

**PCT**WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :</b> <b>A61L 2/02, 2/18, A01N 59/00</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/23528</b>  <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 8. August 1996 (08.08.96)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/AT96/00012 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 29. Januar 1996 (29.01.96)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> A 180/95                      2. Februar 1995 (02.02.95)                      AT  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> ÖSTERREICHISCHES FORSCHUNGSZENTRUM SEIBERSDORF GMBH [AT/AT]; Kramergasse 1, A-1010 Wien (AT).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> WILHELM, Eva [AT/AT]; Fellnergasse 38, A-7083 Purbach (AT).  <b>(74) Gemeinsamer Vertreter:</b> HAUBERT, Rudolf; Österreichisches Forschungszentrum Seibersdorf GmbH, Kramergasse 1, A-1010 Wien (AT).	<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AM, AU, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LT, LU, LV, MD, MG, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TT, UA, UG, US, UZ, VN, ARIPO Patent (KE, LS, MW, SD, SZ, UG), europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht.  Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	
<b>(54) Title:</b> PROCESS FOR DISINFECTING PLANTS AND PLANT TISSUES		
<b>(54) Bezeichnung:</b> VERFAHREN ZUR DESINFEKTION VON PFLANZENGUT BZW. PFLANZENGEWEBSGUT		
<b>(57) Abstract</b>		
<p>The invention relates to a novel and technically effective process for disinfecting non-permanent plants, parts thereof, plant tissues and/or parts thereof or their surfaces intended for vegetative or micro-vegetative propagation, in which said plant tissues and the like are brought into intimate contact with aqueous disinfectant solutions, especially based on oxidising substances or are inserted or dipped therein for a predetermined time, whereafter the rinsing, drying, storage and finally removal steps with any varying repetitions thereof and sequels thereto are performed while maintaining sterile conditions, the main features of which are that, to increase the desired propagation capacity, said non-permanent plants to be disinfected or their parts, tissues and/or parts thereof are subjected during their intensive contact with and especially presence in a bath of the disinfectant solution, to the effect of the oxidising disinfectant and at the same time to that of ultrasonic energy.</p>		
<b>(57) Zusammenfassung</b>		
<p>Die Erfindung betrifft ein neues und technisch effektives Verfahren zur Desinfektion von - nicht als Dauerform - vorliegenden Pflanzen, Pflanzenteilen, Pflanzengewebe und/oder Pflanzengewebeteilen bzw. von deren Oberflächen, welche für eine Vegetativ- bzw. Mikrovegetativvermehrung vorgesehen sind, wobei die genannten Pflanzengewebe u.dgl. mit wässrigen Desinfektionsmittel-Lösungen, insbesondere auf Basis von oxidierenden Substanzen in innigen Kontakt gebracht werden bzw. in dieselben für eine vorgegebene Verweilzeit eingebracht bzw. eingetaucht werden, wonach unter Einhaltung von sterilen Bedingungen die Schritte Spülen, Trocknen, Lagern und letztlich Explantat bzw. Ausbringung mit jeweils vorgesehenen variierenden Wiederholungen und Abfolgen dieser Schritte erfolgen, dessen wesentliche Merkmale darin bestehen, daß zur Steigerung der erwünschten Vermehrungsfähigkeit die genannten, nicht als Dauerform vorliegenden, zu desinfizierenden Pflanzen bzw. deren Teile, Gewebe und/oder Gewebeteile im Zuge ihres intensiven Kontaktes mit der, insbesondere während ihrer Anwesenheit in einem Bad, Desinfektionsmittel-Lösung der Einwirkung des oxidativ wirksamen Desinfektionsmittels in Kombination mit einer gleichzeitig erfolgenden Einwirkung von Ultraschallenergie unterworfen werden.</p>		

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mexiko
AT	Österreich	GE	Georgien	NE	Niger
AU	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	IE	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumänien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
CN	China	LK	Litauen	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	UG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

## Verfahren zur Desinfektion von Pflanzengut bzw. Pflanzengewebsgut

1 Die Mikrovegetativvermehrung erfordert in der Etablierungsphase die Sterilisation der  
Oberflächen des einzusetzenden Pflanzengewebes. Von diesem anfänglichen Schritt ist das  
weitere Gelingen der Inkulturnahme wesentlich abhängig. Verläuft diese Oberflächendes-  
infektion ungenügend und bleiben noch störende keimfähige Mikroorganismen am Pflanzengewebe  
5 haften, verursachen diese spätere Insterilität, die nicht oder nur schwierig beseitigt werden  
kann. Ist andererseits die Desinfektionsbehandlung zu stark, kann das Pflanzengewebe bis zur  
Letalität beschädigt werden. Üblicherweise werden zur Desinfektionsbehandlung oxidative Sub-  
stanzen wie  $H_2O_2$  (Wasserstoffperoxid) oder  $OCl^-$ -(Hypochlorit)-Ionen eingesetzt, wobei die  
Lösungen üblicherweise wässrig sind. Die Exposition der Pflanzenteile erfolgt in sterilen  
10 Gefäßen mit den oxidativen Substanzen in Abhängigkeit von Art und Eigenschaften des Gewebes  
mit verschiedener Einwirkungsdauer. Anschließend wird mehrmals mit sterilem Wasser nachge-  
spült, gegebenenfalls mit Nach- bzw. Zwischenspülungen z.B. mit Alkohol.

Die mit dieser konventionellen Desinfektionsmethode erreichbaren Desinfektionsquoten  
sind insbesondere im Hinblick auf einen technisch ökonomischen Einsatz der modernen Ver-  
15 mehrungstechnik in großem Umfang immer zu gering gewesen. Hierbei ist deutlich darauf hinzu-  
weisen, daß es sich nicht um Behandlung von Pflanzengut handelt, das als Dauerform, z.B. als  
Samenkörper, Getreide, Samen, Sporen u.dgl. vorliegt, sondern als gegen Einfluß von Chemi-  
kalien und mechanische Desintegrationskräfte durchaus empfindliches, aktives, "lebendes"  
Gewebe.

20 Es wurden intensiv Wege gesucht, die Überlebensrate des vorher desinfizierten explan-  
tierten Pflanzengewebes signifikant anzuheben und damit die moderne Vermehrungstechnik  
wesentlich zu fördern.

Es sei an dieser Stelle weiters darauf hingewiesen, daß seit langem eine Behandlung von  
"hartem" Gut, also z.B. zur Reinigung von Geräten aller Art mit stark haftenden Verunreini-  
25 gungen und später auch eine derartige Reinigung von mechanisch wenig empfindlichen "hartem"  
Pflanzendauerformen wie Samen, Körnern usw. mit Ultraschall, gegebenenfalls in Anwesenheit  
eines Desinfektionsmittels, bekannt geworden sind.

Dazu sei besonders auf DE-A1 4,306.645 und US-A 5,213.619 verwiesen, welche die Be-  
handlung und Reinigung von technischen oder medizinischen Artikeln wie Flüssigsauerstoff-  
30 ventilen, Zahnprothesen, Knochenklammern und Sprachprothesen sowie von botanischem, nicht  
mehr vermehrungsfähigem Material, wie getrocknete Sennesblättern und Zimt unter Einsatz von  
Ultraschall beschreiben, wobei dort einerseits eine Kombination von Ultraschall und  
elektrischen Wechselfeldern und als Medium verdichtete Fluide, wie Kohlendioxid, schwerere  
Edelgasen u.dgl., welche bei Einwirkung von Ultraschall einen Kavitationseffekt ermöglichen,  
35 vorgesehen sind.

Es wurde nun gefunden, daß sich auch nicht in einer Dauerform vorliegendes,

-2-

1 empfindliches Pflanzengewebe, also "lebendes" Gut, mit Ultraschall behandeln läßt und daß  
unerwarteterweise trotz dieser eher aggressiven, mechanischen Reinigungsmethode die dadurch  
zu erwartende mechanische Schädigung der Explantate sich in engen Grenzen hält und sich bei  
gleichzeitiger Anwesenheit eines Desinfektionsmittels, das neben seiner bioziden  
5 Wirkung auch Einfluß auf das Gewebe ausübt, ein synergistischer Effekt einstellt, durch  
welchen sich die Desinfektions- und Vermehrungsquote signifikant steigern lassen.

Gegenstand der Erfindung ist somit ein Verfahren zur Desinfektion von - nicht als  
Dauerform - vorliegenden Pflanzen, Pflanzenteilen, Pflanzengeweben und/oder Pflanzengewebe-  
teilen bzw. von deren Oberflächen, welche für eine Vegetativ- bzw. Mikrovegetativvermehrung  
10 vorgesehen sind, wobei die genannten Pflanzengewebe u.dgl. mit, Desinfektionsmittel-Lösungen,  
welche oxidierende Substanzen enthalten, in innigen Kontakt gebracht werden bzw. in dieselben  
für eine vorgegebene Verweilzeit eingebracht bzw. eingetaucht werden, wonach unter Ein-  
haltung von sterilen Bedingungen die Schritte Spülen, Trocknen, Lagern und letztlich  
Explantat bzw. Ausbringung mit jeweils vorgesehenen variierenden Wiederholungen und Abfolgen  
15 dieser Schritte erfolgen, das dadurch gekennzeichnet ist, daß zur Steigerung der erwünschten  
Vermehrungsfähigkeit die genannten, nicht als Dauerform vorliegenden, zu desinfizierenden  
Pflanzen bzw. deren Teile, Gewebe und/oder Gewebeteile im Zuge ihres  
intensiven Kontaktes mit der, insbesondere während ihrer Anwesenheit in  
einem Bad, der wässrigen Desinfektionsmittel-Lösung der Einwirkung des  
20 oxidativ wirksamen Desinfektionsmittels in Kombination mit einer gleich-  
zeitig erfolgenden Einwirkung von Ultraschallenergie unterworfen werden.

Das Neue des Verfahrens liegt darin, daß die oxidativen Substanzen,  
z.B. NaOCl (Natriumhypochlorit) im Ultraschallbad angewendet werden und  
zwar mit Erfolg auf zu erwartenderweise tatsächlich leicht desintegrier-  
bares Gewebsgut, wie Triebe, Sprossen u.dgl.  
25

Viele Versuche mit verschiedenen ohne Ultraschall nur unzureichend  
desinfizierbaren Pflanzenarten und Gewebearten zeigten, daß die Des-  
infektionswirkung durch das neue kombinierte Desinfektions- und Ultra-  
schallbad wesentliche bessere Desinfektionsquoten gegenüber den für die  
Desinfektion von Explantaten üblichen, herkömmlichen Verfahren bringt.  
30

Bisher ist eine solche Ultraschall unterstützende Methode für die  
Desinfektion von derartigem empfindlichen Pflanzengewebe noch nicht  
versucht und beschrieben worden, was weiter nicht verwundert, da durch die  
an sich bekannte Desintegrationswirkung des Ultraschalls, der bekanntlich  
35 nicht einmal die metallische, meist auf Basis von Titan gebildete Ab-  
strahlfläche des Ultraschallgenerators verschont, eher eine Erhöhung der  
Letalitätsrate erwartet werden mußte.

1 Die synergistische Wirkung - Ultraschall hat auf Mikroben praktisch  
keine sie selbst schädigende Wirkung - beruht vermutlich darauf, daß  
neben einer echt chemischen Unschädlichmachung und damit wesentlichen Re-  
duktion der Mikroorganismen-Zahl eine mechanisch durchaus wesentliche  
5 Wirkung in der Weise eintritt, daß die an sich fest haftenden Mikroorga-  
nismen in großer Menge von der Oberfläche abgelöst und in das letztlich  
abgetrennte Desinfektionsmittel eingetragen werden dürften, wo sie dem-  
selben zu ihrer Vernichtung wesentlich besser zugänglich sind, und letzt-  
lich auch eine Abtrennung der Organismen zusammen mit der zu verwerfenden  
10 Desinfektionsauslösung und Wegspülen derselben nach der Behandlung er-  
folgt.

Es wurde gefunden, daß sich auf wirtschaftliche Weise hohe Über-  
lebensquoten der Explantate bei Einhaltung von Desinfektionsmittel-Kon-  
zentrationen gemäß Anspruch 2 erzielen lassen, wobei die gemäß  
15 Anspruch 3 zu bevorzugenden oxidativen Substanzen besonders vor-  
teilhaft einsetzbar sind.

Was die eingebrachte synergistisch vorteilhafte Ultraschallenergie  
betrifft, haben sich die im Anspruch 4 genannten Frequenzen und  
weitere die im Anspruch 5 genannten Energiedichten als für das  
20 empfindliche lebendige, sprossende od.dgl. Pflanzengewebsgut als durchaus  
genügend schonend und gleichzeitig dennoch ausreichend für den Wirkstoff-  
eintritt erwiesen.

Eine Vorlauf- bzw. "Einweich"-Zeit vor Beginn der Ultraschallbe-  
handlung in den von Anspruch 6 wiedergegebenen Ausmaßen hat sich  
25 auf den Erfolg der Desinfektion durchaus günstig ausgewirkt.

Verkürzte Desinfektionszeiten bringt ein Modus der Beschallung gemäß  
Anspruch 7.

Weiters kann in hartnäckigen Fällen alternativ oder zusätzlich eine  
an- und abschwellige Ultraschallbeschallung gemäß Anspruch 8 Vorteile  
30 bringen, wobei echte Pausen, wie gemäß Anspruch 9 vorgesehen,  
eine weitere Senkung der Letalitätswerte der so behandelten Gewebe er-  
bringen kann.

Behandlungszeiten innerhalb der im Anspruch 10 angegebenen  
Bereiche haben sich für optimierte Resultate als am günstigsten erwiesen.

35 Für besonders problematische Fälle, also bei hohem Organismusbefall  
auf besonders empfindlichen Geweben kann auch ein Wechsel, z.B. von einem  
anfänglich stärker wirksamen zu einem gegen Ende der Behandlung schwäche-  
rem Desinfektionsmittel, gegebenenfalls auch in Gradientenform gemäß

1    A n s p r u c h    11    vorgenommen werden.

          Letztlich wird infolge des hier gegebenen Synergismus durch Reduktion der Gesamtzeit der beschallenden Desinfektion in den im A n s p r u c h 12 genannten Ausmaßen eine Optimierung der Ausbeutequoten erzielt.

5           Anhand der Beispiele wird die Erfindung näher erläutert:

          Beispiele: allgemein:

          Ultraschallgerät: Elma Type T 460/H, Frequenz 35 kHz

          Desinfektionslösung: 4 bzw. 6%ige Natriumhypochloridlösung (NaOCl)

10          Zur Behandlung mit dem Ultraschallgerät wurde die Desinfektionslösung ca. 2/3 hoch (ca. 1,5 l) in die Ultraschallwanne gefüllt.

          Ohne Ultraschallbehandlung erfolgte die Vergleichs-Desinfektion in sterilen Bechergläsern aus Glas.

15          Beispiel 1:

          Winterknospen von Bergahorn wurden durch Tauchen 1,5 min lang mit 4%iger wässriger NaOCl-Lösung behandelt. Anschließend wurden die Knospen 1 min lang in 70%iges Ethanol gelegt und nachher nochmals 5 min lang mit 4%iger wässriger NaOCl-Lösung desinfiziert. Die Behandlung mit NaOCl erfolgte im Ultraschallbad sowie die Kontrolle ohne Ultraschall-Einsatz. Bei der Versuchsvariante mit Ultraschall wurden 88 Knospen und bei der Variante ohne Ultraschall-Behandlung 79 Knospen eingesetzt.

          Die Auswertung des Versuches erfolgte 6 bzw. 12 Wochen nach Desinfektion und darauffolgende Ausbringung:

25

Tab.1: Ergebnisse des Desinfektionsversuches mit Winterknospen von Bergahorn:

Behandlung: 4% NaOCl:	mit Ultraschall 25 kHz:	ohne Ultraschall:
Infektionen: % nach 6 Wochen	21,6	50,6
Infektionen: % nach 12 Wochen	25,0	57,0

30

          Beispiel 2:

          Ausgereifte noch nicht verholzte Triebe dreier verschiedener Stiel- und Traubeneichenklone, nämlich Klone 3113, 3223 sowie 3233 wurden zu verschiedenen Zeitpunkten im Frühjahr, jeweils Mitte März, April, Mai und im Sommer (Juli) aus dem Glashaus geerntet. Die entblätterten Sproßsegmente wurden unter Leitungswasser ca 1h gewässert.

          Im Frühjahr erfolgte die Desinfektion der noch nicht exakt abge-

1 längten Triebe mit 4 %iger NaOCl-Lösung und mit den Johannistrieben  
 (Juli) mit 6 %iger NaOCl-Lösung, 10 min Einwirkungsdauer und einminütiger  
 Behandlung mit 70 %igem EtOH. Anschließend wurde dreimal mit sterilem  
 5 Wasser nachgespült. Danach wurden die Sprosse und Sproßspitzen in Explan-  
 tatgröße von 1,5 bis 2 cm Größe geschnitten. Zur Entfernung der phenoli-  
 schen Substanzen wurden die Explantate noch 15 min lang in 0,5 % steriler  
 wässriger Chinosollösung geschüttelt und danach auf Induktionsmedien  
 aufgelegt.

10 Für jede Versuchsvariante wurden mindestens 40 Explantate einge-  
 setzt.

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte vier bzw. sechs Wochen nach  
 Desinfektionsbehandlung und Explantation.

15 Tab.2: Ergebnisse des Desinfektionsversuches mit Sproßspitzen und  
 Nodiensegmenten von Stieleiche (Juli)

Behandlung 6% NaOCl	mit Ultraschall 30 kHz	ohne Ultraschall
Infektionen: % nach 6 Wochen	12	25

20 Tab.3: Infektionsraten (%) von Stiel- und Traubeneiche (Frühjahr)

Klone	Behandlung mit 6% NaOCl	mit Ultraschall 25 kHz	ohne Ultraschall
3113	% nach 4 Wochen	77	96
3223	% nach 4 Wochen	67	97
25 3233	% nach 4 Wochen	75	100

Die Beispiele zeigen, daß selbst unter den noch nicht voll optimier-  
 ten Test-Bedingungen durchaus beachtliche Erhöhungen der Überlebensquoten  
 der Explantate erzielt wurden.

30 Sie zeigen auf, daß Ultraschall also unerwarteterweise eine günstige  
 Wirkung auf die Oberflächendesinfektion von Pflanzengewebe ausübt. In al-  
 len angewendeten Beispielen, seies es unempfindlichere Knospen von Berg-  
 ahorn oder frisch ausgetriebene Sprosse von Eichen zeigte sich, daß der  
 Einsatz von Ultraschall die Desinfektionsrate und damit die Überlebens-  
 35 rate in vitro um mindestens 10 bis zu Werten von 50% erhöhen konnte, was  
 durchaus vorteilhaft ist.

Der verbesserte Effekt ist vermutlich auf die Ultraschallwellen zu-  
 rückzuführen, die eine intensive Vibration erzeugen. Die dabei entste-

1 henden Strömungen und Verwirbelungen führen vermutlich dazu, daß kleinste  
Partikel und Mikroorganismen von der Pflanzenoberfläche gelöst werden und  
dadurch das Desinfektionsmittel eine gesteigerte Wirkung entfalten kann.  
5 Eventuell wird durch den Ultraschall ein Eindringen des Desinfektions-  
mittels in die besonders mikroorganismenbefallenen Oberflächensporen  
erzielt.

10

15

20

25

30

35

## 1 Patentansprüche:

1 1. Verfahren zur Desinfektion von - nicht als Dauerform - vorliegen-  
den Pflanzen, Pflanzenteilen, Pflanzengeweben und/oder Pflanzengewebe-  
teilen bzw. von deren Oberflächen, welche für eine Vegetativ- bzw. Mikro-  
5 vegetativvermehrung vorgesehen sind, wobei die genannten Pflanzengewebe  
u.dgl. mit wässrigen Desinfektionsmittel-Lösungen, welche oxidierende  
Substanzen enthalten, in innigen Kontakt gebracht werden bzw. in dieselben  
für eine vorgegebene Verweilzeit eingebracht bzw. eingetaucht werden,  
wonach unter Einhaltung von sterilen Bedingungen die Schritte Spülen,  
10 Trocknen, Lagern und letztlich Explantat bzw. Ausbringung mit jeweils  
vorgesehenen variierenden Wiederholungen und Abfolgen dieser Schritte  
erfolgen, dadurch gekennzeichnet, daß zur Steigerung der erwünschten  
Vermehrungsfähigkeit die genannten, nicht als Dauerform vorliegenden, zu  
desinfizierenden Pflanzen bzw. deren Teile, Gewebe und/oder Gewebeteile im  
15 Zuge ihres intensiven Kontaktes mit der, insbesondere während ihrer  
Anwesenheit in einem Bad, der wässrigen Desinfektionsmittel-Lösung der  
Einwirkung des oxidativ wirksamen Desinfektionsmittels in Kombination mit  
einer gleichzeitig erfolgenden Einwirkung von Ultraschallenergie unter-  
worfen werden.

20 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß eine  
wässrige Desinfektionsmittel-Lösung mit einer Konzentration der des-  
infektions-wirksamen Substanz(en) im Bereich von 1 bis 15 Masse-%,  
vorzugsweise 2 bis 10 Masse-%, insbesondere im Bereich von 3 bis 8  
Masse-%, eingesetzt wird.

25 3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß eine  
wässrige Desinfektionsmittel-Lösung mit Wasserstoffperoxid oder einem Hypochlorit,  
vorzugsweise Natrium- oder Kalziumhypochlorit, als oxidativer Wirksubstanz eingesetzt wird.

30 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeich-  
net, daß die kombinierte Behandlung mit Ultraschall und wässrigem  
Desinfektionsmittel mit Ultraschall mit Frequenzen im Bereich von 20 bis  
50 kHz, insbesondere von 30 bis 40 kHz, vorgenommen wird.

35 5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeich-  
net, daß in die wässrige Desinfektionsmittel-Lösung mit dem zu des-  
infizierenden Pflanzengut Ultraschall mit einer Energiedichte von 5 bis 75  
 $W/cm^2$ , vorzugsweise von 20 bis 40  $W/cm^2$ , eingebracht wird.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeich-  
net, daß die Ultraschall-Behandlung erst nach Ablauf eines Zehntels bis

1 des Zwanzigfachen der gesamten jeweils vorgesehenen Kontaktzeit zwischen Pflanzengut und wässriger Desinfektionsmittel-Lösung begonnen wird.

5 7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß die Ultraschallbehandlung mit während der Behandlungszeit, vorzugsweise maximal auf das Fünffache, ansteigender Frequenz und/oder Energiedichte vorgenommen wird.

10 8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß die Ultraschallbehandlung mit periodisch alternierender Frequenz und/oder Energiedichte vorgenommen wird.

15 9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die Ultraschallbehandlung mit jeweils von Null ausgehenden, periodischen Beschallungsimpulsen mit zwischen denselben angeordneten Pausen vorgenommen wird, deren Länge 1 bis 9 Zehntel der Impuls-Gesamtintervallszeit beträgt.

20 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Gesamtzeit der Ultraschallbehandlung im Bereich von 5 bis 30 min gehalten wird.

25 11. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß während der Behandlungsdauer, gegebenenfalls nach einer Spülung, die wässrige Desinfektionsmittel-Lösung in ihrer Wirkstoff-Konzentration geändert wird und/oder ein Wechsel des Desinfektionsmittels vorgenommen wird.

30 12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß, jeweils bezogen auf gleiches bzw. gleichartiges Einsatzgut, wässrige Desinfektionsmittel-Lösung und Desinfektionsbedingungen, eine Reduktion der Einwirkungszeit des wässrigen Desinfektionsmittels auf das Pflanzengut im Bereich von 55 bis 80% vorgenommen wird.

35

35

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/AT 96/00012

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
 IPC 6 A61L2/02 A61L2/18 A01N59/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
 IPC 6 A61L A01N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DATABASE WPI Week 9211 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 92-085980 XP002005721 & JP,A,04 030 854 (MITSUBISHI) , 3 February 1992 see abstract -----	1

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
 "E" earlier document but published on or after the international filing date  
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.  
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 June 1996

Date of mailing of the international search report

27. 06. 96

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

Peltre, C

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/AT 96/00012

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
 IPK 6 A61L2/02 A61L2/18 A01N59/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
 IPK 6 A61L A01N

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	DATABASE WPI Week 9211 Derwent Publications Ltd., London, GB; AN 92-085980 XP002005721 & JP,A,04 030 854 (MITSUBISHI) , 3. Februar 1992 siehe Zusammenfassung -----	1

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*&\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

14. Juni 1996

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

27 Juni 1996 (27.06.96)

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde  
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Peltre, C