



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 332 494**

② Número de solicitud: 200802324

⑤ Int. Cl.:
A01N 35/06 (2006.01)

A01N 41/04 (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

⑫ Fecha de presentación: **04.08.2008**

⑬ Fecha de publicación de la solicitud: **05.02.2010**

Fecha de la concesión: **31.01.2011**

⑮ Fecha de anuncio de la concesión: **10.02.2011**

⑰ Fecha de publicación del folleto de la patente:
10.02.2011

⑲ Titular/es: **Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)** (Titular al 90 %)
c/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES
Universidad de La Laguna (Titular al 10 %)

⑳ Inventor/es: **Borges Pérez, Andrés A.;**
Jiménez Arias, David;
Expósito Rodríguez, Marino;
Borges Rodríguez, Andrés A.;
Luis Jorge, Juan Cristo y
Martín Rodríguez, Vanesa

㉑ Agente: **Pons Ariño, Ángel**

㉒ Título: **Uso de menadiona para aumentar la tolerancia al estrés salino de las plantas.**

㉓ Resumen:

Uso de menadiona para aumentar la tolerancia al estrés salino de las plantas.

Esta invención está relacionada con el uso de composiciones que contienen menadiona (Vitamina K3 o Provitamina K) y/o algunos de sus derivados hidrosolubles para la mejora de la tolerancia al estrés salino de las plantas afectadas. El tratamiento se lleva a cabo mediante la aplicación de las soluciones que contengan los citados compuestos por cualquier vía que ponga en contacto las composiciones de la invención con cualquier parte de la planta y/o semillas.

ES 2 332 494 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Uso de menadiona para aumentar la tolerancia al estrés salino de las plantas.

5 Esta invención está relacionada con el uso de composiciones que contienen menadiona (Vitamina K₃ o Provitamina K) y/o algunos de sus derivados hidrosolubles para la mejora de la tolerancia al estrés salino de las plantas afectadas. El tratamiento se lleva a cabo mediante la aplicación de las soluciones que contengan los citados compuestos por cualquier vía que ponga en contacto las composiciones de la invención con cualquier parte de la planta y/o semillas.

10 Estado de la técnica anterior

La salinidad de los suelos es uno de los principales factores que está afectando cada vez más a las zonas de cultivo a nivel mundial, especialmente en las zonas áridas y semiáridas de producción.

15 La salinidad es un problema grave en muchas zonas áridas, donde el riego ha ido aumentando lentamente la concentración de sales solubles en el suelo y reduciendo el potencial productivo de muchos cultivos. La salinidad puede inhibir la germinación y el crecimiento de las plantas, reduciendo el rendimiento o la calidad de la cosecha.

20 La salinización de los suelos afecta a la Humanidad desde el inicio de la agricultura. La actividad antrópica ha incrementado la extensión de áreas salinizadas al ampliarse las zonas de regadío con el desarrollo de grandes proyectos hidrológicos que han provocado cambios en el balance de agua y sales de los sistemas hidrogeológicos. La proporción de suelos afectados por salinidad se cifra en un 10% del total mundial, y se estima que entre 25 y 50% de las zonas de regadío están salinizadas (Rhoades *et al.*, 1992. FAO Irrigation and Drainage paper. FAO, United Nations, Rome, 48 pp.).

25 En las zonas afectadas por salinidad, la principal solución ha sido la sustitución de cultivos sensibles por otros más tolerantes como remolacha azucarera, cebada, algodón, etc., que reemplazan a los cultivos tradicionales. Sin embargo, esta opción puede no tener interés por problemas de mercado, particularidades climáticas o necesidades nutricionales de la población, por lo que resultaría más importante disponer de variedades tolerantes en los principales cultivos o bien aumentar su capacidad de tolerancia.

30 La salinidad afecta el crecimiento y producción de los cultivos al reducir el potencial hídrico de la solución del suelo, disminuyendo así la disponibilidad de agua, y al crear un desequilibrio nutritivo, dada la elevada concentración de elementos (Na⁺, Cl⁻) que pueden interferir con la nutrición mineral y el metabolismo celular. En consecuencia, los diversos efectos observados a distinta escala, desde reducción de turgencia y crecimiento hasta la pérdida de la estructura celular por desorganización de membranas e inhibición de la actividad enzimática, son el producto combinado de estrés hídrico, toxicidad fónica y desequilibrio nutricional. Una causa de la reducción del crecimiento es la inadecuada fotosíntesis debida al cierre estomático y en consecuencia la limitación de la entrada de CO₂ (Leidi y Pardo, 2002. *Revista de investigaciones de la facultad de Ciencias Agrarias*, N° II).

35 En los últimos 25 años los inventores han venido investigando sobre el efecto que los reguladores del crecimiento de las plantas podrían producir en el reforzamiento de los mecanismos naturales de defensa y, como consecuencia, en la inducción de tolerancia a salinidad además de resistencia a patógenos y plagas en las plantas tratadas y otros efectos positivos. En este sentido, los investigadores han observado cómo un determinado tipo de reguladores del crecimiento de las plantas, los derivados hidrosolubles de la Vitamina K, eran capaces de estimular los mecanismos naturales de defensa de las plantas tratadas y consecuentemente de inducir resistencia frente a los ataques de patógenos y plagas (WO/1995/03702), así como para contrarrestar los daños producidos por pesticidas y herbicidas (WO/2003/105586).

40 Los inventores también han obtenido resultados sorprendentes en lo que se refiere al uso de un derivado hidrosoluble de la Vitamina K₃, la menadiona sodio bisulfito (MSB) en el cultivo de platanera (banana) para estimular el adelanto de la floración de las plantas tratadas, frente a las no tratadas (WO/1996/28026).

45 Además, las plantas tratadas con derivados hidrosolubles de la Vitamina K₃, especialmente con el MSB, originan el desarrollo de propiedades antialimentarias frente a los ataques de patógenos y plagas (Patente ES-200601179).

50 Los investigadores de la presente invención han continuado experimentando acerca de los efectos del MSB en relación al estrés salino.

55 Sorprendentemente, las plantas tratadas con estas composiciones presentan una mayor tolerancia frente a dicho estrés especialmente en lo que se refiere a condiciones de alta salinidad. Los efectos nocivos sobre los cultivos provocados por la salinidad son contrarrestados, al menos en parte, por el tratamiento de los mismos con MSB, lo que se traduce en una mejora de la calidad de la cosecha e incremento del rendimiento de la misma.

60 Los compuestos descritos en la presente invención son sistémicos, biodegradables, no pesticidas, no tóxicos e ino- cuos desde el punto de vista medioambiental, y no son peligrosos para las plantas, los animales y las personas. Además se pueden mezclar con varios aditivos, por ejemplo: fertilizantes orgánicos e inorgánicos, insecticidas, nematocidas, fungicidas, bactericidas o herbicidas.

ES 2 332 494 B1

En relación con la estimulación de los sistemas defensivos de las plantas por medio de menadiona, en el documento de patente WO/2003/105586 se emplean composiciones que contienen menadiona y/o algunos de sus derivados hidrosolubles para estimular los mecanismos naturales de defensa de las plantas, contrarrestando en parte los daños químicos ocasionados por pesticidas y herbicidas. Asimismo, el documento de patente WO/1996/28026 está basado en los mismos compuestos que el documento anterior para inducir resistencia de las plantas a patógenos y plagas.

Por otra parte, el documento WO/2005/054156 menciona que las plantas tratadas con un fertilizante compuesto por Vitamina K y/o sus derivados, ácido algínico, y betaina son capaces tanto de mejorar el crecimiento como aumentar la tolerancia al estrés abiótico y osmótico.

La presente invención se refiere a un concepto más específico de estrés abiótico, el estrés salino, además, el efecto de la mejora de la tolerancia al estrés abiótico y osmótico, mencionada en WO/2005/054156, no puede ser atribuida a la Vitamina K o sus derivados puesto que, como se ha explicado anteriormente, la tolerancia a estos estreses es debida al ácido algínico y betaina respectivamente.

El estrés salino es un tipo de estrés abiótico y el estrés osmótico es uno de los efectos del estrés salino. Como se ha comentado en el tercer párrafo de este apartado introductorio, la salinidad causa estreses relacionados tanto con el estrés hídrico y ósmosis celular como con la toxicidad y desequilibrios nutricionales debidos al ión sodio u otros iones en el caso de ser sales diferentes a cloruro sódico.

Es conocido que los mecanismos defensivos de las plantas frente a estreses de diferente naturaleza pueden compartir algunos elementos implicados, como por ejemplo, rutas de transducción de señales, pero es tal la complejidad de estas respuestas, que no se podría considerar que los estreses causados a las plantas por patógenos, pesticidas y herbicidas articulan los mismos procesos a pesar de que puedan compartir parte de los mecanismos de la respuesta defensiva.

Con esta invención se solventa la dificultad de conseguir un crecimiento óptimo de las plantas sometidas a estrés salino. El uso de composiciones que contienen menadiona y/o alguno de sus derivados hidrosolubles genera un resultado sorprendente e inesperado en aquellas plantas que han sido sometidas a estrés salino y son tratadas con estas composiciones.

Explicación de la invención

La presente invención se basa en el uso de composiciones que contienen menadiona (Vitamina K3) y/o al menos uno de sus derivados solubles en agua que cuando son aplicadas a las plantas y/o semillas son capaces de bioestimular sus mecanismos naturales de defensa al estrés salino.

La invención propuesta satisface una necesidad experimentada desde hace tiempo ya que describe el uso de una clase de compuestos que son sistémicos, biodegradables, no pesticidas, no tóxicos e inoocuos desde el punto de vista medioambiental, y que no son peligrosos para las plantas, los animales y las personas. Por consiguiente, la presente invención supone una herramienta segura para luchar contra la pérdida de rendimiento agrícola y abandono de cultivos por la salinización de los suelos (sin el uso de organismos modificados genéticamente).

En este sentido, un primer aspecto de la invención se basa en el uso de una composición acuosa que comprende menadiona y/o algunos de sus derivados hidrosolubles para inducir tolerancia al estrés salino en las plantas y/o semillas.

Siendo los derivados hidrosolubles de menadiona todas aquellas sales que pueden solubilizarse en agua tales como menadiona sodio bisulfito (MSB), bisulfito potásico, bisulfito amónico o bisulfito magnésico, menadiona nicotinamida bisulfito (MNB), menadiona ácido p-aminobenzoico bisulfito, menadiona histidina bisulfito, menadiona adenina bisulfito, menadiona ácido nicotínico bisulfito o menadiona triptofano bisulfito sin perjuicio de otras sales no citadas.

Un segundo aspecto de la presente invención se basa en el uso de una composición acuosa para inducir tolerancia al estrés salino de las plantas y/o semillas que comprende,

- a. 3.3×10^{-7} a 0.66 mM (0.0001 a 200 p.p.m.) de menadiona (Vitamina K3);
- b. 3.3×10^{-6} a 33.3 mM (0.001 a 10000 p.p.m.) de un derivado de Vitamina K3 soluble en agua caracterizado por ser un bisulfito seleccionado de la lista que comprende; menadiona sodio bisulfito (MSB), bisulfito potásico, bisulfito amónico o bisulfito magnésico;
- c. 3.3×10^{-5} a 33.3 mM (0.01 a 10000 p.p.m.) de un derivado de Vitamina K3 de bajo nivel de solubilidad en agua caracterizado por ser un bisulfito seleccionado de la lista que comprende; menadiona nicotinamida bisulfito (MNB), menadiona ácido p-aminobenzoico bisulfito, menadiona histidina bisulfito, menadiona adenina bisulfito, menadiona ácido nicotínico bisulfito o menadiona triptofano bisulfito;
- d. o cualquier combinación de las composiciones según (a), (b) y/o (c).

ES 2 332 494 B1

Todos estos compuestos son sistémicos, biodegradables, no pesticidas, no tóxicos e inocuos desde el punto de vista medioambiental, no son peligrosos para las plantas, los animales y las personas. Dichos compuestos originan el desarrollo en los cultivos de propiedades que contrarrestan el estrés ocasionado por la salinidad.

5 La concentración de los componentes activos de las composiciones dependerá del tipo de planta, fase de desarrollo de la misma, así como de la frecuencia y forma de aplicación de las composiciones.

La efectividad de los componentes activos de las composiciones, referida a Vitamina K3, MSB y MNB puede esperarse a las siguientes concentraciones: Vitamina K3 entre 3.3×10^{-7} a 0.66 mM (0.0001 a 200 p.p.m.); MSB entre 3.3×10^{-6} a 33.3 mM (0.001 a 10000 p.p.m.); MNB entre 3.3×10^{-5} a 33.3 mM (0.01 a 10000 p.p.m.).

En una realización preferida, el compuesto es menadiona sodio bisulfito (MSB).

15 Un tercer aspecto de la invención es el uso de una composición según los compuestos anteriores y sus concentraciones para inducir tolerancia al estrés salino en las plantas mediante su aplicación a la parte aérea mediante pulverización.

Los principios fisiológicos del transporte de los compuestos absorbidos por las hojas mediante pulverización, son similares a los que ingresan en las plantas por la absorción vía radicular, sin embargo, el movimiento de los compuestos aplicados sobre las hojas no es el mismo en tiempo y forma que el que se realiza desde las raíces al resto de la planta. La absorción foliar es más efectiva cuando las condiciones de absorción desde el suelo son adversas como por ejemplo en caso de sequía, estrés salino, temperaturas extremas u otros estreses. Además, es mucho más fácil obtener una distribución uniforme, a diferencia de la aplicación de granulados o en mezclas físicas.

20 La aplicación a la superficie de la planta de una de las composiciones anteriormente mencionadas, conteniendo una cantidad efectiva de uno o más de los compuestos descritos, origina una respuesta defensiva de naturaleza sistémica y, en consecuencia, el tratamiento de una parte de la planta desencadena la bioestimulación de los mecanismos de defensa a lo largo de toda la planta.

Un cuarto aspecto de la presente invención es el uso de una composición según los compuestos anteriores de menadiona y/o sus derivados hidrosolubles para inducir tolerancia al estrés salino en las plantas mediante su aplicación al tallo por inyección.

25 Asimismo, un quinto aspecto de la presente invención es el uso de una composición, según los compuestos anteriores y sus concentraciones, caracterizada porque se aplica al suelo u otro sustrato de cultivo, al agua de riego (o solución de cultivo) o por inmersión del sistema radicular de las plantas y/o de semillas.

La aplicación de las composiciones acuosas por medio de la inmersión de la parte radicular de la planta así como de semillas se realiza por un tiempo y con una concentración que depende del tipo de planta, estado de desarrollo así como de la frecuencia y forma de aplicación de las composiciones. En el caso de semillas que requieran un tratamiento especial de escarificación o eliminación de determinadas cubiertas para facilitar su germinación, el proceso de inmersión en las composiciones acuosas de la presente invención, se podrá realizar de forma más efectiva después de la eliminación de las cubiertas para facilitar la absorción de los compuestos activos. Asimismo, también se podrán sumergir las semillas en cualquier estadio de germinación.

45 Las formas de aplicación que se han citado hasta ahora no limitan otro tipo de aplicaciones de las composiciones que contienen menadiona y/o alguno de sus derivados hidrosolubles a las plantas.

Un sexto aspecto de la invención hace referencia al uso de una composición, según los compuestos anteriores y sus concentraciones, que además comprende un aditivo seleccionado de entre fertilizantes orgánicos o inorgánicos, insecticidas, nematocidas, fungicidas, bactericidas o herbicidas.

De esta manera, al aplicar las composiciones que contienen menadiona y/o alguno de sus derivados hidrosolubles junto con aditivos, ya sea para aportar nutrientes o para tratar determinadas infecciones o plagas, se consigue no aumentar los costos de los tratamientos al hacerlo de forma coordinada.

55 El séptimo aspecto de la presente invención es el uso concreto de cualquiera de las composiciones que contienen menadiona y/o alguno de sus derivados hidrosolubles mencionadas anteriormente donde la composición se aplica a plantas y/o semillas de la especie *Solanum lycopersicum*. En una realización preferida, la composición se aplica a semillas de la especie *Solanum lycopersicum* por inmersión. En otra realización preferida, las semillas de *Solanum lycopersicum* se sumergen en una solución acuosa con una concentración de 10 a 300 mM (3000 a 90000 p.p.m.) de menadiona sodio bisulfito (MSB).

60 El octavo aspecto de la invención está basado en el uso concreto de cualquiera de las composiciones que contienen menadiona y/o alguno de sus derivados hidrosolubles mencionadas anteriormente donde la composición se aplica a plantas y/o semillas de la especie *Arabidopsis thaliana*. En una realización preferida, la aplicación de las composiciones se realiza por pulverización foliar de plantas de la especie anterior. Asimismo, en otra realización preferida, la composición está formada por menadiona sodio bisulfito (MSB) y se emplea una concentración de 0,1 a 0,3 mM (30 a 90 p.p.m.).

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

Descripción de las figuras

Ejemplos

A continuación se ilustrará la invención mediante dos ejemplos llevados a cabo con una planta de interés hortofrutícola y con cierta capacidad de resistencia a la salinidad, *Solanum lycopersicum* y la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, sensible al estrés salino.

Ejemplo 1

Descripción del experimento: se sometieron a tratamiento por inmersión durante 6 horas semillas de tomate en una disolución de 20 mM en MSB (6000 p.p.m.), retirando las semillas posteriormente de la misma y dejándolas en agua destilada hasta completar un período de 24 horas. Las semillas control permanecieron sumergidas en agua destilada durante las 24 horas previas a la siembra en sustrato universal. Una vez germinadas las semillas las plántulas de tomate generadas fueron regadas cada 24 horas durante un máximo de 7 días con una solución salina 200 mM en NaCl.

A lo largo del experimento se realizaron medidas de fluorescencia de clorofila A encaminadas a la determinación de cómo el estrés salino afectaba a la capacidad fotosintética de la planta. Los datos fueron analizados mediante JIP-test. El concepto de JIP-test está basado en la Teoría de Flujos Energéticos en Membranas (Strasser, 1978. Chloroplast Development. Elsevier/North Holland, pp. 513-524; Strasser, 1981. Balaban International Science Services, Philadelphia, PA, pp. 727-737). El JIP-test define los flujos máximos de energía en la cascada de eventos que tienen lugar durante su Absorción (ABS₀), Captura (TR₀), Transporte (ET₀) y Disipación (Dio). Al mismo tiempo establece una relación con los datos de fluorescencia experimentales entre los valores mínimos F_0 y máximos F_M . Estos parámetros nos muestran información estructural y funcional (como son flujos fenomenológicos o índices de vitalidad ó PI , PI_{ABS} , PI_{CS}) los cuales nos permiten cuantificar el comportamiento del Fotosistema II en diferentes condiciones experimentales (Strasser *et al.*, 2004. *Advances in Photosynthesis and Respiration*. 19: 321-362).

La tabla 1 muestra los valores medios de la variación de diferentes parámetros de fluorescencia (F_0 , F_M , F_V/F_M y PI) frente al tiempo, para semillas control y tratadas con 20 mM de MSB (6000 p.p.m.). Como se puede observar las plantas procedentes de semillas tratadas con agua destilada o control sufrieron mucho más las drásticas condiciones de estrés salino impuestas en la eficiencia fotosintética del fotosistema II que aquellas que fueron previamente tratadas con MSB. Los valores de fluorescencia inicial y máxima (F_0 y F_M) tienden a estabilizarse en aquellas plantas cuyas semillas fueron tratadas con MSB. El parámetro PI , que expresa la eficiencia funcional del Fotosistema II, muestra claramente esta protección inducida por el MSB, estando sus valores diez veces por encima de los mostrados por las plantas control.

TABLA 1

Cambios experimentados por las plantas de tomate sometidas a estrés salino a lo largo del una semana en los valores de fluorescencia inicial (F_0), fluorescencia máxima (F_M), máxima eficiente cuántica del Fotosistema II (F_V/F_M) y eficiencia funcional del fotosistema II (PI)

		Días		
		1	3	7
Control	F_0	686 ± 31	673 ± 28	962 ± 45
	F_M	3466 ± 123	3429 ± 145	2152 ± 136
	F_V/F_M	0,80 ± 0,01	0,80 ± 0,02	0,55 ± 0,05
	PI	3,18 ± 0,83	3,33 ± 0,76	0,28 ± 0,34
MSB (20 mM)	F_0	715 ± 25	690 ± 37	724 ± 15
	F_M	3538 ± 117	3524 ± 143	3431 ± 129
	F_V/F_M	0,80 ± 0,01	0,80 ± 0,02	0,79 ± 0,03
	PI	2,94 ± 0,25	3,18 ± 0,45	2,51 ± 0,47

Valores medios de 10 plantas por tratamiento. Resultados similares fueron obtenidos en experimentos independientes.

Ejemplo 2

Descripción del experimento: Plántulas de *Arabidopsis thaliana* de 4 semanas fueron tratadas mediante spray foliar con una solución de 0.2 mM (60 p.p.m.) de MSB 24 horas antes de ser sometidas a estrés salino severo consistente en el riego continuado cada 24 horas durante un máximo de 7 días con una solución salina 200 mM en NaCl, al igual que en el ejemplo 1. La siguiente tabla muestra igualmente la tolerancia a la salinidad inducida por el tratamiento previo con MSB. Al igual que en experimento descrito en el ejemplo 1, a lo largo del experimento se realizaron medidas de fluorescencia de clorofila A encaminadas a la determinación de cómo el estrés salino afectaba a la capacidad fotosintética de la planta. Los datos fueron analizados mediante JIP-test al igual que en ejemplo anterior.

TABLA 2

Cambios experimentados por las plantas de Arabidopsis sometidas a estrés salino a lo largo de una semana en los valores de fluorescencia inicial (F0), fluorescencia máxima (FM), máxima eficiencia cuántica del Fotosistema II (FV/FM) y eficiencia funcional del fotosistema II (PI)

		Días		
		1	3	7
Control	F0	699 ± 22	725 ± 34	807 ± 45
	FM	2885 ± 111	2890 ± 117	2795 ± 125
	Fv/FM	0,74 ± 0,02	0,75 ± 0,03	0,73 ± 0,03
	PI	0,79 ± 0,12	0,71 ± 0,09	0,69 ± 0,15
MSB (0.2 mM)	F0	698 ± 26	668 ± 45	734 ± 54
	FM	2922 ± 99	2956 ± 112	3119 ± 121
	Fv/FM	0,76 ± 0,04	0,77 ± 0,03	0,76 ± 0,01
	PI	0,80 ± 0,13	0,85 ± 0,18	0,84 ± 0,15

Valores medios de 10 plantas por tratamiento. Resultados similares fueron obtenidos en experimentos independientes.

De esta manera en la tabla anterior se muestran los valores medios de la variación de diferentes los diferentes parámetros de fluorescencia (F0, FM, FV/FM y PI) analizados frente al tiempo, para plántulas consideradas control y para aquellas tratadas con 0.2 mM de MSB (60 p.p.m.). Como se puede observar en la tabla 2, en las plantas tratadas con agua destilada o control, los valores de fluorescencia máxima (FM), máxima eficiencia cuántica del Fotosistema II (FV/FM) y eficiencia funcional del Fotosistema II (PI) sufren un descenso constante, con la excepción de los valores de fluorescencia inicial (F0). Sin embargo, en las mismas condiciones experimentales las plantas tratadas con MSB no experimentaron dichos cambios en los parámetros de fluorescencia de clorofila, demostrando así la protección del MSB en las condiciones de estrés salino impuestas en aquellas plantas que fueron previamente tratadas con MSB. De nuevo el parámetro PI muestra claramente esta protección del fotosistema inducida por el MSB.

ES 2 332 494 B1

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de una composición acuosa que comprende menadiona y/o algunos de sus derivados hidrosolubles para inducir tolerancia al estrés salino en las plantas y/o semillas.
2. Uso de una composición acuosa para inducir tolerancia al estrés salino de las plantas y/o semillas que comprende,
- 10 a. 3.3×10^{-7} a 0.66 mM de menadiona (Vitamina K3);
- b. 3.3×10^{-6} a 33.3 mM de un derivado de Vitamina K3 soluble en agua **caracterizado** por ser un bisulfito seleccionado de la lista que comprende; menadiona sodio bisulfito (MSB), bisulfito potásico, bisulfito amónico o bisulfito magnésico;
- 15 c. 3.3×10^{-5} a 33.3 mM de un derivado de Vitamina K3 de bajo nivel de solubilidad en agua **caracterizado** por ser un bisulfito seleccionado de la lista que comprende; menadiona nicotinamida bisulfito (MNB), menadiona ácido p-aminobenzoico bisulfito, menadiona histidina bisulfito, menadiona adenina bisulfito, menadiona ácido nicotínico bisulfito o menadiona triptofano bisulfito;
- 20 d. o cualquier combinación de las composiciones según (a), (b) y/o (c).
3. Uso según las reivindicaciones 1 y 2 donde el compuesto es menadiona sodio bisulfito (MSB).
- 25 4. Uso de una composición según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada** porque se aplica a la parte aérea de la planta mediante pulverización.
5. Uso de una composición según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada** porque se aplica al tallo de la planta por inyección.
- 30 6. Uso de una composición, según las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizada** porque se aplica al suelo u otro sustrato de cultivo, al agua de riego (o solución de cultivo) o por inmersión del sistema radicular de las plantas y/o de semillas.
7. Uso de una composición según las reivindicaciones 1 a 3 que además comprende un aditivo seleccionado de entre fertilizantes orgánicos o inorgánicos, insecticidas, nematocidas, fungicidas, bactericidas o herbicidas.
- 35 8. Uso según las reivindicaciones 1 a 7 donde la composición se aplica a plantas y/o semillas de la especie *Solanum lycopersicum*.
- 40 9. Uso según la reivindicación 8 donde la composición se aplica a semillas por inmersión.
10. Uso según la reivindicación 9 donde la concentración de menadiona sodio bisulfito (MSB) es de entre 10 a 300 mM.
- 45 11. Uso según las reivindicaciones 1 a 7 donde la composición se aplica a plantas y/o semillas de la especie *Arabidopsis thaliana*.
12. Uso según la reivindicación 11 donde la composición se aplica por pulverización foliar.
- 50 13. Uso según la reivindicación 12 donde la concentración de menadiona sodio bisulfito (MSB) es de 0.1 a 0.3 mM.

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 332 494

② Nº de solicitud: 200802324

③ Fecha de presentación de la solicitud: **04.08.2008**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **A01N 35/06** (2006.01)
A01N 41/04 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	ES 2201911 A1 (CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS) 16.03.2004, todo el documento.	1-13
A	US 4764201 A (IINO et al.) 16.08.1988, todo el documento.	1-13
A	SALAS, José A. et al. "Variación en el índice y densidad estomática en plantas de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.) sometidas a tratamientos salinos Bioagro 13(3):99-104. 2001.	1-13

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

06.11.2009

Examinador

A. Amaro Roldán

Página

1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A01N

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOCWPI,NPL,BIOSIS,MEDLINE,FSTA,HCAPLUS,AGRICOLA,CABA

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 06.11.2009

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-13	SÍ
	Reivindicaciones	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-13	SÍ
	Reivindicaciones	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión:

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

1. Documentos considerados:

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	ES 2201911 A1	16-03-2004
D02	US 4764201 A	16-08-1988

Observaciones sobre documentos:

La invención se refiere al uso de una composición acuosa que comprende menadiona y/o algunos de sus derivados hidrosolubles para inducir tolerancia al estrés salino en las plantas y/o las semillas (reiv.1). Dicha composición puede comprender menadiona, menadiona sodio bisulfito, menadiona nicotinamida bisulfito, menadiona ácido p-aminobenzoico bisulfito, menadiona adenina bisulfito, menadiona ácido nicotínico bisulfito o menadiona triptófano bisulfito, o cualquier combinación de los mismos (reiv. 2, 3, 10 y 13), pudiendo comprender un aditivo seleccionado entre fertilizantes orgánicos o inorgánicos, insecticidas, nematocidas, fungicidas, bactericidas o herbicidas (reiv. 7). La composición se puede aplicar a la parte aérea de la planta por pulverización (reiv.4 y 12), al tallo por inyección (reiv.5), al suelo, al agua de riego o por inmersión del sistema radicular de las plantas y/o semillas (reiv.6), concretamente plantas y/o semillas de *Solanum lycopersicum* (reiv. 8) o de *Arabidopsis thaliana* (reiv.11).

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

Los documentos citados solo muestran el estado general de la técnica y no se consideran de particular relevancia, ya que para una persona experta en la materia, no sería obvio aplicar las características de los documentos citados y llegar a la invención tal y como se menciona en las reivindicaciones 1-13. Por lo tanto, el objeto de la presente solicitud cumple los requisitos de novedad y de actividad inventiva de acuerdo con los Artículos 6-8 de la Ley de Patentes 11/1986.