

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 408 629**

51 Int. Cl.:

A01N 43/36 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.11.2006 E 06844283 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.03.2013 EP 1945035**

54 Título: **Uso de prolinas para mejorar el crecimiento y/o el rendimiento**

30 Prioridad:

07.11.2005 US 269417

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.06.2013

73 Titular/es:

**LOS ALAMOS NATIONAL SECURITY, LLC
(100.0%)
LOS ALAMOS NATIONAL LABORATORY, LC/IP
MS A187
LOS ALAMOS, NM 87545, US**

72 Inventor/es:

**UNKEFER, PAT, J.;
KNIGHT, THOMAS, J. y
MARTINEZ, RODOLFO, A.**

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 408 629 T3

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

DESCRIPCIÓN

Uso de prolinas para mejorar el crecimiento y/o el rendimiento

5 La presente invención se ha realizado con financiación gubernamental concedida por el departamento de Energía de los Estados Unidos según el contrato N° W-7405-ENG-36. El gobierno tiene determinados derechos en la presente invención.

10 La presente invención se refiere en general a composiciones seleccionadas que contienen prolina y al uso de dichas composiciones que contienen prolina para mejorar el crecimiento de las plantas, para mejorar la germinación de las semillas, para proteger las plantas frente a las condiciones de estrés seleccionadas.

15 Muchas actividades agrícolas son muy sensibles al tiempo, con costes y retornos que son dependientes de una rápida renovación de los cultivos o de ser los primeros en llegar al mercado. Por tanto, un crecimiento rápido de la planta es una meta económica importante de muchas empresas agrícolas que hacen crecer cultivos de alto valor tales como vegetales, bayas, y bananas, así como para la industria de invernaderos y viveros. La importancia de tecnologías mejoradas de producción de cultivos se ha ampliado a medida que las observaciones han indicado que los rendimientos de muchos cultivos bien desarrollados han tendido a estabilizarse en los últimos años. La meta de un rápido crecimiento de las plantas se ha enfocado en numerosos estudios de los mecanismos reguladores de las plantas, que siguen siendo poco comprendidos. En particular, no se ha conseguido una comprensión completa de los mecanismos reguladores de las plantas que coordinan el metabolismo del carbono y el nitrógeno, que deben tener un fuerte impacto sobre el crecimiento y el desarrollo de la planta.

25 De forma similar al deseo de un rápido crecimiento de la planta, otros factores de la planta son importantes en la industria agrícola, incluyendo factores tales como: el lapso de tiempo hasta la germinación de la semilla, la uniformidad de la germinación, es decir, la germinación casi simultánea, el rendimiento, y la relación de la germinación total de la semilla.

30 La Patente de los Estados Unidos N° 5.922.649 de Pehu y col., ilustra la aplicación de una composición, específicamente una composición de glicina betaína, para mejorar el rendimiento de las plantas.

35 La patente de los Estados Unidos N° 6.831.040 de Unkefer y col., ilustra que la aplicación de prolinas tales como 2-hidroxi-5-oxoprolina, 5-oxoprolina (ácido 2-pirrolidona-5-carboxílico) y sus mezclas a plantas promueve el crecimiento. Mantener una concentración eficaz tanto de 2-oxoglutamato como de piroglutamato en una planta es muy deseable. La elevación de la concentración del 2-oxoglutamato puede dar como resultado un comportamiento mejorado, rasgos de calidad y otros beneficios. Tratar las plantas con 2-oxoglutamato o piroglutamato puede proporcionar estos beneficios. Hasta la fecha, los procedimientos dirigidos a maximizar los beneficios del piroglutamato han requerido generalmente, tratamientos regulares y frecuentes para mantener los niveles deseados del compuesto.

40 Los presentes inventores han realizado una extensa investigación de las composiciones que incluyen los isómeros L y D del piroglutamato en diversas relaciones, y la eficacia de dichas composiciones para promover la germinación de la semilla, el crecimiento y el rendimiento de la planta. Los inventores han encontrado composiciones preferidas u óptimas para promover el crecimiento y el rendimiento de la planta.

45 De acuerdo con los fines de la presente invención, como se realiza y se describe con amplitud en el presente documento, la presente invención incluye una composición que incluye una mezcla de estereoisómeros de piroglutamato L y D en una relación de L a D de entre 80:20 a 97:3, y, un medio portador para la aplicación de dichos estereoisómeros de piroglutamato L y D a una planta diana.

50 La presente invención incluye también un procedimiento para aumentar el crecimiento o el rendimiento de una planta diana tratando la planta diana con una composición que incluye una mezcla de estereoisómeros de piroglutamato L y D en una relación de L a D de 80:20 a 97:3 y un medio portador de dichos estereoisómeros de piroglutamato L y D.

55 La presente invención incluye también un procedimiento para tratar semillas antes de la plantación que comprende humedecer las semillas directamente con una disolución de la composición que incluye una mezcla de estereoisómeros de piroglutamato L y D en una relación de L a D de entre 80:20 a 97:3.

60 La presente invención incluye también la mejora de una composición de revestimiento de una semilla tras la adición de una mezcla de estereoisómeros en una relación de L a D de entre 80:20 a 97:3 como un componente de la composición de revestimiento de semillas.

65 El piroglutamato existe en dos formas, los estereoisómeros D y L. cada uno de estos isómeros es activo para generar los beneficios deseados en las plantas. El piroglutamato comercialmente disponible, sintetizado mediante un procedimiento de fermentación bacteriana, tiene una relación estereoquímica de aproximadamente 60:40 del isómero L al isómero D.

La presente invención se refiere a composiciones que incluyen los isómeros L y D de piroglutamato en diversas relaciones y a la eficacia de dichas composiciones para promover la germinación de las semillas, el crecimiento y el rendimiento de la planta, y la resistencia a los estreses. Se han descubierto ahora composiciones óptimas o preferidas para promover dicho crecimiento y rendimiento de la planta. En particular, la presente invención se refiere a composiciones que incluyen mezclas de estereoisómeros de L y D de piroglutamato que tienen una relación del estereoisómero L al D de entre 80:20 a 97:3. Dichas composiciones son también útiles como medios de germinación de las semillas y se pueden emplear en el revestimiento de una semilla para potenciar la germinación de la semilla. La presente invención se refiere adicionalmente a la eficacia o a la efectividad de las composiciones de piroglutamato que tienen seleccionada la relación de los estereoisómeros L a D para la aplicación en un vehículo dirigido a plantas para promover el crecimiento y el rendimiento de las plantas.

La composición de la presente invención tiene propiedades que conducen a aumentar la productividad de la planta. Por ejemplo, mediante un cuidadoso control de la relación de los estereoisómeros L:D a entre 80:20 a 07.3, se produce una inesperada estimulación mayor del crecimiento de la planta de la que es posible utilizando cualquier estereoisómero solo. Las composiciones pueden ser también eficaces en la protección de las plantas de estreses tales como los recibidos por la aplicación intencionada o inadvertida de un herbicida. De forma adicional, estas composiciones se pueden aplicar como un medio de germinación o utilizarse en una composición de revestimiento de semillas para proporcionar una mejora en la germinación de semillas.

En una realización de la presente invención, las composiciones incluyen una mezcla de estereoisómeros L y D de piroglutamato con una relación del estereoisómero L al D de entre 80:20 a 97:3 que se puede combinar con un medio portador tal como se conoce en la técnica. Por ejemplo, las composiciones pueden estar en agua, incluyendo agua destilada y agua de grifo, en una disolución fertilizante, o en una disolución herbicida. El herbicida puede ser un producto químico agrícola tal como 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxy acético). Un experto en la técnica estará familiarizado con las diversas disoluciones fertilizantes y herbicidas que se pueden emplear. Sin embargo, las composiciones de piroglutamato de la presente invención pueden combinarse de forma más sencilla con agua.

En otra realización de la presente invención, las composiciones que incluyen una mezcla de estereoisómeros L y D de piroglutamato con una relación del estereoisómero L al D de entre 80:20 a 97:3 se pueden combinar en una composición de revestimiento de semillas, de tal manera que dichas composiciones de revestimiento de semillas son bien conocidas en la técnica. Las personas expertas en la técnica están familiarizadas con las diversas composiciones de revestimiento de semillas que se pueden emplear.

Las composiciones de piroglutamato de la presente invención pueden simplemente añadirse como un componente de los revestimientos de semillas convencionales. Dichos revestimientos convencionales de semillas son a menudo poliméricos o una arcilla y se pueden usar para proteger la semilla de la abrasión durante las etapas de almacenamiento y plantación, de las condiciones ambientales desfavorables tras la plantación, para proteger la semilla de los insectos y de los hongos mediante el uso de aditivos tales como fungicidas e insecticidas, o para promover la germinación potencial en un momento más deseable que puede relacionarse con la temperatura y la humedad. Se usan también revestimientos de semillas para proporcionar compuestos que mejoran el comportamiento global de la planta o de la semilla. Por ejemplo, se puede diseñar un revestimiento polimérico para degradar a los niveles de temperaturas o humedades preseleccionadas en el que las semillas se pueden plantar más pronto que en el momento óptimo de la germinación y el revestimiento de la semilla retrasará la germinación hasta que las condiciones ambientales sean las adecuadas.

La composición puede incluir un vehículo. Por el término "vehículo" se entiende un material orgánico o inorgánico, natural o sintético con el que el material activo, es decir, la mezcla de estereoisómeros L y D de piroglutamato, se puede asociar para facilitar su aplicación a una planta, a semillas, a un suelo próximo a semillas y/o plantas. El vehículo puede facilitar también el transporte o la manipulación de semillas y/o plantas. El soporte puede ser sólido (por ejemplo, arcillas, silicatos naturales o sintéticos, resinas y ceras) o fluido (por ejemplo, agua, alcoholes, cetonas, fracciones de petróleo, hidrocarburos clorados y gases licuificados).

Las composiciones de piroglutamato de la presente invención pueden incluir también uno o más tensioactivos que pueden ayudar en la penetración de componentes activos en las plantas. Dichos tensioactivos incluyen tensioactivos aniónicos, catiónicos, no iónicos y de ion híbrido. Los tensioactivos aniónicos incluyen etoxilatos de alquilarilo, etoxilatos de ácidos grasos, etoxilatos de aceites de semillas vegetales, etoxilatos de ésteres de ácidos grasos con sorbitán, u otros alcoxilatos. Los tensioactivos adecuados pueden incluir dodecil sulfato de sodio y el compuesto, $C_9H_{19}-(\text{fenileno})-(\text{OCH}_2 \text{ CH}_2)_9\text{OH}$ conocido también como Nonoxynol-9TM o NP-9TM.

Las composiciones de piroglutamato de la presente invención pueden incluir también uno o más agentes humectantes tales como glicerol.

Las composiciones de piroglutamato de la presente invención se pueden aplicar ventajosamente a las plantas mediante cualquiera de uno de numerosos medios. Por ejemplo, las composiciones se pueden aplicar directamente a las raíces de las plantas, pulverizando el follaje de las plantas, aplicándola al suelo alrededor de las plantas. Preferentemente, las composiciones se pueden aplicar pulverizando el follaje de las plantas.

Los procedimientos y las composiciones de piroglutamato de la presente invención se pueden usar con plantas recreativas o decorativas o con cultivos recreativos o decorativos, pero son particularmente útiles para tratar cultivos comerciales. Los ejemplos de plantas y cultivos que se pueden tratar en la presente invención incluyen monocotiledóneas (monocots), tales como sorgo, arroz, trigo, maíz, cebada, avena, y tepe, es decir, céspedes; dicotiledóneas (dicots), tales como rosas y árboles frutales que incluyen manzanos, cerezos, y melocotoneros; viñas que incluyen uvas, crucíferas vegetales, tales brócoli, coliflor, coles de bruselas, col rizada, repollo, rábanos y coles); solanáceas (patatas, tomates, y pimientas que incluyen pimienta verde, pimienta de cayena), y legumbres tales como soja, frijol enano.

- 10 Las composiciones de piroglutamato y los procedimientos de la presente invención mejoran de forma considerable el crecimiento y el rendimiento de las plantas, por ejemplo, la cantidad y la calidad del rendimiento. Las composiciones de piroglutamato y los procedimientos de la presente invención pueden ser económicamente ventajosos y el aumento en el rendimiento puede ser económicamente aprovechable y significativo. Por ejemplo, se ha demostrado que la cantidad de rendimiento de la avena aumenta con una aplicación adecuada de las mezclas descritas de los estereoisómeros L y D de piroglutamato.

La presente invención se describe de forma más particular en los siguientes ejemplo, que se pretende que sean solo ilustrativos, debido a que serán evidentes a los expertos en la técnica numerosas modificaciones y variaciones.

20 Ejemplo 1

Se trataron lotes individuales de semilleros de avena una vez con la serie de mezclas de isómeros de piroglutamato que se muestran en la Tabla 1. Se contaron las hojas para rastrear la velocidad de crecimiento de la planta durante los siguientes 28 días.

25

Tabla 1

Composición de la serie		
Nº de serie	% de isómero L	% de isómero D
Nº 1	0	100
Nº 2	60	40
Nº 3	70	30
Nº 4	80	20
Nº 5	90	10
Nº 6	95	5
Nº 7	96	4
Nº 8	97	3
Nº 9	98	2
Nº 10	99	1
Nº 11	99,6	0,4
Nº 12	100	0
Nº 13 (blanco)	0	0

- 30 La mejor velocidad de crecimiento de la planta, basándose en los días desde el tratamiento frente al total de hojas, se ha encontrado con las siguientes relaciones de los isómeros UD: 80/20; 90/10; y, 95/5. Cada una de estas relaciones supera al material normalizado comercialmente disponible que tiene una relación UD de 60/40 (serie Nº 2).

Ejemplo 2

- 35 Las avenas del ejemplo 1 se vigilaron también para determinar su número de retoños, con las últimas hojas emergidas en el día 28 después del tratamiento. Este parámetro se refiere al potencial para el rendimiento del grano. La Tabla 2 contiene los retoños resultantes con las últimas hojas a los 28 días para la misma serie de mezclas de isómeros.

40

Tabla 2

Número de serie	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Retoños con últimas hojas	20	24	17	34	33	37	29	31	23	22	26	24	19

Se ha encontrado el mejor comportamiento con las relaciones de los isómeros UD de 80/20 a 97/3. Cada una de estas relaciones superó claramente el material normalizado comercialmente disponible que tenía una relación UD de 60/40 (serie Nº 2).

Ejemplo 3

Se trataron los semilleros de avena con la serie de mezclas de isómeros del piroglutamato que se muestra en la Tabla 2. Se contaron las hojas para rastrear la velocidad de crecimiento de la planta durante los siguientes 24 días.

5

Composición de la serie		
Nº de serie	% de isómero L	% de isómero D
Nº 1	77,5	22,5
Nº 2	80	20
Nº 3	85	15
Nº 4	90	10
Nº 5	92,5	7,5
Nº 6 (blanco)	0	0

La mejor velocidad de crecimiento de la planta, basándose en los días desde el tratamiento frente al total de hojas en forma de porcentaje de las hojas del día 1 se ha encontrado con las relaciones de los isómeros UD, 80/20; 90/10; y, 92,5/7,5. Un examen de los resultados de los ejemplos 1 a 3 demuestra que se consiguió un comportamiento mejorado de la planta utilizando las relaciones de isómeros UD de piroglutamato entre 80/20 y 97/3.

10

Ejemplo 4

Se trataron se millas de tomate de 3 años (Heinz Nº 9665) con agua aireada (control) y con diversas disoluciones de la composición de piroglutamato (relación de isómeros 85:15 de L:D). Las semillas se humedecieron (incluyeron) durante cuatro horas en el respectivo líquido y a continuación se diseminaron sobre papel de germinación en fitobandejas normalizadas (a 25° C en la oscuridad).

15

Se preparó una composición inicial de piroglutamato (con la relación de isómeros 85:15) a una concentración de 13,7 gramos por litro a un pH de entre aproximadamente 6,0 y 6,6. Esta composición se denomina disolución patrón. Además del control, se trataron las semillas a las siguientes concentraciones finales de la composición de piroglutamato: disolución patrón (I); disolución patrón 1/10 (II); disolución patrón 1/100 (III); y, disolución patrón 1/1000 (IV).

20

En el día 2, se observó una estimulación pronunciada de la germinación en semillas tratadas con la disolución patrón 1/100 (III) y la disolución patrón 1/1000 (IV) en comparación con la germinación cero para el control y para la disolución patrón (I) y la disolución patrón 1/10 (II).

25

El examen de diversas semillas tratadas mediante la disolución control, la disolución patrón (I) o la disolución patrón 1/10, desveló que el cero por ciento de las semillas no demostró ninguna hinchazón del embrión o la emergencia de brotes de germinación. En comparación, las semillas tratadas tanto con disolución patrón 1/100 (III) o la disolución 1/1000 (IV) mostró que aproximadamente un 25 por ciento de las semillas tuvieron un embrión hinchado o brotes de germinación emergentes.

30

En el día 6 después del tratamiento inicial, se observaron los siguientes niveles de germinación: para la disolución control, 62 por ciento de germinación; para la disolución patrón (I), cero porcentaje de germinación; para la disolución patrón 1/10 (II), 64 por ciento de germinación; para la disolución patrón 1/100 (III), 86 por ciento de germinación, y para la disolución patrón 1/1000 (IV), 88 por ciento de germinación.

35

De estos resultados, se han indicado resultados positivos en: el tiempo de germinación de las semillas, es decir, velocidad de germinación de las semillas; porcentaje de germinación; y velocidad de desarrollo de los semilleros.

40

Ejemplo 5

Se pulverizó una vez trigo comercial crecido en el campo con la composición de piroglutamato (relación de isómeros 85:15) de L:D) en la etapa de las últimas hojas utilizando la misma disolución de tratamiento que se ha descrito en los otros tratamientos de plantas de los inventores. Se cosecharon los granos durante la madurez; las parcelas tratadas dieron como resultado 0,65 T/hectárea más (un aumento del 7%) de grano (semilla) que las parcelas sin tratar.

45

50

Ejemplo 6

5 Se hicieron crecer uvas de mesa comerciales que se pulverizaron dos veces la primera vez a 6-12 pulgadas (15,24-30,48 cm) de crecimiento de nuevas viñas y la segunda pulverización 2 meses después. Se aplicó la composición de piroglutamato (relación de isómeros 85:15 de L:D) a una tasa de 25 g por acre (25 g por 0,40 ha).

Ejemplo 7

10 Se llevó a cabo una prueba para medir la disminución mediante piroglutamato del estrés inducido por 2,4-D en una planta monocotiledónea de cultivo, la avena.

15 Se trataron plantas de avena en crecimiento con una mezcla de piroglutamato (relación de isómeros 85:15 de L:D) y 2,4 D y se vigiló su crecimiento. Se trataron semilleros de avena, que crecían vigorosamente en un invernadero, con una mezcla de 2,4-D y piroglutamato (13,5 g/l). Se incluyó el 2,4-D en la mezcla a 1/4 de la fuerza del campo recomendada, se usó también un tensioactivo / agente humectante (Gly Surf P). Se aplicó la disolución de tratamiento con un pulverizador R&D de mochila utilizando 2 pases sobre las plantas para asegurar que todas las plantas han recibido disolución de tratamiento. Se estimó que esto simulaba una dosis de 1/2 de la fuerza del campo. Se compararon estas plantas con plantas tratadas con el herbicida y el agente tensioactivo/humectante así como con los controles tratados únicamente con el tensioactivo/agente humectante (controles).

20 Se ha encontrado que las plantas tratadas con 1/4 de la fuerza del campo de 2,4-D y piroglutamato fueron más grandes que las tratadas solo con 2,4-D. El peso fresco de la planta promedio en la plantas del control fue de 10,4 g, mientras que el peso fresco de la planta promedio en las plantas tratadas con 1/4 de la fuerza del campo de 2,4-D fue de 2,29 g y el peso fresco de la planta promedio en las plantas tratadas con 1/4 de la fuerza del campo de 2,4-D con el piroglutamato fue de 7,11 g. De esta manera, la incorporación del piroglutamato con el herbicida disminuyó claramente el impacto negativo del herbicida. Las posibilidades de esto incluyen: (a) utilizar el tratamiento de las plantas con el piroglutamato donde el herbicida puede ser rociado en exceso de forma no intencionada, y, (b) uso directo de una combinación de un herbicida y piroglutamato adecuados (de una relación de isómeros preseleccionada tal como 85:15 de L:D).

30 Ejemplo 8

35 Se llevó a cabo una prueba para demostrar que una formulación de un herbicida (2,4-D) con piroglutamato (relación de isómeros 85:15 de L:D) añadido no reduce la eficacia del efecto herbicida sobre las plantas dicotiledóneas.

40 Se trataron dos plantas dicotiledóneas, trébol blanco y don Diego de día con la aplicación de la fuerza del campo recomendada por el fabricante y se midió la velocidad de marchitamiento. Las plantas de don Diego de día y de trébol blanco en crecimiento (25 en cada tratamiento) tratadas tanto con 2,4-D solo como una mezcla de 2,4-D y piroglutamato se marchitaron con la misma eficacia, 100%.

REIVINDICACIONES

1. Una composición que comprende:
 - 5 una mezcla de estereoisómeros L y D de piroglutamato en una relación de L a D de entre 80:20 a 97:3, y un medio portador para la aplicación de dichos estereoisómeros L y D de piroglutamato a una planta diana.
2. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 donde la relación de los estereoisómeros L a D es de 80.20 a 95:5.
 - 10 3. Una composición de acuerdo con la reivindicación 1 y la reivindicación 2 donde dicho medio portador es una disolución acuosa que incluye un tensioactivo y un agente humectante.
4. Una composición de acuerdo con la reivindicación 3 donde dicha composición incluye además un herbicida.
 - 15 5. Una composición de acuerdo con la reivindicación 4 donde dicho herbicida es ácido 2,4-diclorofenoxi acético.
6. Un procedimiento para aumentar el comportamiento agronómico de una planta diana que comprende:
 - 20 tratar una planta diana con una composición de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.
7. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6 donde dicha planta diana se selecciona entre el grupo de monocots, dicots, crucíferas, solanáceas y legumbres.
 - 25 8. Un procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6 o la reivindicación 7 donde dicho comportamiento agronómico se selecciona entre el grupo que consiste en el crecimiento de la planta, el potencial de floración, el rendimiento y la resistencia de la planta al estrés producido por un herbicida.
9. Un procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8 donde dicho tratamiento es mediante la aplicación al follaje de una planta diana.
 - 30 10. Un procedimiento de acuerdo con las reivindicaciones 6 a 8 donde dicho tratamiento es mediante la aplicación a las raíces de una planta diana.
11. Un procedimiento para tratar las semillas antes de la plantación que comprende humedecer las semillas directamente con una disolución de una composición que incluye una mezcla de estereoisómeros L y D de piroglutamato en una relación de L a D de entre 80:20 a 97:3.
 - 35 12. El procedimiento de la reivindicación 11 donde dichas semillas proceden del grupo que consiste en arroz o pimientos.
- 40 13. Una composición de revestimiento de semillas de acuerdo con la reivindicación 1.