(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 828 686**

(51) Int. CI.:

A01G 7/06 (2006.01)
A61K 31/122 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.12.2015 PCT/US2015/065123**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **15.06.2017 WO17099787**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2015 E 15910403 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.08.2020 EP 3386289**

(54) Título: **Método para usar la energía luminosa para facilitar la penetración de sustancias en plantas**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.05.2021

(73) Titular/es:

PREMIER CITRUS APZ, LLC (100.0%)
PO Box 690997
Vero Beach, FL 32969, US

(72) Inventor/es:

DROUILLARD, GREGORY P.

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

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

DESCRIPCIÓN

Método para usar la energía luminosa para facilitar la penetración de sustancias en plantas

Campo de la invención

El campo de la invención es el de métodos para administrar sustancias a plantas.

Antecedentes

La descripción de los antecedentes incluye información que puede ser útil para comprender la presente invención. No es una admisión de que la información proporcionada en este documento sea de la técnica anterior o relevante para la invención actualmente reivindicada, o que cualquier publicación a la que se haga referencia específica o implícitamente sea de la técnica anterior.

Los patógenos de las plantas plantean un desafío único para la industria de las plantas. La falta de control de los patógenos puede resultar en pérdidas significativas de cultivos. Por ejemplo, la Huanglongbing (en adelante "HLB") o la enfermedad del enverdecimiento de los cítricos es una seria amenaza para la producción de cítricos y una infección por HLB en un árbol puede extenderse a otros árboles, dando como resultado la pérdida de muchos árboles. En consecuencia, la HLB puede ser muy perjudicial para las operaciones a gran escala que comprenden árboles y otras plantas.

Algunos han propuesto métodos para mitigar los daños de la HLB usando tratamientos por pulverización. Por ejemplo, Masaoka (documento US 2013/0259954) propone utilizar un tratamiento con líquidos que contengan iones Fe y al menos algunos iones Fe en forma de iones Fe^{2+}. El líquido de tratamiento se puede rociar sobre las hojas de los árboles de cítricos o verterse sobre las raíces de los árboles de cítricos que están infectados por la enfermedad del enverdecimiento de los cítricos. En otro ejemplo, Borras Hidalgo (documento EP 2681997) describe un método de tratamiento de la HLB mediante la activación simultánea de genes relacionados con la ruta del ácido salicílico, ácido jasmónico/etileno y la respuesta hipersensible. Al igual que Masaoka, el tratamiento se puede aplicar mediante pulverización.

Si bien algunos métodos han descrito tratamientos por pulverización, también se han utilizado otros métodos para administrar el tratamiento a las plantas. Por ejemplo, De Souza (documento US 2014/0024857) describe el uso de un compuesto del aminoácido cisteína para controlar la HLB con el objetivo de interrumpir los racimos bacterianos en el floema de la planta afectada. El compuesto del aminoácido cisteína se puede aplicar como un baño (es decir, inundando un área pequeña cerca de la planta) o como fertilizante en forma encapsulada. En otro ejemplo, Wang (documento WO 2013/148677) describe el uso de compuestos inhibidores de SecA para afectar la translocación de proteínas y los factores de virulencia de *Candidatius* Liberibacter asiaticus (CLas) dependientes del péptido señal potencial, que es un agente causal de la HLB. Los compuestos se pueden aplicar mediante métodos convencionales, tales como espolvoreado, rociado, cepillado, inmersión, untado, impregnación, inyección en el sistema vascular y aplicación en el sistema radicular.

El control de CLas en árboles de campo maduros utilizando sustancias antimicrobianas puede ser una herramienta prometedora en la lucha contra la HLB. Sin embargo, es importante señalar que el éxito de los tratamientos antimicrobianos depende íntimamente de factores distintos de la eficacia del agente antimicrobiano en sí mismo. Por ejemplo, dos factores que afectan el éxito de los tratamientos antimicrobianos incluyen: (i) el grado de penetración antimicrobiana en la planta y (ii) el porcentaje de absorción por las células del floema.

El problema con algunos de los métodos descritos anteriormente es que la penetración de sustancias en las partes aéreas de una planta se ve gravemente obstaculizada por la presencia de capas protectoras tales como la cutícula (cera/cutina) en las hojas y la corteza en los tallos. Aunque las funciones principales de estas cubiertas protectoras son proteger contra las plagas invasoras y minimizar la pérdida de agua, la cutícula y la corteza también constituyen formidables escudos protectores que hacen virtualmente imposible la penetración de sustancias suministradas externamente (por ej., pulverizando, empapando, rociando, etc.).

En consecuencia, la penetración de sustancias suministradas externamente en las hojas es solo típicamente posible a través de las aberturas de los estomas (que se encuentran solo en el lado abaxial de las hojas de los cítricos) y a través de grietas ocasionales en la cutícula misma. No obstante, el área de superficie colectiva de las aberturas estomáticas que permitirían la penetración de soluciones suministradas externamente en la hoja es mínima, incluso en condiciones óptimas, ya que los estomas a menudo se cierran bajo una variedad de situaciones bióticas y abióticas. De manera similar, la corteza, un tejido complejo formado por células de corcho suberizadas muertas hacia el exterior y células del floema hacia el interior, tiene una permeabilidad muy limitada a través del material fibroso de la pared celular. Por tanto, la permeabilidad limitada de la cutícula y la corteza puede ser costosa porque pueden necesitarse más sustancias para asegurar una absorción suficiente para el tratamiento eficaz de la planta. Adicionalmente, el uso de grandes cantidades de sustancias puede provocar problemas de contaminación, lo que puede reducir considerablemente la calidad del suelo.

En Eppstein (documentos CA2276312 y US2004/220456) y Watanabe (documento US 2005/0210744) se describen otros métodos de administración de una sustancia.

Por tanto, todavía existe la necesidad de dispositivos y métodos más eficientes para administrar sustancias a las plantas.

Sumario de la invención

La materia objeto de la invención proporciona métodos en los que se puede utilizar energía luminosa para mejorar la penetración de una sustancia en las plantas. Como se usa en este documento, el término "planta" significa cualquier tipo de vida vegetal, incluyendo un árbol, enredaderas, forrajes, cultivos perennes, cultivos en hileras, cultivos de arbustos, una planta ornamental, plantas anuales y pastos. Esto se logra aplicando una energía luminosa a una primera porción de una planta para crear una hendidura. Se debe apreciar que una hendidura puede ser una ruptura, una ablación, una alteración o una incisión menor.

Una vez que se crea la hendidura, se puede aplicar a la planta una primera dosificación de una sustancia. Por lo tanto, la absorción en una planta se mejora para de este modo proporcionar un proceso mucho más ecológico porque: (i) la aplicación de sustancias generalmente se limita a un sitio específico (por ej., la ubicación que tiene la hendidura), (ii) el empapado y la pulverización se reducen mucho, e incluso en algunos casos se eliminan, para reducir la cantidad de sustancias que se absorben en el suelo y el aire por tales métodos, y (iii) la cantidad de sustancias necesarias se reduce debido a la mejor absorción. Debe apreciarse que se puede usar una dosificación mínima de 56,7 g (2 onzas) de fluido debido a la mejor absorción en la planta.

En un aspecto, se puede tratar una planta que tenga una enfermedad. Las enfermedades contempladas son típicamente de naturaleza sistémica, lo que significa que se produce un patógeno dentro del tejido de la planta. Sin embargo, también se contempla que también puedan tratarse las enfermedades superficiales (por ej., cancro de los cítricos). Por lo tanto, en lugar de aplicar dosificación excesivas de una sustancia (por ej., un antimicrobiano) a través de una pulverización para tratar las enfermedades superficiales, se contempla que la cantidad de dosificación de una sustancia se puede reducir en gran medida alimentando la sustancia en un área de tratamiento que tenga al menos una hendidura como se describe en este documento. La planta tiene un sitio infectado, que normalmente se encuentra dentro de la planta (por ej., en el floema, la raíz). Se aplica una energía luminosa a un área de tratamiento en la planta para crear una primera hendidura. En realizaciones típicas, el área de tratamiento está distal del sitio infectado. Una vez que se crea la hendidura, se aplica una primera dosificación de una sustancia al área de tratamiento en una cantidad efectiva para inducir una respuesta terapéutica en el sitio infectado.

Debe apreciarse que el tratamiento de una planta no requiere una cura completa de la planta de la enfermedad, pero también puede incluir una reducción del estado de la enfermedad o una reducción de un síntoma de la enfermedad. Por otra parte, el tratamiento de una planta también puede incluir proporcionar nutrientes y suplementos para mejorar la salud de la planta.

En las realizaciones contempladas, la etapa de aplicar una energía luminosa incluye crear un patrón de hendidura. El patrón de hendidura puede ser un solo punto, una pluralidad de puntos, una sola línea, una pluralidad de líneas, una línea de flexión continua (por ej., remolinos, curvas aleatorias, etc.), una pluralidad de líneas de flexión continuas y combinaciones de las mismas. Se contempla que el patrón de hendidura puede influir en la cantidad de la primera dosificación de la sustancia que se requiere para que sea efectiva para inducir una respuesta terapéutica. Además, la primera hendidura puede tener un diámetro de aproximadamente 100-500 µm. Por tanto, debe apreciarse que se pueden usar diversas profundidades, anchuras, longitudes, áreas superficiales y patrones de hendidura para promover una respuesta terapéutica de una manera mínimamente invasiva.

En las realizaciones contempladas, la etapa de aplicar una energía luminosa es antes de la etapa de aplicar una primera dosificación. Sin embargo, debe apreciarse que también se puede realizar el orden inverso para tratar una planta. Se puede usar un tiempo predeterminado para regular la realización de tales etapas para asegurar una absorción efectiva de la sustancia en la planta a través de la primera hendidura. Por ejemplo, la etapa de aplicar una energía luminosa y la etapa de aplicar una primera dosificación se pueden realizar en menos que 1 hora, menos que 30 minutos, o incluso menos que 1 minuto entre sí.

Como se mencionó con brevedad anteriormente, el sitio infectado puede estar en un floema. En tal realización, las áreas de tratamiento adecuadas incluyen una superficie de al menos uno de entre una hoja, un tallo y una corteza de la planta. Por ejemplo, una planta puede ser un árbol de cítricos que tenga HLB. El árbol de cítricos que tiene HLB tiene un sitio infectado del floema. Para tratar el árbol de cítricos, se puede aplicar energía luminosa para crear una primera hendidura en un área de tratamiento, que puede incluir al menos una de entre una hoja, un tallo y una corteza. Una vez que se crea la hendidura, se puede aplicar una primera dosificación de una sustancia (por ej., una sustancia antimicrobiana) al área de tratamiento en una cantidad efectiva para inducir una respuesta terapéutica (por ej., reducir un síntoma de HLB). Debe apreciarse que la primera hendidura puede comprender una rotura de una cutícula en la hoja para permitir la introducción de la sustancia en el floema a través de la hendidura.

Si bien las realizaciones descritas anteriormente han tratado de una energía luminosa que crea una primera hendidura, se contempla que la etapa de aplicar la energía luminosa al área de tratamiento puede incluir crear una segunda

hendidura. Con una segunda hendidura, la primera y segunda hendidura pueden recibir de forma beneficiosa la primera dosificación de la sustancia. Por tanto, se contemplan hendiduras adicionales siempre que la cantidad de hendiduras creadas sea mínimamente invasiva para impedir o reducir el daño a la planta.

Para reducir el riesgo de daño a la planta, el inventor ha contemplado aplicar una cera al área de tratamiento en una cantidad efectiva para sellar la primera hendidura después de que hayan finalizado las etapas de aplicar la energía luminosa al área de tratamiento y aplicar la primera dosificación de una sustancia en el área de tratamiento. También se contempla que se pueda pulverizar un recubrimiento hidrófobo sobre el área de tratamiento para reducir la respiración (pérdida de agua). Como medida adicional de precaución, se puede aplicar una pulverización antimicótica al área de tratamiento.

El área de tratamiento y el sitio infectado pueden estar en distintos sistemas de la planta dentro de la planta. Por ejemplo, el área de tratamiento puede estar en el sistema dérmico de la planta (por ej., cutícula, corcho) mientras que el sitio infectado puede estar en el sistema vascular de la planta (por ej., floema). Además, como se trató con brevedad anteriormente, el área de tratamiento y el sitio infectado pueden estar distales. Como se usa en este documento, "distal" significa situado lejos. En algunos casos, distal puede referirse a una distancia física entre el área de tratamiento y el área infectada, por ejemplo, una distancia de entre 0,01 cm a 100 cm, más preferiblemente, entre 0,05 cm a 50 cm, y más preferiblemente, entre 0,1 cm a 25 cm. En otros casos, distal puede referirse a una distancia entre el área de tratamiento y el sitio infectado en términos de una ruta sistémica. Por ejemplo, el área de tratamiento y el sitio infectado están distales en una o dos capas de la epidermis de una planta o una o dos capas de tejidos de corteza. Además, distal podría referirse a una distancia sistémica que atraviesa múltiples sistemas (p. ej., sistema dérmico, sistema vascular, sistema terrestre). Por otra parte, distal podría referirse a ubicaciones en diferentes ramas y/u hojas de una planta.

En otro aspecto, se contempla que se suministre una primera sustancia a un primer sitio en una planta. En tal realización, se aplica una energía luminosa a un segundo sitio ubicado en la superficie de una planta para crear una primera alteración. La primera alteración puede ser una ruptura, una ablación, una hendidura o una incisión menor. El primer sitio (por ej., floema, xilema) y el segundo sitio (por ej., cutícula, corcho) pueden ser de diferente tipo. En otras palabras, el primer sitio y el segundo sitio pueden ser diferentes sistemas de la planta (por ej., sistema dérmico, sistema vascular) o diferentes tejidos de la planta. Una vez que se crea una alteración, se puede aplicar una primera dosificación de la primera sustancia al segundo sitio en una cantidad efectiva para promover la absorción de la primera sustancia y el suministro al primer sitio a través de la primera alteración. La primera dosificación y la primera alteración son suficientes para lograr una respuesta biológica.

La primera sustancia puede comprender al menos una de un antimicrobiano, un plaguicida (por ej., un insecticida, un acaricida, etc.), un fertilizante, un herbicida, un fungicida o cualquier otro compuesto que proporcione una respuesta deseada. Si bien una primera dosificación de la primera sustancia puede ser beneficiosa para una respuesta biológica, se contempla que se pueda aplicar una segunda dosificación de la primera sustancia o de una segunda sustancia después de la primera dosificación. La segunda sustancia puede incluir al menos uno de un antimicrobiano, un plaguicida, un fertilizante, un herbicida y un fungicida.

La planta incluye un árbol, un cultivo en hileras, un cultivo de arbustos y una planta ornamental. Además, como medida de precaución, se puede aplicar una cera al segundo sitio en una cantidad efectiva para sellar la primera alteración después de las etapas de aplicar la energía luminosa al segundo sitio y aplicar la primera dosificación de la sustancia al segundo sitio.

En otro aspecto más, se puede administrar un compuesto a una planta viva. En tal realización, se aplica una energía luminosa a una primera parte de la planta para crear una primera hendidura. A continuación, se aplica una primera dosificación del compuesto a la primera hendidura superficial en una cantidad efectiva para inducir una respuesta biológica.

Varios objetos, características, aspectos y ventajas de la materia objeto de la invención resultarán más evidentes a partir de la siguiente descripción detallada de las realizaciones preferidas, junto con las figuras de los dibujos adjuntos en las que los números iguales representan componentes similares.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un esquema de un método de tratamiento de una planta que tiene una enfermedad en un sitio infectado de la planta.

Las Figuras 2A-2F son vistas en perspectiva de una realización que muestra la administración de una primera sustancia desde un área de tratamiento a un sitio infectado.

Las Figuras 3A-3F son vistas en perspectiva de una realización que muestra la administración de una primera sustancia desde un área de tratamiento a un sitio infectado separado por una ruta sistémica.

Las Figuras 4A-4D muestran varias realizaciones de patrones de hendidura.

La Figura 5 es un esquema de un método para administrar una primera sustancia a un primer sitio en una planta.

La Figura 6 es una vista en sección transversal lateral de una cutícula tratada con energía luminosa.

La Figura 7 es una vista en sección transversal lateral de una solución antimicrobiana aplicada sobre una hendidura.

Las Figuras 8A-8B son vistas elevadas de una hoja de cítrico tratada y sin tratar después de que se la haya aplicado energía lumínica.

Las Figuras 9A-9B son vistas elevadas de una hoja de cítrico después de mostrar la absorción de compuestos móviles del floema en las venas menores y mayores.

La Figura 10 es una vista en sección transversal de un pecíolo de una hoja de cítrico que muestra el movimiento de los compuestos móviles del floema.

Las figuras 11A-11B son vistas en sección transversal horizontal de la corteza de un árbol de control sin tratar (Fig. 11A) y un árbol tratado (Fig. 11B).

Las Figuras 12A-12B son una vista superior y en perspectiva de realizaciones de un aparato para suministrar una sustancia a una planta.

Descripción detallada

Se ha descubierto que la energía luminosa se puede utilizar para mejorar la penetración de una sustancia en las plantas. Esto se puede lograr aplicando una energía luminosa a una primera porción de una planta para crear una hendidura y así superar los obstáculos impuestos por al menos una de la cutícula y la corteza. Una vez que se crea la hendidura, se puede aplicar una primera dosificación de una sustancia a la planta mediante lo cual al menos una parte de la primera dosificación puede penetrar en la planta a través de la hendidura. Debe apreciarse que se puede administrar una dosificación de una sustancia directamente al floema de la planta para proporcionar una absorción mucho mayor que los métodos convencionales en la técnica. Por lo tanto, como se describió anteriormente, se proporciona un enfoque respetuoso con el medio ambiente para la administración de sustancias porque: (i) la aplicación de sustancias generalmente se limita a un sitio específico (por ej., la ubicación que tiene la hendidura), (ii) el empapado y la pulverización se reducen en gran medida, e incluso se eliminan en algunos casos, para reducir la cantidad de sustancias que se absorben en el suelo y el aire por tales métodos, y (iii) la cantidad de sustancias necesarias se reduce debido a la mejor absorción.

La Figura 1 muestra un esquema de un método 100 para tratar una planta que tiene un sitio infectado. El método 100 comprende una etapa 102 de aplicar una energía luminosa a un área de tratamiento en la planta para crear una primera hendidura. Normalmente, el área de tratamiento está distal del sitio infectado. En otra etapa 104, se aplica una primera dosificación de una sustancia al área de tratamiento en una cantidad efectiva para inducir una respuesta terapéutica en el sitio infectado. Se contempla que una dosificación mínima de 56,7 g (2 onzas) de fluido con una concentración de un antimicrobiano a 200 ppm puede ser efectiva para inducir una respuesta terapéutica, dependiendo del tipo de planta y la respuesta terapéutica deseada. Sin embargo, también se contempla que se contemplen cantidades de dosificación mayores y concentraciones más altas.

Las respuestas terapéuticas adecuadas pueden incluir una cura completa de una enfermedad que causa el área infectada, una reducción del área infectada, una reducción de un síntoma de la enfermedad que causa el área infectada o un estimulante de la salud. Debe contemplarse que una respuesta terapéutica adecuada también comprende un aumento en la salud de la planta, que normalmente se puede observar visualmente por al menos uno de un cambio en el color de la planta (por ej., hojas menos abigarradas), crecimiento de hojas nuevas y cultivo de nuevas frutas.

En realizaciones preferidas, la etapa 102 de aplicar la energía luminosa al área de tratamiento se produce antes de la etapa 104 de aplicar la primera dosificación de la sustancia. Sin embargo, se contempla que se puede realizar el orden inverso para tratar una planta, mediante lo cual la etapa 104 se produce antes de la etapa 102. Independientemente del orden de las etapas 102 y 104, se puede utilizar un tiempo predeterminado para determinar cuándo debe completarse cada etapa unas con respecto a otras. Por ejemplo, la etapa 102 y la etapa 104 podrían completarse una respecto a otra en menos de 1 hora, más preferiblemente en menos de 30 minutos y lo más preferiblemente en 1 minuto. Por lo tanto, la absorción de la sustancia a través de la primera hendidura puede mejorarse realizando las etapas 102 y 104 dentro del tiempo predeterminado. Si la sustancia es un fármaco que tiene un tiempo de actividad terapéutica retrasado (por ej., el fármaco no se activa hasta que pasa un período de tiempo), el tiempo que transcurre entre la realización de las etapas 102 y 104 puede ajustarse para compensar el retraso de la actividad terapéutica de la sustancia. Asimismo, si la sustancia es un fármaco que tiene un tiempo de actividad limitado (por ej., el fármaco se vuelve inactivo después de un período de tiempo), el tiempo que transcurre entre la realización de las etapas 102 y 104 se puede ajustar para compensar la actividad terapéutica limitada de la sustancia.

Se contempla además que los parámetros de la primera hendidura (por ej., tamaño, forma, profundidad, patrón, etc.) pueden influir en la respuesta terapéutica en el área infectada. Una etapa adicional 108 de aplicar una energía luminosa puede incluir la creación de un patrón de hendidura. Los patrones de hendidura adecuados pueden ser tan

simples como un punto o una línea. Los patrones de hendidura podrían ser más complejos y pueden incluir una pluralidad de puntos, líneas, líneas continuamente curvadas o una combinación de los mismos. Debe apreciarse que los patrones de hendidura pueden influir en la absorción de la sustancia en la planta al proporcionar diferentes formas y áreas dimensionales de absorción. Se contempla que el método 100 podría incluir una etapa adicional 110 de aplicar la energía luminosa para crear una segunda hendidura, o cualquier número de hendiduras adicionales.

El método 100 también puede incluir una etapa 106 adicional de aplicar una cera al área de tratamiento en una cantidad efectiva para sellar la primera hendidura y cualquier hendidura adicional. Se contempla que la etapa de aplicar la cera se realice después de las etapas de aplicar la energía luminosa al área de tratamiento y aplicar la primera dosificación de una sustancia al área de tratamiento. De esta manera, la primera hendidura se puede sellar del entorno exterior para evitar que contaminantes dañinos accedan a la planta a través de la primera hendidura. Además, la cera reduce la cantidad de transpiración de la sustancia para ayudar a su absorción en la planta.

Las Figuras 2A-2F muestran una sección transversal de una planta 200, que tiene un sitio infectado 206. Las figuras ilustran un método de tratamiento del sitio infectado 206. La planta 200 podría comprender cualquier tipo de vida vegetal, incluyendo un árbol, enredaderas, forrajes, cultivos perennes, cultivos en hileras, cultivos de arbustos, una planta ornamental, plantas anuales y pastos. En un ejemplo, la planta 200 es un árbol de cítricos. Por tanto, cabe señalar que los métodos descritos en el presente documento podrían aplicarse a todos los tipos de plantas diferentes para mejorar el suministro de una sustancia a la planta. También debe tenerse en cuenta que, si bien los métodos descritos hasta ahora se refieren al tratamiento de plantas enfermas, los métodos de la presente también se pueden aplicar a plantas sanas para cuidados preventivos o para promover la salud en general (por ej., aplicación de fertilizantes).

Una planta puede tener varios sitios infectados. El sitio 206 infectado puede tener un área afectada por diversas enfermedades/patógenos conocidos. Las enfermedades contempladas son típicamente de naturaleza sistémica, lo que significa que el patógeno se produce dentro del tejido vegetal. En consecuencia, el tratamiento de tales enfermedades es difícil de controlar utilizando tratamientos superficiales convencionales. Por ejemplo, las enfermedades contempladas incluyen HLB, Virus de la Tristeza de los Cítricos (CTV), Clorosis variegada de cítricos (CVC), enfermedad del marchitamiento del laurel, marchitamiento por Fusarium, fitoplasmas, enfermedad del chip de cebra, enfermedad bacteriana de la vid de kiwi, tizón del castaño, marchitamiento del roble, marchitamiento por Fusarium y enfermedad de Pierce.

El sitio 206 infectado puede ser un área en una planta afectada por una enfermedad, tal como HLB, Virus de la Tristeza de los Cítricos (CTV), Clorosis variegada de cítricos (CVC) enfermedad del marchitamiento del laurel, marchitamiento por Fusarium, fitoplasmas, enfermedad del chip de cebra, enfermedad bacteriana de la vid de kiwi, tizón del castaño, marchitamiento del roble, marchitamiento por Fusarium y la enfermedad de Pierce. Aunque la Fig. 2A muestra el sitio 206 infectado dentro de la planta 200, se contempla que el sitio 206 infectado pueda residir en la superficie exterior de la planta 200, tal como en el caso del cancro de los cítricos.

La Fig. 2A muestra una energía luminosa 202 que se aplica a un área de tratamiento 204 de la planta 200. El área de tratamiento 204 está típicamente en una superficie de la planta 200. Sin embargo, se contempla que el área de tratamiento 204 también puede estar dentro de la planta 200 (es decir, más allá de la epidermis externa). El área de tratamiento 204 puede ser una región de una planta o un órgano específico de una planta (por ej., hoja, corteza, tallo, etc.). Además, el área de tratamiento 204 puede comprender un área de cobertura objetivo de una planta. Por ejemplo, el área de tratamiento 204 puede comprender menos que 25% del área superficial de la planta (por ej., hoja, tallo, tronco, etc.) y más preferiblemente menos que 20% del área superficial de una planta.

El área de tratamiento 204 está típicamente distal del sitio 206 infectado. Por ejemplo, el área de tratamiento 204 puede ser una superficie de al menos una de entre una hoja, un tallo y una corteza, mientras que el sitio infectado está en un floema de la planta 200. En particular, el área de tratamiento 204 podría estar en el sistema dérmico de la planta 200 mientras que el sitio infectado 206 podría estar en el sistema vascular de la planta 200. Por lo tanto, se contempla que el área de tratamiento y el sitio infectado estén en distintos sistemas de la planta (por ej., dermis, vascular, subterráneo).

La energía luminosa 202 se utiliza para crear una primera hendidura 208 como se muestra en la Fig. 2B. Las patentes coinventadas de EE.UU. Nos. 5.660.747 y 5.897.797 y la publicación de patente de EE.UU. 2005/0226975 describen varias técnicas para grabar la piel de productos utilizando energía de un láser de CO_2. Se contempla que la presente forma objeto de la invención puede emplear algunas de las técnicas de estas referencias, o modificaciones de las mismas, en combinación con parámetros operativos adecuados, para lograr los objetivos de la presente materia objeto de la invención. Por ejemplo, la energía luminosa 202 podría comprender un láser de CO_2 que está configurado con parámetros adecuados (por ejemplo, tamaño/diámetro, calidad, distribución de intensidad espacial, divergencia, longitud de onda, etc.) que sean suficientes para producir la hendidura deseada en una superficie de tratamiento particular (por ej., una hoja). En algunas realizaciones, los parámetros adecuados para la energía luminosa 202 (por ej., un láser) incluyen una longitud de onda que tiene aproximadamente 10 micrómetros (por ej., 10,6 micrómetros) y un intervalo de potencia de salida entre 20-90% a 30-2000 microsegundos. Se contempla que la potencia de salida de la energía luminosa 202 puede oscilar entre 10 y 100 vatios. Debe apreciarse que los parámetros adecuados se

pueden ajustar en tiempo real para adaptarse a varios factores ambientales que podrían afectar a la energía luminosa 202.

Como el área de tratamiento 204 puede comprender diferentes partes de la planta 200 (por ej., hojas y corteza), se contempla que se puedan usar diferentes parámetros de potencia luminosa 202 para diferentes partes de la planta 200. Por ejemplo, la potencia luminosa 202 aplicada a una corteza para crear una hendidura normalmente requiere más potencia y permanencia que la potencia luminosa 202 aplicada a una hoja para crear una hendidura. Los ajustes de potencia adecuados para aplicar la potencia luminoso 202 a una corteza están en el intervalo de 80-90% de potencia en un intervalo de 1200-2000 microsegundos, dependiendo de la edad de la planta 200. Por otro lado, las hierbas normalmente requerirían menos potencia rango de 20-50% de potencia en un intervalo de 30-120 microsegundos.

Otros parámetros contemplados para la energía luminosa 202 incluyen velocidades de salto, velocidades de marcado, intensidades de marcado, frecuencias de pulso. Las velocidades de salto pueden oscilar entre 1 y 3000 mm/s, y más típicamente entre 1000-2000 mm/s. Las velocidades de marcado pueden oscilar entre 100 y 3000 mm/s, y más típicamente entre 1000 y 2000 mm/s. Intensidad de marcado: 20-100% y más típicamente entre 30-70%. Frecuencia de pulso: 15 a 20000 Hz, y más típicamente entre 1000-20000 Hz. Debe apreciarse que las velocidades de salto, velocidades de marcado, intensidades de marcado, frecuencias de pulso se pueden aplicar a todas las áreas de la planta 200, incluidas las hojas, ramas, tallos y corteza.

Además, se contempla que la energía luminosa 202 se puede generar usando una lente de salida de 400 mm, que proporciona una ventana de exploración de aproximadamente 35,56 cm (14 pulgadas) por 35,56 cm (14 pulgadas) sin cambiar las características del haz y de la energía. La ventana de exploración es el área que puede ser irradiada con un láser por energía luminosa 202. Por ejemplo, se contempla que tal lente de salida proporcione una distancia focal óptima de 38,1 cm (15 pulgadas) y una profundidad de enfoque efectiva de 22,86 cm (9 pulgadas). Debe apreciarse que el punto focal y la profundidad de enfoque se pueden cambiar en función del tamaño de la lente de salida utilizada. Por ejemplo, una lente de 200 mm proporciona un punto focal de 17,78 cm (7 pulgadas) y una profundidad de enfoque de 10,16 cm (4 pulgadas), y una lente de 800 mm proporciona un punto focal de 58,42 cm (23 pulgadas) y una profundidad de enfoque de 38,1 cm (15 pulgadas). Por tanto, debe apreciarse que se contempla un láser de "trazado" o un láser de onda continua, que puede enfriarse por aire y diseñarse para el entorno exterior.

Además, debe tenerse en cuenta que se puede usar un galvanómetro para controlar una trayectoria de trazado de la energía luminosa 202. Normalmente, el galvanómetro se coloca detrás de la lente de salida láser, tal que la energía luminosa 202 viaja al galvanómetro antes que la lente de salida láser. Además, debe apreciarse que se puede usar más de un galvanómetro para controlar la dirección de la energía luminosa 202 en dos direcciones (por ej., las direcciones x e y).

Como se trató anteriormente, los parámetros adecuados para la energía luminosa 202 pueden variar dependiendo de factores ambientales, entre otras cosas. Para operar mejor un sistema en tiempo real que ajusta la energía luminosa 202, se contempla que un sistema de control (por ej., un circuito de retroalimentación) que tenga sensores esté integrado con la energía luminosa 202. Los sensores se pueden usar para detectar varios parámetros que afectan la aplicación de energía luminosa 202, tal como las diferentes partes de la planta 200 (p. ej., corteza frente a hoja), clima, edad de la planta 200, profundidad y tamaño de la primera hendidura 208 y la distancia desde la fuente de energía luminosa y el área de tratamiento 204. Tras la obtención de datos con el sensor sobre varios parámetros, el sistema de control ajusta la energía luminosa 202 para crear una hendidura. Por ejemplo, un sensor puede detectar que el área de tratamiento 204 es parte de la corteza de la planta 200 y ajustar la configuración de potencia de la energía luminosa 202 para crear una hendidura, y en un momento posterior el sensor puede detectar que el área de tratamiento 204 está sobre la superficie de la hierba y ajuste la configuración de potencia reduciendo la potencia de la energía luminosa 202 para crear una hendidura. En otro ejemplo, la energía luminosa 202 puede tener una configuración predeterminada (p. ej., configuración de potencia para crear una hendidura en una hoja de la planta 200) y, al detectar otra parte (p. ej., tallo, corteza) de la planta 200, el sistema de control puede ajustar la energía luminosa 202 para crear una hendidura antes de volver a la configuración predeterminada. En otro ejemplo más, se puede integrar un sensor dentro de la energía luminosa 202 para determinar si la primera hendidura 208 ha alcanzado una capa de tejido predeterminada.

En las realizaciones contempladas, se puede aplicar energía luminosa 202 teniendo la fuente de energía luminosa en contacto con el área de tratamiento 204. Sin embargo, en otras realizaciones más típicas, se puede aplicar energía luminosa 202 teniendo la fuente de energía luminosa a una distancia del área de tratamiento 204. Por ejemplo, la fuente de energía luminosa puede estar a entre 10,16 y 35,56 cm (4 y 14 pulgadas) (por ejemplo, 17,78 cm (7 pulgadas)) del área de tratamiento 204. En otro ejemplo, la energía luminosa 202 comprende un láser de CO_2 y el área de tratamiento 204 está en la superficie de una hoja por lo que la distancia entre el láser de CO_2 y la hoja está entre 10,16 y 35,56 cm (4 y 14 pulgadas), y más preferiblemente, entre 12,7 y 20,32 cm (5 y 8 pulgadas).

La primera hendidura 208 es una parte separada o alterada del área de tratamiento 204. En las realizaciones contempladas, la primera hendidura 208 comprende una abertura a través del área de tratamiento 204. En otras palabras, la primera hendidura 208 se extiende a través del área de tratamiento 204 para exponer una superficie debajo del área de tratamiento 204. Por ejemplo, la primera hendidura 208 puede ser una rotura, ablación o alterada

de una cutícula en la hoja. Se debe apreciar que la primera hendidura está destinada a ser mínimamente invasiva para la planta. Por lo tanto, los diámetros típicos para la primera hendidura 208 están aproximadamente entre 100 y 300 µm, y típicamente tienen una profundidad de aproximadamente 50 µm. Debe indicarse que la primera hendidura 208 puede tener una profundidad mayor o menor, pero la profundidad generalmente no debe exceder los 75 µm ya que puede destruir demasiadas células.

Aunque la primera hendidura 208 puede extenderse a través del área de tratamiento 204, también se contempla que la primera hendidura 208 se pueda extender parcialmente a través del área de tratamiento 204. En otras palabras, la primera hendidura 208 no necesita ser una brecha completa a través del área de tratamiento 204 (por ejemplo, la profundidad de la primera hendidura 208 no se extiende a todo el grosor de la cutícula). Por otro lado, también se contempla que la primera hendidura 208 pueda extenderse a través de varias capas más allá del área de tratamiento 204. Preferiblemente, la primera hendidura 208 está configurada para lograr una absorción máxima de la sustancia mientras se minimiza el daño a la planta.

Una vez que se crea la primera hendidura 208, se aplica una primera dosificación de una sustancia 210 al área de tratamiento 204 como se muestra en la Fig. 2C. La primera dosificación de sustancia 210 puede ser de 200-2000 ppm de sustancia 210, y la cantidad de dosificación puede variar según el tamaño de la planta 200. La sustancia 210 se puede aplicar a la primera hendidura 208 utilizando varios métodos, que incluyen pulverización, espolvoreado, rociado, cepillado, manchado y empapado. La aplicación de la primera dosificación también podría lograrse introduciendo la sustancia 210 en un sistema de riego (por ej., un sistema de rociadores) que suministra agua a la planta. Debe apreciarse que la primera dosificación de la sustancia 210 puede comprender un tensioactivo para aumentar la absorción de la sustancia 210 en la planta 200. Usando estas técnicas de aplicación, al menos parte de la sustancia 210 entra en la primera hendidura 208. También se contempla que puede usarse una técnica de aplicación más dirigida para enfocar la aplicación de la sustancia 210 en el área de la primera hendidura 208.

La sustancia 210 es típicamente una sustancia para promover la salud general o el tratamiento de la planta 200. En una realización, la sustancia 210 puede ser una sustancia antimicrobiana. En tal realización, se contempla que la primera dosificación de la sustancia 210 puede ser de 200 a 2000 ppm de la sustancia antimicrobiana. Las sustancias antimicrobianas adecuadas incluyen sustancias para el tratamiento de la HLB (por ej., tratamiento con un líquido que contiene iones Fe y al menos algunos iones Fe en forma de iones Fe^{2+}, un compuesto del aminoácido cisteína, compuestos inhibidores de SecA, oxitetraciclina, estreptomicina, otros antimicrobianos, etc.) y sustancias que tratan otras enfermedades patógenas (por ejemplo, Virus de la Tristeza de los Cítricos (CTV), Clorosis variegada de cítricos (CVC), cancro de los cítricos, enfermedad de Pierce). Por otra parte, se contempla que la sustancia 210 puede ser efectiva para controlar *Candidatius* Liberibacter asiaticus. También se pueden aplicar otras sustancias antimicrobianas adecuadas usando los métodos de administración mejorados descritos en este documento para tratar patógenos de plantas.

Si bien la sustancia 210 puede ser efectiva para tratar una planta, se contempla que la sustancia 210 puede ser un plaguicida (por ej., insecticida, acaricida, etc.), un fertilizante, un herbicida, un fungicida o una vitamina/suplemento. Por otra parte, se pueden aplicar otras sustancias para ayudar a mantener la salud global de la planta. Por tanto, debe apreciarse que los métodos de administración mejorados descritos en este documento no están limitados por el tipo de sustancia que se aplica.

En aún otras realizaciones, la sustancia 210 podría comprender una sustancia química o un compuesto dañino configurado para matar y eliminar la planta. De esta manera, los métodos inventivos pueden usarse para eliminar selectivamente ciertas plantas de un cultivo, tal como para eliminar malezas, plantas infectadas, plantas más viejas, etc. En tales realizaciones, la primera hendidura 208 se puede configurar para optimizar la absorción sin preocuparse por ser mínimamente invasiva.

Se contempla además que la sustancia 210 esté empaquetada en una variedad de nanopartículas solubles en lípidos. Estas nanopartículas deben proporcionar tasas de retención más altas y una mejor penetración de la cutícula. Cuando se combina con el uso de energía luminosa para crear una hendidura para la sustancia 210, la penetración de las nanopartículas (o sustancias en solución) se puede mejorar excepcionalmente.

Normalmente, la sustancia 210 se absorbe mejor a través de la primera hendidura 208 como se muestra en la Fig. 2D. Entre las diversas razones para la mejor absorción, debe señalarse que la sustancia 210 dentro de la primera hendidura 208 tiene un camino más directo dentro de la planta 200 en comparación con la sustancia 210 que se encuentra en la capa exterior (es decir, la superficie exterior del área de tratamiento 204) de la planta 200. Se prefiere que la primera dosificación de sustancia 210 aplicada al área de tratamiento 204 sea en una cantidad efectiva para inducir una respuesta terapéutica en el sitio 206 infectado.

La respuesta terapéutica en la planta 200 puede ser de varias formas. Por ejemplo, el efecto terapéutico puede comprender una reducción en el sitio 206 infectado como se muestra en la Fig. 2E. En otro ejemplo, la respuesta terapéutica comprende al menos una de reducir un síntoma de un patógeno, reducir una causa de la enfermedad y curar completamente una enfermedad. En una realización, la sustancia 210 es una sustancia antimicrobiana y la respuesta terapéutica comprende reducir un síntoma de HLB. También se contempla que la sustancia 210 es un

plaguicida (por ej., insecticida, acaricida, etc.) y la respuesta terapéutica comprende reducir un número de al menos uno de los insectos y ácaros que atacan la planta.

Debe apreciarse que la sustancia 210 también puede lograr una respuesta biológica. La respuesta biológica puede comprender la respuesta terapéutica en al menos una de reducir un síntoma de un patógeno, curar completamente una enfermedad y mejorar la salud de la planta 200. Por ejemplo, cuando la sustancia 210 comprende un biocida, se contempla que la respuesta biológica deseada es disuadir, hacer inofensivo o ejercer un efecto de control sobre cualquier organismo dañino. En otro ejemplo, cuando la sustancia 210 comprende un fungicida, se contempla que la respuesta biológica deseada sea matar o inhibir hongos (p. ej., marchitamiento del laurel, marchitamiento por Fusarium, marchitamiento del castaño, marchitamiento del roble, marchitamiento por Fusarium, etc.) o esporas de hongos. En otro ejemplo más, cuando la sustancia 210 comprende un fertilizante, se contempla que la respuesta biológica es suministrar nutrientes esenciales de las plantas para el crecimiento de las plantas. En otro ejemplo, cuando la sustancia 210 comprende un plaguicida (p. ej., insecticida, acaricida, etc.), se contempla que la respuesta biológica esté reduciendo varios de al menos uno de los insectos y ácaros que atacan la planta. Por ejemplo, la sustancia 210 puede ser un insecticida neonicotinoide que se introduce en los sistemas vasculares de las plantas (p. ej., xilema y floema) a través de la primera hendidura 208. Por lo tanto, los plaguicidas que se aplican típicamente por pulverización, empapado y tratamiento del suelo pueden introducirse directamente en la planta. Debe apreciarse que los métodos contemplados reducen sustancialmente la pulverización y el empapado, que se controlan cada vez más debido a preocupaciones medioambientales.

Después de crear la primera hendidura 208 y aplicar la sustancia 210, se puede aplicar una cera 212 al área de tratamiento 204 como se muestra en la Fig. 2F. Debe apreciarse que la cera 212 tiene varios beneficios, que incluyen evitar que patógenos u otros contaminantes dañinos entren en la primera hendidura, reducir la pérdida de agua y reducir la transpiración de la sustancia 210 desde la primera hendidura 208. Por lo tanto, la pérdida de agua será principalmente localizada y no debe afectar a las relaciones generales del agua entre los árboles.

Las Figuras 3A-3F muestran una sección transversal de una planta 300, que tiene un sitio infectado 306 que está ubicado distalmente desde un área de tratamiento 304 a través de una vía sistémica 305. Por ejemplo, el área de tratamiento 304 podría ubicarse en una primera hoja y el sitio infectado 306 podría estar ubicado en una segunda hoja, en donde la primera hoja y la hoja separada están ubicadas en diferentes tallos y/o ramas. Se aplica energía luminosa 302 al área de tratamiento 304 para crear la primera hendidura 308 como se muestra en las Figs. 3A-3B. Una vez que se crea la primera hendidura 308, se aplica una primera dosificación de sustancia 310 al área de tratamiento 304 como se muestra en la Fig. 3C. Como se trató anteriormente, la sustancia 310 se puede aplicar usando varios métodos de aplicación y además puede comprender un tensioactivo para aumentar la absorción.

La sustancia 310 es absorbida por la planta 300 a través de la primera hendidura 308 como se muestra en la Fig. 3D. Aunque la sustancia 310 se ha introducido dentro de la planta 300, debe notarse que en algunas circunstancias el sitio infectado 306 está distal del área de tratamiento 304, de modo que la sustancia 310 no está inmediatamente en contacto con el sitio infectado 306 y está separada por una ruta sistémica. Por lo tanto, la primera dosificación de la sustancia 310 y la primera hendidura 308 deben configurarse (por ej., la cantidad de la primera dosificación, el número de aplicaciones de la dosificación, el tamaño y la profundidad de la primera hendidura 308, el porcentaje de cobertura de la primera hendidura 308, etc.) para permitir una absorción y administración suficientes de la sustancia 310 al sitio 306 infectado para lograr una respuesta terapéutica en el sitio 306 infectado. Se contempla que la primera hendidura 308 esté dimensionada para recibir aproximadamente 10 nL de sustancia 310 para la absorción.

Se contempla que la sustancia 310 puede viajar a través de una ruta sistémica 305 para llegar al sitio infectado 306 como se muestra en la figura 3E. Si bien se muestra que la sustancia 310 está presente en el área inmediatamente adyacente a la primera hendidura 308, se contempla que la sustancia 310 no tiene un efecto (por ej., respuesta terapéutica o biológica) hasta que viaja a través de la vía sistémica 305. La Fig. 3F muestra primero la hendidura 308 y la sustancia 310 son suficientes para inducir una respuesta terapéutica, tal como la reducción del área del sitio 306 infectado.

Como se trató anteriormente, un área de tratamiento puede tener más que una hendidura y puede comprender un patrón de hendidura. Las figuras 4A-4D muestran un área de tratamiento 404 que puede tener varios patrones de hendidura 403a-d. Por ejemplo, el patrón 403a es una única línea continua, el patrón 403b comprende múltiples líneas continuas, el patrón 404c comprende una pluralidad de puntos circulares igualmente distanciados entre sí, y el patrón 404d comprende una pluralidad de puntos espaciados aleatoriamente.

Debe reconocerse que un área de tratamiento puede extenderse a varias partes de una planta. Por ejemplo, el área de tratamiento 404 puede abarcar las hojas, los tallos y el tronco de una planta. En otro ejemplo, el área de tratamiento 404 puede limitarse a solo una región o parte de la planta (por ejemplo, hojas, tallos, corteza, raíces, etc.).

Debe apreciarse que las hendiduras pueden variar en tamaño y forma para tener en cuenta las diferencias en la tasa de absorción entre varias partes del área de tratamiento (por ej., la corteza y la cutícula). Por ejemplo, se determina que las sustancias en una hendidura de la corteza se absorben más lentamente que las sustancias en una hendidura de la cutícula, luego la hendidura superficial en la corteza puede ser más grande para compensar la tasa de absorción más lenta. Por otra parte, se pueden crear hendiduras para promover la acción capilar de la sustancia antimicrobiana.

En otro aspecto, se contempla un método 500 para administrar una primera sustancia a un primer sitio (por ej., un tejido, una célula, un sitio infectado) en una planta como se muestra en la Figura 5. En la etapa 502, se aplica una energía luminosa a un segundo sitio (p. ej., la epidermis de la planta, un área de tratamiento) ubicada en la superficie de una planta para crear una primera alteración. En las realizaciones contempladas, el primer sitio y el segundo sitio son de diferente tipo (por ej., diferentes tejidos, células, órganos, sistemas de plantas, distales). En otra etapa 504, se aplica una primera dosificación de la primera sustancia al segundo sitio en una cantidad efectiva para promover la absorción de la primera sustancia en el primer sitio mediante la primera alteración. Usando la primera dosificación y la primera alteración se logra una respuesta biológica.

La primera dosificación de la sustancia y la primera alteración pueden influir en la absorción de la sustancia y la correspondiente respuesta biológica. La primera alteración puede ser una rotura, una ablación, una hendidura o una incisión menor en el segundo sitio. Al crear una o más alteraciones en el segundo sitio, la cantidad de la primera dosificación de la primera sustancia se puede reducir sin afectar a la respuesta biológica. Sin embargo, aunque la creación de una pluralidad de alteraciones proporciona más sitios para la introducción directa de la sustancia en la planta, generalmente se prefiere que no más que el 25% del primer sitio esté cubierto con alteraciones para evitar daños permanentes a la planta. En algunas aplicaciones, puede ser ventajoso cubrir más que 25% del primer sitio con alteraciones, especialmente cuando se aplica una etapa adicional de encerado después de las alteraciones para proteger la planta de sustancias nocivas.

Como se describe en las realizaciones anteriores, la primera sustancia comprende al menos uno de un antimicrobiano, un plaguicida, un fertilizante, un herbicida y un fungicida, cada uno de los cuales es capaz de producir una respuesta biológica. Por ejemplo, se contempla que el primer sitio puede ser una cutícula y el segundo sitio comprende al menos uno de entre un xilema y un floema. En tal caso, la primera sustancia puede ser un antimicrobiano y la respuesta biológica puede ser una reducción de un síntoma de HLB.

En el método 500, se puede usar energía luminosa para crear un primer patrón de hendidura en la etapa 506. Por otra parte, otra etapa 508 puede incluir añadir otra dosificación de la primera sustancia o aplicar una segunda sustancia. Por ejemplo, se puede aplicar una primera dosificación de la primera sustancia, luego, después de un período de tiempo predeterminado, se puede aplicar una segunda dosificación de la primera sustancia. En otro ejemplo, se puede aplicar una primera dosificación de la primera sustancia, a continuación se puede aplicar una primera dosificación de una segunda sustancia después de un período de tiempo predeterminado.

La segunda sustancia puede ser un antimicrobiano, un plaguicida, un fertilizante, un herbicida y un fungicida. Adicionalmente, la segunda sustancia puede ser un refuerzo o un catalizador de la primera sustancia para activar más la primera sustancia. Se contempla que la segunda sustancia puede producir una segunda respuesta biológica, en la que la segunda respuesta biológica puede estar conectada a la primera respuesta biológica o ser distinta de la primera respuesta biológica. Se contempla que la primera y la segunda dosificación sean iguales. En otras realizaciones, las cantidades de las dosificaciones primera y segunda varían dependiendo de la cantidad de dosificación efectiva requerida para producir una respuesta biológica.

Para evitar daños a la planta después de que se crea la alteración, se puede realizar al menos una de las etapas 512 de aplicación de una pulverización antifúngica en el segundo sitio y una etapa 514 de aplicación de una cera en el segundo sitio. En la etapa 514, se contempla que se aplique cera en una cantidad efectiva para sellar la primera alteración después de las etapas de aplicar la energía luminosa al segundo sitio y aplicar la primera dosificación de la sustancia al segundo sitio.

En una aplicación ejemplar de los métodos descritos en este documento, la Figura 6 muestra una energía luminosa aplicada a una hoja de una planta para crear una hendidura 601. La energía luminosa puede involucrar tecnología de luz láser, que utiliza energía luminosa de baja intensidad para dispersar la cutícula 603 de un planta creando así hendiduras microscópicas a través de la cutícula 603. Al hacerlo, la infiltración de sustancias en la hoja aumenta en gran medida, donde pueden ser transportadas y absorbidas por las células del floema. Esto es en parte el resultado de la eliminación de las capas protectoras tales como la cutícula (por ejemplo, cera/cutina) de las hojas y la corteza de los tallos. La hendidura puede ser un poro generado por láser de aproximadamente 200 µm de ancho.

Se puede aplicar energía luminosa utilizando un solo haz de luz para romper la cutícula o la corteza. Adicionalmente, la energía luminosa puede comprender una pluralidad de haces de luz que pueden romper la cutícula en varios lugares para crear una pluralidad de hendiduras. En realizaciones típicas, la energía luminosa se puede aplicar a la parte inferior del tallo o de la corteza de manera similar a las hojas. Por ejemplo, se puede aplicar energía luminosa a la raíz o la copa de un árbol para crear una hendidura superficial. En otro ejemplo, se puede aplicar energía luminosa a una flor o tallo de una planta para crear una hendidura superficial.

Debe señalarse que al romper la cutícula 603, se puede aplicar una sustancia a la hendidura. La Figura 7 representa un esquema esquemático de una sección transversal de una hoja que muestra una ruta mejorada de una sustancia 701 hacia las células del floema 703. La hendidura 702 permite la penetración de sustancias en la hoja evitando la permeabilidad limitada de la cutícula o la corteza. Las sustancias se mueven entonces a través de las fibras de celulosa de las paredes celulares de las plantas hasta alcanzar el floema. Así, una vez dentro del tejido foliar, las sustancias

pueden seguir la vía de transporte natural a través del apoplasto, absorbidas por las células del floema y transportadas por todo el árbol.

Por tanto, y en un aspecto general, se contempla un método para administrar un compuesto a una planta viva. En una primera etapa, se aplica energía luminosa a una primera porción de la planta para crear una primera hendidura. En un segundo paso, se aplica una primera dosificación del compuesto a la primera hendidura en una cantidad efectiva para inducir una respuesta biológica.

Para ilustrar la efectividad de los métodos descritos en este documento, se usó una sustancia de ensayo para mostrar la penetración mejorada a través de la aplicación foliar. Entre las sustancias de ensayo, se utilizaron en un experimento compuestos móviles del floema NBDG, un análogo fluorescente de la glucosa (un azúcar natural que se encuentra en las plantas) y carboxifluorescina-SE (una sustancia permeable a la membrana que solo es fluorescente en células vivas). Ambas sustancias se aplicaron manualmente sobre hojas sometidas a láser (utilizando un patrón de hendidura 801 de 13 x 39 puntos) en una concentración de 5 mg/mL. Si bien la discusión a continuación está relacionada con el uso de NBDG, cabe señalar que los resultados con carboxifluorescina-SE fueron similares a los mostrados.

La absorción de estas sustancias en la hoja ensayada se confirmó rápidamente por la propagación de la fluorescencia dentro del área sometida a láser (mostrada en la Figura 8B) en comparación con las hojas con láser sin solución aplicada (mostrada en la Figura 8A). Las hojas de control en las que se aplicó NBDG a la superficie de las hojas no sometidas a láser no mostraron fluorescencia (campo oscuro), lo que indica que no hubo ninguna absorción. Las Figs. 8A-8B se observaron bajo microscopía fluorescente y la Fig. 8B se tomó 10 minutos después de la aplicación de 5 µL de NBDG.

En 2 h, se observó NBDG fluorescente dentro de las venas laterales de las hojas sometidas a láser (mostradas en las Figuras 9A-9B) que emergen del área de aplicación. Las Figs. 9A-9B son micrografías fluorescentes de una porción de una hoja de cítrico tratada con láser. La figura 9A muestra el patrón de hendidura 801 en la hoja tratada con láser y el movimiento del NBDG en las venas menores 903 y en la vena principal 905. La figura 9B es otra imagen que muestra NBDG en las venas menores 903 y la vena principal 905.

Cuatro horas después de la aplicación, la NBDG ya había alcanzado y pasado la base del pecíolo 1001 como se muestra en la Figura 10. Por lo tanto, las imágenes anteriores demuestran que: (i) el grabado con láser de la cutícula es una forma eficaz de mejorar la penetración de las sustancias aplicadas (ii) el movimiento a través del tejido fotosintético y dentro del floema no se ve afectado por el método de aplicación y (iii) las sustancias móviles del floema aplicadas procedieron de forma natural.

Debe apreciarse que el movimiento de la NBDG aplicada foliarmente continuó hacia abajo del tallo y hacia las raíces. En 8 h, se observó fluorescencia de NBDG en el floema del tejido de la corteza aproximadamente a 20 cm de la hoja tratada. Las Figuras 11A-11B muestran secciones de corteza de árboles jóvenes. La Fig. 11A muestra un segmento de corteza control 1101 de un árbol sin tratar. La Fig. 11B muestra un segmento de corteza 1103 de un árbol tratado 8 horas después de la aplicación de NBDG en hojas sometidas a láser. La distancia entre las hojas sometidas a láser y el segmento de corteza 1103 fue de aproximadamente 20 cm.

Las Figuras 12A-12B muestran una realización de un aparato 1200 para suministrar una sustancia a una planta. El aparato 1200 comprende una pluralidad de brazos robóticos 1201 controlados electrónicamente que comprenden al menos uno de: (i) un emisor de luz láser 1203 para dispersar una luz a un área de tratamiento o un segundo sitio en una planta 1205 (por ej., un árbol de cítricos); (ii) un aplicador de sustancia 1207; y (iii) un aplicador de cera 1209 para sellar el área tratada como se muestra en la Fig. 12A. Se contempla que al menos uno de entre el emisor de luz láser 1203, el aplicador de sustancia 1207 y el aplicador de cera 1209 se puede montar en su propio brazo robótico controlado electrónicamente 1201 para permitir de este modo al menos uno de entre el emisor de luz láser 1203, el aplicador de sustancia 1207 y el aplicador de cera 1209 para tener movimiento independiente.

En una secuencia típica, el emisor de luz láser 1203 puede emitir un rayo láser 1211 para crear una brecha momentánea (p. ej., una hendidura, ruptura, ablación, interrupción) en el área de tratamiento o en el segundo sitio de la planta, el aplicador de sustancia 1207 puede administrar una sustancia (por ej., un antimicrobiano, un plaguicida, un fertilizante, un herbicida, un fungicida) sobre el área de tratamiento o el segundo sitio de la planta, y el aplicador de cera 1209 puede volver a sellar el área de tratamiento o el segundo sitio de la planta a medida que el aparato 1200 avanza en la dirección 1220. El aparato 1200 reducirá la cantidad de sustancia necesaria aplicándola sólo sobre el área de tratamiento o el segundo sitio de la planta, y no sobre toda la copa/área y también asegura que las hendiduras estén selladas para proteger contra la pérdida de agua y otros patógenos.

La pluralidad de brazos robóticos controlados electrónicamente 1201 puede comprender cinco brazos individuales como se muestra en la figura 12B, cada uno controlado de forma independiente y accionado electrónicamente. Estos brazos están apilados verticalmente, y cada láser tiene una ventana de escaneo de aproximadamente 35,56 cm por 35,56 cm (14 pulgadas por 14 pulgadas). La ventana de escaneo es el área que puede recibir láser mediante el emisor de luz láser 1203. Se debe apreciar que se puede usar un galvanómetro para controlar la trayectoria de trazado del rayo láser 1211. Normalmente, el galvanómetro se coloca detrás de la lente de salida láser, de manera que el rayo

láser 1211 viaja al galvanómetro antes de la lente de salida láser. Además, debe apreciarse que se puede usar más que un galvanómetro para controlar la dirección del rayo láser 1211 en dos direcciones (por ej., direcciones x e y).

Se contempla que una pluralidad de emisores de luz láser 1203 se apilen verticalmente sobre los brazos robóticos para proporcionar una altura máxima tratada con láser de aproximadamente 1,83 m (6 pies) (por ej., 35,56 cm (14 pulgadas) x 5 son 1,78 m (70 pulgadas). El diseño del sistema es modular, de modo que se pueden agregar más brazos láser verticalmente para acomodar árboles más grandes o se pueden quitar los brazos láser para acomodar árboles más pequeños si es necesario.

Como se muestra en la Fig. 12B, los brazos individuales se pueden colocar en una configuración "C" mediante lo cual los brazos superior e inferior se extienden hacia afuera desde el remolque 1213 que los brazos centrales. De esta manera, cada uno de los brazos se ubica a la misma distancia de la planta 1205, trazando de este modo el perfil lateral en forma de C (por ej., el contorno) de la copa de la planta 1205. Se contempla que se pueda utilizar un conjunto de sensores para ajustar la distancia entre la lente de salida láser del emisor de luz láser 1203 y las hojas de la planta 1205 para proporcionar una distancia de punto focal óptima, que normalmente es de 38,1 cm (15 pulgadas) usando una lente de salida de 400 mm. Incluso aunque la óptica del emisor de luz láser 1203 se puede diseñar en el sistema para proporcionar una profundidad de enfoque efectiva de 22,86 cm (9 pulgadas), se contempla que el sistema pueda proporcionar la distancia de punto focal óptima utilizando brazos robóticos 1201 controlados electrónicamente para ajustar la distancia entre el emisor de luz láser 1203 y la planta 1205. Dicho ajuste mantiene la distancia óptima del punto focal mientras se aplica el láser a la planta 1203, y dicho ajuste se puede realizar continuamente cada 1 centímetro de recorrido a través, sobre, a lo largo de las hojas objetivo mientras se mueve a través de la arboleda o los cultivos plantados. Debe apreciarse que el punto focal y la profundidad de enfoque se pueden cambiar en función del tamaño de la lente de salida utilizada. Por ejemplo, una lente de 200 mm proporciona un punto focal de 17,78 cm (7 pulgadas) y una profundidad de enfoque de 10,16 cm (4 pulgadas), y una lente de 800 mm proporciona un punto focal de 58,42 cm (23 pulgadas) y una profundidad de enfoque de 38,1 cm (15 pulgadas).

Se puede montar una pluralidad de brazos robóticos controlados electrónicamente 1201 en un remolque 1213, que será arrastrado por un tractor 1215. Se contempla que una velocidad típica para el tractor 1215 a través de una arboleda de árboles de cítricos es de 2,3-2,7 mph. A medida que el tractor 1215 desciende por la arboleda, la óptica y/o los sensores guiarán cada brazo a determinadas posiciones sobre la copa, evitando enredos con ramas de longitud desigual. El aparato 1200 puede comprender además un sistema de control que ajusta la cantidad de láser procedente del emisor de luz láser 1203 en función de la distancia recorrida. En una realización contemplada, el sistema de control configura el emisor de luz láser 1203 para generar rayos láser 1211 a intervalos de una distancia predeterminada recorrida mientras el sensor tiene la planta 1205 en su campo de visión. Por ejemplo, se contempla que el sistema de control configure el emisor de luz láser 1203 para generar un rayo láser 1211 a intervalos de 2,54 cm (1 pulgada) de recorrido, de manera que las hendiduras en las hojas de la planta 1205 estén separadas aproximadamente por 2,54 cm (1 pulgada). El sistema de control también se puede utilizar para ajustar la velocidad de escaneo del láser en función de la velocidad de desplazamiento del tractor 1215.

Cada uno de la pluralidad de brazos robóticos controlados electrónicamente 1201 está diseñado para moverse típicamente en la dirección horizontal hacia o alejándose de la planta 1205. Como se trató anteriormente, se contempla que cada uno de la pluralidad de brazos robóticos controlados electrónicamente 1201 puede moverse independientemente de los otros brazos. Este esquema independiente permite que una pluralidad de emisores de luz láser 1203 montados en brazos robóticos controlados electrónicamente 1201 sigan el contorno de la copa de la planta 1205 en su trayectoria de recorrido. Debe apreciarse que una pluralidad de aplicadores de sustancias 1207 y aplicadores de cera 1209 se pueden montar en brazos robóticos controlados electrónicamente adicionales 1201 para seguir el contorno de la trayectoria de desplazamiento desde los emisores de luz láser 1203 o que una pluralidad de aplicadores de sustancias 1207 y aplicadores de cera 1209 se puede montar en los mismos brazos robóticos 1201 controlados electrónicamente pero desplazados horizontalmente de los emisores de luz láser 1203 como se muestra en la figura 12A. Múltiples sensores en la pluralidad de brazos robóticos controlados electrónicamente 1201 y emisores de luz láser 1203 asegurarán que los rayos láser 1211 tracen la copa de la planta 1205.

Los emisores de luz láser 1203 pueden configurarse para generar rayos láser 1211 a un nivel vertical más alto o bajo dependiendo de la altura del árbol. Se contempla que, debido a las irregularidades de la copa y las diferentes alturas de la planta, los sensores del emisor de luz láser 1203 lo apagarán y encenderán basándose en la presencia de una copa a tratar dentro de su trayectoria de recorrido. También se pueden utilizar sensores adicionales y/o los mismos sensores descritos anteriormente para controlar la aplicación de sustancia y/o cera desde el aplicador de sustancia 1207 y el aplicador de cera 1209. Debe señalarse que, aunque algunas hojas de la planta 1205 se pueden tratar con láser en diferentes ángulos, el método de aplicación de aplicar una sustancia al área de tratamiento o al segundo sitio sigue siendo efectivo para administrar la solución requerida al área sometida a láser.

En algunas realizaciones contempladas, al menos uno de entre el emisor de luz láser 1203, el aplicador de sustancia 1207 y el aplicador de cera 1209 se puede acoplar a brazos robóticos 1201 controlados electrónicamente utilizando un soporte giratorio. Este soporte giratorio permitirá que al menos uno de entre el emisor de luz láser 1203, el aplicador de sustancias 1207 y el aplicador de cera 1209 apunten en ángulo a la copa de la planta 1205 para obtener un mejor láser y/o aplicar una sustancia y/o cera al adaxial (parte superior) de las hojas de la planta 1205. Además, o alternativamente, el emisor de luz 1203 puede configurarse para emitir un rayo láser 1211 que tiene una forma vertical,

de modo que una pluralidad de emisores de luz 1203 que están apilados verticalmente producen una pluralidad de rayos láser 1211 que están conectados en dirección vertical. Por ejemplo, cada uno de los emisores de luz láser 1203 puede configurarse para generar un rayo láser 1211 que es una línea vertical de 38,1 cm (15 pulgadas), de manera que las líneas verticales de los diversos emisores de luz láser 1203 son adyacentes entre sí, o se superponen parcialmente, para formar una sola línea vertical.

En un entorno de trabajo severo, el remolque 1213, en el que está montado el emisor de luz láser 1203, puede tener una unidad de aislamiento 1221 para de este modo eliminar (o al menos reducir) la transferencia de movimiento del remolque 1213 a medida que se mueve a través de la arboleda u otro terreno. La pluralidad de brazos robóticos 1201 controlados electrónicamente también tendrá un sistema de aislamiento que está diseñado para minimizar cualquier vibración adicional que afecte al funcionamiento del sistema láser en el campo.

Se pueden en el remolque 1213 montar un generador 1217 y depósitos 1219 con bombas, como se muestra en la Fig. 12B. El generador 1217 proporciona energía suficiente para el equipo montado en el remolque 1213, que incluye una pluralidad de brazos robóticos 1201 controlados electrónicamente, el emisor de luz láser 1203, el aplicador de sustancia 1207, el aplicador de cera 1209, los depósitos 1219 y sus bombas asociadas. Los depósitos 1219 proporcionan el almacenamiento para al menos uno de una sustancia y una cera. Como se trató anteriormente, las sustancias adecuadas incluyen un antimicrobiano, un plaguicida (por ejemplo, un insecticida, acaricida, etc.), un fertilizante, un herbicida, un fungicida. Se pueden usar dos bombas para administrar la sustancia y la cera al aplicador de sustancia 1207 y al aplicador de cera 1209, respectivamente. El diseño general del sistema preferiblemente tiene en cuenta las condiciones ambientales de trabajo, el calor, la humedad, la lluvia y las diferentes condiciones de la arboleda.

Aunque no se muestra en las Figs. 12A-12B, se contempla que al menos un brazo robótico controlado electrónicamente se pueda colocar opuesto a los brazos robóticos 1201 controlados electrónicamente, de modo que las plantas a ambos lados del remolque 1213 puedan tratarse utilizando el aparato 1200. Debe señalarse que el aparato 1200 puede utilizarse para aplicar sustancias a varios tipos de plantas 1205, que incluyen cualquier tipo de vida vegetal, incluidos árboles, enredaderas, forrajes, cultivos perennes, cultivos en hileras, cultivos de arbustos, plantas ornamentales, plantas anuales y pastos.

Datos experimentales

Los siguientes datos experimentales se proporcionan para ilustrar a modo de ejemplo varios aspectos de la materia objeto de la invención presentada en este documento. Más específicamente, los datos ilustran la sorprendente absorción de antimicrobianos para tratar eficazmente una planta. Los árboles de cítricos se ensayaron en tres grupos que consistían en un grupo de control (árboles 1-6), un grupo de antimicrobiano más tensioactivo (árboles 7-12) y un grupo de antimicrobiano solo (árboles 13-18). Los árboles de cada grupo se sometieron a láser y, en algunos casos, se trataron con un antimicrobiano y se analizaron dos semanas después para determinar la cantidad de HLB presente en el árbol mediante el análisis de reacción en cadena de la polimerasa ("PCR"). Cabe señalar que todos los árboles de este experimento tenían HLB al comienzo del experimento. El antimicrobiano utilizado fue oxitetraciclina (FireLine™) que incluye un tensioactivo (Tactit) para el grupo antimicrobiano más tensioactivo y oxitetraciclina sin tensioactivo para el grupo antimicrobiano solo. Los parámetros del láser incluyeron una velocidad de salto de 2000 mm/s, una velocidad de marcado de 850 mm/s y una intensidad de marcado: 70% y una frecuencia de pulso de 15000 Hz.

El grupo de control (árboles 1-6) fue tratado con láser, pero no se trató con ningún antimicrobiano y/o tensioactivo. Con la excepción de un árbol (árbol 7) que solo fue tratado con láser, el grupo antimicrobiano más tensioactivo fue tratado con láser y un antimicrobiano que comprendía un tensioactivo. Con la excepción de un árbol (árbol 13) que sólo se trató con láser, el grupo de antimicrobianos solo se trató con láser y se trató sólo con un antimicrobiano (sin tensioactivo). Los árboles de cada grupo se trataron con láser en un solo lado del árbol (el lado que comprendía las muestras "A"). Si se aplicó un antimicrobiano (con o sin tensioactivo), dicho antimicrobiano se aplicó al lado del árbol que se trató con láser. Los antimicrobianos se prepararon a 200 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm y 2000 ppm en un volumen de 3,79 L (1 galón). Sólo se utilizaron 56,7 g (2 onzas) de fluido por árbol (283,5 g (10 onzas) de fluido por grupo de árboles) de cada concentración para este experimento.

Después de dos semanas, se tomaron muestras, y se analizaron, de hojas que fueron tratadas con láser y, en algunos casos, con un antimicrobiano. Además, se tomaron muestras y se analizaron las hojas ubicadas en el punto más alejado de las hojas tratadas con láser (el lado que comprendía las muestras "B"), que no fueron tratadas y/o tratadas directamente con láser. Las hojas se trituraron y prepararon para análisis de PCR para detectar la presencia de HLB. La PCR determina si hay ADN de HLB vivo. El análisis de PCR amplifica y copia pequeños segmentos de ADN. A continuación, produce suficiente muestra de ADN para realizar el análisis. Con este experimento, hay seis árboles por grupo de tratamiento (grupo de control, grupo de antimicrobiano más tensioactivo y grupo de antimicrobiano solo). Cada árbol se encuentra en dos rangos para determinar el contenido de HLB, los valores de 29 y menores se consideran HLB positivos (enverdecimiento) y los valores de 30 y más son árboles considerados HLB negativos (no enverdecimiento). Si el análisis toma más de 30 ciclos de PCR, entonces no puede encontrar ningún ADN diana de HLB. Si el análisis se realiza con un máximo de 40 ciclos de PCR, se vuelve indeterminado y no se podría encontrar

una copia de HLB. Debe señalarse que podría haber números superiores a "30" pero aún no haber presencia de HLB porque solo hay artefactos de ADN de bacterias HLB muertas en números superiores a "30".

La siguiente tabla (Tabla 1) es un resumen de los resultados para la presencia de HLB usando análisis de PCR:

Tabla 1

Árbol	**Antimicrobiano**	**Tensioactivo**	**Muestra A**	**Muestra B**
1	Ninguno	Ninguno	27,1	26,9
2	Ninguno	Ninguno	30,0	27,3
3	Ninguno	Ninguno	Sin determinar	25,0
4	Ninguno	Ninguno	26,3	28,8
5	Ninguno	Ninguno	24,8	29,0
6	Ninguno	Ninguno	26,0	25,6
7	Ninguno	Ninguno	28,9	27,4
8	200 ppm	Si	30,6	33,5
9	500 ppm	Si	35,4	Sin determinar
10	1000 ppm	Si	Sin determinar	Sin determinar
11	1500 ppm	Si	Sin determinar	36,8
12	2000 ppm	Si	37,6	36,1
13	Ninguno	Ninguno	26,0	27,0
14	200 ppm	Ninguno	27,0	26,1
15	500 ppm	Ninguno	34,7	26,6
16	1000 ppm	Ninguno	37,8	28,7
17	1500 ppm	Ninguno	Sin determinar	26,2
18	2000 ppm	Ninguno	Sin determinar	27,6
La "muestra A" representa las hojas muestreadas y analizadas para detectar bacterias HLB que fueron al menos uno de sometidas a láser y tratadas La "muestra B" representa las hojas muestreadas y analizadas para detectar bacterias HLB desde el punto más alejado de las hojas tratadas con láser que no fueron directamente sometidas a láser o tratadas **Escala:** "0 - 29" = Enverdecimiento, HLB detectado "30 y superior" = No se enverdecen, no se detecta HLB "Sin determinar" = No hay ningún ADN de HLB que pueda detectarse				

La Tabla 1 muestra claramente que el tratamiento con láser seguido de la aplicación de un antimicrobiano que comprende un tensioactivo (es decir, el grupo antimicrobiano más tensioactivo) funciona de manera abrumadora para eliminar el HLB del árbol. De hecho, el tratamiento de HLB viaja a través del árbol como lo muestran las muestras "B", que se toman desde el punto más alejado de las hojas sometidas a láser, en el grupo antimicrobiano más tensioactivo. Las muestras "B" son típicamente de edad similar a las hojas tratadas con láser en las muestras "A", y las muestras "B" están ubicadas en un punto más bajo y en una rama opuesta a las muestras "A". La distancia promedio entre las muestras "A" y "B" fue de aproximadamente 63,5 cm (25 pulgadas), que se mide por la distancia que sigue el camino en el árbol. La distancia que sigue el camino del árbol comienza desde la hoja sometida a láser y tratada, luego baja por la rama, baja por el tronco, hasta una rama que tiene las hojas no tratadas, y luego finalmente baja por la rama hasta la hoja. El grupo de antimicrobianos solo mostró algún tratamiento localizado de HLB en las muestras "A", pero no viajó tan eficazmente a través del árbol como el grupo de antimicrobiano más tensioactivo como se muestra en las muestras "B". Por último, el grupo de control mostró que la aplicación de láser solo no es eficaz para reducir el HLB.

REIVINDICACIONES

1. Un método para administrar una primera sustancia (210) a un primer sitio (206) en una planta (200), que comprende:

transportar, en una trayectoria de viaje a lo largo de la planta (200), (i) un emisor de luz láser (1203) configurado para generar una energía luminosa y (ii) un aplicador de sustancia (1207) configurado para emitir la primera sustancia (210);

aplicar la energía luminosa (202) a un segundo sitio (204) ubicado en la superficie de una planta para crear una primera alteración (208) en la que el primer sitio (206) y el segundo sitio (204) son de diferente tipo;

aplicar una primera dosificación de la primera sustancia (210) al segundo sitio (204) en una cantidad efectiva para promover la absorción de la primera sustancia (210) al primer sitio (206) a través de la primera alteración (208); y

en el que el emisor de luz láser (1203) y el aplicador de sustancia (1207) se mueven continuamente a lo largo de la trayectoria de viaje a medida que la energía luminosa (202) y la primera sustancia (210) se aplican al segundo sitio (204) de la planta (200) y en el que la primera dosificación y la primera alteración (208) son suficientes para lograr una respuesta biológica.

2. El método de la reivindicación 1, en el que la primera sustancia (210) comprende al menos uno de un antimicrobiano, un plaguicida, un fertilizante, un herbicida, un biocida y un fungicida.

3. El método de la reivindicación 1, en el que la planta (200) es un árbol de cítricos y en el que la primera dosificación de la primera sustancia (210) comprende oxitetraciclina con un tensioactivo que tiene una concentración entre 200 ppm y 2000 ppm por 3,79 L (un galón) de agua, y además en el que la primera dosificación es de al menos 59,15 mililitros.

4. El método de la reivindicación 1, en el que la planta (200) comprende al menos uno de un árbol, un cultivo en hilera, un cultivo de arbustos y una planta ornamental.

5. El método de la reivindicación 1, que además comprende aplicar una segunda dosificación de la primera sustancia (210).

6. El método de la reivindicación 1, en el que la primera alteración (208) comprende una ablación.

7. El método de la reivindicación 1, en el que el primer sitio (206) es la cutícula y el segundo sitio (204) es al menos uno de entre un xilema y un floema.

8. El método de la reivindicación 1, en el que la primera sustancia (210) es un antimicrobiano.

9. El método de la reivindicación 1, que además comprende aplicar una pulverización antifúngica al segundo sitio (204).

10. El método de la reivindicación 1, que además comprende aplicar una cera (212) al segundo sitio (204).

11. El método de la reivindicación 1, que además comprende aplicar una dosificación de una segunda sustancia que comprende al menos uno de un antimicrobiano, un plaguicida, un fertilizante, un herbicida, un biocida y un fungicida.

12. El método de la reivindicación 1, que además comprende aplicar una dosificación de una segunda sustancia que comprende un catalizador para la primera sustancia (210).

13. El método de la reivindicación 1, en el que el emisor de luz láser es un láser de CO_2.

14. El método de la reivindicación 1, que además comprende crear una segunda alteración en el segundo sitio (204).

15. El método de la reivindicación 1, en el que la primera sustancia (210) comprende un tensioactivo para promover la absorción.

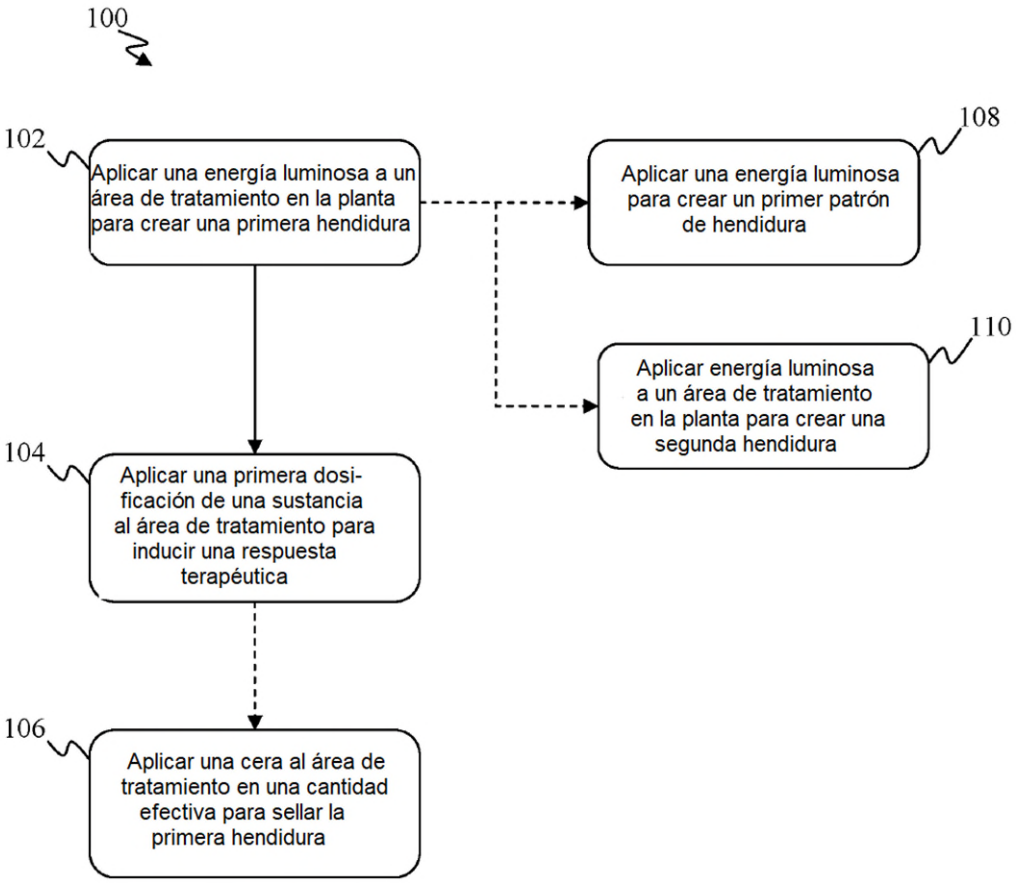
100
102
Aplicar una energía luminosa a un área de tratamiento en la planta para crear una primera hendidura
108
Aplicar una energía luminosa para crear un primer patrón de hendidura
110
Aplicar energía luminosa a un área de tratamiento en la planta para crear una segunda hendidura
104
Aplicar una primera dosificación de una sustancia al área de tratamiento para inducir una respuesta terapéutica
106
Aplicar una cera al área de tratamiento en una cantidad efectiva para sellar la primera hendidura

Figura 1

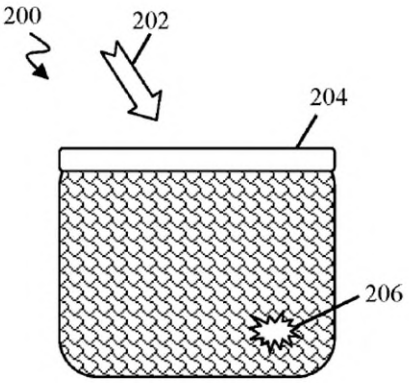

Figura 2A

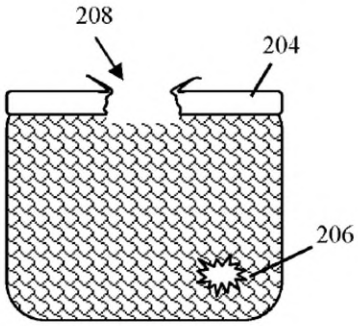

Figura 2 B

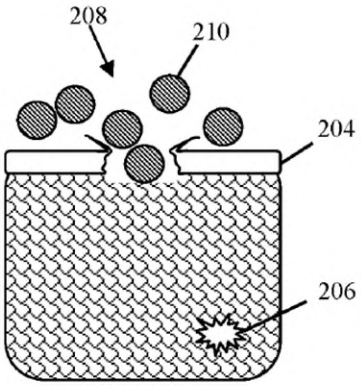

Figura 2C

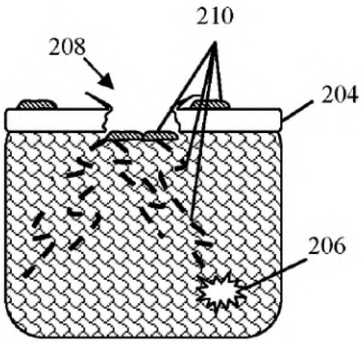

Figura 2D

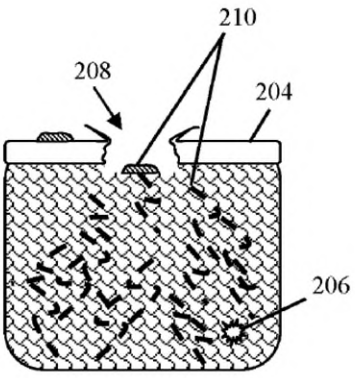

Figura 2E

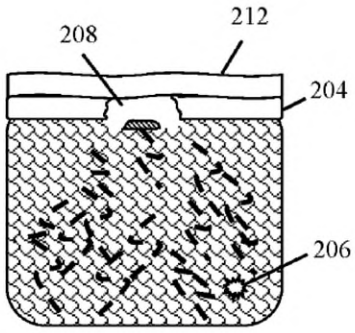

Figura 2F

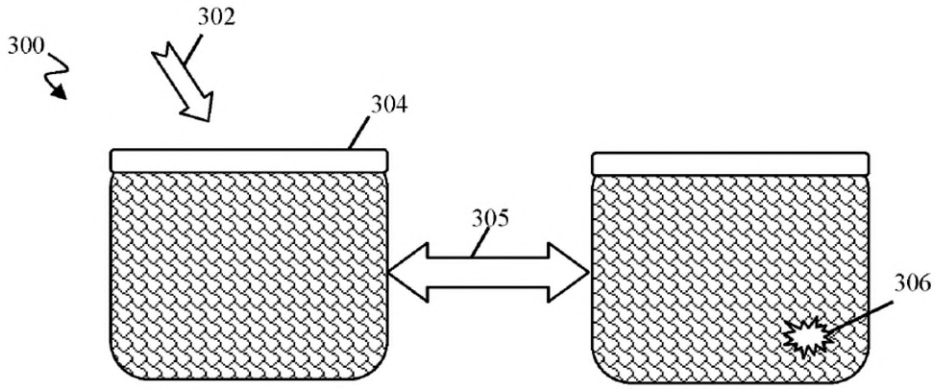

Figura 3A

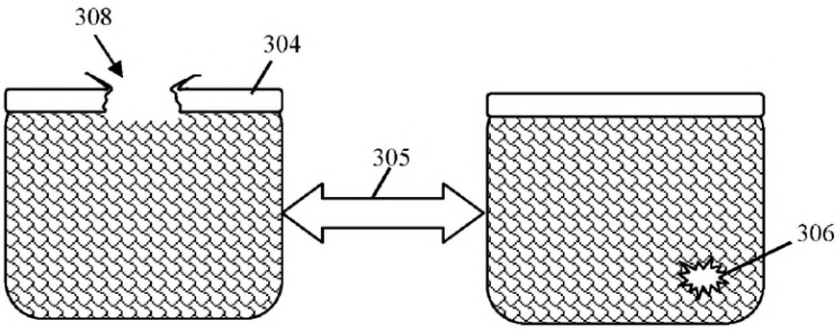

Figura 3B

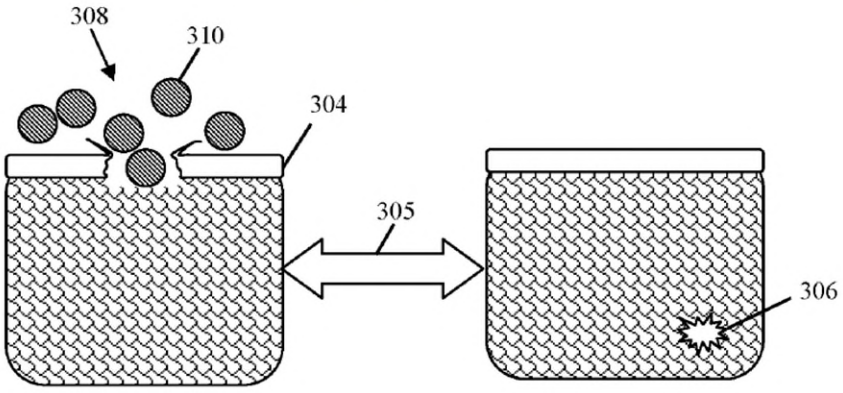

Figura 3C

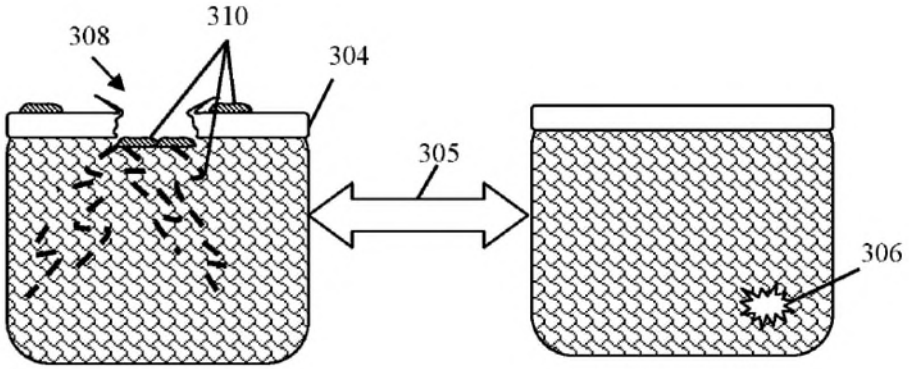

Figura 3D

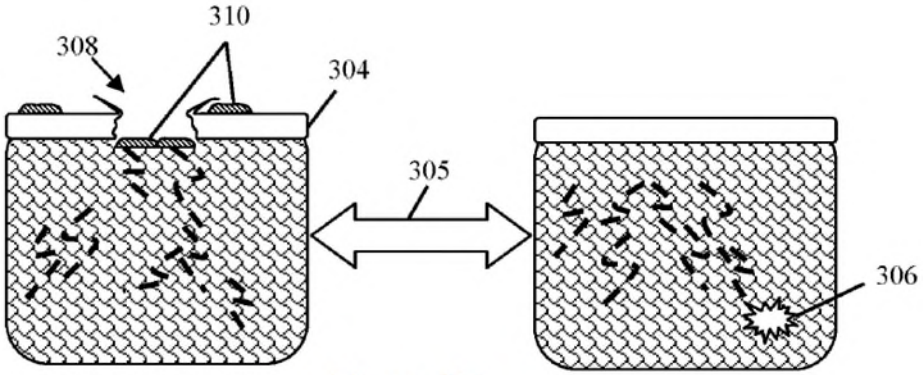

Figura 3E

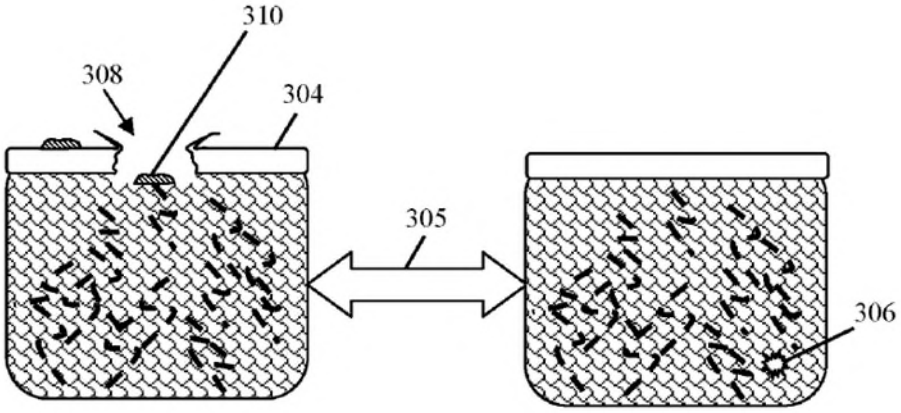

Figura 3F

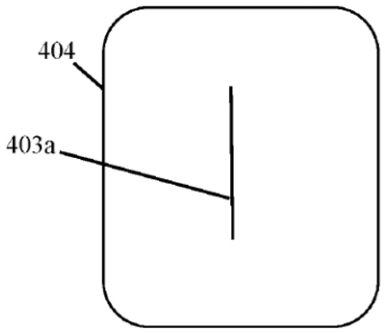

Figura 4A

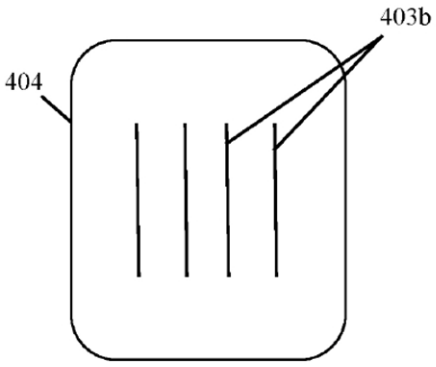

Figura 4B

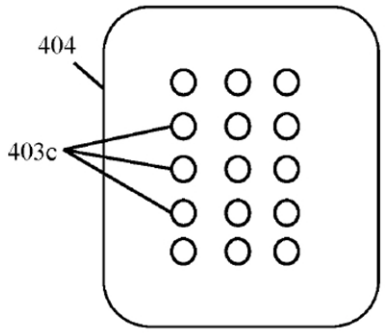

Figura 4C

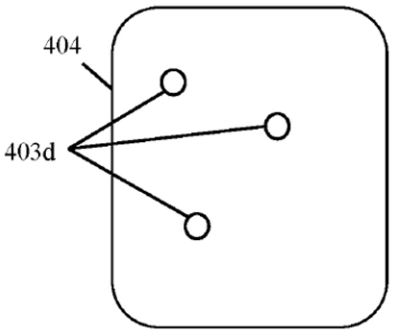

Figura 4D

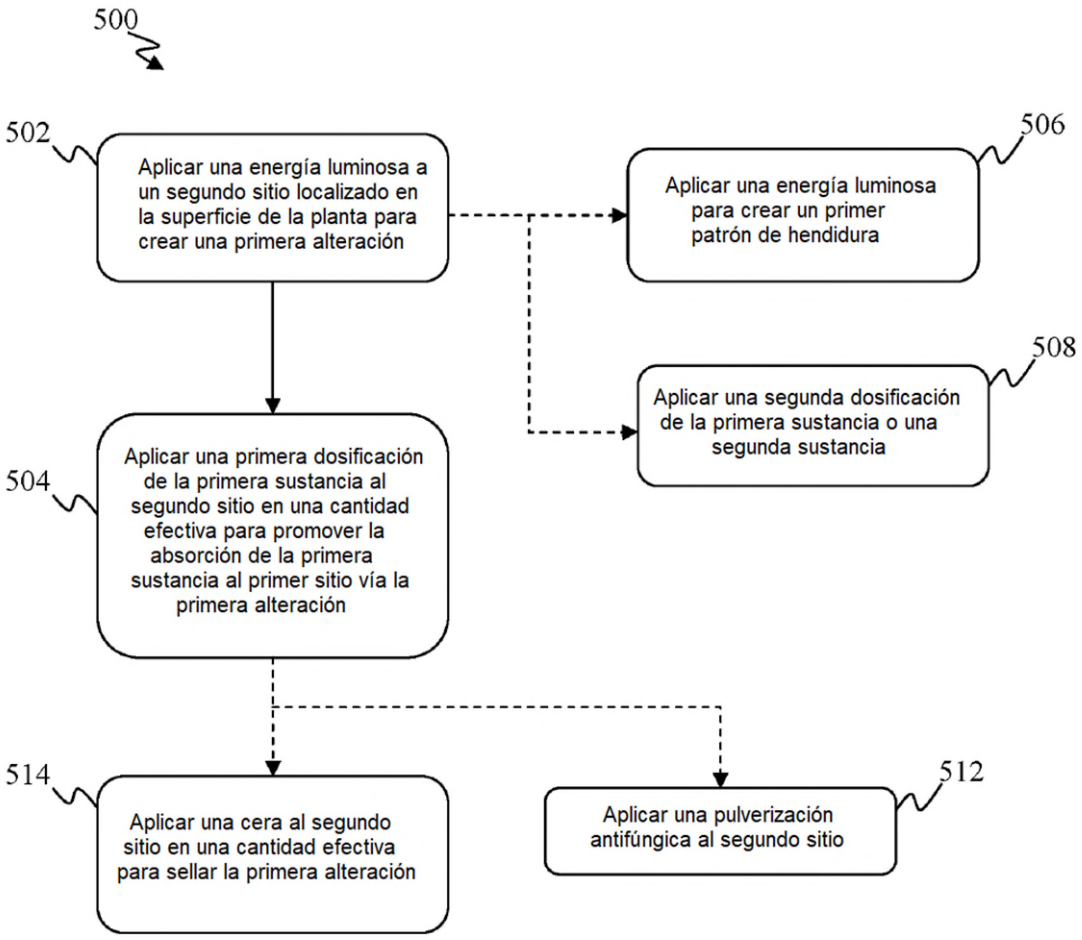
500
502
Aplicar una energía luminosa a un segundo sitio localizado en la superficie de la planta para crear una primera alteración
506
Aplicar una energía luminosa para crear un primer patrón de hendidura
508
Aplicar una segunda dosificación de la primera sustancia o una segunda sustancia
504
Aplicar una primera dosificación de la primera sustancia al segundo sitio en una cantidad efectiva para promover la absorción de la primera sustancia al primer sitio vía la primera alteración
514
Aplicar una cera al segundo sitio en una cantidad efectiva para sellar la primera alteración
512
Aplicar una pulverización antifúngica al segundo sitio

Figura 5

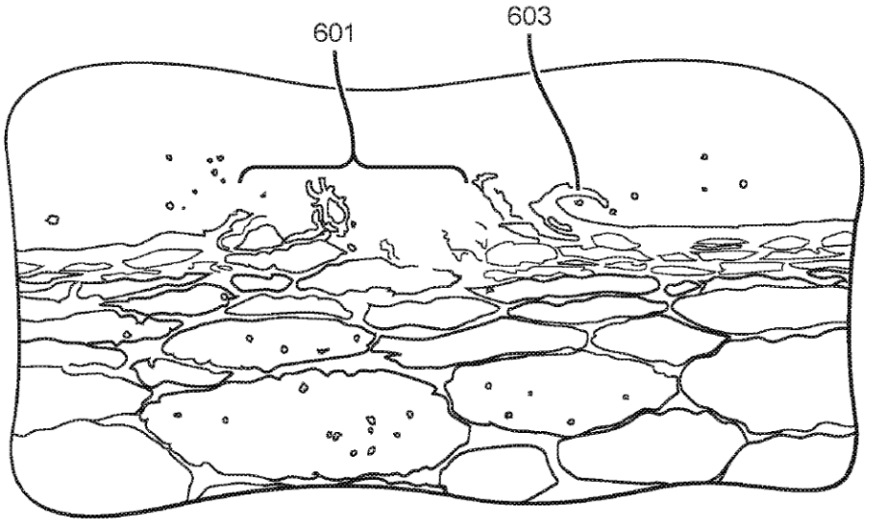

FIG. 6

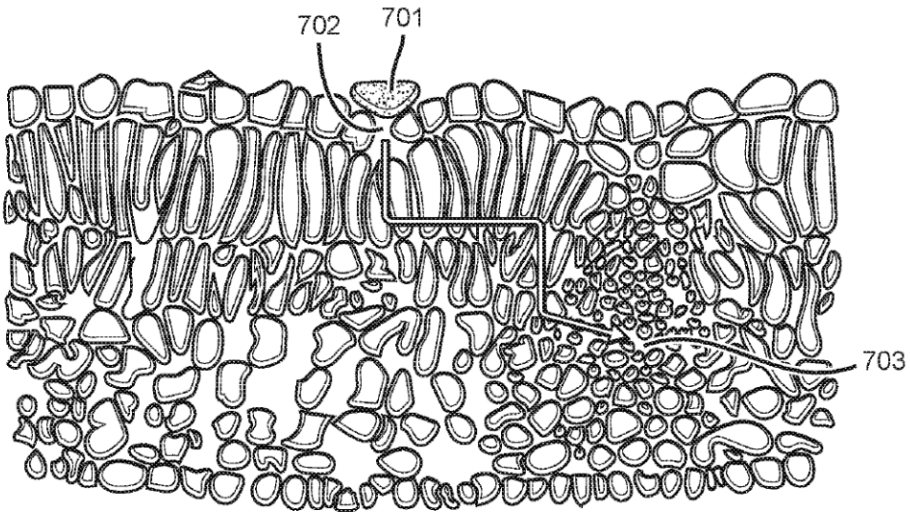

FIG. 7

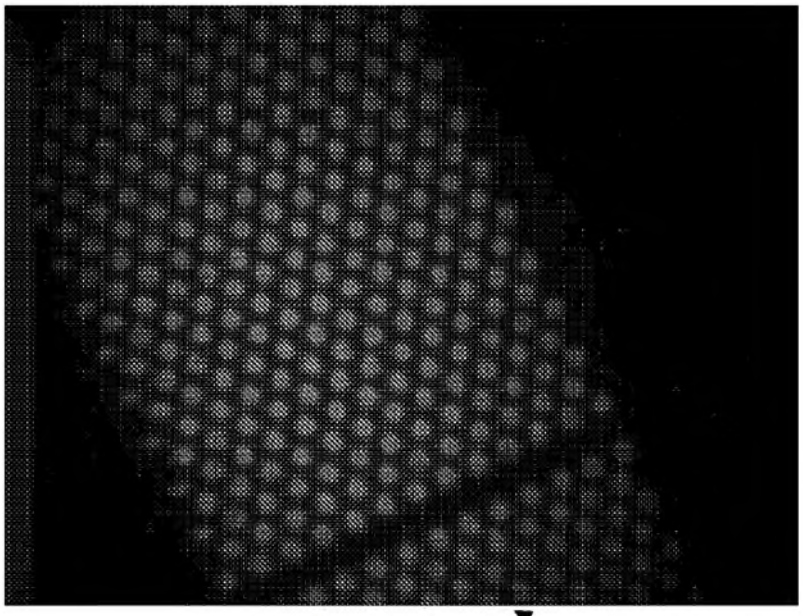

Figura 8A

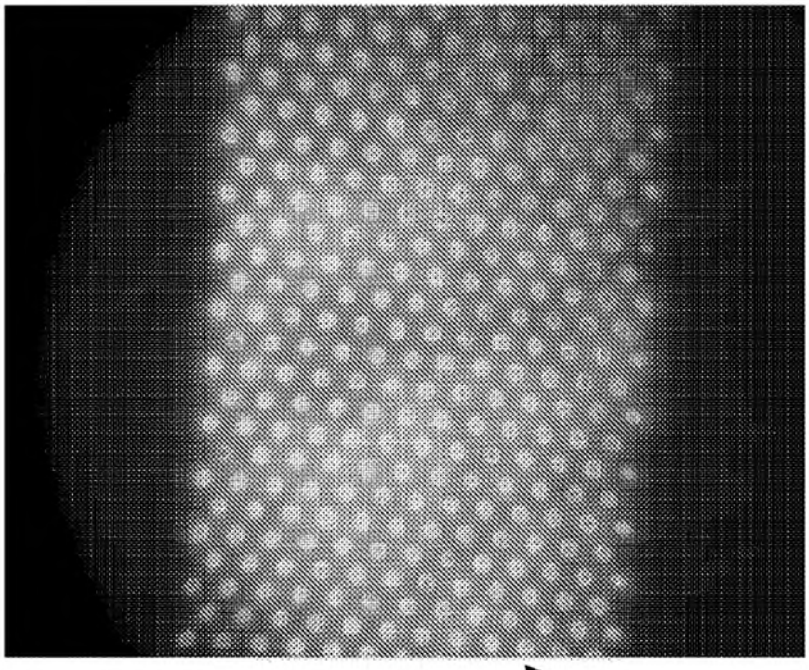

Figura 8B

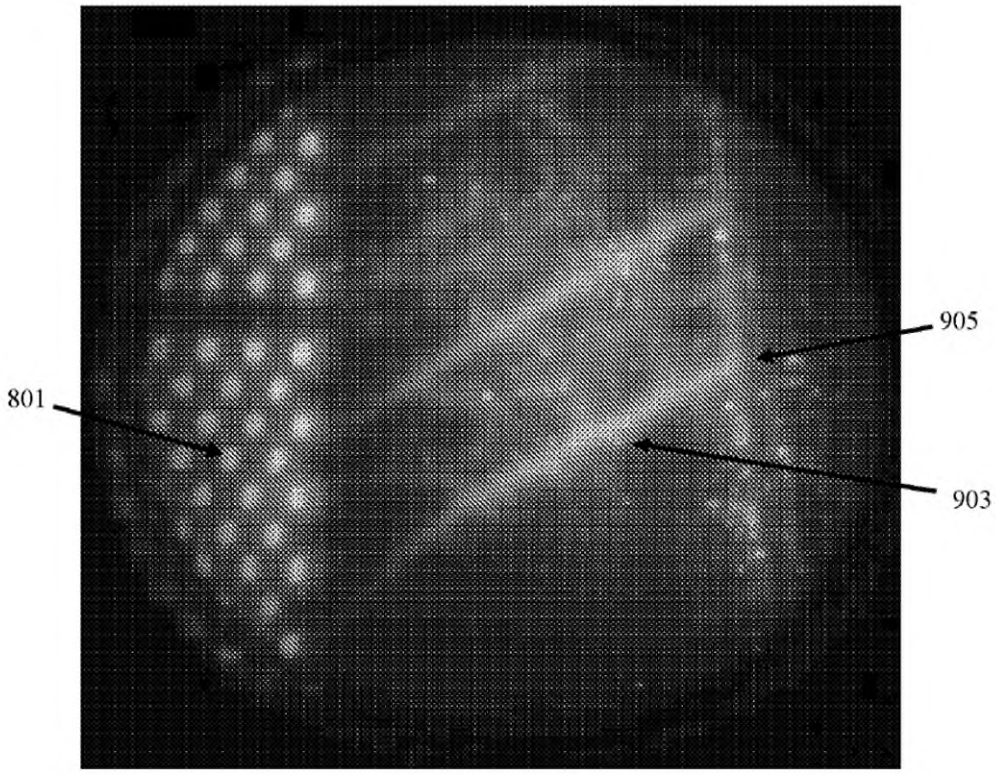

Figura 9A

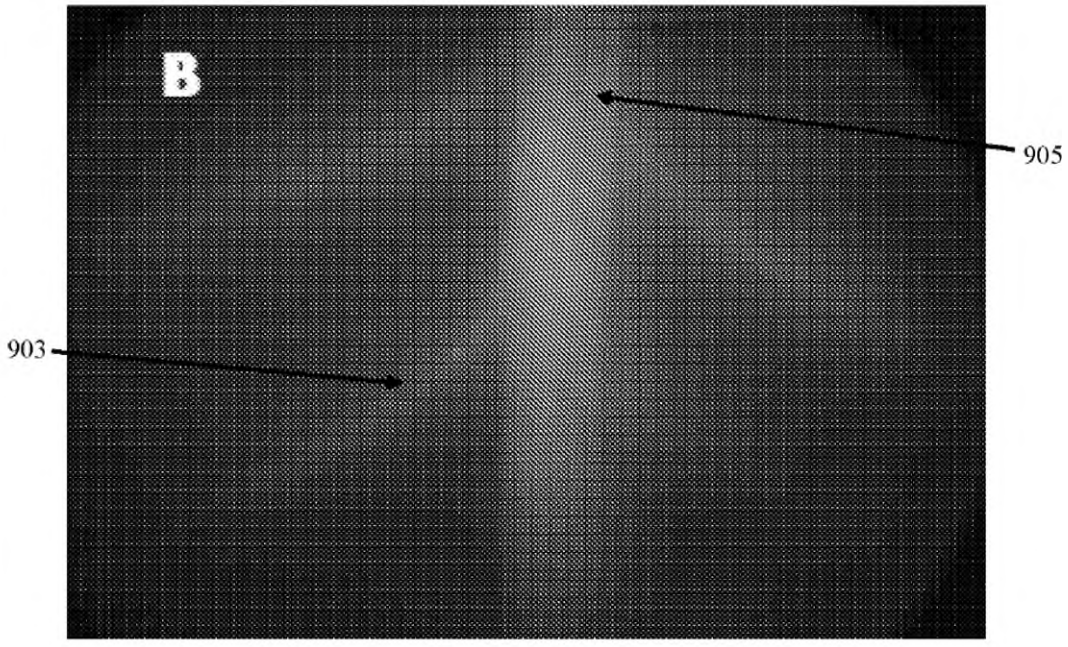

Figura 9B

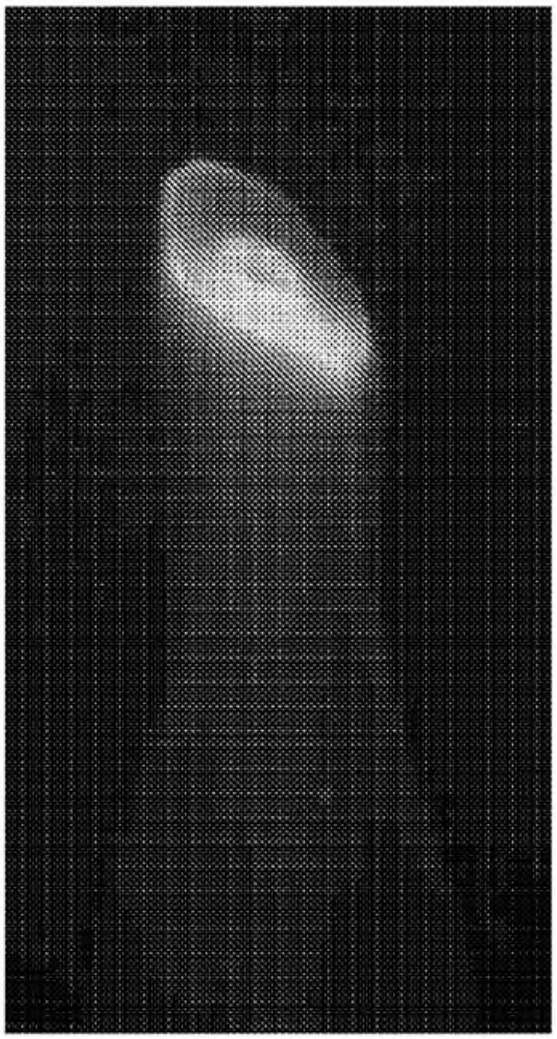

Figura 10

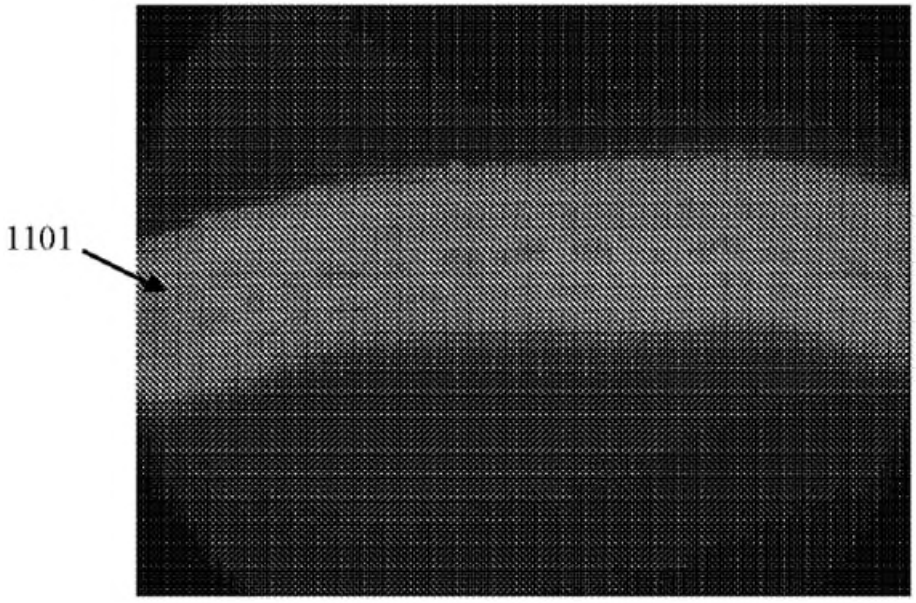

Figura 11A

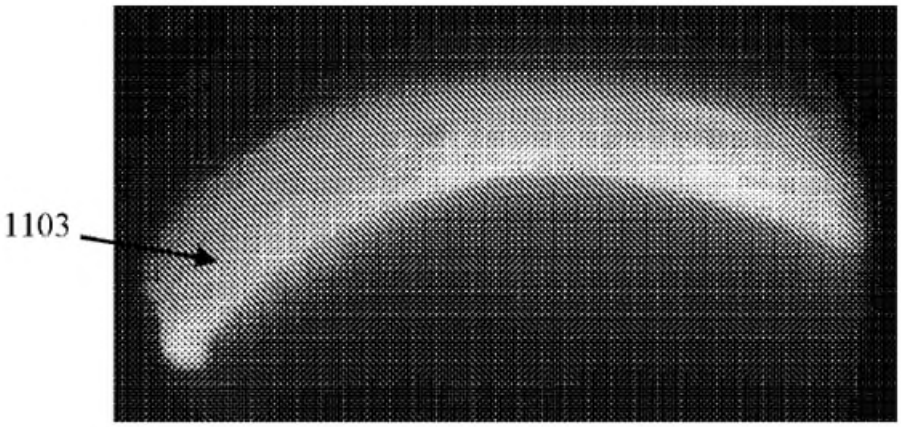

Figura 11B

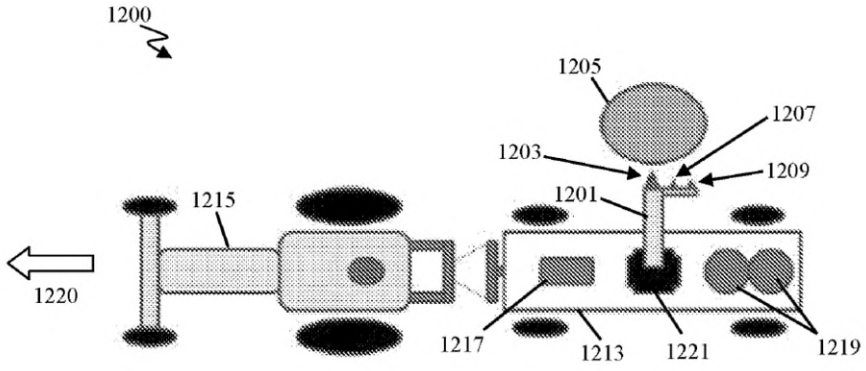

Figura 12A

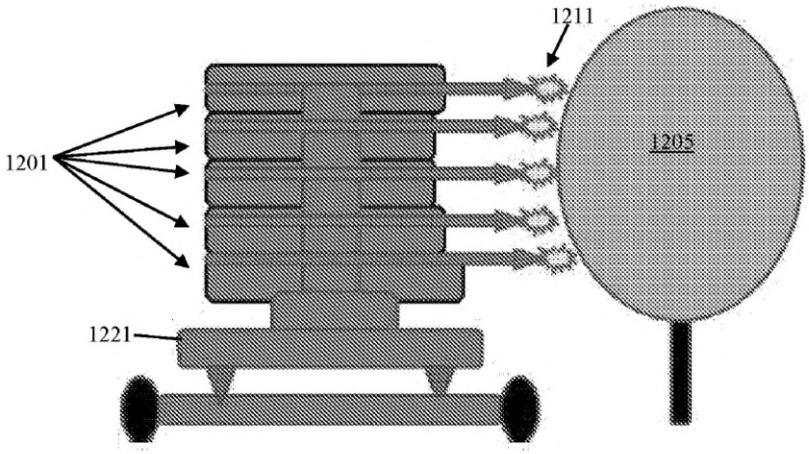

Figura 12B