

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 804 041**

51 Int. Cl.:

A01N 63/00 (2010.01)

A01P 21/00 (2006.01)

A01P 3/00 (2006.01)

C05G 3/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.10.2013 PCT/IB2013/059795**

87 Fecha y número de publicación internacional: **08.05.2014 WO14068501**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.10.2013 E 13792758 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.05.2020 EP 2914113**

54 Título: **Composición a base de bacterias para mejorar el crecimiento de las plantas**

30 Prioridad:

30.10.2012 FR 1260339

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

02.02.2021

73 Titular/es:

**DANSTAR FERMENT AG (100.0%)
Poststrasse 30
6300 Zug, CH**

72 Inventor/es:

**COR, OLIVIER y
SANCHEZ, BRUNO**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 804 041 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composición a base de bacterias para mejorar el crecimiento de las plantas

5 La invención tiene como objetivo una composición para mejorar el crecimiento y aumentar la biomasa de las plantas.

En el ámbito de la agricultura, el aumento de los rendimientos de producción sigue siendo un desafío importante, tanto económicamente como socialmente. Para hacer esto, se han propuesto numerosas composiciones químicas o biológicas y dan lugar a unos resultados de eficacia variables. Tienen como objetivo (i) luchar directamente contra las plagas de los cultivos, (ii) proteger las plantas del estrés abiótico, (iii) estimular las defensas naturales y (iv) mejorar la nutrición y el crecimiento de las plantas. El documento US 2009/0169530 describe el uso de bacterias del género *pediococcus* o *Lactobacillus* para luchar contra las enfermedades de las plantas. El documento WO 2006/089416 describe el uso de un abono que comprende una bacteria de ácido láctico y una bacteria de la familia de las *Bacillaceae*.

15 En este contexto, los inventores han constatado que, de manera sorprendente, una especie particular de *Lactobacillus* ejercía unos efectos claramente superiores, en términos de crecimiento y de protección de las plantas, que los obtenidos con otras especies del género *Lactobacillus* o unos compuestos antifúngicos de referencia. Este efecto sorprendente sobre el crecimiento de las plantas puede acompañarse de un efecto más previsible de protección frente a algunos hongos.

La invención tiene por lo tanto como objetivo proporcionar una nueva composición, de gran eficacia, para mejorar el crecimiento y aumentar la biomasa de las plantas.

25 Tiene también como objetivo el aprovechamiento de las propiedades de tal composición en un método que tiene por objetivo aumentar el crecimiento y la biomasa de plantas.

La composición de la invención para mejorar el crecimiento y aumentar la biomasa de las plantas se caracteriza por que comprende al menos la cepa viva de bacteria de la especie *Lactobacillus rhamnosus* depositada en la CNCM bajo el nº I-1720, el 1 de julio de 1996, y unos abonos, herbicidas, insecticidas, y/o soportes de cultivo, y por que se presenta en una forma apropiada para el tratamiento de la tierra, el tratamiento de la parte de la raíz o de la parte foliar y/o para el tratamiento de la semilla.

35 En un modo de realización, la composición de la invención se caracteriza por que comprende la o las dichas bacterias en combinación con otros microorganismos seleccionados entre las levaduras, las bacterias y los hongos, vivos, inactivos o en extractos.

La invención tiene también como objetivo unas formulaciones de la composición para el tratamiento de la tierra, el tratamiento de la parte de la raíz, el tratamiento foliar, y/o el tratamiento de la semilla.

40 Unas formulaciones apropiadas comprenden unos polvos, especialmente unos polvos humectables, unos granulados, unos microgranulados, unos tratamientos de semillas, unas formulaciones líquidas, especialmente unas suspensiones de las composiciones de la invención en agua y encapsulaciones de las bacterias.

45 Una formulación apropiada contiene de 10^6 a 10^{12} CFU/g, especialmente de 10^8 a 10^{10} CFU/G de *Lactobacillus rhamnosus* de la especie *Lactobacillus rhamnosus* depositada en la CNCM bajo el nº I-1720, el 1 de julio de 1996.

50 Estas formulaciones se envasan en unos embalajes que las preservan de cualquier degradación, almacenadas preferentemente a temperaturas que no exceden 20°C. Tales formulaciones son estables y pueden conservarse durante al menos 10 meses.

La invención se refiere además a un método para mejorar el crecimiento y aumentar la biomasa de las plantas, caracterizada por la aplicación sobre la semilla, la tierra, la parte de la raíz o foliar de la planta, por ejemplo por pulverización, de polvo o de formulación líquida, en particular una suspensión en agua, de una composición tal como se ha definido anteriormente.

55 Un método según la invención para mejorar el crecimiento de las plantas se caracteriza por que comprende la aplicación sobre la semilla, la tierra, la parte de la raíz o foliar de la planta, de una composición que comprende al menos una cepa viva de bacteria de la especie *Lactobacillus rhamnosus*.

60 Más particularmente, un método según la invención comprende la aplicación de una formulación que comprende de 10^6 a 10^{12} CFU/g, especialmente de 10^8 a 10^{10} CFU/g de *Lactobacillus rhamnosus*.

65 Según un modo de realización particular, un método según la invención comprende la aplicación de una composición que comprende la cepa de *Lactobacillus rhamnosus* depositada en la CNCM bajo el nº I-1720 el 1 de julio de 1996.

En otro modo de realización, un método según la invención comprende la aplicación de una composición que comprende una cepa viva de bacteria de la especie *Lactobacillus rhamnosus* en combinación con otros microorganismos seleccionados entre las levaduras, las bacterias y los hongos, vivos, inactivos o en extractos.

- 5 En otro modo de realización, un método según la invención comprende la aplicación de una composición que comprende una cepa viva de bacteria de la especie *Lactobacillus rhamnosus* y unos abonos, herbicidas, insecticidas, fungicidas, soluciones minerales y/o soportes de cultivo.

- 10 En otro modo de realización, un método según la invención comprende la aplicación de una composición que comprende una cepa viva de bacteria de la especie *Lactobacillus rhamnosus* y que se presenta en una forma apropiada para el tratamiento de la tierra, el tratamiento de la parte de la raíz o de la parte foliar y/o para el tratamiento de la semilla. Más particularmente, un método según la invención comprende la aplicación de una composición que comprende una cepa viva de bacteria de la especie *Lactobacillus rhamnosus* que se presenta en forma de polvos humectables, de granulados, de microgranulados, de tratamientos de semillas, en forma de formulaciones líquidas, especialmente unas suspensiones en agua y unas encapsulaciones de las bacterias.

Según otro modo de realización, un método según la invención comprende la aplicación de tal composición por pulverización de polvo o de formación líquida, en particular de una suspensión en agua de tal composición.

- 20 Aplicaciones repetidas, por ejemplo cada 3 a 6 semanas, según unas dosis que varían de 13 a 30 mg/planta o 150 a 250 g/Ha, preferentemente en la siembra o en el momento del brote, en las primeras etapas de floración, parecen favorables al desarrollo de la planta y aumentan su crecimiento.

- 25 La aplicación de la composición y del método, definidos anteriormente, a los cultivos de cereales (trigo, cebada, avena, centeno), a las plantas escardadas (remolacha azucarera, patata, maíz), a las leguminosas (alfalfa, trébol, esparceta), a las gramíneas (ray-grass, festuca, festulolium de pata de gallo), a las oleoproteaginosas (soja, colza, guisante, habita, altramuza blanca), a los cultivos leguminosos y hortícolas, a la arboricultura frutal, a la viticultura y a los cultivos ornamentales (producción de flores, viveros de plantas jóvenes), presentan en particular un beneficio.

- 30 Otras características y ventajas de la invención se dan, a título ilustrativo, en los ejemplos siguientes y en la figura única que detalla los resultados del ensayo sobre plantas de tomates en una cámara de cultivo.

Ejemplo 1: Preparación de una composición a base de *Lactobacillus rhamnosus*

- 35 Esta composición se elabora a partir de:

Microgranulados estimuladores de crecimiento (10 kg/ha) que comprenden: un -2% de *Lactobacillus rhamnosus*, es decir 200 g/ha

- 40 - un 1,0% de derivados de levadura, es decir 100 g/ha

- un 1,5% de *Glomus intraradices* "hongos simbióticos", es decir 150 g/h

Ejemplo 2: Formulación para aplicación en siembra

- 45 *Lactobacillus rhamnosus* a 2,6/kg en la siembra de una cereal de paja de PMG 48

Ejemplo 3: Aplicación a cultivos de tomates

- 50 Los ensayos cuyos resultados se detallan a continuación se han llevado a cabo según el protocolo siguiente:

- El ensayo realizado comprende 13 modalidades (10 formulaciones de microorganismos y 3 controles (un positivo con *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* race 0, un control negativo sin patógeno, un control de referencia química realizado con un fungicida de contacto, el TROTIS[®] utilizado al 5%). En estas 13 modalidades, se han realizado 15 repeticiones, es decir un total de 195 plántulas de tomates.

La dosis de *Lactobacillus rhamnosus* es de 13 mg por planta a $1,44 \cdot 10^9$ CFU/g.

- 60 El sustrato utilizado es una mezcla de 3 volúmenes de una tierra local, extraída en un campo de una explotación biológica, y de 2 volúmenes de arena silíceas lavada de granulometría comprendida entre 0,3 y 1 mm. El análisis de esta tierra se proporciona en la tabla siguiente:

TABLA

PARÁMETRO	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO
pH H ₂ O	Potenciometría	-	7,5
pH KCl	Potenciometría	-	7,1
Materia orgánica oxidable	Análisis RedOx con dicromato de potasio	% ppm	3,20
<u>Macroelementos</u>			
Fósforo total	HClO ₄ UV/VIS	mg/kg	36
Nitrógeno total	Kjeldahl	% p/p	0,29
Fósforo Olsen	Bicarbonato de sodio UV/VIS	mg/kg	78
Potasio	CINH ₄	mg/kg	1329
Calcio	CINH ₄	mg/kg	1770
Magnesio	CINH ₄	mg/kg	200
Sodio	CINH ₄	mg/kg	240
CEC	Acetato de sodio	meq/100g	20
<u>Microelementos</u>			
Hierro asimilable	EDTA	mg/kg	51
Manganeso asimilable	EDTA	mg/kg	16
Cobre asimilable	EDTA	mg/kg	4
Zinc asimilable	EDTA	mg/kg	10
<u>Caracterización de la mezcla</u>			
Arenas	Bouyoucos	%pp	44
Limos	Bouyoucos	%pp	25
Arcillas	Bouyoucos	%pp	27

5 Las semillas de tomate se limpiaron previamente en un baño de lejía al 10%, se lavaron con agua, se rehidrataron durante 24h antes de sembrarse. Las plantas se regaron con una solución nutritiva Hewitt.

Los resultados se dan en la figura única. Los compuestos utilizados en el ensayo son los siguientes:

10 Control negativo: control sin tratamiento, sin inoculación del patógeno

Control positivo: control sin tratamiento, con inoculación del patógeno

Trotis[®]: antifúngico

15 Mycistop: antifúngico a base de *Streptomyces sp.*

Bioréveil: extractos de levadura

20 Cilus plus: *Bacillus sp.*

Prestop: antifúngico

Lb1: *Lactobacillus acidophilus*

25 Lb2: *Lactobacillus plantarum*

Lb3: *Lactobacillus rhamnosus*

30 Rhizocell: *Bacillus sp.*

Fusarium oxysporum: cepa de hongo no patógeno

Tv.: *ascomiceto*

35 Como muestran los resultados obtenidos en este ensayo, la biomasa media de las plántulas de tomates (biomasa de raíz y biomasa aérea) es claramente más importante comparada con la obtenida con productos habituales, e incluso con unas bacterias del mismo tipo.

40 De manera sorprendente, los tomates que han recibido tratamientos con *Lactobacillus rhamnosus*, aunque inicialmente infectados, presentan un desarrollo superior a los controles sanos.

REIVINDICACIONES

1. Composición para aumentar la biomasa de las plantas, caracterizada por que comprende al menos:

- 5 - la cepa viva de bacteria de la especie *Lactobacillus rhamnosus* depositada en la CNCM bajo el n° I-1720 el 1 de julio de 1996, y
- abonos, herbicidas, insecticidas, y/o soportes de cultivo,

10 y por que se presenta en una forma apropiada para el tratamiento de la tierra, el tratamiento de la parte de la raíz o la parte foliar y/o para el tratamiento de la semilla.

15 2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada por que comprende dicha o dichas bacterias en combinación con otros microorganismos seleccionados entre las bacterias, los hongos y las levaduras, vivos, inactivos o en extractos.

20 3. Composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, caracterizada por que se presenta en forma de polvo, especialmente de polvos humectables, granulados, de microgranulados, de tratamiento de las semillas, en forma de formulaciones líquidas, especialmente suspensiones en agua y encapsulaciones de las bacterias.

25 4. Formulación de una composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada por que contiene de 10^6 a 10^{12} CFU/g, especialmente de 10^8 a 10^{10} CFU/g de *Lactobacillus rhamnosus*.

30 5. Método para aumentar la biomasa de las plantas, caracterizado por la aplicación sobre la semilla, la tierra, la parte de la raíz o foliar de la planta de una composición que comprende al menos una cepa viva de bacteria de la especie *Lactobacillus rhamnosus* o de una formulación que comprende de 10^6 a 10^{12} CFU/g, especialmente de 10^8 a 10^{10} CFU/g de *Lactobacillus rhamnosus*.

35 6. Método según la reivindicación 5, caracterizado por que dicha composición comprende al menos la cepa viva de *Lactobacillus rhamnosus* depositada en la CNCM bajo el número I-1720 el 1 de julio de 1996.

40 7. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 5 o 6, caracterizado por que dicha composición comprende dicha o dichas bacterias en combinación con otros microorganismos seleccionados entre las bacterias, los hongos y las levaduras, vivos, inactivos o en extractos.

45 8. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, caracterizado por que dicha composición comprende además abonos, herbicidas, insecticidas, fungicidas, soluciones minerales y/o soportes de cultivo.

50 9. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, caracterizado por que dicha composición se presenta en una forma apropiada para el tratamiento de la tierra, el tratamiento de la parte de la raíz o de la parte foliar, y/o para el tratamiento de la semilla.

55 10. Método según la reivindicación 9, caracterizada por que se presenta en forma de polvo, especialmente de polvos humectables, de granulados, de microgranulados, de tratamiento de semillas, en forma de formulaciones líquidas, especialmente suspensiones en agua y encapsulaciones de las bacterias.

60 11. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 10, caracterizado por la aplicación sobre la semilla, la tierra, la parte de la raíz o foliar de la planta de una formulación de una composición que comprende de 10^6 a 10^{12} CFU/g, especialmente de 10^8 a 10^{10} CFU/g de *Lactobacillus rhamnosus*.

65 12. Método según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 11, caracterizado por que la aplicación se realiza por pulverización de polvo o formación líquida, en particular de una suspensión en agua de dicha composición.

13. Aplicación de la composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o de una formulación según la reivindicación 4, a los cultivos de cereales (trigo, cebada, avena, centeno), a las plantas escardadas (remolacha azucarera, patata, maíz), a las leguminosas (alfalfa, trébol, esparceta), a las gramíneas (ray-grass, festuca, festulolium de pata de gallo), a las oleoproteaginosas (soja, colza, guisante, haba, altramuz blanco), a los cultivos leguminosos y hortícolas, a la arboricultura frutal, a la viticultura y a los cultivos ornamentales como las producciones florales, viveros de plantas jóvenes, para aumentar la biomasa de las plantas.

14. Aplicación del método según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 12, a los cultivos de cereales (trigo, cebada, avena, centeno), a las plantas escardadas (remolacha azucarera, patata, maíz), a las leguminosas (alfalfa, trébol, esparceta), a las gramíneas (ray-grass, festuca, festulolium de pata de gallo), a las oleoproteaginosas (soja, colza, guisante, haba, altramuz blanco), a los cultivos leguminosos y hortícolas, a la arboricultura frutal, a la viticultura y a los cultivos ornamentales como las producciones florales, los viveros de plantas jóvenes, para aumentar la biomasa de las plantas.

Figura 1

