



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

**SOLICITUD
PATENTE DE INVENCION**

EXPEDIENTE No. 00-14742

TITULO Compostos Biologicos y Metodos para Mejorar el
Crecimiento y salud de las plantas y para producir
plantas que suprimen las enfermedades.

CLASIFICACION INTERNACIONAL C05F 11/08 A01 63/00

SOLICITANTE 1. AUBURN UNIVERSITY 2. GUSTAFSON, LLC.

1. 309 Sanford Hall, Auburn University, AL 36849

DOMICILIO 2. 1400 Preston Road, Suite 400, Plano, Texas 75093.

APODERADO Dana Cardenas Navas

SANTAFE DE BOGOTA, D.C. 1 de marzo de 2000

202038

202007

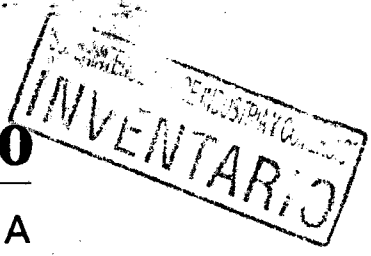
2003-07-30

63



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA



Delegatura de propiedad Industrial

Organizacion CSA Ltda

División de Nuevas Creaciones

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

00-14742

54. TÍTULO

"Compuestos biológicos y método para mejorar el crecimiento y salud de las plantas y para producir plantas que se supriman las enfermedades"

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL

Cosf 11/08 ADI 63/00

71. SOLICITANTE

1. Auburn University 2. Gustafson, LLC.

DOMICILIO

1. 309 Sanford Hall, Auburn University, AL 36849
2. 1400 Preston Road, Suite 400, Plano, Texas 75093

74. APODERADO

David Cardenas Navas

22. BOGOTÁ, D. C., 1 marzo de 2000

202038

2020107

63

2003-07-30



REPUBLICA DE COLOMBIA

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SOLICITUD
PATENTE
INVENCION

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación: 0301-742 00000000

Folios: 70

Fecha (AMD): 2000-03-01 16:26:14

Trámite: 002 PATENTES E 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2021 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social

1. AUBURN UNIVERSITY 2. GUSTAFSON, LLC.

No. de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica)

País de Domicilio

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

Departamento o Estado

Ciudad

Dirección

(74) DATOS DEL APODERADO

Nombre

DARIO CARDENAS NAVAS

Dirección

CARRERA 7ª. No. 71-52 TORRE B PISO 9, SANTA FE DE BOGOTA D.C.

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor (es)

1. JOSEPH W. KLOEPPER

2. RODRIGO RODRIGUEZ-KABANA

3. DONALD S. KENNEY

Dirección y Domicilio

1. 2608 ORCHARD CIRCLE, AUBURN, AL 35832

2. P.O. BOX 334, AUBURN, AL 36832

3. 3801 LARIAT ROAD, DENTON, TX 76207

Identificación

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención

COMPUESTOS BIOLOGICOS Y METODOS PARA MEJORAR EL CRECIMIENTO Y
SALUD DE LAS PLANTAS Y PARA PRODUCIR PLANTAS QUE SUPRIMAN LAS ENFERMEDADES.

PRIORIDAD REIVINDICADA

SI

X

NO

(33) País ESTADOS UNIDOS
DE AMERICA

(32) Fecha

MARZO 1, 1999

(31) No. Solicitud

(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

ver folio 213

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

EL INVENTO ACELERA EL CRECIMIENTO DE TODO TIPO DE PLANTAS, V.G. EL TOMATE, EL COHOMBRO, EL PIMENTON DULCE, EL TABACO, LOS CULTIVOS DE HORTICULTURA Y OTROS, Y AUMENTA LA SALUD DE LA PLANTA. EL INVENTO ESTA DISEÑADO PARA AUMENTAR LA TASA DE CRECIMIENTO DE LA PLANTULA EN LA TIERRA O EN EL INVERNADERO; Y PARA PRODUCIR SEMILLAS QUE TIENEN UN REVESTIMIENTO QUE IMPARTE RESISTENCIA A LA ENFERMEDAD, DISMINUYENDO POR ESA RAZON EL TIEMPO REQUERIDO PARA PRODUCIR TRANSPLANTE EN INVERNADEROS DE PLANTULAS ANTES DE SU TRANSPLANTE A LOS CAMPOS AGRICOLAS; Y DESARROLLAR PLANTULAS PARA TRANSPLANTE "QUE SUPRIMEN LAS ENFERMEDADES" QUE ESTAN PROTEGIDAS POR UN TIEMPO CONTRA ENFERMEDADES MULTIPLES A TRAVES DE MECANISMOS COMBINADOS DE DEFENSA ESTIMULADA DE LA PLANTA Y ACTIVIDAD INCREMENTADA DE LOS MICROORGANISMOS ANTAGONISTAS NATIVOS EN LAS RAICES DE LA PLANTA. SE PROPORCIONAN COMPOSICIONES Y METODOS PARA SU UTILIZACION.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el Solicitante sea Persona Jurídica	☐
Los poderes debidamente otorgados, o mención de su protocolización ante la S.I.C.	☐
Recibo de la tasa respectiva	☒
Si se reivindica prioridad, el certificado respectivo (copia legalizada)	☐
Traducción oficial	☐
Capítulo descriptivo	☒
Dibujos, planos necesarios	☐
Capítulo reivindicatorio	☒
Tarjeta archivo propietarios según formato	☒
Tarjeta archivo temático según formato	☒
Extracto para resumen o para publicación según formato	☒
Arte final 12 x 12 cms.	☐

SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD



00 14742

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación: 00014742 00000000

Folios: 78

Fecha (AMZ): 2000-03-01 16:06:14

Trámite: 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Legislación: 2000 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

SEÑORES

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DELEGATURA PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

E.S.D.

REF.: Expediente No.

ASUNTO: Solicitud de la PATENTE DE INVENCION: **COMPUESTOS BIOLOGICOS Y METODOS PARA MEJORAR EL CRECIMIENTO Y SALUD DE LAS PLANTAS Y PARA PRODUCIR PLANTAS QUE SUPRIMAN LAS ENFERMEDADES.**

SOLICITANTES: 1. AUBURN UNIVERSITY.
2. GUSTAFSON, LLC.

DARIO CARDENAS NAVAS, mayor de edad, vecino de Santafé de Bogotá D.C., con cédula de ciudadanía No. 17.066.629 de Santafé de Bogotá, abogado titulado con Tarjeta Profesional No. 1.250 obrando como apoderado de las Sociedades: **1.AUBURN UNIVERSITY** sociedad legalmente constituida bajo las leyes del Estado de Alabama, Estados Unidos de América y domiciliada en 309 Samford Hall, Auburn University, AL 36849 y **2.GUSTAFSON, LLC.**, sociedad legalmente constituida bajo las leyes del Estado de Texas, Estados Unidos de América, y domiciliada en 1400 Preston Road, Suite 400, Plano, Texas 75093, en ejercicio del poder que me ha sido conferido, solicito a ustedes que de conformidad con el Capítulo I de la Decisión 344 del Acuerdo de Cartagena y demás textos legales sobre la materia, se sirva conceder a mi Poderdante privilegio de **PATENTE DE INVENCION**, con el objeto de que pueda explotar en el territorio de la República de Colombia, con exclusión de toda otra persona, el invento denominado: **COMPUESTOS BIOLOGICOS Y METODOS PARA MEJORAR EL CRECIMIENTO Y SALUD DE LAS PLANTAS Y PARA PRODUCIR PLANTAS QUE SUPRIMAN LAS ENFERMEDADES**, de conformidad con descripción y las reivindicaciones que se anexan.

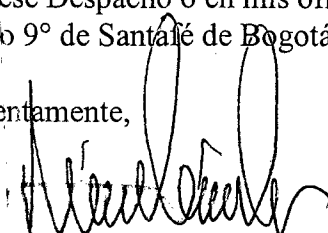
RECIPROCIDAD DEL CONVENIO DE PARIS

La fuente normativa de reciprocidad es aquella de que trata el numeral 1, literal a) del artículo 4 del Convenio de París, el cual establece que:

“Quien hubiere depositado regularmente una solicitud de patente de invención, de modelo de utilidad, de dibujo o modelo industrial, de marca de fabrica o de comercio, en alguno de los países de la Unión o su causahabiente, gozará para efectuar el depósito en los otros países, de un derecho de prioridad, durante los plazos fijados más adelante en el presente.”

Como apoderado de la Sociedad Peticionaria, manifiesto a usted que recibiré notificaciones en ese Despacho o en mis oficinas de abogado situadas en la Carrera 7a. No. 71-52 Torre B, Piso 9° de Santafé de Bogotá D.C.

Atentamente,


DARIO CARDENAS NAVAS

C.C. No. 17.066.679 de Bogotá

T.P. 1.250 de Minjusticia

AMR/eis
FOL No. P-1-23

5 9

SOLICITUD PARA OBTENER UNA PATENTE DE INVENCION EN LOS
ESTADOS UNIDOS

PARA

COMPUESTOS BIOLÓGICOS Y MÉTODOS PARA MEJORAR EL
CRECIMIENTO Y SALUD DE LAS PLANTAS Y PARA PRODUCIR
PLANTAS QUE SUPRIMAN LAS ENFERMEDADES

Inventores: Joseph W. Kloepper
Rodrigo Rodríguez-Kábana
Donald S. Kenney

Preparado por: Schnader Harrison Segal & Lewis LLP
1600 Market Street, 36th. Floor
Philadelphia, Pennsylvania 19103
(215) 751-2427

6

**COMPUESTOS BIOLÓGICOS Y MÉTODOS PARA MEJORAR EL
CRECIMIENTO Y LA SALUD DE LAS PLANTAS Y PARA PRODUCIR
PLANTAS QUE SUPRIMAN LAS ENFERMEDADES**

**REFERENCIAS CRUZADAS CON RESPECTO A SOLICITUDES
RELACIONADAS**

Esta solicitud se basa en una solicitud provisional para patente con N° de Serie 60/122,311, presentada el 1° de marzo de 1999 y en una solicitud provisional para patente con N° de Serie 60/139,850, presentada el 18 de junio de 1998 llamada: "Preparaciones Biológicas para Mejorar el Crecimiento y la Salud de las Plantas", Expediente Legal N° 922.6739PROV. Esta solicitud reivindica el beneficio tiene la ventaja de las fechas de presentación de las solicitudes provisionales arriba citadas, las cuales se incorporan en su totalidad en el presente documento por referencia.

ANTECEDENTES DEL INVENTO

Campo del invento

El invento se refiere a mejoras en las plantas. En particular, a mejoras en las composiciones biológicas que son efectivas para el aumento en la tasa de crecimiento de las plántulas, desarrollan inmunidad contra enfermedades sistémicas de las plantas y controlan los nemátodos del suelo. EL invento también

4

se refiere a las semillas que han sido tratadas con el compuesto y a las plántulas y plantas tratadas.

Enmiendas Orgánicas y Quitinas

La supresión ocurrida naturalmente en los nemátodos ha sido reportada en varios sistemas agrícolas (Stirling et al., 1979, Kerry, 1982, Kluepfel et al., 1993), pero ésta también puede ser provocada por rotación de cultivos con plantas antagónicas tales como el "switchgrass" (*Panicum virgatum*) (Kokalis-Burelle et al., 1995) y frijol terciopelo (*Mucuna deeringiana*) (Vargas et al., 1994) o enmiendas orgánicas incluyendo la corteza del pino (Kokalis-Buerelle et al., 1994), hemicelulosa (Culbreath Morgan-Jones, 1987) y quitina (Mankau y Das, 1969, Spiegel et al., 1986, Rodríguez-Kábana y Morgan-Jones, 1987). Se cree que uno de los componentes importantes de la supresión de la enmienda con quitina es biótico y varios informes confirman el incremento en el número de microorganismos antagónicos a los nemátodos asociados con suelos con supresión inducida por quitinas (Godoy et al., 1983, Rodríguez-Kábana et al., 1984). Durante los últimos años se han llevado a cabo extensos trabajos en hongos asociados con enmiendas de la quitina (Godoy et al., 1983, Rodríguez-Kábana et al., 1984), en tanto que existe poca información sobre la estructura de la

8

colonia bacteriana y el papel de las bacterias en la supresión inducida por la quitina.

La quitina, un polisacárido de glucosaminasa, es el componente estructural de algunos hongos, insectos, y de varios huevos de crustáceos y de nemátodos. En las cáscaras de huevos de los nemátodos tilencoides, la quitina se localiza entre la capa vitelina externa y la lípida interna y puede estar presente en asociación con proteínas (Bird y Bird, 1991). La descomposición causada por las quitinas en este polímero puede causar una eclosión precoz, la cual resulta en poca viabilidad de las formas juveniles (Mercer et al., 1992). En el suelo, algunos actinomicetos (Mitchell y Alexander, 1962), hongos (Mian et al., 1982) y bacterias (Ordentlich et al., 1988, Inbar y Chet, 1991), producen quitinas, pero éstas también son liberadas por muchas plantas como parte de sus mecanismos de defensa contra varios agentes patógenos (Punja y Zang, 1993) y contra nemátodos parásitos de las plantas (Roberts et al., 1992). Las quitinas despolimerizan el polímero de la quitina en N-acetilglucosamida y quitobiosa. Mas actividad microbica da como resultado una desaminación del azúcar y una acumulación de iones y nitratos de amonio (Rodríguez-Kábana et al., 1983). Se cree que las concentraciones de amoníaco nematicida en conjunto con una nueva formación de microflora quitinolítica causan supresión de nemátodos (Mian et al., 1982, Godoy et

9

al., 1983). Benhamou et al. (1994), han demostrado que la quitosana, el derivado desacetilado de la quitina, conlleva a la resistencia sistémica de la planta contra el *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radicislycopersici* en los tomates cuando se aplica como tratamiento para las semillas o enmienda de suelos. Esto sugiere que los mecanismos de defensa de la planta pueden contribuir a la completa supresión de los nemátodos.

Los cambios en uno de los componentes de la microflora en una colonia, generalmente conducen a otros cambios y recientemente se reportó que una enmienda de suelos con 1% de quitinas produce alteraciones en la estructura taxonómica de las colonias bacterianas del suelo, de la rizosfera y de la endorriza (Hallman et al., 1998). Varias especies bacterianas se encontraron en suelos y en rizosferas de algodón enmendados con quitinas y que no se detectaron en suelos y rizosferas no enmendadas. Adicionalmente, se determinó que los suelos renovados con quitina ejercían influencia selectiva en la estructura de la bacteria endofítica dentro de la raíz del algodón. Por ejemplo, la *Phyllobacterium rubiacearum* no era un endófito común luego de una enmienda con quitina, aunque ésta sí estimuló su población en el suelo. La *Burkholderia cepacia* era el endofito dominante luego de una enmienda con quitina pero raramente se encontraba entre la colonia endofítica de plantas no enmendadas. De ahí que los

10

cambios en la estructura de la colonia microbiana están relacionados con el control de los nemátodos que ocurre cuando hay enmienda del suelo con quitina.

Las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento de las Plantas (RPCP)

Los microorganismos asociados con las plantas han sido examinados con detenimiento por su papel en la supresión natural e inducida de enfermedades originadas en el suelo. Entre los muchos grupos de tales organismos se encuentran las bacterias propias de las raíces, las cuales generalmente representan un subgrupo de las bacterias del suelo. Las rizobacterias son un subgrupo de bacterias de la rizosfera total que tienen la capacidad de colonizar el sistema de raíces en desarrollo en presencia de la microflora competidora del suelo, al ser reintroducidas en las semillas o en las partes vegetativas de la planta (tal como fragmentos de semilla de la papa). La colonización de las raíces se examina rutinariamente cuantificando las poblaciones bacterianas en la superficie de las raíces; sin embargo, algunas rizobacterias pueden también introducirse en las raíces y establecer por lo menos una fase endofítica limitada. De ahí que la colonización de las raíces puede visualizarse como un paso continuo de la rizosfera al rizoplaneo y a los tejidos internos de la raíz.

11

A las rizobacterias que ejercen un efecto benéfico en la planta que se está colonizando se las conoce como RPCP. Las RPCP pueden beneficiar al huésped promoviendo el crecimiento o el control biológico de la enfermedad de la planta. El mismo tipo de RPCP puede ser tanto el promotor del crecimiento como el controlador biológico. Se han analizado los esfuerzos para seleccionar y aplicar las RPCP para el control de patógenos fungosos específicos originarios del suelo (Kloepper, 1981; Glick y Bashan, 1997). Entre estos patógenos negativamente afectados por las RPCP se encuentran el *Aphanomyces* spp., el *Fusarium oxysporum*, la *Gaeumannomyces graminis*, la *Phytophthora* spp., la *Pythium* spp., la *Rhizoctonia solani*, la *Sclerotium rolfsii*, la *Thielaviopsis basicola*, y la *Verticillium* spp. En la mayoría de estos casos, el control biológico es el resultado de la producción bacteriana de metabolitos que directamente inhiben el patógeno, tales como los antibióticos, el cianuro de hidrógeno, los sideróforos ferroquelados y las enzimas degenerativas de la pared celular. La promoción del crecimiento de las plantas por las RPCP puede también ser un mecanismo indirecto de control biológico, que conlleva a una reducción en la probabilidad de que una planta contraiga una enfermedad cuando la promoción del crecimiento origina la reducción del tiempo en el que la planta está en un estado susceptible; por ejemplo,

12

cuando la RPCP produce un aceleramiento en la tasa de germinación de las plántulas, reduciendo así el tiempo de susceptibilidad al "damping-off". La resistencia sistémica inducida es un mecanismo alternativo de control biológico por la RPCP.

Agentes de Biocontrol de Nemátodos

Muchos de los ejemplos de biocontrol de nemátodos por antagonistas recientemente publicados incluyen el uso del patógeno no cultivable *Pasteuria penetrans* (revisión de Stirling, 1991b). Las poblaciones del patógeno casi siempre aumentan debido a la cosecha continua de cultivos susceptibles a los nemátodos y pueden contribuir en estos casos a la supresión de nemátodos en los suelos. La *P. Penetrans* produce esporas en reposo que se adhieren a la cutícula de los nemátodos, en donde producen un tubo germinal que penetra en el huésped y desarrollan una amplia colonización y digestión del nemátodo hospedero. Infortunadamente, los procedimientos para producir suficientes esporas para estudios inoculativos, de biocontrol son difíciles y, no hay sistemas prácticos disponibles para cultivos en masa (Ciancio, 1995). Los hongos atrapadores de nemátodos han proporcionado control en invernaderos; sin embargo, el control práctico en el campo no ha sido consistente. Lo más probable es que este resultado sea debido a que la

capacidad de atrapar nemátodos en la mayoría de las especies no está relacionada con la densidad de los nemátodos como sí se requeriría para un control económico (Stirling, 1991a). Existen varias publicaciones sobre rizobacterias cultivables como agentes de biocontrol de nemátodos (Becker et al., 1988; Hallman et al., 1997; Kloepper et al., 1993; Martínez-Ochoa et al., 1997; Oka et al., 1993; Sikora, 1988). Aunque se ha reportado alguna disminución en daños o población de nemátodos al introducir bacterias en estos sistemas modelos, ninguno de estos estudios presenta datos de que haya eficacia en el campo a niveles que puedan proporcionar una protección económicamente viable.

Resistencia Sistémica Inducida (RSI) con las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento en las Plantas (RPCP)

La resistencia inducida, en donde las defensas naturales de la planta han sido provocadas por un agente físico, químico o biológico, ha sido ampliamente analizada y estudiada (Kuc, 1982; Ross, 1961; Ryans et al., 1996; Sticher et al., 1997; van Loon, 1997). Los agentes biológicos que inducen a la resistencia son generalmente de dos clases: aquellos que producen una lesión necrótica en la planta, indicando una interacción incompatible entre el patógeno y el

capacidad de atrapar nemátodos en la mayoría de las especies no está relacionada con la densidad de los nemátodos como sí se requeriría para un control económico (Stirling, 1991a). Existen varias publicaciones sobre rizobacterias cultivables como agentes de biocontrol de nemátodos (Becker et al., 1988; Hallman et al., 1997; Kloepper et al., 1993; Martínez-Ochoa et al., 1997; Oka et al., 1993; Sikora, 1988). Aunque se ha reportado alguna disminución en daños o población de nemátodos al introducir bacterias en estos sistemas modelos, ninguno de estos estudios presenta datos de que haya eficacia en el campo a niveles que puedan proporcionar una protección económicamente viable.

Reistencia Sistémica Inducida (RSI) con las Rizobacterias Promotoras del Crecimiento en las Plantas (RPCP)

La resistencia inducida, en donde las defensas naturales de la planta han sido provocadas por un agente físico, químico o biológico, ha sido ampliamente analizada y estudiada (Kuc, 1982; Ross, 1961; Ryans et al., 1996; Sticher et al., 1997; van Loon, 1997). Los agentes biológicos que inducen a la resistencia son generalmente de dos clases: aquellos que producen una lesión necrótica en la planta, indicando una interacción incompatible entre el patógeno y el

hospedero y aquellos que colonizan la planta, generalmente las raíces, sin una necrosis visible. Se ha demostrado que algunas bacterias rizosferas colonizan las raíces de las plantas dando como resultado un aumento en el crecimiento de éstas o el control biológico de enfermedades (revisión de van Loon et al., 1998). Algunas cepas de las RPCP, como los agentes biológicos que causan necrosis y los inductores químicos, hacen reaccionar las defensas naturales de la planta como respuesta al ataque del patógeno. Las RPCP colonizan las raíces de la planta y de esta manera potencialmente producen un período largo de inducción, contrario a lo que sucede con los agentes biológicos que inducen a la necrosis, o a los inductores químicos, que producen un período de inducción a corto plazo. La mayoría de estos sistemas publicados utilizanseudomónadas fluorescentes y el mecanismo parece ser distinto a la Resistencia Sistémica Inducida por patógenos o químicos en el cual las proteínas relacionadas con la patogénesis no se acumulan y la protección al sistema usualmente no depende de la activación del ácido salicílico (Press et al., 1998; revisado por van Loon et al., 1998).

La investigación que presta soporte a este invento ha estudiado el fenómeno de las RPCP mediando la RSI y los resultados indican lo siguiente: Las cepas seleccionadas de RPCP pertenecientes a varios géneros

16

Grampositivos y Gramnegativos (incluyendo las *Seudomonas*, las *Serratia* y los *Bacilos*) pueden reducir la incidencia de los patógenos infecciosos distales, luego del tratamiento en las semillas o en el sistema radical de las plantas en el suelo. Unas cepas particulares de RPCP han demostrado poder reducir los patógenos infecciosos y síntomas de múltiples enfermedades en cohombros y tomates. Las enfermedades del cohombro que han sido afectadas, en muchos años de estudios tanto en el invernadero como en el campo, incluyen enfermedades foliares (mancha angular de la hoja, a causa de la *Pseudomona siringae* pv. *lachrymans* (Liu et al., 1991a & b) y la antracnosis (Wei et al., 1996) causada por el *Colletotrichum orbiculare*), enfermedades de marchitamiento sistémico (marchitamiento de las cucurbitáceas, causado por la *Erwinia tracheifila* [Zender et al., 1997a & b] y el marchitamiento por *Fusarium*, causado por el *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucumerinum* [Liu et al., 1991c]), y la enfermedad viral sistémica causada por el Virus Mosaico del Cohombro (VMC) (Raupach et al., 1996; Yao et al., 1997). En el caso del marchitamiento de las cucurbitáceas, el control de la enfermedad está relacionado con la reducción en la preferencia de los insectos vectores debido a las RPCP, tales como los escarabajos rayados y manchados de los cohombros. En estudios llevados a cabo en el campo y en los invernaderos, los tratamientos con RPCP produjeron

17

reducciones significativas en la alimentación de los escarabajos (Zehnder et al., 1997a), asociados con reducción del cucurbitacin C, un atrayente alimenticio. Con los tomates se ha notado la protección contra la VMC, la mancha bacteriana causada por el *Xantomonas axonopodis* pv *vesicatoria*, en el invernadero y en el campo; el geminivirus del moteado del tomate y la mancha bacteriana causada por la *P. Siringae* pv *tomato*.

Compuestos Botánicos Aromáticos

Otro enfoque para el control de los nemátodos, que puede llevar por lo menos a una inducción limitada de supresión mediante la actividad microbiana, es la utilización de los "compuestos botánicos aromáticos". Los "Aromáticos Botánicos" son metabolitos volátiles de la planta, de bajo peso molecular, muchos de los cuales se encuentran en los aceites esenciales de las plantas. Cuando se incorporan al suelo, su naturaleza volátil hace que los compuestos actúen como fumigantes. El Furfural (2-furfuraldehído) mezclado con la tierra en pruebas de invernadero hizo que inicialmente hubiera supresión en la población de los nemátodos de los nudos radicales *Meloidogyne arenaria* y en el subsiguiente número de agallas en la calabaza. Se observó una protección similar contra *M. Incognita* (nemátodo de los nudos radicales) y *Heterodera glycines* (nemátodo quístico) de la soya (Rodríguez-Kabana et al., 1993).

El Furfural también redujo el daño en la raíz de la okra(quimbombó) y aumentó los rendimientos en ensayos en microparcelas (Rodríguez-Kábana et al., 1993. Canullo et al., 1992, demostraron que los tratamientos en el suelo con furfural, redujeron el daño a los hongos patogénicos *Sclerotium rolfsii* de la lenteja, aunque se incrementaron las poblaciones de *Trichoderma* spp. y de los antagonistas bacterianos de la *S. rolfsii*.

En otros estudios con el algodón, el uso de furfural de aromáticos botánicos, benzaldehído y citral redujo la población de estados tempranos de *M. Incognita* en el suelo y en la raíz (Bauske et al., 1994). Los mismos tres aromáticos (furfural, citral y benzaldehído) han demostrado potencial para controlar tanto los hongos patogénicos como

los nemátodos fitoparásitos (revisión de Bauske et al., 1997). Las aplicaciones en el suelo de furfural y benzaldehído, producen cambios cuantitativos y cualitativos en la composición de la comunidad bacteriana del suelo (revisión de Bauke et al., 1997). La población bacteriana, luego de reducirse en las primeras 24 horas de la aplicación, se incrementó una semana después de ésta, permaneciendo mas alta que en los suelos testigos sin tratamiento, durante siete

semanas. Hubo al mismo tiempo un aumento en la frecuencia de *Burkholderia cepacia* en suelos tratados.

Soler-Serrosa et al. (1996), reportaron que aplicaciones en pre-siembra de timoles al suelo, redujo poblaciones iniciales y finales de *M. Incognita* y *H. Glycines* en soya. Cuando se combinó el timol con el benzaldehído, ocurrió un efecto sinérgico en la población de los nemátodos. Los efectos del timol en los nemátodos estaban relacionados con los cambios en la microflora nativa del suelo después del tratamiento y particularmente con un incremento en las *Seudomonas* spp. (Soler-Serratos et al., 1994).

Aportes del Invento

No obstante este intenso trabajo, se ha desarrollado una estrategia adecuada que produce compuestos satisfactorios para el tratamiento de las plantas desde una edad muy temprana (por ejemplo, en semillas o plántulas) para que produzcan plantas de rápido crecimiento, que tengan una resistencia sistémica contra patógenos foliares y que alteren la microflora del suelo para controlar los nemátodos con efectividad. Se requieren otras alternativas para el control de las enfermedades de las plantas, fuera de los pesticidas químicos y la fumigación de suelos con bromuro de metilo. Es muy deseable disminuir la presión y la

dependencia del uso de soluciones con pesticidas químicos para el control de las enfermedades de las plantas.

Por ende, hay necesidad urgente, tanto ambiental como económica, de que los compuestos y métodos de tratamiento no contengan pesticidas ni elementos similares. Es evidente en la técnica precedente, que no existe revelación ni publicación anterior que haya considerado el invento, ni se ha dicho que sea posible lograr promover sinérgicamente el crecimiento de las plantas y la resistencia sistémica inducida con el invento de la RPCP y una enmienda orgánica que produzca plantas que tengan aumento de crecimiento y sean inmunes a las enfermedades sistémicas. El invento contribuye a la solución de esta necesidad y a los problemas que confronta este campo técnico.

TECNICA RELACIONADA

Antes de la sección de las reivindicaciones de este documento, aparece una bibliografía de publicaciones que se relacionan con el invento.

BREVE RESUMEN DEL INVENTO

El invento tiene amplia relación con el campo de crecimiento y desarrollo de las plantas y particularmente con los métodos y compuestos para mejorar su crecimiento



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

NIT : 000173087 2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicacion : 00014742 00000000

Folios: 76

Fecha (M/D): 2000-03-01 16:06:14

Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC

Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 14,426
FECHA : FEBRERO 29 DE 2000

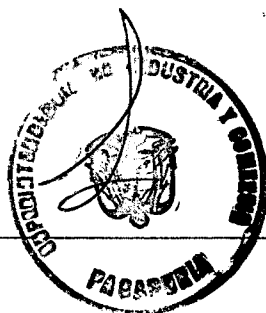
******* CONSIGNACION *******

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTAS	NO. PAGO	VAL. PAGO
CARDENAS & CARDENAS ABOGADOS	ABOGADO	BANCO POPULAR	BOGOTA	000 00124 0	758120

******* CONCEPTO *******

CANT. CONCEPTO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	608,000.00
	TOTAL	608,000.00

SON SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS



RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

CARDENAS & CARDENAS
ABOGADOS

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogota, D.C., Colombia

y su resistencia a las enfermedades. El invento se refiere a la iniciación y promoción del crecimiento de las plantas utilizando una combinación de múltiples tácticas de control biológico en suelos o en otros medios sin suelo para su crecimiento por medio del control de nemátodos y patógenos foliares.

Asimismo, el invento está relacionado con una composición novedosa de un medio de crecimiento de las plantas que contiene rizobacterias con o sin quitina que promueven este crecimiento (RPCP), el cual crea una sinergia entre el crecimiento y el control de las enfermedades de las plantas. Además, el invento está relacionado con un método sinérgico novedoso que utiliza bien sea un tratamiento para semillas o la aplicación de un elemento quitinolítico y elementos bacterianos para la preparación y desarrollo de plantas y transplantes a una composición sin suelo, para materas.

El invento se relaciona con varios productos de plantas tales como tomates y cohombres que se obtienen con este invento. Este también tiene relación con otras composiciones y plantas descritas mas adelante.

El invento provee varias incorporaciones útiles.

El invento provee también un compuesto que comprende por lo menos otras dos cepas bacterianas de las RPCP y un

compuesto quitinolítico o un compuesto de efecto equivalente. Las rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas (RPCP) comprenden por lo menos una cepa bacteriana que puede inducir resistencia sistémica a enfermedades de las plantas. Esta composición tiene además un compuesto quitinolítico que puede controlar la actividad de los nemátodos. Por lo menos una de las cepas bacterianas de las RPCP, en una incorporación preferida, no es quitinolítica. El compuesto quitinolítico es preferiblemente un compuesto aminado orgánico o un polisacárido aminado.

Otros compuestos de este invento pueden incluir ingredientes opcionales tales como, por lo menos, uno botánico aromático. Generalmente un compuesto botánico aromático para el actual invento tendrá un peso molecular bajo y será un metabolítico volátil de la planta tal como el citral o el furfural o el benzaldehído. Otros compuestos numerosos, que no actúan en detrimento de la función del compuesto quitinolítico ni el de función de las RPCP, pueden incluirse en la composición.

El invento ofrece además un método para exponer las semillas y los retoños de transplantes en el suelo o en un medio sin tierra, que incluye el compuesto biológico del invento. Posteriormente, las semillas y/o retoños, continúan siendo expuestos y/o cultivados, respectivamente, en el campo o en un ambiente de

condiciones similares a aquel que se encuentra en los invernaderos. Estas condiciones, tal como sucede en los invernaderos, pueden ser controladas ambientalmente en lo que respecta a temperatura, luz, humedad, etc. Alternativamente, estas condiciones pueden no tener tales controles ambientales. El crecimiento continúa bajo estas condiciones hasta que se obtenga un crecimiento y tamaño predeterminado. Luego, la planta resultante se transfiere al campo para que continúe su crecimiento normal. Se ha observado que las plantas resultantes, bien sea de semillas o de retoños de transplantes, han desarrollado una resistencia sistémica a las enfermedades, un incremento en el vigor de su crecimiento y otras propiedades deseables.

El método del invento con esta composición, demuestra varias formas de tratamiento para una plántula trasplantada o para las semillas de una planta meta. Una de estas maneras es preferiblemente rociar la plántula meta con una composición acuosa del invento para que los ingredientes del compuesto queden expuestos y penetren dentro de ésta. Otra manera es exponer las plántulas o las semillas de la planta meta a los componentes del invento.

Otro matiz (incorporación) del invento tiene que ver con las plantas mejoradas que se obtienen, incluyendo las que demuestran una resistencia del sistema a las enfermedades infecciosas, ya sea que esta infección aparezca en el

sistema radical, el foliar u en otras partes de la planta.

Las plantas que se pueden tratar y obtener conforme al invento, incluye las monocotiledóneas y dicotiledóneas, incluyendo la cebada, la avena, el arroz, el trigo, la soya, y el maíz; los melones incluyendo el cohombro, el melón, el melón cantalupo y la sandía; los vegetales, incluyendo fríjoles, arvejas y maní; cultivos de aceite, incluyendo canola y soya; plantas solanáceas incluyendo el tabaco; ctubérculos como la papa; vegetales como el tomate, el pimentón, el cohombro, el brócoli, el repollo, la coliflor, la lechuga y el rábano; frutas como las fresas; cultivos de fibra como el algodón; otras plantas incluyendo el cafeto, plantas de lecho, perpetuas, ornamentales de madera, flores de jardín y para corte incluyendo claveles y rosas; caña de azúcar; cultivos de árboles en container; árboles como el abeto y el pino; árboles de hoja caduca incluyendo el arce y el roble y árboles frutales incluyendo el cerezo, el manzano el peral y el naranjo. En general, cualquier planta susceptible a enfermedades y que responda al compuesto del invento puede ser tratada de acuerdo a éste.

Otras incorporaciones del invento se harán evidentes más adelante.

DESCRIPCION DETALLADA DEL INVENTO

El invento se relaciona con diversas combinaciones de tácticas de biocontrol aplicadas en conjunto a la tierra o al medio de crecimiento de la planta utilizado para la producción de plantas o de transplantes. La "táctica" puede incluir mezclas de dos o más cepas de RPCP* en donde una o más de ellas pueden inducir resistencia de la planta. Estas "tácticas" pueden incluir además enmiendas orgánicas que pueden tener actividad para el control de nemátodos y "compuestos selectores", tales como compuestos aromáticos botánicos (incluyendo timol, benzaldeído, citral, furfural, mentol y alfa-terpineol), que alteran la microflora del suelo para mejorar la actividad de los microorganismos antagonistas nativos. El invento puede también consistir de la utilización de dos de estas tres tácticas, como por ejemplo mezclas de RPCP junto con enmiendas orgánicas, pero sin adición de compuestos selectores. El invento proporciona otras incorporaciones que se discuten más adelante en este documento.

De acuerdo con el invento, se ha descubierto una sinergia novedosa de táctica de biocontrol de una composición no identificada hasta la fecha. La composición, de acuerdo con el invento, inicia y promueve

* RPCP = Cepas de Rizobacteria que promueven el crecimiento de las plantas

el crecimiento de la planta y sinérgicamente induce resistencia a las enfermedades sistémicas en las plantas. Las características de la composición son tanto novedosas como sinérgicas. El invento proporciona una composición integrada por constituyentes quitinolíticos y no quitinolíticos para crecimiento de la planta y resistencia a la enfermedad. La composición trae como resultado una sinergia de las características de los constituyentes, incluyendo la iniciación y promoción del crecimiento de la planta y la inducción de la resistencia a la enfermedad sistémica de la planta.

La Composición del Invento

La composición está integrada por lo menos de una cepa de RPCP y de una enmienda orgánica. La mezcla biológica de RPCP preferiblemente comprende preparaciones de spora de la bacteria. Además, en la mezcla de RPCP, por lo menos una cepa de RPCP puede inducir la resistencia a la enfermedad sistémica de la planta. La presencia de la bacteria en la mezcla generalmente es del orden de 10^3 a 10^{10} bacterias por semilla o por litro de mezcla que no tiene tierra. Una incorporación preferida del invento es aquella en donde la presencia de la bacteria es de aproximadamente 1×10^{10} bacterias por litro de mezcla sin tierra y de 1×10^8 de bacterias por semilla.

Los ejemplos de dos cepas de RPCP formuladas incluyen cepa GB03 de *Bacillus subtilis* (que se puede conseguir en Gustafson LLC., Plano, Texas con el nombre de Kodiak^R) y una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a., sin que éstas impliquen limitación. Otros tipos de bacterias no quitinolíticas adecuadas para la composición incluyen: bacterias que colonizan la raíz incluyendo la familia BACILLIACEAE que forma esporas y que comprende los géneros *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus*, *Virgibacillus*, *Alicyclobacillus* y *Aneurinibacillus*; pseudomonados fluorescentes; aislados de *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Cornynebacterium* spp., *Enterobacter* spp., *Arthrobacter* spp., y *Burkholderia* spp.; y hongos benéficos tales como *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp. y otros; levaduras y actinomicetes. En el "catálogo de Bacterias ATCC" publicado por la American Type Culture Collection se mencionan ejemplos adicionales del grupo de bacilos y sus géneros que forman esporas, incluyendo el *Bacillus*, y se incorporan a este documento por referencia.

La enmienda orgánica también se conoce como un componente quitinolítico puesto que exhibe actividad de control de nemátodos. El componente quitinolítico en la composición se encuentra en una cantidad suficiente para causar un efecto quitinolítico. La cantidad de componente quitinolítico presente puede fluctuar entre 0.1% y 10.0%. Una incorporación preferida del invento es aquella en que

la composición está integrada por aproximadamente 2.5% de componente quitinolítico.

Los ejemplos del componente quitinolítico incluyen la quitina, la quitina en escamas y el quitosan, sin que esto implique limitación. El componente quitinolítico también se puede derivar de sus precursores, los cuales con hidrólisis o con otra descomposición química o bioquímica producirán el componente quitinolítico. Preferiblemente la enmienda orgánica es un polisacárido de glucosa. Tales precursores son compuestos orgánicos naturales tales como corteza de pino, conchas de cangrejo o camarón, harina de soya, harina de semilla de algodón y caseína.

Otra incorporación del invento es una composición que comprende por lo menos una de las cepas de RPCP, una enmienda orgánica y un compuesto aromático botánico opcional. La adición opcional de un compuesto aromático botánico, también conocido como un compuesto selector, a la composición primaria introduce además un fumigante para alterar la microflora del suelo. La presencia del fumigante reduce los nemátodos parasíticos y aumenta los antagonistas. Un ejemplo del compuesto aromático botánico incluye benzaldehído, sin que esto implique limitación. Otros tipos de compuestos aromáticos botánicos adecuados para la composición incluyen citral. Los compuestos opcionales adicionales incluyen componentes que no

afectan negativamente la función de los componentes principales de la composición mencionados como los ingredientes no esenciales.

Otra incorporación del invento es una composición que comprende las dos cepas de RPCP, una enmienda orgánica y un compuesto aromático botánico opcional.

El Método del Invento

Una incorporación del invento es un método para promocionar el crecimiento de la planta y para inducir sinérgicamente la resistencia a las enfermedades en las plantas. El método comprende exponer la semilla a la composición biológica novedosa o cultivar las plántulas en un medio de materia sin tierra que contenga la composición biológica novedosa por un período de tiempo suficiente para iniciar el crecimiento mejorado y las características de supresión de la enfermedad. Una semilla se planta en la tierra o en un medio que no tenga tierra y se cultiva en un invernadero bajo las condiciones previamente discutidas. A manera de ejemplo, la composición biológica se puede incorporar en un medio que no tenga tierra tal como en un plano para trasplantes en styrofoam y luego se siembra. Durante este período de crecimiento, si se desea, se proporcionan a la planta tratamientos adicionales de la composición en cantidades predeterminadas y a momentos predeterminados. Luego, si se desea, cuando las plántulas han avanzado a

una edad de aproximadamente cuatro a seis semanas, o cuando las plantas ya están listas para transplante, la planta se transplanta a las condiciones de campo o a las condiciones de invernadero en donde se ha observado que la planta continúa creciendo normalmente. Además, las plantas se tratan luego opcionalmente con la composición en la que ésta se encuentra bien sea en forma líquida o sólida. Preferiblemente, este tratamiento se hace en forma de aspersión foliar, remojo, aplicación por goteo o a través de irrigación donde se ha observado que las plantas logran una mayor resistencia a la enfermedad. Este tratamiento opcional también puede desarrollarse en cualquier momento durante el período de crecimiento. Además, las semillas no tratadas se revisten exponiendo la semilla a la composición, bien sea en forma líquida o sólida, preferiblemente en un aspersor foliar, o en aplicación por remojo o goteo o a través de irrigación. Este tratamiento puede ser opcional y además se puede realizar en cualquier momento a las semillas tratadas o sin tratar.

Particularmente este método estimula y promueve el crecimiento de la planta en las etapas tempranas de la plántula que se sabe es una etapa difícil del crecimiento de la planta para estimular sólo con el RPCP. El método también induce la resistencia a las enfermedades sistémicamente en las plantas en una mayor medida que lo antiguamente alcanzado con la técnica anterior. El

31

invento también permite sinérgicamente tanto la estimulación como la promoción del crecimiento de la planta en combinación con la protección sistémica de la misma a la enfermedad mediante exposición a la composición biológica.

Otras incorporaciones del invento proporcionan métodos para inhibir el crecimiento del agente de la enfermedad *Phytophthora infestans* (agente causal de la gota tardía), *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (agente causal de la enfermedad de mancha bacteriana) *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (agente causal de la enfermedad de mancha angular en la hoja), y *Fusarium* spp. utilizando el método discutido arriba y retando a la planta con un tratamiento del agente de la enfermedad. La plántula retada luego se evalúa y se mide la incidencia de la severidad de la enfermedad. Se ha observado que las plantas que se cultivan bajo el presente invento y que se retan con la enfermedad exhibieron una capacidad significativamente mayor de resistir la enfermedad.

La Semilla, la Plántula y la Planta del Invento

Una incorporación adicional del invento es una planta que habiendo estado expuesta a la composición exhibe los efectos sinérgicos del crecimiento mejorado en combinación con la protección sistémica a la enfermedad. Las semillas, las plántulas y las plantas que se pueden tratar y obtener de acuerdo con el invento

incluyen tanto especies de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas incluyendo cebada, avena, arroz, trigo, soya, maíz; melones incluyendo cohombro, melón blanco, cantalupo y melón de agua; vegetales incluyendo frijoles, arvejas, maní; cosechas de aceite incluyendo canola y soya; plantas solanáceas incluyendo tabaco; cultivos de tubérculos incluyendo papa; vegetales incluyendo tomate, pepino, cohombro, brócoli, repollo, coliflor, lechuga y rábano; frutas incluyendo fresa; cosechas de fibra incluyendo algodón; otras plantas incluyendo café, plantas de lecho, perennes, ornamentales leñosas, césped y flores en matera y cortadas incluyendo claveles y rosas; caña de azúcar; cultivos de árboles en containers; árboles siempre verdes incluyendo el pino y el abeto; los árboles de hoja caduca incluyendo el arce y el roble; los árboles frutales incluyendo los cerezos, los manzanos, los peros y los naranjos. En general cualquier semilla, plántula o planta que sea susceptible de contraer enfermedad y que responda a la composición del invento se puede tratar con el mismo.

La planta resultante del presente invento exhibe un crecimiento mejorado en las etapas tempranas de la plántula que se sabe es una etapa difícil del crecimiento de la planta para estimular solo con el RPCP. La planta exhibe además características físicas mejoradas medibles tales como mayor altura, peso, vigor, hojas y área de la superficie de la hoja, en etapas de crecimiento más

tempranas que las de las plantas de control no tratadas. Similarmente, la planta exhibe menos enfermedad que las plantas de control no tratadas.

Otras Incorporaciones del Invento

Otras incorporaciones del invento incluyen diversos medios para cultivar las plantas utilizando la composición, en particular tomate, cohombro y clases previamente discutidas, y partes de las mismas, que han sido desarrolladas conforme al invento.

Otras incorporaciones del invento serán evidentes en la descripción más detallada de las incorporaciones preferidas y de otras incorporaciones del invento.

El término "transplante" tal como aquí se utiliza es un término de la técnica que designa una planta de cualquier edad de cualquier variedad que se traslada de un lugar de crecimiento a otro.

El término "plántula para transplante", tal como aquí se utiliza, es una planta de cualquier edad situada en un medio de crecimiento contenido en el que la planta se prepara para ser transplantada o transportada de un lugar a otro.

El término "medio sin tierra" tal como aquí se utiliza es un medio de crecimiento que comprende productos basados en turba que pueden contener perlita, vermiculita, un componente fertilizante y otros

ingredientes. Los ejemplos de un medio sin tierra incluyen productos fácilmente disponibles tales como el "Pro-mix", el "Redi-Gro" y el "Speedling Mix".

El término "plántula", tal como aquí se utiliza, es un término de la técnica que designa una planta de una edad que varía entre el día en que emergió y un año después de la plantación a una edad en donde el transplante de la planta ocurre y no está limitado a o por ninguna clase de planta. El término también incluye "plántulas forestales" que pueden tener un año de edad.

El término "sinergia" tal como aquí se utiliza, designa la acción resultante de dos o más sustancias para lograr un efecto que es imposible ser alcanzado por cada una de ellas individualmente.

EJEMPLO 1

SINERGIA DE LA TACTICA

A. Promoción del Crecimiento del Tomate

Como primer ejemplo del invento, se preparó una preparación biológica que contenía dos cepas de RPCP juntas con quitina. Específicamente, la preparación biológica, (denominada LS213), que está disponible al público, contenía la cepa *Bacillus subtilis* GB03, la cual mostró controlar algunas enfermedades produciendo

antibióticos de iturin, y la cepa *Bacillus amyloliquefaciens* IN937a que se seleccionó para la activación de la resistencia inducida. Con estas dos bacterias, las formulaciones industriales de las esporas se prepararon y se mezclaron con quitina escamada. La preparación biológica se añadió a medios de materas sin tierra que se utilizaron para preparar tapones de transplante de tomates. Los tratamientos adicionales consistieron de cada cepa bacteriana sola, con y sin quitina, con quitina sola y un control no tratado. Las plántulas para transplante se cultivaron en bandejas de transplante en invernadero y se anotaron los efectos en el crecimiento de las mismas. Los resultados se presentan en la Tabla 1.

A lo largo de las tres mediciones (vigor, peso de los retoños frescos, y área de la superficie de la hoja), ocurrió un crecimiento de la plántula significativamente mayor con el LS213 que con los diversos componentes individuales. Esto indica la clara sinergia en la promoción del crecimiento de la planta mediante la combinación de quitina y las dos cepas de RPCP.

Tabla 1. Resultados del Ejemplo 1^a. - Promoción del crecimiento del tomate - Sinergia de la táctica.

Tratamiento y componentes ¹	Vigor ²	Peso de los Retoños Frescos (g) ³	Area de la superficie de la hoja (cm ²) ⁴
Control; sin componentes	1.4 a	0.4113 a	3.22 a
LS213; quitina + GB03 + IN937a	4.9 e	1.6555 f	18.37 e
Quitina sola	2.3 b	0.6088 bc	6.40 b
Quitina + GB03	2.9 c	0.7393 de	6.69 b
Quitina + IN937a	3.6 d	0.8255 e	8.29 c
GB03	2.4 bc	0.6393 bc	7.76 c
IN937a	2.1 b	0.6821 cd	7.74 c
GB03 + IN937a	2.1 b	0.5931 b	6.57 b
LSD (P = 0.05)	0.53	0.088	0.84

¹ Los tratamientos biológicos se incorporaron en una mezcla sin tierra a 1:40(v/v), se colocaron en tendidos de Styrofoam para transplante y luego se sembraron con tomate cv. Solar Set. Hubo cuatro tendidos replicados por tratamiento. El GB03 y el IN937a son cepas de RPCP.

² El vigor de la plántula se clasificó a las tres semanas después de la siembra en una escala de 1-5; 1 = pobre, 2 = promedio, 3 = bueno, 4 = muy bueno y 5 = excelente. La media de cuatro réplicas.

³ Peso del retoño fresco de la plántula. Media de 4 réplicas, 10 plántulas por réplica.

⁴ El área de la superficie de la hoja más grande (generalmente a partir de la 4^a o 5^a hoja cierta). Media de 4 réplicas, 10 hojas por réplica.

Las medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de la diferencia significativa menor protegida (LSD) a $P = 0.05$.

(LSD = significa Least Significance Difference = Igual Diferencia Significativa Mínima).

B. Resistencia Inducida en el Tomate

Determinadas plántulas para transplante del experimento anterior, aquellas que estaban siendo tratadas con el control, la quitina sola y el LS213 se transplantaron a materas mas grandes inmediatamente después de hacer las mediciones de crecimiento que se muestran en la Tabla 1. Diez plantas de cada tipo de tratamiento fueron luego desafiadas con *Phytophthora infestans* (agente causal de la enfermedad de gota tardía) o con *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria* (agente causal del manchado bacteriano). Después de un tiempo predeterminado las plantas se midieron para determinar su resistencia a la enfermedad. Los resultados del desarrollo de la enfermedad se muestran en la Tabla 2.

El mayor grado de protección contra la enfermedad frente a ambos patógenos ocurrió con el LS213. Con la mancha bacteriana, la protección brindada por el LS213 fue significativamente mayor que la de la muestra de control no tratada y la del tratamiento que se realizó

solo con quitina. Esto indica que la sinergia en la promoción del crecimiento de la planta anotada en la Tabla 1 se traduce en sinergia en la protección contra la enfermedad.

Tabla 2.- Resultados del Ejemplo 1B - Resistencia inducida en el tomate - Sinergia de la táctica.

<u>Tratamientos</u>	<u>% de gota tardía/planta¹</u>	<u>Lesiones de mancha bacteriana/hoja²</u>
Control	19.1 b	22.9 b
Quitina	16. a	22.35 b
LS213	7.7 a	11.87 a
LSD (P = 0.05)	9.98	2.42

¹ Media de 10 réplicas, una planta por réplica.

² Media de 10 réplicas, 6 hojas por planta.

EJEMPLO DOS

SINERGIA DE LA TACTICA

A. Promoción del Crecimiento del Tomate y el Cohombro

Se realizó un experimento similar al descrito en el ejemplo 1. Los componentes de quitina, el GB03 y el IN937a se probaron en un medio sin tierra para el crecimiento de plantas para indagar sobre los efectos del crecimiento de las plántulas de tomate y cohombro. Se realizaron mediciones adicionales del crecimiento de la planta, tal como se muestra en las Tablas 3 y 4. Los resultados se muestran en dichas tablas.

Los resultados del tomate (Tabla 3) y del cohombro (Tabla 4) demuestran nuevamente que existe una clara sinergia de la táctica para la promoción del crecimiento. Por ejemplo, con el tomate (Tabla 3) la quitina sola tuvo alguna promoción del crecimiento, causando aumentos significativos, en relación con la planta de control, tanto en la altura como en el número de hojas y en el área de la superficie de la hoja; pero no se causaron aumentos significativos en el vigor, peso o contenido de clorofila. En contraste, el tratamiento con el LS213 originó aumentos significativos, en relación con la muestra de control, para todos estos parámetros. Similarmente en el cohombro (Tabla 4), el LS213 causó aumentos significativos en todos los parámetros, tanto en comparación con la muestra de control no tratada como con aquella de la quitina sola.

B. Resistencia Inducida

Después de efectuar las mediciones de crecimiento arriba descritas, se transplantaron a materas las plantas de los tres tratamientos del tomate y del cohombro. Los tratamientos probados fueron el control no tratado, la quitina sola y el LS213. Las plantas de tomates se inocularon con el patógeno de mancha de tomate (tal como se describe en el ejemplo 1B), y las plantas de cohombro se inocularon con *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, agente causal de la enfermedad de manchas en la hoja angular. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Los resultados que aparecen en la Tabla 5 indican que las plántulas preparadas a partir de los tratamientos con LS213 tuvieron resistencia inducida a la enfermedad. Es interesante anotar que las plántulas preparadas con el tratamiento que contiene quitina sola, el cual causó algunos aumentos significativos de crecimiento de la planta no mostraron resistencia a la enfermedad. La falta de resistencia inducida con la quitina al haber ocurrido una promoción significativa del crecimiento demuestra además que los beneficios del LS213 son sinérgicos.

Tabla 3.- Resultados del Ejemplo 2A - Promoción del crecimiento del tomate - sinergia de la táctica

Tratamientos y componentes ¹	Vigor ²	Altura (cm) ³	Peso (g) ⁴	Número de hojas ⁵	Area de la superficie de la hoja (cm ²) ⁶	Clorofila ⁷
Control; sin componentes	1.5 a	7.0 a	0.19 a	4.2 a	1.64 a	28.09 a
LS213; quitina + GB03 + IN937a	4.5 b	13.31 d	0.91 d	9.6 d	5.77 e	32.36 c
Quitina	2.3 a	10.7 c	0.71 a	8.9 cd	3.89 c	28.89 ab
Quitina + GB03	2.8 b	10.83 c	0.72 c	8.9 cd	4.09 c	32.54 c
Quitina + IN937a	2.8 b	11.03 c	0.74 c	8.9 cd	4.75 d	31.39 bc
GB03	1.8 a	7.40 a	0.23 a	4.6 a	1.80 a	28.64 ab
IN937a	2.8 b	8.80 b	0.36 b	5.8 b	2.68 b	28.17 a
GB03 + IN937a	1.5 a	7.33 a	0.25 a	4.7 a	1.78 a	30.58 abc
LSD (P = 0.05)	0.86	0.71	0.07	0.70	0.56	2.86

¹ Se incorporaron tratamientos biológicos en la mezcla sin tierra a 1:40 (v/v) y se colocaron en tendidos de Styrofoam para transplantes y luego se sembraron con tomate cv. Solar Set.

Hubo cuatro réplicas de tendidos por tratamiento.

² El vigor de las plántulas se clasificó a las 3 semanas después de la siembra en una escala de 1-5; 1 = pobre, 2 = promedio, 3 = bueno, 4 = muy bueno y 5 = excelente. La media de 4 réplicas.

³ La altura de la plántula desde el nivel del suelo hasta la punta. La media de 4 réplicas, 5 plántulas por réplica.

⁴ Peso del retoño fresco de la plántula. Media de 4 réplicas, 5 plántulas por réplica.

⁵ Número de hojas por planta. Media de 4 réplicas, 5 plantas por réplica.

⁶ Mayor área de superficie de la hoja (generalmente a partir de la 4ª o 5ª hoja cierta). Media de 4 réplicas, 5 plantas por réplica.

⁷ El contenido de clorofila de la hoja más grande bien sea a partir de la 4ª o 5ª hoja cierta. Media de 4 réplicas, 5 plantas por réplica.

Las medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de diferencia significativa mínima protegida (LSD) a $P = 0.05$.

Tabla 4.- Resultados del Ejemplo 2A - Promoción del crecimiento del cohombro - Sinergia de la táctica

Tratamientos y componentes ¹	Vigor ²	Altura (cm) ³	Peso (g) ⁴	Número de hojas ⁵	Area de la superficie de la hoja (cm ²) ⁶	Clorofila ⁷
Control; sin componentes	1.8 a	9.13 a	1.39 a	1.9 ab	13.99 a	22.29 a
LS213; quitina + GB03 + IN937a	4.8 b	16.28 e	2.97 e	2.8 d	27.68 d	29.72 e
Quitina	2.3 ab	14.65 d	2.23 d	2.1 c	24.62 c	25.22 bcd
Quitina + GB03	2.8 bc	12.33 c	1.93 bc	2.1 bc	20.89 b	26.49 cd
Quitina + IN937a	2.8 bc	13.05 c	2.12 cd	2.1 c	21.28 b	26.86 cd
GB03	1.5 a	8.80 a	1.40 a	1.9 ab	13.60 a	23.01 a
IN937a	3.5 c	12.88 c	1.97 bc	2.0 abc	18.47 b	24.07 ab
GB03 + IN937a	1.8 a	9.2 a	1.42 a	1.8 a	13.80 a	23.14 a
LSD (P = 0.05)	0.86	1.23	0.25	0.21	2.81	1.67

¹ Se incorporaron tratamientos biológicos en la mezcla sin tierra a 1:40 (v/v) y se colocaron en tendidos de Styrofoam para transplantes y luego se sembraron con tomate cv. Solar Set.

Hubo cuatro réplicas de tendidos por tratamiento.

² El vigor de las plántulas se clasificó a las 3 semanas después de la siembra en una escala de 1-5; 1 = pobre, 2 = promedio, 3 = bueno, 4 = muy bueno y 5 = excelente. La media de 4 réplicas.

³ La altura de la plántula desde el nivel del suelo hasta la punta. La media de 4 réplicas, 5 plántulas por réplica.

⁴ Peso del retoño fresco de la plántula. Media de 4 réplicas, 5 plántulas por réplica.

⁵ Número de hojas por planta. Media de 4 réplicas, 5 plantas por réplica.

⁶ Mayor área de superficie de la hoja (generalmente a partir de la 4ª o 5ª hoja cierta). Media de 4 réplicas, 5 plantas por réplica.

⁷ El contenido de clorofila de la hoja más grande bien sea a partir de la 4ª o 5ª hoja cierta. Media de 4 réplicas, 5 plantas por réplica.

Las medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de diferencia significativa mínima protegida (LSD) a $P = 0.05$.

Tabla 5.- Resultados del Ejemplo 2B - Resistencia inducida en el tomate y el cohombro - Sinergia de la táctica

Tratamiento	Tomate/ <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>vesicatoria</i> ²	Cohombro/ <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Lachrymans</i> ³
Control	18.97 b	18.45 b
Quitina	17.63 b	17.90 b
LS213	7.87 a	10.80 a
LSD (P = 0.05)	3.04	3.23

¹ Productos de biocontrol aplicados como enmiendas del suelo antes de la siembra.

² Los valores para el *X. axonopodis* pv. *vesicatoria* representan el número de la media de las lesiones por hoja de cada plántula de tomate de 4 réplicas, 5 plantas por réplica por tratamiento.

³ Los valores para el *P. Syringae* pv. *lachrymans* representan el número de la media del total de síntomas de manchas en la hoja por hoja de 4 réplicas, 5 plantas por réplica por tratamiento.

EJEMPLO TRES

SINERGIA DE LA TACTICA

MULTIPLES COSECHAS, PROMOCION DEL CRECIMIENTO

Se realizó un experimento para determinar si los efectos sinérgicos en el crecimiento de la plántula anotados en los ejemplos 1 y 2 ocurrió con las cosechas adicionales. En este experimento, se preparó un control sin tratar, uno con quitina sola y uno con LS213, tal como se describió en el ejemplo 1 y se utilizaron para cultivar plántulas de tomate (cv. Solar Set), de cohombro (cv. SMR 48), de pimiento dulce (cv. California Wonder), y de tabaco (cv. TN90). Se monitoreó el crecimiento de las plántulas midiendo los parámetros enumerados en la Tabla 6. Con el tomate y el cohombro se repitieron los resultados previamente vistos, en los que el tratamiento con LS213 generalmente originó una promoción de crecimiento significativa en comparación tanto con el control no tratado como con el tratamiento con quitina sola (Tabla 6). Se dio el mismo efecto sinérgico en el crecimiento del pimiento y el tabaco.

EJEMPLO CUATRO

DIFERENTES MEZCLAS DEL RPCP CON QUITINA

Se realizó un experimento para determinar si una de las cepas de RPCP utilizadas en el LS213 podría reemplazarse con otra cepa.

47

Más específicamente, la cepa de RPCP IN937a del LS213 se reemplazó con 8 bacilos diferentes, cada uno de los cuales tenía actividad de resistencia inducida por sí mismo. Se mezclaron las bacterias con la cepa de RPCP, el GB03 y la quitina antes de incorporarlas en el medio para crecimiento de la planta sin tierra. Se probaron los efectos del crecimiento de las plántulas en el tomate cerezo (cv. RX 335) junto con los efectos sobre la resistencia inducida frente a la mancha bacteriana. Los resultados que se muestran en la Tabla 7 indican que el LS213 causó una promoción significativa del crecimiento de la planta y una inducción de la resistencia en comparación con el control con este cultivo de tomate similar a lo que previamente se vio en el tomate 'Solar Set'. Otras combinaciones de bacteria y quitina generalmente causaron mejoras significativas en el crecimiento en comparación con la muestra de control; sin embargo, no todas éstas causaron protección significativa frente a la mancha bacteriana. En general los resultados muestran que los efectos benéficos del invento dependen de la mancha bacteriana pero que se pueden utilizar diferentes mezclas de bacteria para lograr los mismos resultados.

Tabla 6.- Resultados del Ejemplo 3-Sinergia de la táctica en múltiples cosechas

Tomate						
<u>Tratamientos</u> ¹	<u>Salubridad</u> ²	<u>Vigor</u> ³	<u>Altura (cm)</u> ⁴	<u>Número de hojas</u> ⁵	<u>Peso de los retoños frescos (g)</u> ⁶	<u>Area de la superficie de la hoja (cm²)</u> ⁷
Control	22.5 a	1.0 a	4.68 a	2.3 a	0.079 a	0.69 a
Quitina	22.0 a	2.3 b	6.98 b	7.1 b	0.266 b	1.65 b
LS213	23.0 a	3.3 c	9.03 c	8.5 c	0.539 c	3.03 c
LSD (P =0.05)	2.73	0.51	0.719	0.77	0.103	0.45

Cohombro						
<u>Tratamientos</u> ¹	<u>Salubridad</u> ²	<u>Vigor</u> ³	<u>Altura (cm)</u> ⁴	<u>Número de hojas</u> ⁵	<u>Peso de los retoños frescos (g)</u> ⁶	<u>Area de la superficie de la hoja (cm²)</u> ⁷
Control	22.3 a	1.0 a	4.35 a	2.0 a	0.709 a	5.56 a
Quitina	23.8 a	1.3 a	4.58 ab	2.1 a	0.927 a	7.49 b
LS213	23.3 a	2.5 b	6.40 c	2.2 a	1.351 b	14.20 c
LSD (P =0.05)	1.22	0.49	0.704	0.29	0.304	2.89

Tabla 6.- continuación

Pimiento

<u>Tratamientos</u> ¹	<u>Salubridad</u> ²	<u>Vigor</u> ³	<u>Altura (cm)</u> ⁴	<u>Número de hojas</u> ⁵	<u>Peso de los retoños frescos (g)</u> ⁶	<u>Area de la superficie de la hoja (cm²)</u> ⁷
Control	18.5 a	1.0 a	3.30 a	2.0 a	0.054 a	0.21 a
Quitina	20.0 a	1.8 b	3.78 b	4.2 b	0.163 b	1.43 b
LS213	20.0 a	3.3 c	4.83 c	4.4 b	0.299 c	2.64 c
LSD (P =0.05)	3.48	0.69	0.39	0.41	0.052	0.364

Tabaco

<u>Tratamientos</u> ¹	<u>Salubridad</u> ²	<u>Vigor</u> ³	<u>Altura (cm)</u> ⁴	<u>Número de hojas</u> ⁵	<u>Peso de los retoños frescos (g)</u> ⁶	<u>Area de la superficie de la hoja (cm²)</u> ⁷
Control	21.5 a	2.5 a	0.1 a	1.0 a	0.002 a	0.01 a
Quitina	17.0 a	2.0 a	0.98 b	3.1 b	0.079 b	1.37 b
LS213	21.5 a	4.0 b	1.8 c	4.0 c	0.169 c	3.22 c
LSD (P =0.05)	4.96	0.8	0.32	0.45	0.047	0.736

¹ Se incorporaron tratamientos biológicos en la mezcla sin tierra a 1:40 (v/v). Solar Set.

Hubo cuatro réplicas de tendidos por tratamiento.

² La salubridad de las plántulas se clasificó a las 3 semanas después de la siembra. El valor representa la media 4 réplicas por tratamiento.

³ El vigor de las plántulas se clasificó a las 3 semanas después de la siembra en una escala de 1-5; 1 = pobre, 2 = promedio, 3 = bueno, 4 = muy bueno y 5 = excelente. La media de 4 réplicas.

⁴ La altura de la plántula desde el nivel del suelo hasta la punta. La media de 4 réplicas, 5 plántulas por réplica.

⁵ Peso del retoño fresco de la plántula. Media de 4 réplicas, 5 plántulas por réplica.

⁶ Número de hojas por planta. Media de 4 réplicas, 5 plantas por réplica.

⁷ Mayor área de superficie de la hoja (generalmente a partir de la 4ª o 5ª hoja cierta). Media de 4 réplicas, 5 plantas por réplica.

Tabla 7.- Resultados del Ejemplo 4 - Diferentes mezclas del RPCP con Quitina

Tratamientos; componentes ¹	Índice de vigor ²	Altura (cm) ³	Número de hojas ⁴	Diámetro del tallo (mm) ⁵	Peso de los retoños frescos (g) ⁶	Area de la superficie de la hoja (cm ²) ⁸	Resistencia inducida; No. de lesiones de mancha bacteriana por hoja
LS254; quitina + GB03 + SE34	2.5 a	9.64 c	19.1 bc	1.99 cd	0.709 cd	2.46 b	12.2 cd
LS255; quitina + GB03 + IN937b	3.5 bc	9.58 c	20.1 c	2.02 cd	0.651 bc	2.33 b	10.6 c
LS256; quitina + GB03 + INR7	4.0 bcd	11.89 de	21.5 c	2.14 cd	0.946 e	3.49 c	9.5 bc
LS257; quitina + GB03 + T4	3.5 bc	13.23 f	21.4 c	2.38 d	0.984 e	3.42 c	4.6 ab
LS258; quitina + GB03 + IPC11	2.5 ab	10.01 c	22.2 c	2.19 cd	0.884 de	3.03 c	17.8 d
LS259; quitina + GB03 + IPN19	2.0 a	7.65 bc	16.9 b	1.64 b	0.502 bc	2.10 b	9.4 bc
LS260; quitina + GB03 + 3P114	2.5 ab	9.24 c	19.9 c	2.10 cd	0.721 cd	2.14 b	10.3 bc
LS261; quitina + GB03 + C1	4.5 cd	10.99 cd	20.9 c	2.28 d	0.869 de	3.52 c	3.3 a
LS213; quitina + GB03 + IN93a	5.0 d	12.43 ef	22.0 c	2.46 d	1.033 e	3.36 c	3.9 ab
Control no tratado	1.5 a	43.13 a	5.9 a	1.10 a	0.085 a	0.36 a	12.7 cd
LSD (P = 005)	1.32	1.31	2.8	0.28	0.186	0.568	5.69

¹ Se incorporaron tratamientos biológicos en la mezcla sin tierra a 1:40 (v/v) y se colocaron en tendidos de Styrofoam para trasplantes y luego se sembraron con tomate cv. Cereza RX 335. Hubo dos réplicas de tendidos por tratamiento.

52

² El vigor de las plántulas se clasificó a las 4 semanas después de la siembra en una escala de 1-5; 1 = pobre, 2 = promedio, 3 = bueno, 4 = muy bueno y 5 = excelente. Significa 2 réplicas.

³ La altura de la plántula desde el nivel del suelo hasta la punta. Significa 2 réplicas, 10 plántulas por réplica.

⁴ Número de hojas por planta. Media de 2 réplicas, 10 plántulas por réplica.

⁵ Diámetro del tallo es la medida de 2 réplicas, 10 hojas por réplica.

⁶ El peso de los retoños frescos de las plántulas. Medida 2 réplicas, 10 plántulas por réplica.

⁷ Mayor área de superficie de la hoja (generalmente a partir de la 4ª o 5ª hoja cierta). Media de 2 réplicas, 10 hojas por réplica.

Las medias seguidas por diferentes letras son significativamente diferentes de acuerdo con la prueba de diferencia significativa mínima protegida (LSD) a $P = 0.05$.

EJEMPLO CINCO

PRUEBA DE CAMPO EN EL TOMATE

Protección contra enfermedades múltiples

Dos de las preparaciones biológicas utilizadas en el Ejemplo 4 (LS213) y (LS254) se probaron en un ensayo de campo. las plántulas del tomate (cv. 'Solar Set') se prepararon tal como se describió previamente cultivándolas en una mezcla sin tierra tratada con las preparaciones biológicas. También se preparó un grupo de plantas de control no tratadas. Los transplantes se colocaron en un diseño de bloque completo aleatorio, con 10 plantas por réplica y 5 réplicas de cada tratamiento. El experimento se plantó cuatro veces para la evaluación de 1) los nemátodos en el nudo de la raíz, 2) corona Fusarium y podredumbre de la raíz con fumigación de la tierra con bromuro de metilo, 3) corona Fusarium y pudrimiento de la raíz sin fumigación de la tierra, y 4) mancha bacteriana. Los resultados, que se muestran en la Tabla 8, demuestran que las preparaciones biológicas condujeron a un desarrollo reducido de todas las enfermedades probadas bajo las condiciones de campo.

EJEMPLO SEIS

PRUEBA DE CAMPO EN EL TOMATE

Efecto de las mezclas de diferentes bacterias con y sin
aspersión foliar

Se realizaron dos ensayos de campo en el tomate para determinar si diferentes formas de la preparación

biológica (que fueran diferentes en uno de los componentes bacterianos) brindarían protección contra los nemátodos del nudo de la raíz y la mancha bacteriana como lo hizo el tratamiento con el LS213 del Ejemplo 5. Los resultados, que se muestran en la Tabla 9, indican que otras formas de la preparación biológica condujeron a protección de las plantas frente a dos patógenos probados.

Un objeto fue el de determinar si los efectos benéficos del tratamiento biológico podrían mejorarse combinando el tratamiento estándar del medio de cultivo sin tierra con un aspersor foliar de media estación de los componentes de la bacteria de la preparación biológica. Los resultados indican que hubo alguna protección adicional al combinar el tratamiento estándar con el aspersor foliar. Por ejemplo, sin el aspersor foliar, el LS254 causó una protección significativa frente al nemátodo del nudo de la raíz pero no frente a la mancha bacteriana, mientras que con la aspersión foliar ocurrió la protección frente a los dos patógenos.

EJEMPLO SIETE

ENSAYO DE CAMPO EN EL COHOMBRO

Efecto de diferentes mezclas bacterianas con y sin
aspersor foliar

Similar al Ejemplo 6, se realizaron dos pruebas de campo en el cohombro para evaluar la actividad del

59

control de la enfermedad en diferentes formas de preparación biológica con y sin aspersiones foliares. Las enfermedades evaluadas ocurrían ambas en forma natural: - los nemátodos del nudo de la raíz y la antragnosis que es una enfermedad fungosa foliar. Los resultados que se presentan en la Tabla 10 demuestran que cambiar la cepa IN937a del RPCP por un RPCP diferente puede originar una actividad de protección contra la enfermedad en el campo. Los resultados también demuestran que los efectos benéficos de las preparaciones biológicas no se limitan a un solo cultivo de cohombro puesto que también ocurrieron algunas reducciones en la incidencia tanto de los nemátodos del nudo de la raíz como de la antragnosis en cada cultivo probado.

Una comparación de los resultados de la Tabla 10 en el campo con y sin aspersión foliar demuestra que este tratamiento "impulsador" del mismo RPCP contenido en la preparación biológica utilizada en la mezcla de plántulas sin tierra proporciona eficacia adicional para protección de la enfermedad. Esto puede apreciarse mediante la comparación de la frecuencia de la reducción significativa de la enfermedad para un tratamiento con y sin aspersión foliar. Por ejemplo, con el LS213 con aspersor foliar, se redujeron significativamente 3 de los 4 medios de incidencia de la enfermedad en comparación con la muestra de control, mientras que sin aspersor foliar, 2 de los 4 medios se redujeron

56

significativamente. Con el LS260, esta "frecuencia de significancia" se aumentó de 2 a 4 sin aspersor foliar a 4 de 4 con aspersión foliar.

Se entenderá que se pueden realizar muchas variaciones en los procedimientos descritos para la composición, los métodos y los productos de la planta del presente invento sin apartarse de la circunspección y espíritu del invento.

Tabla 8.- Resultados del Ejemplo 5, Prueba de campo en el tomate

CONTROL BIOLÓGICO DE LA ACTIVIDAD FRENTE A:

<u>Tratamiento</u>	<u>Nemátodo del nudo de la raíz^b</u>		<u>Pudrimiento de la corona Fusarium^b</u>			<u>Mancha bacteriana</u>	
	<u>No. de plantas con síntomas severos^c</u>	<u>Índice del nudo de la raíz^d</u>	<u>Con MeBr^e</u> <u>Índice de FORL^f</u>	<u>Sin MeBr</u> <u>Número de plantas con síntomas</u>	<u>Índice de FORL^f</u>	<u>Número de frutas con síntomas^g</u>	<u>Numero medio de manchas /hoja^h</u>
Control	4.2	8.0	1.5	8.0	1.3	11.3	58.5
LS213	2.6	7.2	0.9	0.6	0.6	4.0	25.1
LS254	0.8	4.4	1.0	0.8	0.8	5.7	20.2
LSD _{0.05}	1.6	1.4	0.4	0.7	0.7	2.6	9.4
LSD _{0.10}	1.4	1.2	0.3	0.6	0.6		

^a El experimento fue de un bloque completo aleatorio con 5 réplicas de cada tratamiento; 10 plantas por réplica.

^b Los valores son medias de 9 sistemas de raíces en tiempo de cosecha.

^c Los síntomas severos se determinaron mediante la presencia de grandes puntos débiles coalescentes en la mayoría de los sistemas de la raíz.

^d El índice del nudo de la raíz se basó en una escala de 0 (sin puntos débiles) a 10 (completamente agallados con un sistema pobre de la raíz).

^e MeBr = bromuro de metilo.

^f El índice de la corona de Fusarium y de la podredumbre de la raíz se determinó utilizando una escala de 0 (inexistencia de síntomas) a 3 (descoloración severa y extendida).

^g El número de frutas de tomate verde (de 20 seleccionadas por lote) con 2 o más lesiones.

^h Basado en 10 hojas recopiladas por lote.

BIBLIOGRAFIA

Todas las publicaciones identificadas en este documento se incorporan al mismo por referencia en su totalidad:

Bauske, E.M., Backman, P.A., Harper, K.M., Brannen, P.M., Rodríguez-Kábana, R., and Kloepper, J.W. 1997. Effect of botanical aromatic compounds and seed-surface pH on growth and colonization of cotton plant growth-promoting rhizobacteria. *Biocontrol Science and Technology* 7, 415-421.

Bauske, E.M., Rodríguez-Kábana, R., Esaun, V., Kloepper, J.W., Robertson, D.G., Weaver, C.F., and King, P.S. 1994. Management of *Meloidogyne incognita* on cotton by use of botanical aromatic compounds. *Nematropica* 24:143-150.

Becker, J.O., Zavaleta-Meija, E., Colbert, S.F., Schroth, M.N., Weinhold, A.R., Hancock, J.G., and Van Gundy, S.D. 1988. Effects of rhizobacteria on root-knot nematodes and gall formation. *Phytopathology* 78:1466-1459.

Benhamou, N., Lafontaine, P. J. and Nicole, M. (1994) Induction of systemic resistance to *Fusarium crown* and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. *Phytopathology* 84, 1432-1444.

Bird, A. F. and Bird, J. (1991) *The Structure of Nematodes*. Academic Press, San Diego.

Canullo, G.C., Rodríguez-Kábana, R., and Kloepper, J.W. 1992. Changes in soil microflora associated with control of *Sclerotium rolfsii* by furfuraldehyde. *Biocontrol Science and Technology* 2:159-169.

Ciancio, A. 1995. Density-dependent parasitism of *Xiphinema diversicaudatum* by *Pasteuria penetrans* in a naturally infested field. *Phytopathology* 85:144-149.

Culbreath A. K., Rodríguez-Kábana, R. and Morgan-Jones, G. (1985) The use of hemicellulosic waste matter for reduction of the phytotoxic effects of chitin and control of root-knot nematodes. *Nematropica* 15, 49-75.

Glick, B.R., and Bashan, Y. 1997. Genetic manipulation of plant growth-promoting bacteria to enhance biocontrol of phytopathogens. *Biotechnology Advances* 15, 353-378.

Godoy, G., Rodríguez-Kábana, R., Shelby, R. A. and Morgan-Jones, G. (1983) Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. II. Effects on microbial population. *Nematropica* 13, 63-74.

Hallmann, J., Rodríguez-Kábana, R., and Kloepper, J.W. 1998. Chitin-mediated changes in bacterial communities of the soil, rhizosphere and within roots of cotton in relation to nematode control. *Soil Biology and Biochemistry* In press.

Hallmann, J., Rodríguez-Kábana, R., and Kloepper, J.W. 1997. Nematode interactions with endophytic bacteria. pp. 243-245 in: *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria—Present Status*

62

and Future Prospects. Eds. A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo, and S. Akino. Nakanishi Publishing, Sapporo.

Inbar, J. and Chet, I. (1991) Evidence that chitinase produced by *Aeromonas caviae* is involved in the biological control of soil-borne plant pathogens by this bacterium. *Soil Biology and Biochemistry* 23, 973-978.

Kerry, B. R. (1982) The decline of *Heterodera avenae* populations. *European Plant Protection Organization Bulletin* 12, 491-496.

Kloepper, J.W. 1993. Plant growth-promoting rhizobacteria as biological control agents. In 'Soil Microbial Ecology – Applications in Agricultural and Environmental Management,' ed. F.B. Metting, Jr., pp. 255-274 (Marcel Dekker, Inc., New York).

Kloepper, J.W., Rodríguez-Kábana, R., McInroy, J.A., and Young, R.W. 1992. Rhizosphere bacteria antagonistic to soybean cyst (*Heterodera glycines*) and root-knot (*Meloidogyne incognita*) nematodes: Identification by fatty acid analysis and frequency of biological control activity. *Plant and Soil* 139:75-84.

Kluepfel, D. A., McInnis, T. M. and Zehr, E. I. (1993) Involvement of root-colonizing bacteria in peach orchard soils suppressive of the nematode *Criconemella xenoplax*. *Phytopathology* 83, 1240-1245.

Kokalis-Burelle, N., Rodríguez-Kábana, R., Weaver, C. F. and King, P. S. (1994) Evaluation of powdered pine bark for control of *Meloidogyne arenaria* and *Heterodera glycines* on soybean. *Plant and Soil* 162, 163-168.

Kokalis-Burelle, N., Rodríguez-Kábana, R., Robertson, D. G., Mahaffee, W. F., Kloepper, J. W. and Bowen, K. L. (1995) Effects of forage grass rotations on soil microbial ecology and nematode populations. *Phytopathology* 85, 1124.

Kuč, J. 1982. Induced immunity to plant disease. *Bioscience* 32:854-60.

Liu, L., Kloepper, J.W., and Tuzun, S. 1995a. Induction of systemic resistance in cucumber against bacterial angular leaf spot by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85:843-847.

Liu, L., Kloepper, J.W., and Tuzun, S. 1995b. Induction of systemic resistance in cucumber by plant growth-promoting rhizobacteria: duration of protection and effect of host resistance on protection and root colonization. *Phytopathology* 85:1064-1068.

Liu, L., Kloepper, J.W., and Tuzun, S. 1995c. Induction of systemic resistance in cucumber against Fusarium wilt by plant growth-promoting rhizobacteria. *Phytopathology* 85:695-698.

Mankau, R. and Das, S. (1969) The influence of chitin amendments on *Meloidogyne incognita*. *Journal of Nematology* 1, 15-16.

Martinez-Ochoa, N., Kloepper, J.W., Rodríguez-Kábana, R., and Ji, P. 1997. Induced resistance and phenotypic characteristics of several PGPR compared to biocontrol activity against the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. pp. 296-300 in: *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria—Present Status and Future Prospects*. Eds. A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo, and S. Akino. Nakanishi Publishing, Sapporo.

Mercer, C. F., Greenwood, D. R. and Grant, J. L. (1992) Effect of plant and microbial chitinases on the eggs and juveniles of *Meloidogyne hapla* Chitwood. *Nematologica* 8, 227-236.

Mian, I. H., Godoy, G., Shelby, R. A., Rodríguez-Kábana, R. and Morgan-Jones, G. (1982) Chitin amendments for control of *Meloidogyne arenaria* in infested soil. *Nematropica* 12, 71-84.

Mitchell, R. and Alexander, M. (1962) Microbiological processes associated with the use

of chitin for biological control. *Soil Science Society of America, Proceedings* 26, 556-558.

Oka, Y., Chet, I., and Spiegel, Y. 1993. Control of the rootknot nematode *Meloidogyne javanica* by *Bacillus cereus*. *Biocontrol Science and Technology* 3:115-126.

Ordentlich, A., Elad, Y. and Chet, I. (1988) The role of chitinase of *Serratia marcescens* in biocontrol of *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 78, 84-88.

Press, C.M., Wilson, M., Tuzun, S., Kloepper, J.W. 1997. Salicylic acid produced by *Serratia marcescens* 90-166 is not the primary determinant of induced systemic resistance in cucumber or tobacco. *Molec. Plant-Microbe Interactions* 10:761-768.

Raupach, G.S., Liu, L., Murphy, J.F., Tuzun, S., and Kloepper, J.W. 1996. Induced systemic resistance in cucumber and tomato against cucumber mosaic cucumovirus using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). *Plant Dis.* 80:891-894.

Punja, Z. K. and Zhang, Y.-Y. (1993) Plant chitinases and their roles in resistance to fungal diseases. *Journal of Nematology* 25, 526-540.

Roberts, C. A., Marek, S. M., Niblack, T. L. and Karr, A. L. (1992) Parasitic *Meloidogyne* and mutualistic *Acremonium* increase chitinase in tall fescue. *Journal of Chemical Ecology* 18, 1107-1116.

Rodríguez-Kábana, R., Godoy, G., Morgan-Jones, G. and Shelby, R. A. (1983) The determination of soil chitinase activity: Conditions for assay and ecological studies. *Plant and Soil* 75, 95-106.

Rodríguez-Kábana, R., Kloepper, J.W., Weaver, C.F., and Robertson, D.G. 1993. Control of plant parasitic nematodes with furfural—a naturally occurring fumigant. *Nematopica* 23:63-73.

Rodríguez-Kábana, R. and Morgan-Jones, G. (1987) Biological control of nematodes: Soil amendments and microbial antagonists. *Plant and Soil* 100, 237-247.

Rodríguez-Kábana, R., Morgan-Jones, G. and Gintis, B.O. (1984) Effects of chitin amendments to soil on *Heterodera glycines*, microbial populations, and colonization of cysts by fungi. *Nematopica* 14, 10-25.

Ross, A.F. 1961. Systemic acquired resistance induced by localized virus infection in plants. *Virology* 14:340-58.

Ryals, J., Neuenschwander, U.H., Willits, M.G., Molina, A., Steiner, H.Y., et al. 1996. Systemic acquired resistance. *Plant Cell* 8:1809-19.

Sikora, R.A. 1988. Interrelationship between plant health promoting rhizobacteria, plant parasitic nematodes and soil microorganisms. *Med. Fac. Landouww. Rijksuniv. Gent* 53:867-878.

Soler-Serratosa, A., Kokalis-Burelle, Rodríguez-Kábana, R., Weaver, C.F., and King, P.S. 1996. Allelochemicals for control of plant-parasitic nematodes. 1. *in vivo* nematicidal efficacy of thymol and thymol/benzaldehyde combinations.

Soler-Serratosa, A., Rodríguez-Kábana, R., and Kloepper, J.W. 1994. Selective enrichment of *Pseudomonas* spp. in soils treated with thymol for control of phytoparasitic nematodes. In: M.H. Ryder, P.M. Stevens, and G.D. Bowen, eds. *Improving Plant Productivity with Rhizobacteria*. CSIRO Press, Adelaide, Australia., p. 198.

Spiegel, Y., Cohn, E. and Chet, I. (1986) Use of chitin for controlling plant-parasitic nematodes. I. Direct effects on nematode reproduction and plant performance. *Plant and Soil* 95, 87-95.

Sticher, L., Mauch-Mani, B. Métraux, J.P. 1997. Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.* 35:235-70.

Stirling, G.R. 1991a. Mass production and release of biological control agents. Chapter 6 in: *Biological Control of Plant Parasitic Nematodes—Progress, Problems and Prospects*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.

Stirling, G.R. 1991b. Naturally occurring biological control. Chapter 5 in: *Biological Control of Plant Parasitic Nematodes—Progress, Problems and Prospects*. CAB International, Wallingford, Oxon, UK.

Stirling, G. R., McKenry, M. V. and Mankau, R. (1979) Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) on peach. *Phytopathology* 69, 806-809.

Van Loon, L.C., 1997. Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins. *Eur. J. Plant Pathol.* 103:753-65.

Van Loon, L.C., Bakker, P.A.H.M., and Pieterse, C.M.J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annu. Rev. Phytopathol.* 36:453-83.

Vargas, R., Rodríguez-Kábana, R. and Kloepper, J. W. (1994) Study of microbial ecology in a crop rotation program with soybean, velvetbean, and winter crops. *Phytopathology* 84, 1084.

Wei, G., Kloepper, J.W., and Tuzun, S. 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology* 86:221-224.

Yao, C.-B., Zehner, G.W., Sikora, E., Murphy, J., and Kloepper, J.W. 1997. Evaluation of induced systemic resistance and plant growth promotion in tomato with selected PGPR strains. In 'Plant Growth-Promoting Rhizobacteria—Present Status and Future Prospects,' eds. A. Ogoshi, K. Kobayashi, Y. Homma, F. Kodama, N. Kondo, and S. Akino, pp. 285-288. (Nakanishi Printing, Sapporo).

Zehnder, G., Kloepper, J., Tuzun, S., Yao, C. Wei, G., Chambliss, O., and Shelby, R. 1997a. Insect feeding on cucumber mediated by rhizobacteria-induced plant resistance. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 83:81-85.

Zehnder, G., Kloepper, J., Yao, C., and Wei, G. 1997b. Induction of systemic resistance in cucumber against cucumber beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) by plant growth-promoting rhizobacteria). *J. Econ. Entomol.* 90:391-396.

COMPUESTOS BIOLOGICOS Y METODOS PARA MEJORAR EL
CRECIMIENTO Y SALUD DE LAS PLANTAS Y PARA PRODUCIR
PLANTAS QUE SUPRIMAN LAS ENFERMEDADES

REIVINDICACIONES:

1. Una composición para afectar por lo menos el crecimiento de la planta o la resistencia a las enfermedades impartidas que comprende por lo menos una rizobacteria que promueve el crecimiento de la planta *Result.* (RPCP) y una enmienda orgánica efectiva y en una cantidad suficiente para inducir resistencia a las enfermedades de las plantas.

2. Una composición para afectar tanto el crecimiento de la planta como para impartir resistencia a la enfermedad que comprende por lo menos una rizobacteria que promueve el crecimiento de la planta (RPCP) y una enmienda orgánica efectiva en una cantidad suficiente para inducir resistencia a las enfermedades de las plantas. *Result*

3. Una composición para afectar por lo menos el crecimiento de la planta y para impartir resistencia a la enfermedad que comprende por lo menos una rizobacteria que promueve el crecimiento de la planta (RPCP) y una enmienda orgánica efectiva en una cantidad suficiente *Result.*

para inducir resistencia sistémica a las enfermedades de las plantas.

4. La composición de la reivindicación 3, en donde las enfermedades de las plantas que son causadas por patógenos de las mismas, comprende por lo menos una de las siguientes enfermedades: bacterianas, fungales, virales y de nemátodos.

result

5. La composición de la reivindicación 3, en donde la enmienda orgánica es bien sea natural o un compuesto orgánico aminatado sintético.

6. La composición de la reivindicación 5, en donde el compuesto orgánico aminatado se selecciona entre el grupo que consiste de corteza de pino, harina de soya, harina de semilla de algodón, caseína, concha de cangrejo, conchas de camarones, quitina y quitosan.

7. La composición de la reivindicación 3, en donde por lo menos uno de los RPCP es no quitinolítico.

8. La composición de la reivindicación 7, en donde por lo menos uno de los RPCP se selecciona entre la familia BACILLIACEAE.

9. La composición de la reivindicación 8, en donde el BACILLIACEAE se selecciona entre los géneros *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus*, *Virgibacillus*, *Alicyclobacillus* y *Aneurinibacillus*.

10. La composición de la reivindicación 9, en donde la bacteria se selecciona entre las siguientes: *Bacillus subtilis*, cepa GB03 de *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, y la cepa IN937a de *Bacillus amyloliquefaciens*.

11. La composición de la reivindicación 8, en donde ésta comprende por lo menos dos bacterias diferentes de la familia BACILLIACEAE.

12. La composición de la reivindicación 11, en donde las bacterias son cepa GB03 de *Bacillus subtilis* y cepa IN937a de *Bacillus amyloliquefaciens*.

13. La composición de la reivindicación 7, en donde por lo menos uno de los RPCP comprende uno seleccionado entre los siguientes: bacteria que colonizan la raíz, hongos, levaduras y actinomicetes.

14. La composición de la reivindicación 13, en donde por lo menos uno de los RPCP es una bacteria que coloniza la raíz seleccionada entre unseudomonado fluorescente y aislados de *Pseudomonas* spp., *Serratia* spp., *Corynebacterium* spp., *Enterobacter* spp., *Arthrobacter* spp. y *Burkholderia* spp.

15. La composición de la reivindicación 13, en donde por lo menos uno de los RPCP es un hongo seleccionado entre *Trichoderma* spp. y *Glioladium* spp.

16. La composición de la reivindicación 3, en donde por lo menos uno de los RPCP es quitinolítico.

17. La composición de la reivindicación 3, en donde por lo menos uno de los RPCP es una bacteria que forma esporas.

18. La composición de la reivindicación 3, en donde por lo menos uno de los RPCP es una bacteria que no forma esporas.

19. La composición de la reivindicación 3, en donde la composición comprende además por lo menos un ingrediente no esencial que no afecta en forma perjudicial la función del RPCP o la enmienda orgánica.

20. La composición de la reivindicación 19, en donde el ingrediente no esencial comprende por lo menos un compuesto aromático botánico.

21. La composición de la reivindicación 20, en donde el compuesto aromático botánico se le selecciona entre el grupo de benzaldehído, citral, timol, furfural, mentol y alfa-terpineol.

22. La composición de la reivindicación 3, que es líquida, sólida o en polvo.

23. La composición de la reivindicación 3, que es en un medio que no contiene tierra.

24. Un método para afectar por lo menos el crecimiento de la planta o impartir resistencia a la enfermedad a plantas o semillas, que comprende los pasos de tratar una semilla o plántula de una planta meta con una composición que comprende por lo menos una rizobacteria que promueve el crecimiento de la planta (RPCP) y una enmienda orgánica afectiva en una cantidad suficiente para inducir resistencia a las enfermedades de la planta, y cultivar la semilla o plántula tratada.

25. Un método para afectar por lo menos el crecimiento de la planta e impartir a las plantas o semillas resistencia a la enfermedad, que comprende los pasos de tratar la semilla o plántula de una planta meta con una composición que comprende por lo menos una rizobacteria que promueve el crecimiento de la planta (RPCP) y una enmienda orgánica afectiva en una cantidad suficiente para inducir resistencia a las enfermedades de la planta, y cultivar la semilla o plántula tratada.

26. Un método para afectar por lo menos el crecimiento de la planta e impartir a las plantas o semillas resistencia a la enfermedad, que comprende los pasos de tratar un semilla o plántula de una planta meta con una composición que comprende por lo menos una rizobacteria que promueve el crecimiento de la planta (RPCP) y una enmienda orgánica afectiva en una cantidad suficiente para inducir la resistencia sistémica a las

enfermedades de la planta, y cultivar la semilla o plántula tratada.

27. El método de la reivindicación 26 en donde éste comprende además recopilar una semilla o plántula tratada.

28. El método de la reivindicación 26 en donde éste comprende además transplantar una semilla o plántula tratada por lo menos una vez.

29. El método de la reivindicación 26 en donde éste comprende además plantar una semilla o plántula tratada en la tierra.

30. El método de la reivindicación 26 en el que la composición está contenida en un recipiente.

31. El método de la reivindicación 26 en donde el tratamiento consiste en exponer la semilla o plántula tratada a la composición mediante aspersión foliar o tratamiento con remojo, goteo o irrigación.

34. El método de la reivindicación 26, en donde éste comprende además revestir una semilla sin tratar con la composición que comprenda por lo menos una rizobacteria que promueva el crecimiento de la planta (RPCP) y una enmienda orgánica efectiva en una cantidad suficiente para inducir resistencia a las enfermedades de la planta exponiendo la semilla sin tratar a la composición.

35. Una semilla, plántula o planta tratada con una composición para afectar por lo menos el crecimiento de la planta o impartir resistencia a la enfermedad de plantas o semillas, que comprende por lo menos una rizobacteria que promueve el crecimiento de la planta (RPCP) y una enmienda orgánica efectiva en una cantidad suficiente para inducir resistencia a las enfermedades de la planta.

36. Una semilla, plántula o planta tratada con una composición para afectar tanto el crecimiento de la planta como para impartir resistencia a la enfermedad de plantas o semillas, que comprende por lo menos una rizobacteria que promueve el crecimiento de la planta (RPCP) y una enmienda orgánica efectiva en una cantidad suficiente para inducir resistencia a las enfermedades de la planta.

37. Una semilla, plántula o planta tratada con una composición para afectar por lo menos el crecimiento de la planta e impartir resistencia a la enfermedad de plantas o semillas, que comprende por lo menos una rizobacteria que promueve el crecimiento de la planta (RPCP) y una enmienda orgánica efectiva en una cantidad suficiente para inducir resistencia sistémica a las enfermedades de las plantas.

38. La semilla, plántula o planta de la reivindicación 37 en donde las enfermedades de las plantas que son causadas por patógenos de las mismas comprenden por lo menos una de las siguientes enfermedades: bacteriana, fungal, viral y de nemátodos.

39. La plántula o planta tratada de la reivindicación 37, tratada con la composición por inmersión, aspersión, pulverización, remojo, goteo o irrigación.

40. La semilla, plántula o planta de la reivindicación 37, en donde la semilla, plántula o planta se seleccionan entre el grupo que consiste de especies de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas.

41. La semilla, plántula o planta de la reivindicación 37, en donde la enmienda orgánica es un compuesto natural o un compuesto orgánico aminatado sintético.

42. La semilla, plántula o planta de la reivindicación 41, en donde el compuesto orgánico aminatado se selecciona entre el grupo que consiste de corteza de pino, harina de soya, harina de semilla de algodón, cafeína, concha de cangrejo, conchas de camarón, quitina y quitosan.

43. La semilla, plántula o planta de la reivindicación 41, en donde la composición comprende un compuesto aminatado sintético.

44. La semilla, plántula o planta de la reivindicación 37, en donde la composición comprende además por lo menos un ingrediente no esencial que no afecta diametralmente la función del RPCP o de la enmienda orgánica.

45. La semilla, plántula o planta de la reivindicación 44, en donde el ingrediente no esencial comprende por lo menos un compuesto aromático botánico.

46. La semilla, plántula o planta de la reivindicación 45, en donde el compuesto aromático botánico se selecciona entre el grupo de benzaldehído, citral, timol, furfural, mentol y alfa-terpineol.

47. La semilla revestida de la reivindicación 37.

48. La semilla revestida de la reivindicación 47 en donde las enfermedades de la planta son causadas por patógenos de la misma, que comprenden por lo menos una de las siguientes enfermedades: bacterianas, fungales, virales y de nemátodos.

49. La semilla revestida de la reivindicación 47 en donde la semilla se selecciona dentro del grupo que

consiste de especies de plantas monocotiledóneas y dicotiledóneas.

50. La semilla revestida de la reivindicación 47 en donde la enmienda orgánica es un compuesto natural o un compuesto orgánico aminatado sintético.

51. La semilla revestida de la reivindicación 47 en donde la composición comprende por lo menos un ingrediente no esencial que no afecta perjudicialmente la función del RPCP o de la enmienda orgánica.

52. La semilla revestida de la reivindicación 51 en donde el ingrediente no esencial comprende por lo menos un compuesto aromático botánico.

53. La semilla revestida de la reivindicación 52 en donde el compuesto aromático botánico se selecciona dentro del grupo de benzaldehído, citral, timol, furfural, mentol y alfa-terpineol.

54. La semilla revestida de la reivindicación 47 que se planta en la tierra.

55. La semilla tratada de la reivindicación 37, que se trata con la composición mediante inmersión, aspersión, pulverización, remojo, goteo o irrigación de la semilla no tratada.

RESUMEN

El invento acelera el crecimiento de todo tipo de plantas, v.g. el tomate, el cohombro, el pimentón dulce, el tabaco, los cultivos de horticultura y otros, y aumenta la salud de la planta. El invento está diseñado para aumentar la tasa de crecimiento de la plántula en la tierra o en el invernadero; y para producir semillas que tienen un revestimiento que imparte resistencia a la enfermedad, disminuyendo por esa razón el tiempo requerido para producir transplantes en invernaderos de plántulas antes de su transplante a los campos agrícolas; y desarrollar plántulas para transplante "que suprimen las enfermedades" que están protegidas por un tiempo contra enfermedades múltiples a través de mecanismos combinados de defensa estimulada de la planta y actividad incrementada de los microorganismos antagonistas nativos en las raíces de la planta. Se proporcionan composiciones y métodos para su utilización.

Se retiro tarjeta archivo propietarios.

Se refino Ato 12 x 12
Folio 78

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISIC

Radicacion : 00014742 00000000 Folios: 76
Fecha (AMD): 2020-03-01 16:06:14
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- Nombre e identificación del Solicitante
- Nombre e identificación del Inventor
- Título o nombre de la Invención
- Descripción
- Reivindicaciones
- Resumen
- Comprobante de Pago

- ☐
- ☐
- ☐
- ☐
- ☐
- ☐
- ☐

COMPLETA ☒

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- Nombre e identificación del peticionario
- Nombre e identificación del inventor o diseñador
- Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse
- Representación gráfica
- Comprobante de pago

- ☐
- ☐
- ☐
- ☐
- ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐


Firma Responsable

Fecha: _____

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
PRIMER EXAMEN DE FORMA

EXPEDIENTE 0-014742

430
2000-03-02

Practicado el examen jurídico de acuerdo con lo establecido en el art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- SI [] NO [x] **NO APLICABLE** [] Presentó los poderes necesarios en forma correcta (Decisión 344, art. 14-a).
- SI [] NO [x] **NO APLICABLE** [] Acreditó, en forma correcta, la existencia y representación de la persona jurídica solicitante (art. 14-c de la Decisión 344; literal g) del art. 4 del Decreto 117/94).
- SI [x] NO [] **NO APLICABLE** [] Presentó, en forma correcta el comprobante de pago por la tasa de presentación establecida (art. 13-f de la Decisión 344 y la Resolución 02 del 4 de enero del 2000).
- SI [x] NO [] **EXTEMPORANEAMENTE** [] Reivindicó prioridad, dentro del plazo y de acuerdo con lo previsto en el Artículo 4 del Convenio de Paris.
- SI [] NO [x] **NO APLICABLE** [] Presentó copia, certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, al momento de radicar la solicitud nacional.
- SI [] NO [x] **NO APLICABLE** [] Presentó la traducción del capítulo reivindicatorio de la solicitud de la cual se reivindica prioridad (Art. 4, D-3 Convenio de París; Concepto: 5 de enero de 1999 S.I.C.).
- SI [] NO [x] **CUMPLE LOS REQUISITOS JURIDICOS**

OBSERVACIONES JURIDICAS CONVENIO DE PARIS: En todo caso, deberá presentar copia certificada su conformidad por la Administración que recibió la solicitud de la cual reivindica prioridad, en cualquier momento dentro del plazo de tres (3) meses, contados a partir de la fecha de depósito de la solicitud posterior. La omisión de esta formalidad implicará la pérdida del derecho de prioridad.

En consecuencia, se conceptúa que esta solicitud:

- SI [] NO [x] Se ajusta a los aspectos **FORMALES** indicados en la Decisión 344 y por tanto,
- SI [] NO [x] Se recomienda **PUBLICAR** el extracto correspondiente.

Santafé de Bogotá, D.C., 2 de marzo del 2000.

EXAMINADOR JURIDICO: Código 202002

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
Primer EXAMEN DE FORMA

Radicación no 00-14742

Concepto Técnico no 628 Clasificación Internacional de Patentes C05F 11/08

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- SI ☒ NO ☐ Contiene la identificación correcta del inventor (Art.8, Art.13-a).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la identificación correcta del solicitante (Artículo 13-a).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el resumen con el objeto y finalidad de la invención en forma correcta (Art.13-e).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el título o nombre de la invención en forma correcta (Art.13-b).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la descripción clara y completa de la invención (Art.13-c).
- SI ☐ NO ☐ Contiene los dibujos correctos (Art.14-c junto con el literal d) del Art. 4 del Dto. 117 del 94).
- SI ☒ NO ☐ Contiene las unidades de medida en el sistema exigido (Art.14-c junto con el Decreto 3464 del 26 de diciembre de 1980).
- SI ☐ NO ☐ Contiene una o más reivindicaciones, en forma correcta, que precisen la materia para la cual se solicita la protección mediante la patente (Art.13-d).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el extracto de acuerdo con el literal c) del artículo 4 del Dto. 117 /94.
- SI ☐ NO ☐ Contiene el arte final del dibujo característico de acuerdo con el literal c) del artículo 4 y el artículo 27 del Dto. 117 /94.
- SI ☒ NO ☐ Contiene la tarjeta del Archivo Temático [formato P-104] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la tarjeta del Archivo de Propietarios [formato P-105] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
- SI ☒ NO ☐ **CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS**

OBSERVACIONES Y OTROS: SI ☐ NO ☒ ver hoja(s) anexa(s)

Santa Fe de Bogotá, D.C., 24 de abril de 2000.

202016

EXAMINADOR TÉCNICO

EXPEDIENTE 0-014742

AUTO 0597

430
2000-05-04

LA JEFE DE LA DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DISPONE

ARTICULO PRIMERO: Reconocer personería al doctor xxxx, como apoderado del solicitante, en los términos y para los efectos del poder conferido

ARTICULO SEGUNDO: Conforme lo establece el artículo 22 de la Decisión 344 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, requiérese al solicitante, para que dentro del plazo de treinta (30) días hábiles siguientes a la fecha de notificación del auto, presente respuesta a las observaciones o complemente los antecedentes señalados en el examen de forma.

ARTICULO TERCERO: Notificar por estado el presente auto, advirtiéndolo que contra el no procede recurso alguno en la vía gubernativa.

NOTIFIQUESE Y CUMPLASE

Dado en Santafé de Bogotá D.C., a los 2 MAY 2000

LA JEFE DE LA DIVISION DE NUEVAS CREACIONES,

ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL

NOTIFICADO POR ESTADO

4 MAY 2000
Santafé de Bogotá D.C.,
fecha.

notificado por anotación en estado de esta misma

VENCIMIENTO NOTIFICACION ESTADO

SOLICITO PRORROGA TERMINO SI ____ NO ____

VENCIMIENTO TERMINO PRORROGA