Trichoderma seguían de cerca a las que habían sido pulveriza-

das con benlate, pero a un nivel algo más elevado (rendimiento 1976 g por bandeja) para una aplicación a 5 g/m^2 . Las bandejas que habían recibido una pulverización de 2,5 g de concentrado de Trichoderma solamente, o únicamente con ingredientes inertes daban todas más o menos las mismas cantidades de hongos atacados por la enfermedad.

En la figura 1, las diferentes curvas representan:

1. Muestra (sin pulverización)
- 10 2. $2,5 \text{ g/m}^2$ agentes de acondicionamiento del agua y harina
3. 2,5 " agentes de acondicionamiento del agua
4. 2,5 " pulverización completa de Trichoderma
5. 5,0 " " " "
6. 2,0 " benlate

15 La figura 2 del dibujo anexo da el rendimiento de setas sanas, cuando las bandejas han sido pulverizadas con Trichoderma a 5 g/m^2 poniéndose poco a poco en cabeza. La cifra acumulativa final es de 24,37 kg por bandeja, mientras que el tratamiento con benlate da 21,98 kg. Es

20 el testigo que no ha recibido pulverización el que ha dado el rendimiento más bajo (20,43 kg/por bandeja). La pulverización con agentes de condicionamiento del agua solo, ha dado casi el mismo resultado con 20,49 kg por bandeja. Cuando se aplica a razón de $2,5 \text{ g/m}^2$, el concentrado de

25 Trichoderma no es tan eficaz como el benlate.

Como el concentrado para la pulverización de Trichoderma está disponible a precios competitivos con el del benlate, puede substituir a los fungicidas químicos

de síntesis y constituya una solución de remplazamiento biológico económico y eficaz. La DL_{50} de la harina de Trichoderma no existe hasta 4.000 mg/kg de peso del cuerpo. Hsta este valor al menos, esta harina no provoca ni

5 siquiera síntomas de angustia en ningún animal con los que se ha ensayado.

En la figura 2, las diferentes curvas representan:

1. Muestra (sin pulverización)
- 10 2. 2,5 g/m² agentes de acondicionamiento del agua y harina
3. 2,5 " agentes de acondicionamiento del agua
4. 2,5 " pulverización completa de Trichoderma
5. 5,0 " " " "
6. 2,0 " benlate.

15 EJEMPLO 4

Se ha probado la eficacia de un producto micofungicida a base de Trichoderma según la invención en el tratamiento de la viña contra Botrytis Cinerea.

20 Se ha establecido de esta forma que las esporas de Trichoderma viride sensu Bisby cepa BINAB-INRA utilizadas con una concentración de 10^8 /ml tienen una eficacia aproximadamente de 70% según el coeficiente de Abbott.

Los resultados de estas pruebas aparecen en el cuadro I siguiente:

25

CUADRO I

Eficacia del Trichoderma viride sobre la podredumbre gris causada por Botrytis cinerea.

Tratamiento	% eficacia del "broyat gélosé"	% podredumbre en la muestra no tratada
Infección natural	70	31
Infección artificial	71	61

5 Cuatro aplicaciones en cada caso, excepto muestra. Observaciones de los granos (Método Desaymard).

El producto ha sido aplicado bajo la forma de un preparado a base de gelosa llamado "broyat gélosé".

10 Una segunda serie de pruebas ha sido efectuada con "broyat gélosé" solo y con "broyat gélosé" utilizado con un recubrimiento protector.

Se ha comprobado que cuando el concentrado de la invención que contiene las esporas de Trichoderma I. 030 es pulverizado con un tratamiento insecticida, anti-mildiu y anti-oidio clásico cuatro veces durante la temporada, o sea en la formación del grano (a) del racimo (b) durante el envero (c) y tres semanas antes de la cosecha (d), se obtienen resultados suficientes para cumplir con las normas biológicas establecidas. En efecto, estas normas esta-
20 blecen:

- a) la reducción media de la tasa de podredumbre gris debe ser igual al 50% de la de la muestra no tratada.
- b) las tasas máximas medias de podredumbre gris toleradas en las parcelas tratadas es de 20%. Las pruebas han dado
25 61% de podredumbre en las muestras y 71% de eficacia para el Trichoderma viride en las parcelas infectadas artificialmente con Botrytis. En las parcelas donde la infección es natural, la podredumbre en las muestras era

del 31% con 70% de eficacia para el Trichoderma viride.

Los resultados obtenidos se reflejan en el cuadro II siguiente:

CUADRO II

5 Eficacia del Trichoderma viride sobre la podredumbre gris causada por la Botrytis cinerea en la vendimia

<u>Tratamiento</u>	<u>% eficacia</u>
"Broyat gélosé" sin recubrir	54,8
"Broyat gélosé" recubierto	22,6
10 Concentrado de la invención sin recubrimiento	63,5
Concentrado de la invención con recubrimiento	47,5
Muestra con recubrimiento(% de podredumbre)	16,5

Cuatro aplicaciones en cada caso, excepto muestra.

15 El recubrimiento consiste en el empleo simultáneo de insecticida (méthomyl), de fungicidas anti-oidio (S) y anti-mildiu (Cu) y de Trichoderma.

EJEMPLO 5

20 Se ha probado también el producto micofungicida mencionado en el ejemplo 4 en el tratamiento de la viña contra la excoriosis provocada por Phomopsis viticola. Se ha demostrado así que el producto de la invención tiene la misma eficacia que el arsenito de sodio cuando la muestra muestra 50% de excoriosis al nivel del primer entrenudo.

25 Los resultados obtenidos se reflejan en el cuadro III siguiente:

CUADRO III

Eficacia de la Trichoderma viride sobre la excoriosis causada por Phomopsis viticola

<u>Tratamiento</u>	<u>Anotación de las superficies con excoriosis (Método Desay-mard)</u>
"Broyat gélosé"	82% de eficacia
Filtrado de cultivo	69
5 Arsenito de sodio 1250 g pf/hl	91
Muestra no tratada	57% de superficie con ex-corirosis.

- . -

R E I V I N D I C A C I O N E S

1. Procedimiento para la obtención de un producto micofungicida, del tipo de los que contienen propágu-
los o esporas de comensales inmunizadores y harina de ce-
real, caracterizado porque se inocula granos de cereales,
5 tales como los de cebada u otras plantas, previamente tri-
turados, humedecidos, acidificados y luego esterilizados,
con Soytalidium lignicola ATCC 16.675, Trichoderma polys-
porum Rifai ATCC 20.475, Trichoderma viride sensu Bisby
cepa CG BINAB.INRA I 030 (Instituto Pasteur), como comen-
10 sales inmunizadores, después de lo cual se los incuba, se
los seca y se los reduce a polvo.

2. Procedimiento para la obtención de un pro-
ducto micofungicida, según la reivindicación 1, caracte-
rizado por el hecho de que se somete, los granos tritu-
15 rados, incubados y secados a una extracción por vía seca
o húmeda para obtener, por una parte, un concentrado de
esporas de los micro-organismos y, por otra parte, un
residuo de granos enriquecidos en amino-ácidos.

3. Procedimiento para la obtención de un pro-
20 ducto micofungicida, según la reivindicación 2, caracte-
rizado en que la extracción por vía seca se efectúa sacu-
diendo o frotando, luego tamizando para separar los gra-
nos incubados del polvo micofungicida.

4. Procedimiento para la obtención de un pro-
25 ducto micofungicida, según la reivindicación 3, caracte-
rizado en el hecho de que la extracción por vía húmeda
se efectúa por medio de agua acidificada con pH inferior

a 4,5 seguida de un tamizado para separar los granos y de una centrifugación de la suspensión de esporas así obtenidas, secándose luego por separado las esporas y los granos.

5

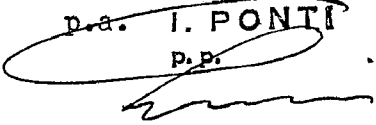
5. Procedimiento para la obtención de un producto micofungicida.

La presente memoria descriptiva consta de veinte hojas foliadas escritas a máquina por una sola cara.

Barcelona, 12 de septiembre de 1977

Jacques RICARD

p.a. I. PONTI
P. P.



28060/1

FIG.1

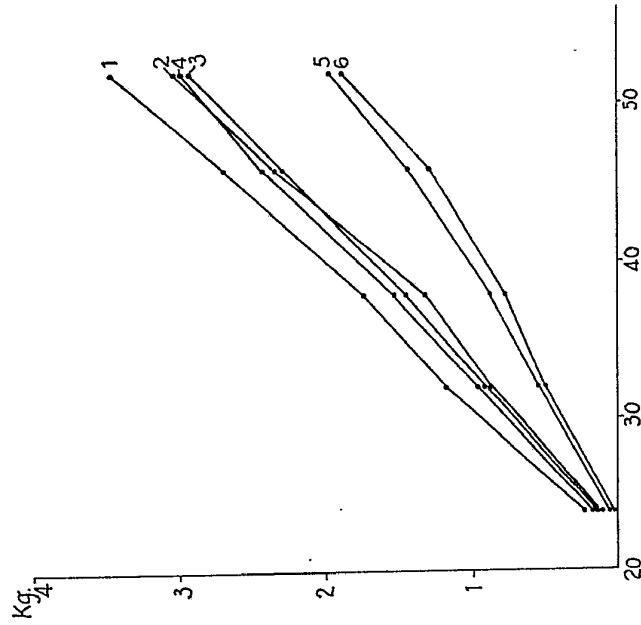
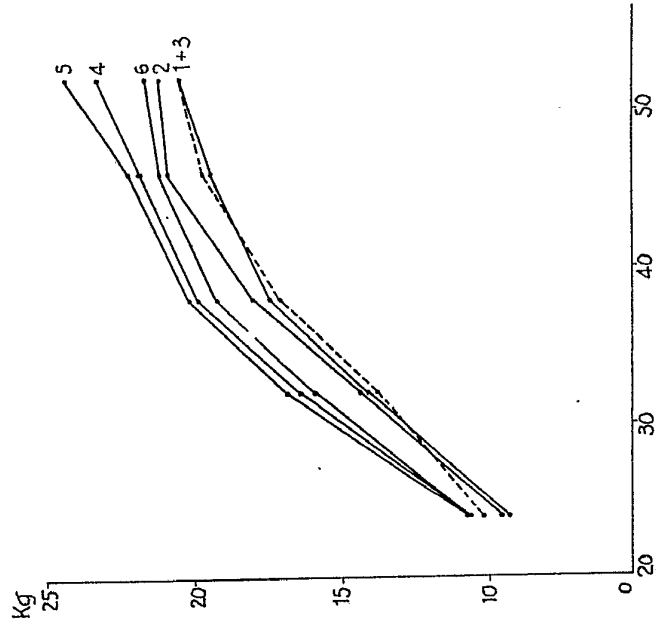
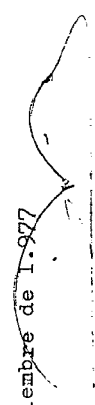


FIG.2



Barcelona, 12 de septiembre de 1-977
P.a.



28060/1

FIG.1

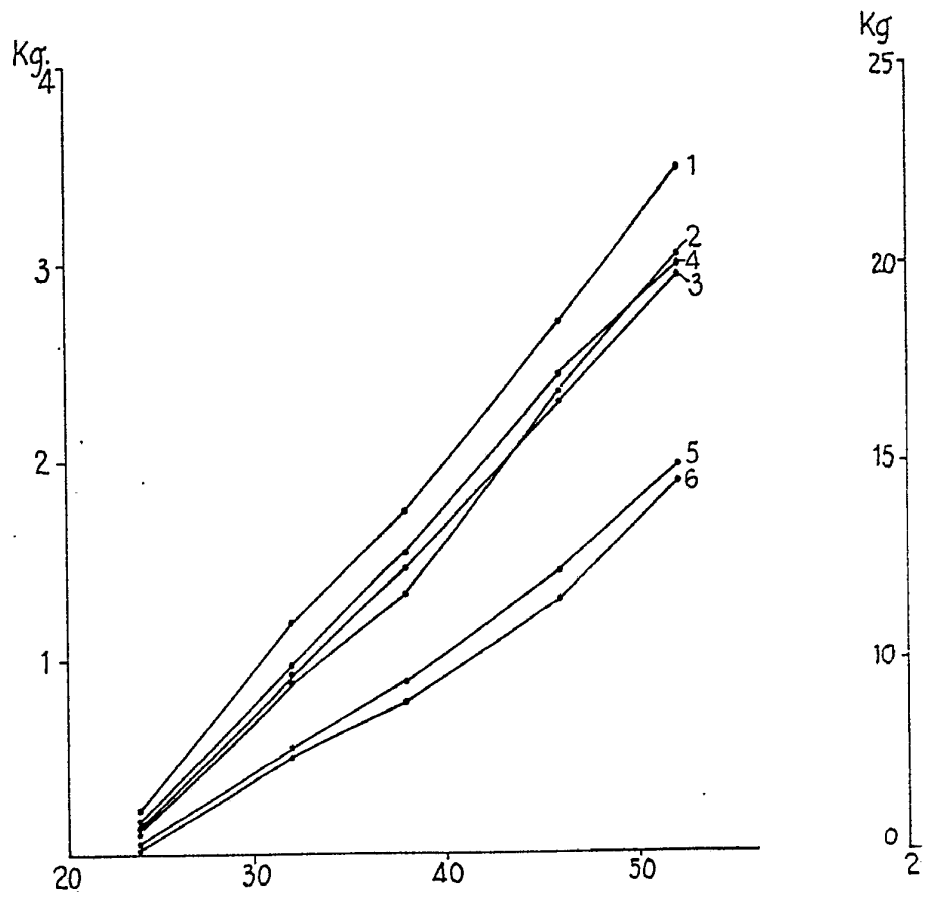
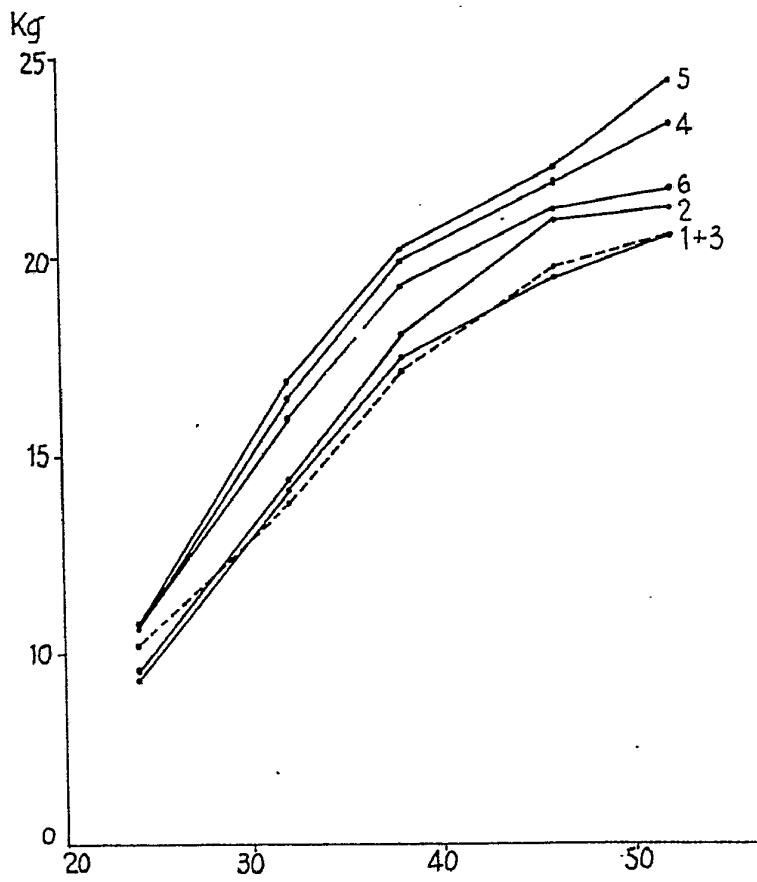


FIG. 2



Barcelona, 12 de septiembre de 1.977
p.a.

