

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 636 363**

21 Número de solicitud: 201630412

51 Int. Cl.:

A01N 43/38 (2006.01)

C05F 11/10 (2006.01)

A01P 21/00 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION CON EXAMEN

B2

22 Fecha de presentación:

05.04.2016

43 Fecha de publicación de la solicitud:

05.10.2017

Fecha de modificación de las reivindicaciones:

29.11.2017

Fecha de la concesión:

26.04.2018

45 Fecha de publicación de la concesión:

07.05.2018

73 Titular/es:

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN Y
TECNOLOGÍA AGRARIA Y ALIMENTARIA (INIA)
(60.0%)**

Carretera de la Coruña km 7,5

28040 MADRID (Madrid) ES;

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

(25.0%) y

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID (15.0%)

72 Inventor/es:

DEL POZO BENITO, Juan Carlos ;

MANZANO FERNANDEZ, Concepción ;

HOYOS VIDAL, Pilar ;

HERNÁIZ, María Josefa y

POLLMANN, Stephan

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **Uso de compuestos para la regulación del crecimiento vegetal**

57 Resumen:

Uso de compuestos para la regulación del crecimiento vegetal.

La presente invención se refiere al uso de compuestos de fórmula (I) para la regulación del crecimiento vegetal, preferentemente para la regulación del crecimiento radicular, y por extensión, el crecimiento de la planta en general. El uso de dichos compuestos da lugar a un incremento significativo de la masa radicular de las plantas, así como a la inducción precoz de la floración y la formación de frutos. Adicionalmente, el uso de los compuestos de fórmula (I) favorece el crecimiento de los cultivos en medios pobres en nutrientes.

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 40.2.8 LP 11/1986.

ES 2 636 363 B2

Uso de compuestos para la regulación del crecimiento vegetal

DESCRIPCIÓN

5 La presente invención se refiere al campo técnico de los productos agroquímicos y los métodos utilizados en la agricultura para la regulación del crecimiento de las plantas. En particular, la presente invención se refiere al uso de compuestos de fórmula (I) para la regulación del crecimiento vegetal, induciendo respuestas de regulación del crecimiento que resultan en un crecimiento superior de las plantas tratadas, de ciertas
10 partes de las plantas, o más generalmente, un incremento del rendimiento del cultivo. Especialmente, el uso de dichos compuestos da lugar a un incremento significativo de la masa radicular de las plantas, así como a la inducción precoz de la floración y la formación de frutos. Adicionalmente, el uso de los compuestos de fórmula (I) favorece el crecimiento de los cultivos en medios pobres en nutrientes.

15

ESTADO DE LA TÉCNICA

Las tendencias demográficas predicen una duplicación de la población en 2050, lo que conllevará una mayor demanda de alimentos. Esta situación supone un gran reto
20 científico, ya que urge aumentar la producción de cultivos, pero dentro de una agricultura más sostenible. El siglo pasado ha sido testigo de un extraordinario éxito en la mejora de plantas y de técnicas agronómicas, “la revolución verde”, que dio lugar a la duplicación de la productividad de los cultivos consiguiéndose un importante descenso mundial del hambre. En dicha revolución verde, el incremento de la
25 productividad agrícola fue en gran medida el resultado del aumento del uso de insumos, agua y fertilizantes, además del uso de la biotecnología para la mejora genética y consecución de estos nuevos hitos.

Las plantas requieren diversos macro- y micro-nutrientes minerales para su
30 crecimiento. De hecho, uno de los determinantes más relevantes de la productividad agrícola es el estatus nutricional de las cosechas, especialmente en lo concerniente a nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio (K). Tradicionalmente el problema de la nutrición se ha solucionado con aportes masivos de los nutrientes en los fertilizantes. Esta práctica conlleva problemas importantes, como lo es el coste económico de las
35 materias primas y el problema medioambiental del aporte en exceso de nutrientes, que es lavado por las lluvias y contamina los acuíferos promoviendo la eutrofización,

es decir, el enriquecimiento excesivo en nutrientes de un ecosistema en concreto, en este caso particular, de ecosistemas acuáticos, tal como por ejemplo un acuífero (Ansari AA, et al. Springer Netherlands. 2014, pp 17-27; Lewis WM, et al. 2014, Environmental Science & Technology 45: 10300-10305).

5

En la actualidad nos enfrentamos a un reto fundamentalmente diferente que consiste en aumentar el rendimiento de los cultivos dentro de un sistema agrícola sostenible, mediante un menor uso de fertilizantes, agua y pesticidas. Por otro lado, también es recomendable que los cultivos sean capaces de adaptarse a los cambios climáticos que se están dando en la actualidad (Tilman D, et al. Nature. 2002; 418: 671-677). Por ello, para poder dar demanda a estos nuevos retos, la ciencia debe hacer uso de nuevas herramientas biotecnológicas que permitan incrementar la productividad agrícola dentro de una agricultura más sostenible.

10

15

En la mejora y aumento de la producción de cultivos, el estudio del sistema radicular ha tenido una escasa relevancia comparada con el estudio de los órganos aéreos, aunque sí que ha sido utilizado en programas de mejora a través de su uso como porta-injertos. Pero debido a las crecientes necesidades de cultivo, las deficiencias nutricionales de los suelos, la escasez de agua y el cambio climático, han hecho que la manipulación de los sistemas radiculares para hacer los cultivos más eficientes y poder desarrollar una agricultura más sostenible sea una opción biotecnológica con grandes perspectivas (de Dorlodot S, et al. Trends Plant Sci. 2007; 12: 474-481; Den Herder G, et al. Trends Plant Sci. 2010, 15: 600-607). En el pasado se han utilizado tratamientos hormonales para incrementar la productividad de los cultivos (US5614467A1; Tie Cai, et al. Field Crops Research. 2014; 155: 172-183). Sin embargo, estos tratamientos tienen efectos pleiotrópicos (aquéllos fenómenos por los cuales un solo gen es responsable de efectos fenotípicos o caracteres distintos y no relacionados) que pueden alterar muchos procesos de desarrollo en diferente medida, lo que puede incidir en la aparición de efectos secundarios no deseados. Más recientemente también se ha explorado el uso de compuestos químicos para incrementar el rendimiento de cultivos, sin embargo entre todas las moléculas ensayadas pocas han llegado a comercializarse debido a los efectos secundarios que producen en los propios cultivos y en el medio en el que éstos crecen (De Rybel B. et al. Chemistry & Biology. 2009; 16 (6): 594-604; De Rybel B. et al. Nat Chem Biol. 2012; 8(9): 798-805).

20

25

30

35

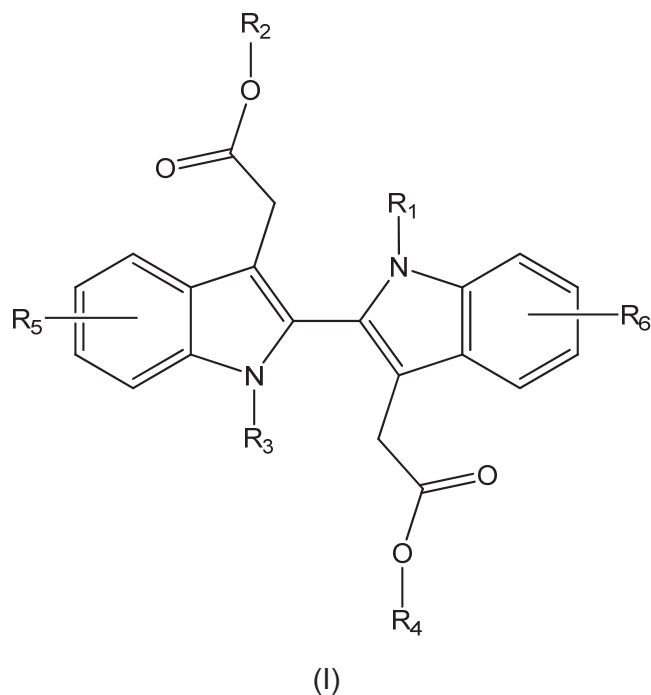
Otra de las estrategias para incrementar el rendimiento de los cultivos ha ido dirigida a la obtención de plantas transgénicas que presentan una modificación de su sistema radicular vía sobre-expresión y/o inhibición de genes concretos implicados en el desarrollo de las raíces (Comas LH. et al. *Frontiers in Plant Science*. 2013; 4:442). Sin embargo, la obtención de dichas plantas se lleva a cabo mediante una metodología costosa y ardua, además de que es imprescindible conocer los mecanismos genéticos y moleculares que determinan tanto el número como la localización de las raíces laterales antes de proceder a la modificación de una planta nativa para obtener la planta transgénica deseada. Otra limitación adicional para el uso de plantas transgénicas es que muchos países prohíben su cultivo.

En este sentido, sigue existiendo en el estado de la técnica la necesidad de aumentar el rendimiento de los cultivos dentro de un sistema agrícola sostenible medioambientalmente.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

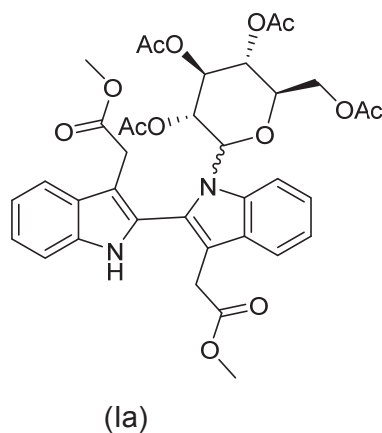
Para solventar las deficiencias existentes en el estado de la técnica mencionadas anteriormente, la presente invención describe el uso de un compuesto de fórmula (I) o de una sal agrícolamente aceptable del mismo, para la regulación del crecimiento, inducción de la floración, y/o formación de frutos en plantas, donde dicho compuesto de fórmula (I) además de aumentar el rendimiento de los cultivos tratados con él, no presenta toxicidad ni en las propias plantas, ni en el suelo sobre el que se cultivan, ni sobre los sujetos, humanos y animales, que se alimenten de dichos cultivos, debido a que es un compuesto natural de origen vegetal, permitiendo así un sistema de agricultura sostenible, incluso en aquellos suelos que son deficientes en nutrientes, tales como nitratos, fosfatos, potasio, hierro, y/o cualquiera de sus combinaciones, siendo preferidos aquellos suelos deficientes en nitratos y/o fosfatos.

El compuesto de fórmula (I), o una sal agrícolamente aceptable del mismo es:



5 donde: R_1 representa un hidrato de carbono; R_2 y R_4 representan independientemente hidrógeno o alquilo (C_1 - C_6); R_3 representa hidrógeno o alquilo (C_1 - C_6); y R_5 y R_6 representan independientemente hidrógeno o halógeno; para regulación del crecimiento, inducción de la floración, y/o formación de frutos en plantas.

10 Tal y como demuestran los inventores, el uso de compuestos de fórmula (I), y más preferentemente el uso del compuesto (Ia),



15 aplicado vía radicular y/o foliar, preferentemente en forma de solución acuosa, induce el crecimiento del sistema radicular, además de inducir la floración, y/o formación de

frutos en plantas. Adicionalmente, la aplicación de dichos compuestos a los cultivos induce la expresión de marcadores moleculares de la respuesta a auxina, pero solo en los primordios de las raíces laterales, sin inhibir el crecimiento de la raíz principal tal y como lo hace la auxina.

5

Dicha regulación del crecimiento, inducción de la floración y/o formación de los frutos se produce preferentemente a través del incremento de la masa radicular, tanto a nivel del incremento de las raíces laterales, así como el incremento de la longitud de la raíz principal, incluso en suelos deficientes en nutrientes, tales como nitratos, fosfatos, potasio, hierro, y/o cualquiera de sus combinaciones, siendo preferidos aquellos suelos deficientes en nitratos y/o fosfatos. Este incremento, preferentemente a nivel radicular también es capaz de acelerar la formación de diferentes órganos de las plantas, incluidos los frutos.

10

15

Las auxinas comprenden un grupo de sustancias, tanto naturales como sintéticas, que participan en la regulación de múltiples aspectos del desarrollo de la raíz, incluyendo el crecimiento de la raíz principal y la formación de las raíces laterales y pelos radiculares. Es interesante destacar que el compuesto (Ia) no moduló todos los procesos regulados por auxinas, sino que existen procesos que no fueron modulados por el tratamiento con los compuestos de fórmula (I), preferentemente con el compuesto (Ia), por lo que es posible que dicho compuesto (Ia) tenga una función específica dentro de la ruta de respuesta a las auxinas, regulando procesos concretos dentro de la fisiología vegetal.

20

25

A efectos de la presente invención, el término "regulación del crecimiento" referido preferentemente a plantas hace referencia a una variedad de respuestas de las plantas que mejoran algunas características de la planta, tales como su crecimiento, floración, síntesis de frutos, etc.

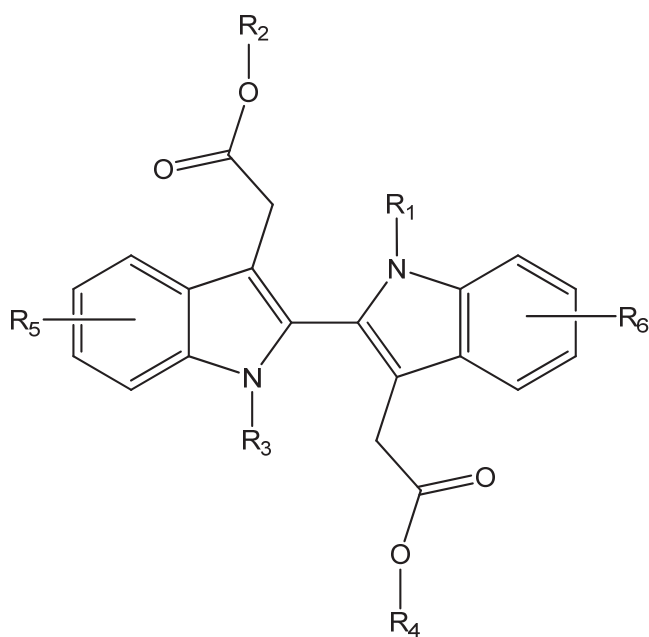
30

A efectos de la presente invención, el término "regulador(es) del crecimiento de la(s) planta(s)" , se refiere a los compuestos, descritos en la presente invención, que poseen actividad en uno o más procesos de regulación del crecimiento de una planta. Dichos compuestos son usados en la práctica de la presente invención en cantidades que no son fitotóxicas con respecto a la planta que se está tratando, pero que estimulan el crecimiento de la misma, o de ciertas partes de la misma. Por lo tanto, estos compuestos también pueden ser llamados "estimulantes de plantas" o

35

“estimulantes del crecimiento vegetal”. Los reguladores del crecimiento vegetal son preferentemente, y sin limitación, productos químicos o de origen natural, también denominados hormonas vegetales (tales como, auxinas, giberrelinas, citoquininas, etileno, brasinoesteroides, estrigolactonas, ácido abscísico, y ácido salicílico; lipooligosacáridos (tales como factores Nod), péptidos (por ejemplo, sistemina), derivados de ácidos grasos (por ejemplo, jasmonatos), y oligosaccharinas, entre otros, o puede ser compuestos producidos sintéticamente como los derivados de origen natural hormonas de crecimiento vegetal, como por ejemplo, etefón. A efectos de la presente invención los reguladores del crecimiento son preferentemente los compuestos de fórmula (I) y sus sales agrícolamente aceptables.

Así, en un primer aspecto la presente invención describe el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal agrícolamente aceptable del mismo:



(I)

donde: R_1 representa un hidrato de carbono; R_2 y R_4 representan independientemente hidrógeno o alquilo (C_1 - C_6); R_3 representa hidrógeno o alquilo (C_1 - C_6); y R_5 y R_6 representan independientemente hidrógeno o halógeno; para regulación del crecimiento, inducción de la floración, y/o formación de frutos en plantas.

La invención también abarca el uso de cualquier estereoisómero, enantiómero, isómero geométrico o tautómero, y mezclas de los compuestos de fórmula (I).

A efectos de la presente invención, el término "sal(es) agrícolamente aceptable(s)" se refiere a las sales cuyos aniones o cationes son conocidos y aceptados en la técnica para la formación de sales para uso agrícola. Sales adecuadas con bases, por ejemplo formadas por compuestos de fórmula (I) que contienen un grupo ácido carboxílico, incluyen metal alcalino (por ejemplo sodio y potasio), metales alcalinotérreos (por ejemplo calcio y magnesio) y sales de amonio. Las sales de amonio incluyen sales de amonio (NH^+) y sales de amonio de aminas orgánicas, (por ejemplo, la dietanolamina, trietanolamina, octilamina, morfolina y dioctilmetilamina sales), y sales de amonio cuaternario (NR^+), por ejemplo, sales de tetrametilamonio. Las sales adecuadas para la adición de ácido, por ejemplo, las formadas por compuestos de fórmula (I) que contienen un grupo amino, incluyen sales con ácidos inorgánicos, por ejemplo hidroccloruros, sulfatos, fosfatos y nitratos y sales con ácidos orgánicos, por ejemplo ácido acético.

El término "alquilo" se refiere a una cadena hidrocarbonada saturada, lineal o ramificada, consistente en átomos de carbono e hidrógeno y que tiene de uno a seis átomos de carbono. Ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, *terc*-butilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo. Preferiblemente el grupo alquilo tiene entre 1 y 3 átomos de carbono, más preferiblemente el alquilo es un metilo.

Por "halógeno" se entiende en la presente invención a un átomo de bromo, cloro o flúor.

El sustituyente R_1 de la fórmula (I) representa un hidrato de carbono. Por hidratos de carbonos nos referimos también a cualquier derivado hidrofóbico, y como derivado consideramos a un hidrato de carbono donde al menos un grupo hidroxilo está sustituido con un resto hidrófobo, incluyendo, pero no limitado a, ésteres y éteres, preferiblemente los derivados son acetilados. En una realización preferida el hidrato de carbono se selecciona de la lista que consiste en: glucosa, manosa, galactosa, xilosa, fructosa, lactosa, y cualquiera de sus derivados, preferiblemente derivados acetilados, como por ejemplo y sin limitarse a *N*-acetilactosamina, *N*-lactobiosa, *N*-acetilglucosamina (GlcNAc), *N*-acetilgalactosamina (GalNAc) o tetraacetato de glucosa. En una realización más preferida, el sustituyente R_1 es glucosa o sus derivados, más preferiblemente tetraacetato de glucosa.

En otra realización más preferida del primer aspecto de la invención, los sustituyentes R_2 y R_4 de la fórmula (I) son iguales y representan un metilo o un hidrógeno. En una realización más preferida, los sustituyentes R_2 y R_4 son iguales y representan un metilo.

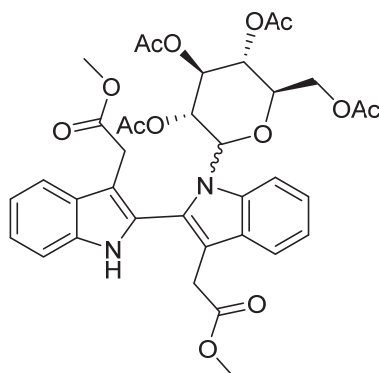
En otra realización más preferida del primer aspecto de la invención, el sustituyente R_3 de la fórmula (I) representa hidrógeno o metilo. En una realización más preferida, el sustituyente R_3 es hidrógeno.

10

En otra realización preferida, R_5 y/o R_6 son hidrógeno.

En otra realización más preferida del primer aspecto de la invención, el compuesto de fórmula (I) es preferentemente el compuesto (Ia):

15



Compuesto (Ia)

donde R_1 es tetraacetato de glucosa, R_2 y R_4 son iguales y representan un metilo y R_3 , R_5 y R_6 son hidrógeno.

20

En una realización más preferida aún, el uso de los compuestos de fórmula (I) se caracteriza por que son administrados a las plantas en forma de solución acuosa vía radicular, aunque también pueden ser administrados vía foliar mediante, preferentemente, pulverización. En otra realización más preferida aún, la solución acuosa es preferentemente agua de riego.

25

En otra realización más preferida, el uso de los compuestos de fórmula (I) se caracteriza por que la concentración administrada del mismo sobre las plantas se

encuentra en el rango de 0,05 a 5 μM en una solución acuosa, preferentemente 2,5 μM , o alternativamente a una concentración de entre 700-3500 $\mu\text{g/L}$, preferentemente 1800 $\mu\text{g/L}$, o alternativamente entre un 0.001-0.0001% respecto al volumen de la solución acuosa. En otra realización más preferida aún, la concentración administrada de compuesto de fórmula (I) va a depender de cada especie o cultivo concreto, y un experto medio en la materia es capaz de determinar la concentración de dicho compuesto que se deberá administrar.

A efectos de la presente invención, la solución acuosa además de comprender al menos uno de los compuestos de fórmula (I), preferentemente el compuesto de fórmula (Ia), a las concentraciones indicadas, puede comprender otros compuestos, tales como por ejemplo nutrientes, fertilizantes, plaguicidas, insecticidas, acaricidas, herbicidas, fungicidas, así como otros reguladores del crecimiento.

En otra realización más preferida, el uso de los compuestos de fórmula (I) se caracteriza por que induce un incremento de al menos un 20% de la masa radicular vegetal en aquellas plantas tratadas con dichos compuestos respecto a las plantas control no tratadas con ellos.

En otra realización preferida, el uso de los compuestos de fórmula (I) se caracteriza por que induce el crecimiento incluso en suelos deficientes en nutrientes, preferentemente en suelos deficientes en nitratos, fosfatos, potasio, hierro, o cualquiera de sus combinaciones, y más preferentemente deficientes en nitratos y/o fosfatos.

En otra realización preferida, el uso de los compuestos de fórmula (I) se caracteriza por que la planta a la que se le aplica es una planta ornamental y/o de cultivo.

En otra realización más preferida aún, la planta se selecciona de entre cualquiera de la lista que consiste en: tomate, lechuga, trigo, cebada, centeno, arroz, maíz, remolacha azucarera, algodón o soja.

Otro aspecto descrito en la presente invención se refiere a una composición, preferentemente una composición acuosa que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) según se ha definido a lo largo del presente documento, o una sal agrícolamente aceptable.

En una realización preferida, la composición acuosa de la invención es una solución acuosa que comprende preferiblemente agua de riego. En otra realización más preferida, la composición acuosa de la invención se caracteriza por que el compuesto de fórmula (I), más preferiblemente el compuesto de fórmula (Ia), se encuentra en dicha composición en el rango de 0,05 a 5 μM , preferentemente 2,5 μM , o alternativamente a una concentración de entre 700-3500 $\mu\text{g/L}$, preferentemente 1800 $\mu\text{g/L}$, o alternativamente entre un 0.001-0.0001% respecto al volumen de la composición acuosa. En otra realización más preferida aún, la concentración va a depender de cada especie o cultivo concreto, y un experto medio en la materia es capaz de determinar la concentración de dicho compuesto que se deberá administrar.

En otra realización más preferida, la composición de la invención comprende además vehículos agrícolamente aceptables, útiles para la regulación de crecimiento de la planta.

El término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o sustancia o combinación de sustancias que puede ser utilizada en el sector agrícola, e incluye cualquier material líquido o sólido agrícolamente aceptable, que pueda añadirse y/o mezclarse con el compuesto de fórmula (I) de la invención, para ponerlo en una forma de aplicación más sencilla o mejorada, o bien con una intensidad de activación aplicable o deseable. Debido a la naturaleza del ingrediente activo de la composición agrícola, (compuesto de fórmula (I), dicho vehículo agrícolamente aceptable tiene que permitir, o no perjudicar ni comprometer, la actividad de dicho compuesto.

Sobre la base de estas composiciones, también es posible adicionarles otros principios activos tales como plaguicidas, insecticidas, acaricidas, herbicidas, fungicidas, y con antídotos, fertilizantes y/o reguladores del crecimiento.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de la composición, preferentemente composición acuosa, para la regulación del crecimiento, inducción de la floración y/o formación de frutos en plantas, mediante la aplicación de una cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I), más preferentemente del compuesto (Ia), o de una composición que lo comprenda, vía radicular, según se ha definido previamente.

Otro aspecto descrito en la presente invención se refiere a un método para la regulación del crecimiento, inducción de la floración y/o formación de frutos en plantas, que comprende la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula (I), más preferentemente del compuesto (Ia), o de una composición, preferentemente acuosa, que lo comprenda, según se ha definido previamente en este documento.

A efectos de la presente invención, el término "cantidad eficaz" o "cantidad efectiva" se refiere a la cantidad necesaria para paliar, mejorar, estabilizar, impedir, retardar o retrasar la progresión de estadios de desarrollo del agente fitófago en cuestión en la planta y obtener, de este modo, unos resultados beneficiosos o deseados. Dicha cantidad eficaz puede aplicarse en una única administración o en varias administraciones. Aunque la cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I), más preferentemente del compuesto (Ia), o de una composición, preferentemente acuosa que lo comprenda, puede variar dentro del intervalo de 0.05 a 5 μM , preferentemente 2,5 μM , o alternativamente de entre 700-3500 $\mu\text{g/L}$, preferentemente 1800 $\mu\text{g/L}$, o alternativamente entre un 0,001 a un 0,0001% respecto al volumen de la solución acuosa. En otra realización más preferida aún, la concentración va a depender de cada especie o cultivo concreto, y un experto medio en la materia es capaz de determinar la concentración de dicho compuesto que se deberá administrar.

En una realización más preferida, el método descrito en la presente invención se caracteriza por que el compuesto de fórmula (I), preferentemente el compuesto (Ia), se administra en forma de solución acuosa, preferentemente vía radicular y/o vía foliar, donde la solución acuosa es preferentemente agua de riego. En otra realización más preferida, la administración vía foliar se lleva a cabo mediante pulverización.

En otra realización más preferida del método de la presente invención, este se caracteriza por que los compuestos de fórmula (I), más preferentemente el compuesto (Ia), se administra en una cantidad que varía entre 0.05-5 μM , preferentemente 2,5 μM , o alternativamente de entre 700-3500 $\mu\text{g/L}$, preferentemente 1800 $\mu\text{g/L}$, o alternativamente entre un 0,001 a un 0,0001% respecto al volumen de la solución acuosa.

En otra realización más preferida del método de la presente invención, este se caracteriza por que el compuesto de fórmula (I), más preferentemente el compuesto

(la), induce un incremento de al menos un 20% de la masa radicular vegetal en aquellas plantas tratadas con dichos compuestos respecto a las plantas control no tratadas con ellos.

- 5 En otra realización más preferida, el método de la invención se caracteriza por que el compuesto de fórmula (I), más preferentemente el compuesto (la), induce el crecimiento de las plantas incluso en suelos deficientes en nutrientes. En otra realización más preferida, el compuesto (la) induce el crecimiento de las plantas en suelos deficientes en nutrientes seleccionados de entre cualquiera de la siguiente
- 10 lista: nitrato, fosfato, potasio, hierro, o cualquiera de sus combinaciones, siendo preferidos aquellos suelos deficientes en nitratos y/o fosfatos.

En otra realización más preferida, el método de la invención se caracteriza por que la planta es una planta ornamental y/o de cultivo.

- 15 En otra realización más preferida, el método de la invención se caracteriza por que la planta se selecciona de entre cualquiera de la lista que consiste en: tomate, lechuga, trigo, cebada, centeno, arroz, maíz, remolacha azucarera, algodón o soja.

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

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- 30 **FIG. 1.** Desarrollo radicular de plantas de *Arabidopsis thaliana* cultivadas en presencia del compuesto de fórmula (la).

- A)** Fotografías de plantas de *Arabidopsis* crecidas durante 12 días en medio MS1/2 en ausencia o presencia de 5 μ M del compuesto de fórmula (la). Se aprecia un incremento en el número de raíces laterales emergidas y la longitud de las mismas en las plantas tratadas con el compuesto (la). Las gráficas muestran la cuantificación del
- 35 aumento de la longitud relativa de la raíz principal o del aumento del crecimiento de la longitud de las raíces laterales de plantas de *Arabidopsis* tratadas con el compuesto

(la) respecto a las plantas control (tratadas con el solvente metanol), mostrando una amplificación del sistema radicular total.

B) El tratamiento de plantas de *Arabidopsis* con el compuesto (la) (5 μ M) induce la expresión de marcadores de formación de raíces laterales (SKP2B::GUS) y de respuesta a las auxinas (DR5::GUS) solo en los puntos de emergencia de las raíces laterales (RL). Los paneles izquierdo y central muestran un incremento en el número de primordios de raíces laterales (SKP2B::GUS) demostrando que el compuesto (la) induce la formación de primordios (flechas) y en zonas de la raíz entre primordios laterales. En el panel de la derecha se observa como el tratamiento con el compuesto

(la) induce el marcador de respuesta a auxinas (DR5::GUS) en los primordios de raíces laterales. Sin embargo, el tratamiento con el compuesto (la) no induce la expresión de dichos marcadores en los meristemos radiculares principales (asterisco), evitando efectos secundarios no deseados como la inhibición del meristemo radicular.

C) El tratamiento con el compuesto (la) (5 μ M) induce un mayor número de primordios de raíces laterales que el tratamiento con la auxina endógena ácido indol acético (IAA) a las concentraciones de 0,25, 0,5 o 1 μ M durante 6, 24, 48 o 120 horas. En las fotografías se muestran como ya a las 3h de cultivo en presencia del compuesto (la), las plantas muestran un incremento de las raíces laterales respecto a las plantas control. En la gráfica se muestra en el eje Y la cuantificación de la expresión del marcador DR5:LUC (marcador de primordios de raíces laterales; LUC: luciferasa).

FIG. 2. Efecto del tratamiento con el compuesto (la) durante el crecimiento de plantas de *Arabidopsis thaliana* en medios deficientes en (-Pi) o en nitrato (-N) durante 12 días.

A) y C). Fotografías de plantas cultivadas en medio MS1/2 (Murashige-Skoog), medio MS1/2 deficiente en nitrato (-N), o medio MS1/2 deficiente en fosfato (-Pi) y tratadas o no con el compuesto (la) a una concentración de 5 μ M.

B) Cuantificación de la longitud del la raíz principal, de las raíces laterales, de la suma total (longitud del sistema radicular) y del número de raíces laterales emergidas en medio MS1/2 o en medio MS1/2 sin nitrato (-N).

D) Cuantificación de la longitud del la raíz principal, de las raíces laterales, de la suma total (longitud del sistema radicular) y del número de raíces laterales emergidas en medio MS1/2 o en medio MS1/2 sin fosfato (-Pi).

E) Patrón de expresión del marcador de respuesta a deficiencia de fosfato IPS1::GUS. Las plantas *Arabidopsis* que expresan el marcador IPS1::GUS se crecieron durante 12 días en medio MS1/2 con solo 30 μ M de fosfato y se analizó la

actividad GUS poniendose de manifiesto que el tratamiento con el compuesto (Ia) a diferentes concentraciones redujo la intensidad y expresión de IPS1, lo que sugiere una mayor captación de Pi en medios que contienen poco fosfato.

- 5 **FIG. 3.** Cuantificación de la producción de frutos en plantas de tomate variedad MoneyMaker cultivadas en invernadero durante 20 semanas y tratadas una vez a la semana con el compuesto (Ia) disuelto en el agua de riego (10 mL de agua conteniendo 2 μ M del compuesto (Ia)). Después de la aparición de los primeros frutos, se contó cada semana el número de tomates producidos en grupos de 10 plantas.

10

EJEMPLOS

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la efectividad del producto de la invención.

15

Ejemplo 1. Efecto del tratamiento con el compuesto (Ia) sobre el crecimiento radicular de plantas.

20

Plantas de *Arabidopsis* utilizadas presentan los marcadores de raíces laterales y primordios de raíces laterales pSKP2B:GUS (Manzano C, et al. Plant Physiol. 2012, 160: 749-762) o el marcador de respuesta a auxinas DR5:GUS (Ulmasov T, et al. 1997. Plant Cell 9: 1963-1971) y DR5:LUC (Moreno-Risueno MA, et al. Science. 2010, 329: 1306-1311).

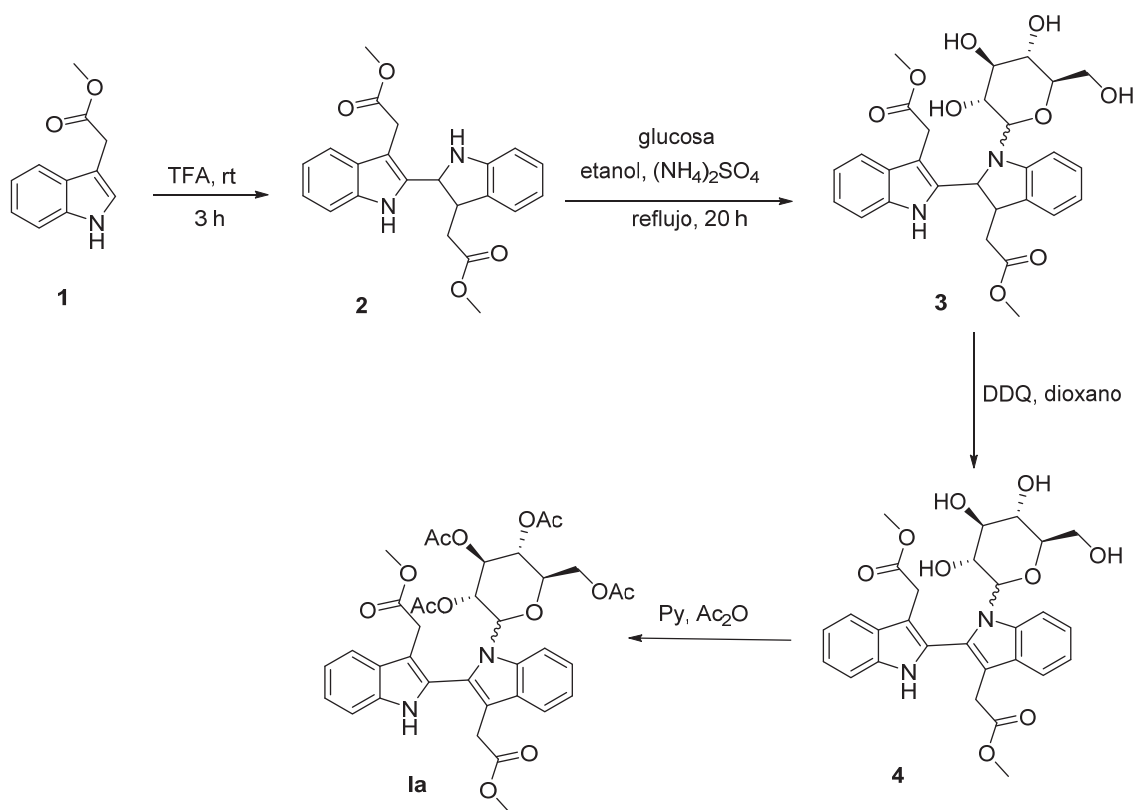
25

Para los cultivos *in vitro* de *Arabidopsis* se utilizaron placas Petri cuadradas de 12x12 cm y se cultivaron siguiendo el sistema D-Root (Silva-Navas J, et al. The Plant Journal. 2015, 84: 244-255). Este sistema permite crecer las plantas *in vitro* con el sistema radicular en oscuridad y la parte aérea en presencia de luz, simulando lo que ocurre en la naturaleza y por lo tanto, aportando resultados más reales. El medio de cultivo utilizado fue el medio de cultivo MS modificado para que contenga la mitad de sales. Dicho medio modificado lo denominaremos a partir de aquí, medio MS1/2 (Murashige T y Skoog F. Physiologia Plantarum. 1962, 15: 473-497). El medio se ajusta a un pH=5,7 y se gelifica con Plant Agar (1%) (Duchefa). El medio MS1/2 contiene como macronutrientes: nitrato amónico (NH_4NO_3) 1,650 mg/l; cloruro de calcio ($\text{CaCl}_2/2\text{H}_2\text{O}$) 220 mg/l; sulfato de magnesio ($\text{MgSO}_4/7\text{H}_2\text{O}$) 185 mg/l, fosfato potásico (KH_2PO_4) 85 mg/l; nitrato de potasio (KNO_3) 950 mg/l y como micronutrientes:

35

ácido bórico (H_3BO_3) 3,1 mg/l; cloruro de cobalto ($\text{CoCl}_2/6\text{H}_2\text{O}$) 0,0125 mg/l; sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4/5\text{H}_2\text{O}$) 0,0625 mg/l; sulfato ferroso ($\text{FeSO}_4/7\text{H}_2\text{O}$) 13,9 mg; sulfato de manganeso ($\text{MnSO}_4/4\text{H}_2\text{O}$) 11,15 mg/l; yoduro de potasio (KI) 0,415 mg/l; molibdato sódico ($\text{Na}_2\text{MoO}_4/2\text{H}_2\text{O}$) 0,125 mg/l; sulfato de zinc ($\text{ZnSO}_4/7\text{H}_2\text{O}$) 4,3 mg/l; EDTA de sodio/ $2\text{H}_2\text{O}$ 18,1 mg/l y Vitaminas: I-Inositol 50 mg/l; Niacina 0,25 mg/l; Piridoxina/HCl 0,25 mg/l; Tiamina/HCl 0,05 mg/l; y glicina 1 mg/l.

El compuesto (Ia) se ha descrito a través del proceso sintético mostrado en el Esquema 1, mediante 5 pasos de reacción a partir del éster metílico del ácido indolacético (IAA, **1**) según se detalla en Chisholm y Vranken, J. Org. Chem., 1995, 60, 6672-6673; Gilbert *et al.*, Tetrahedron 1997, 53, 16553-16564; Bergman *et al.*, J. Chem. Soc., Perkin Trans I, 2000, 2609-2614. Esta ruta incluye un paso de glicosilación del intermedio **2**, a través de metodologías de química clásica de azúcares, responsable de la obtención de bajos rendimientos del producto final Ia.



Donde: TFA es ácido trifluoroacético, rt es temperatura ambiente, DDQ es 3-dicloro-5,6-diciano-p-benzoquinona, Py es piridina y Ac₂O es anhídrido acético.

Dicho compuesto se disuelve en metanol a una concentración final de 50 mM. Para añadirlo al medio de cultivo se diluye previamente en 200 µl de metanol a los que posteriormente se añade 800µl de agua para facilitar su dilución. Finalmente, este mililitro que comprende agua:metanol:compuesto de fórmula (Ia) se añade al medio de cultivo antes de su gelificación, que se produce a una temperatura aproximada de 50°C.

Las plantas de Arabidopsis portando los marcadores de raíces laterales y primordios de raíces laterales pSKP2B:GUS o el marcador de respuesta a auxinas DR5:GUS y DR5:LUC se crecieron en medios MS1/2 en presencia o ausencia de 5 µM del compuesto de fórmula (Ia), durante 12 días. Los cultivos que no fueron tratados con el compuesto de fórmula (Ia) se les añadió metanol, que es el solvente en el que se disuelve el compuesto de fórmula (Ia), para asegurar que los cultivos crezcan en las mismas condiciones. Transcurrido dicho tiempo se procedió al análisis morfológico del sistema radicular. En primer lugar se tomaron fotografías de los cultivos y posteriormente se tiñeron las plantas para determinar la actividad GUS y así detectar y cuantificar la expresión de los genes marcadores de raíces laterales y primordios de raíces laterales pSKP2B::GUS y el marcador de respuesta a auxinas DR5:GUS, siguiendo el protocolo descrito en del Pozo JC, et al. Plant Cell. 2002, 14: 3057-3071. Para determinar la actividad GUS, las plantas se tiñen introduciéndolas en un medio que contiene 50 mM de tampón fosfato sódico pH=7, 0,1% Triton X100 y 0,1% de acetona. Se mantienen en dicha solución durante 6 horas a una temperatura de 37°C. Transcurrido dicho tiempo las plantas se extraen de dicha solución y se incuban durante otras 3 horas en una solución de etanol al 90%. Posteriormente, se sustituye el etanol por una solución de agua destilada y se procede a tomar fotografías de las plantas teñidas utilizando una cámara acoplada a una lupa Leica z9. Las longitudes de las raíces laterales se cuantificaron con el programa Fiji/ImagenJ.

Tal como se muestra en la Fig. 1A, las plantas de Arabidopsis tratadas con el compuesto (Ia) presentan un incremento en el número de raíces laterales emergidas, tanto a nivel de la longitud relativa de la raíz principal, como del crecimiento de la longitud de las raíces laterales respecto a las plantas de Arabidopsis que no se trataron con dicho compuesto. Estos resultados ponen de manifiesto la amplificación

del sistema radicular total de las plantas tratadas con el compuesto (Ia) respecto a las plantas control no tratadas.

La cuantificación de los primordios de raíces laterales se llevó a cabo analizando la expresión del marcador de respuesta a auxinas DR5::LUC que permite cuantificar los primordios a lo largo del tiempo. Para ello, las plantas de *Arabidopsis* que comprenden dicho marcador se crecieron durante 5 días en medio MS1/2. Posteriormente se trasplantaron a medios conteniendo el solvente control (metanol), o 5 μ M de compuesto (Ia). Transcurridos dichos tiempos se tomaron fotografías del marcador LUC (tal como se describe en Moreno-Risueno MA, et al. Science. 2010. 329: 1306-1311) y se cuantificó su número. Para ello, las plántulas tratadas con o sin compuesto de fórmula (Ia) se crecieron con 100 μ M de luciferina, que en presencia de la enzima Luciferasa emite luz. Esta emisión se capta con una lupa de luminiscencia (acoplada cámara CCD de alta sensibilidad). Como la expresión de la enzima luciferasa está bajo el control del promotor DR5 que marca primordios de raíces laterales, el conteo de puntos luminiscentes permite calcular el número de primordios laterales desarrollados *in vivo* en un determinado tiempo por planta.

Como se puede ver en la Fig. 1B, el tratamiento con el compuesto (Ia) induce la expresión de marcadores de formación de raíces laterales (pSKP2B::GUS) y de respuesta a las auxinas, específicamente en aquéllos puntos de la raíz de la planta de los que emergen las raíces laterales.

Dado que el ácido indol acético (IAA) es una auxina natural, se llevó a cabo un ensayo comparando la capacidad de inducción de la expresión de los marcadores de formación de raíces laterales indicados anteriormente en presencia del compuesto (Ia) a la concentración de 5 μ M o en presencia de la auxina natural IAA a diferentes concentraciones: 0,25, 0,5 o 1 μ M, durante 6, 24, 48 o 120 horas. Transcurridos dichos tiempos se analizó el número de puntos que expresaban el marcador DR5::LUC. Como se observa en la Fig. 1C, el compuesto (Ia) induce más número de primordios de raíces laterales que la auxina endógena IAA.

Todos estos resultados ponen de manifiesto que el tratamiento con el compuesto (Ia) descrito en la presente invención induce la expresión de marcadores moleculares de la respuesta a auxinas, como es la expresión de DR5::GUS en la zona de formación de raíces laterales (Fig. 1B), pero no induce su expresión en los meristemos. Sin

embargo, otros procesos regulados por las auxinas, y en principio, negativos para el sistema radicular, como es la inhibición de la elongación de las raíces, no se ven afectados por el tratamiento de los cultivos con el compuesto (Ia) (Fig. 1B). Por ello, es posible que el compuesto (Ia) funcione, al menos parcialmente, como hormona de tipo auxínica, regulando sólo algunos procesos determinados. Adicionalmente, se ha puesto de manifiesto que el compuesto (Ia) es más efectivo que la auxina endógena natural IAA induciendo la formación de un mayor número de primordios de raíces laterales (Fig. 1C). Por lo tanto, todos estos resultados indican que el compuesto (Ia) es capaz de incrementar el número de primordios de raíces laterales y la longitud de los mismos, incrementándose así el tamaño del sistema radicular en general de las plantas tratadas con dicho compuesto.

Ejemplo 2. Efecto del tratamiento con el compuesto (Ia) sobre el crecimiento radicular de plantas cultivadas en suelos deficientes en fosfatos o nitratos.

Para demostrar la capacidad del compuesto (Ia) en la inducción del crecimiento del sistema radicular de plantas que crecen en medios carentes de fosfato o nitratos, se llevaron a cabo ensayos con plantas de Arabidopsis que se crecieron y germinaron en medio de cultivo MS1/2 con una baja concentración de nitrógeno (-N), o medio MS1/2 con una baja concentración de fosfato (-Pi). Dicho medio de cultivo se ajustó a un pH=5,7 y se gelifica con Plant Agar (1%) (Duchefa).

Para analizar el efecto del compuesto (Ia) en el desarrollo radicular en situaciones de deficiencia de nutrientes se cultivaron plantas de Arabidopsis en un medio MS1/2 completo en ausencia de nitrato (-N) y fosfato (-Pi), y con y sin el compuesto (Ia) a la concentración de 5 μ M (Figura 2A y C, respectivamente). A los 12 días de crecimiento las plantas se fotografiaron y se calculó el crecimiento en milímetros (mm) de la raíz principal, el de todas las raíces secundarias laterales emergidas y la suma de ambos (crecimiento total del sistema radicular). Por otro lado, también se contabilizó el número de raíces laterales emergidas en cada condición (Figura 2B y D).

Para analizar la respuesta molecular a la deficiencia de fosfato (-Pi) en el medio de cultivo, se cultivaron plantas de Arabidopsis que expresaban el marcador IPS1::GUS en un medio MS1/2 con solo 30 μ M de Pi, y con y sin el compuesto (Ia) a diferentes concentraciones (0,1; 2,5 o 5 μ M) (Figura 2E). Posteriormente, dichas plantas se tiñeron, según se ha indicado anteriormente, para analizar la actividad GUS y se

observó que el tratamiento con el compuesto (Ia) reduce la inducción de IPS1 y acorta significativamente el sistema radicular de las plantas cultivadas en medios deficientes en fosfato. Este resultado sugiere por tanto que el tratamiento con el compuesto (Ia) favorece la absorción de Pi cuando este nutriente se encuentra en bajas concentraciones en el medio.

Por lo tanto, los resultados mostrados en la Fig. 2 en su conjunto ponen de manifiesto que el tratamiento con el compuesto (Ia) durante el crecimiento de las plantas en medio deficiente en fosfato (-Pi) (Fig. 2C y D) o en nitrato (-N) (Fig. 2A y B) durante 12 días acorta significativamente el sistema radicular principal de las plantas cultivadas en medios deficientes en fosfato (FIG. 2D), pero estimula significativamente el sistema radicular lateral de las plantas cultivadas en medios deficientes en nitratos y fosfatos (Fig. 2B y D).

Ejemplo 3. Inducción de la formación de frutos en plantas de tomate cultivadas en presencia del compuesto (Ia).

Además de cuantificar la inducción del crecimiento del sistema radicular, se cuantificó la formación de frutos en plantas de tomate de la variedad Moneymaker cultivadas en presencia del compuesto (Ia).

Los cultivos de plantas de tomate de la variedad Moneymaker se crecieron en invernadero con condiciones controladas y fotoperiodo de 18 h luz/8 h oscuridad durante 20 semanas. Dichas plantas se crecen en macetas con un sustrato de tierra: vermiculita 3:1 y se riegan 3 días por semana añadiendo agua sobre las bandejas inferiores, no en la propia maceta. El tratamiento de las plantas de tomate se llevó a cabo aplicando el compuesto (Ia) en el agua de regadío y añadiendo dicha agua sobre la tierra que se encuentra al lado del tallo de las plantas. De los tres días de riego, solo en uno de los días se añadía el compuesto (Ia) a dicho agua de riego, utilizando para dicho riego 10 mL de agua conteniendo 2 μ M del compuesto (Ia). Todas las semanas se cuantifica la formación de frutos, en grupos de diez plantas, a partir del día que se cuantifica el primer tomate.

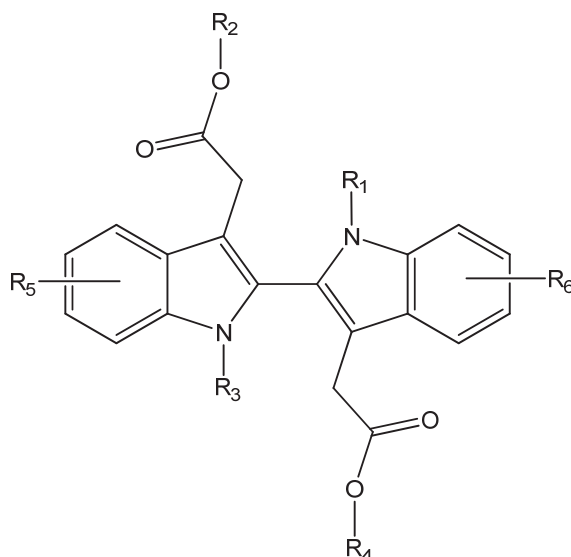
Los resultados mostrados en la Fig. 3 demuestran que el tratamiento de las plantas de tomate con el compuesto (Ia) en el agua de regadío acelera la producción de frutos de tomate, observándose que a partir de la semana 7 se forman un numero de frutos de

tomate significativamente más alto en las plantas tratadas con dicho compuesto (Ia) que en las plantas control, no tratadas. Estos resultados evidencian que el compuesto (Ia) promueve el crecimiento y acelera la formación de diferentes órganos de las plantas, incluidos los frutos.

5

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal agrícolamente aceptable del mismo

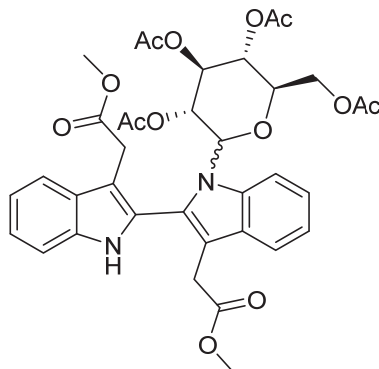


(I)

donde: R_1 representa un hidrato de carbono; R_2 y R_4 representan independientemente hidrógeno o alquilo (C_1 - C_6); R_3 representa hidrógeno o alquilo (C_1 - C_6); y R_5 y R_6 representan independientemente hidrógeno o halógeno; para la regulación del crecimiento, inducción de la floración, y/o formación de frutos en plantas.

2. Uso según la reivindicación 1 donde R_1 es tetraacetato de glucosa.
3. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, donde R_2 y R_4 son iguales y representan un metilo o hidrógeno.
4. Uso según la reivindicación 3, donde R_2 y R_4 son metilo.
5. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde R_3 representa hidrógeno o metilo.
6. Uso según la reivindicación 5, donde R_3 es hidrógeno.
7. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde R_5 y/o R_6 son hidrógeno.

8. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, donde el compuesto de fórmula (I) es el compuesto (Ia)



5

Compuesto (Ia)

9. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 caracterizado por que el compuesto de fórmula (I) se aplica en una cantidad de 0,05 a 5 μM , preferiblemente a una concentración de 2,5 μM .
10. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 caracterizado por que el compuesto de fórmula (I) se aplica en una cantidad de entre 700 a 3500 $\mu\text{g/L}$, preferiblemente a una concentración de 1800 $\mu\text{g/L}$.
11. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 caracterizado por que se administra a las plantas en forma de solución acuosa.
12. Uso según la reivindicación 11 donde la solución acuosa es preferentemente agua de riego.
13. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12 donde la solución acuosa se administra vía radicular y/o vía foliar.
14. Uso según la reivindicación 13 caracterizado por que la administración vía foliar se realiza mediante pulverización.
15. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 caracterizado por que produce un incremento de al menos un 20% de la masa radicular vegetal de las plantas tratadas respecto a las plantas control.

30

16. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 caracterizado por que el crecimiento de la planta se produce además en suelos deficientes en nutrientes.
- 5 17. Uso según la reivindicación 16 caracterizado por que el suelo es deficiente en cualquiera de los nutrientes seleccionados de la lista que consiste en: nitratos, fosfatos, potasio, hierro, o cualquiera de sus combinaciones.
18. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 16 a 17 caracterizado por que el suelo es deficiente en nitratos y/o fosfatos.
- 10 19. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18 caracterizado por que la planta es una planta ornamental y/o de cultivo.
20. Uso según la reivindicación 19 caracterizado por que las plantas se seleccionan de la lista que consiste en: tomate, lechuga, trigo, cebada, centeno, arroz, maíz, remolacha azucarera, algodón o soja.
- 15 21. Uso de una composición acuosa que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) según se han definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una sal agrícolamente aceptable, para la regulación del crecimiento, inducción de la floración, y/o formación de frutos en plantas.
- 20 22. Uso de la composición acuosa según la reivindicación 21 que además comprende vehículos y/o excipientes agrícolamente aceptables.
- 25 23. Uso de la composición acuosa según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 22 caracterizada por que la concentración de compuesto de fórmula (I) varía de entre 0,05 a 5 μM , preferiblemente 2,5 μM .
- 30 24. Uso de la composición acuosa según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 22 caracterizada por que la concentración de compuesto de fórmula (I) varía de entre 700 a 3500 $\mu\text{g/L}$, preferiblemente 1800 $\mu\text{g/L}$.
- 35 25. Uso de la composición acuosa según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 24 caracterizada por que se administra a las plantas vía radicular y/o foliar.

26. Uso de la composición acuosa según la reivindicación 25 donde la administración vía foliar se realiza mediante pulverización.
27. Uso de la composición acuosa según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 26
5 que además comprende al menos otro principio activo seleccionado de la lista que consiste en: nutrientes, fertilizantes, plaguicidas, insecticidas, acaricidas, herbicidas, fungicidas, reguladores del crecimiento, o cualquier combinación de los mismos.
- 10 28. Uso de la composición acuosa según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 27 caracterizado por que el crecimiento de la planta se produce en suelos deficientes en nutrientes.
- 15 29. Uso de la composición acuosa según la reivindicación 28 caracterizado por que el suelo es deficiente en cualquiera de los nutrientes seleccionados de la lista que consiste en: nitratos, fosfatos, potasio, hierro, o cualquiera de sus combinaciones.
- 20 30. Uso de la composición acuosa según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 29 caracterizado por que el suelo es deficiente en nitratos y/o fosfatos.
31. Uso de la composición acuosa según cualquiera de las reivindicaciones 21 a 30 caracterizado por que la planta es una planta ornamental y/o de cultivo.
- 25 32. Uso de la composición acuosa según la reivindicación 31 caracterizado por que las plantas se seleccionan de la lista que consiste en: tomate, lechuga, trigo, cebada, centeno, arroz, maíz, remolacha azucarera, algodón o soja.
- 30 33. Método para la regulación del crecimiento, inducción de la floración y/o formación de frutos en plantas, que comprende la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula (I) según se ha definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o de una composición acuosa que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) según se han definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una sal agrícolamente aceptable.
- 35 34. Método según la reivindicación 33 donde la composición acuosa comprende además vehículos y/o excipientes agrícolamente aceptables.

35. Método según cualquiera de las reivindicaciones 33 a 34 donde la composición acuosa comprende además al menos otro principio activo seleccionado de la lista que consiste en: nutrientes, fertilizantes, plaguicidas, insecticidas, acaricidas, herbicidas, fungicidas, reguladores del crecimiento, o cualquier combinación de los mismos.
36. Método según cualquiera de las reivindicaciones 33 a 35 donde la concentración del compuesto de fórmula (I) varía de entre 0,05 a 5 μ M, preferiblemente 2,5 μ M.
37. Método según cualquiera de las reivindicaciones 33 a 35 donde la concentración del compuesto de fórmula (I) varía de entre 700 a 3500 μ g/L, preferiblemente 1800 μ g/L.
38. Método según cualquiera de las reivindicaciones 33 a 37 donde el compuesto de fórmula (I) o la composición acuosa se administran vía radicular y/o foliar.
39. Método según cualquiera de las reivindicaciones 33 a 38 donde la administración vía foliar se realiza mediante pulverización.
40. Método según cualquiera de las reivindicaciones 33 a 39 donde el crecimiento de la planta se produce en suelos deficientes en nutrientes.
41. Método según cualquiera de las reivindicaciones 33 a 40 caracterizado por que el suelo es deficiente en cualquiera de los nutrientes seleccionados de la lista que consiste en: nitratos, fosfatos, potasio, hierro, o cualquiera de sus combinaciones.
42. Método según cualquiera de las reivindicaciones 33 a 41 caracterizado por que el suelo es deficiente en nitratos y/o fosfatos.
43. Método según cualquiera de las reivindicaciones 33 a 42 caracterizado por que la planta es una planta ornamental y/o de cultivo.
44. Método según la reivindicación 43 caracterizado por que las plantas se seleccionan de la lista que consiste en: tomate, lechuga, trigo, cebada, centeno, arroz, maíz, remolacha azucarera, algodón o soja.

Fig. 1A

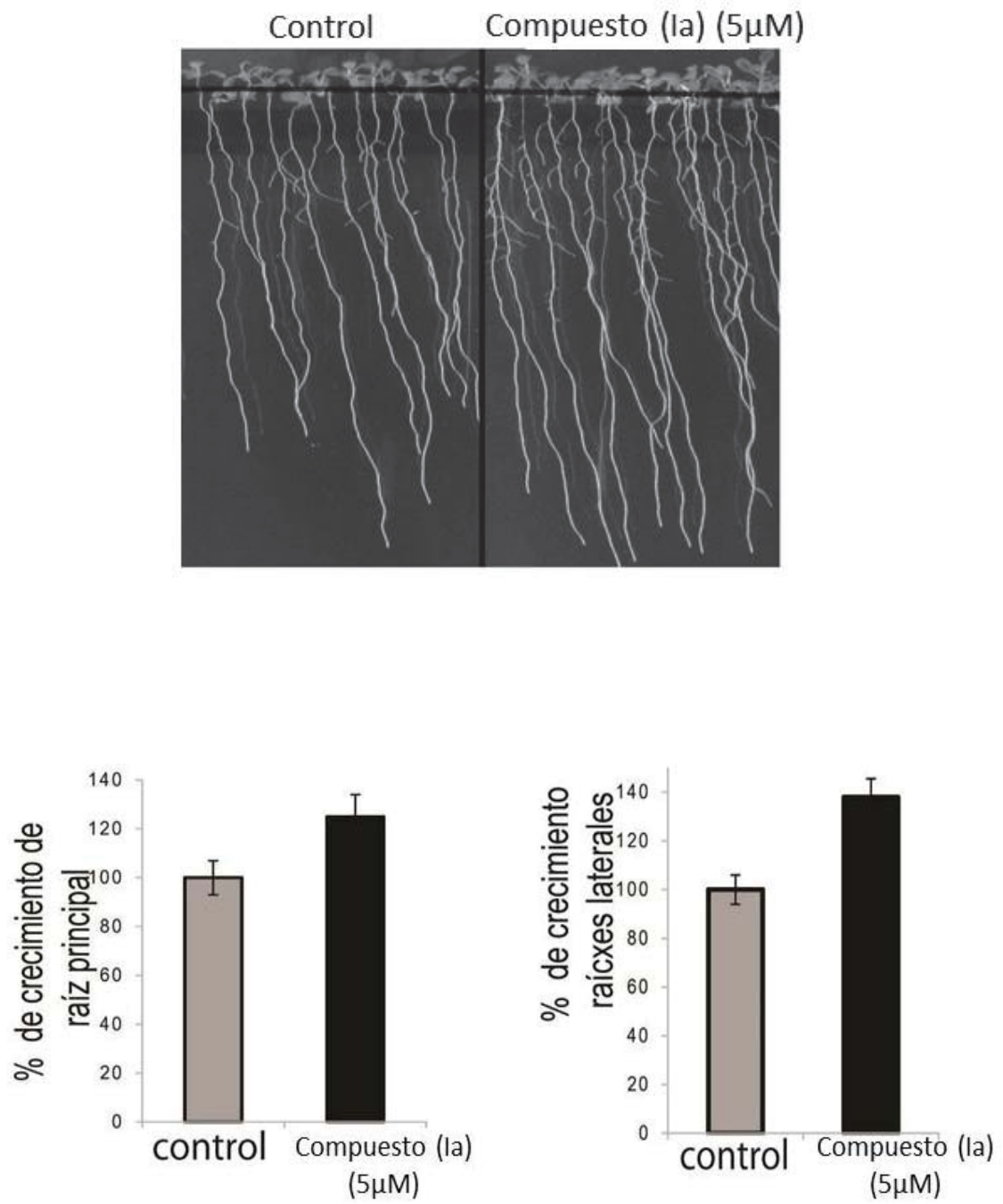


Fig. 1B

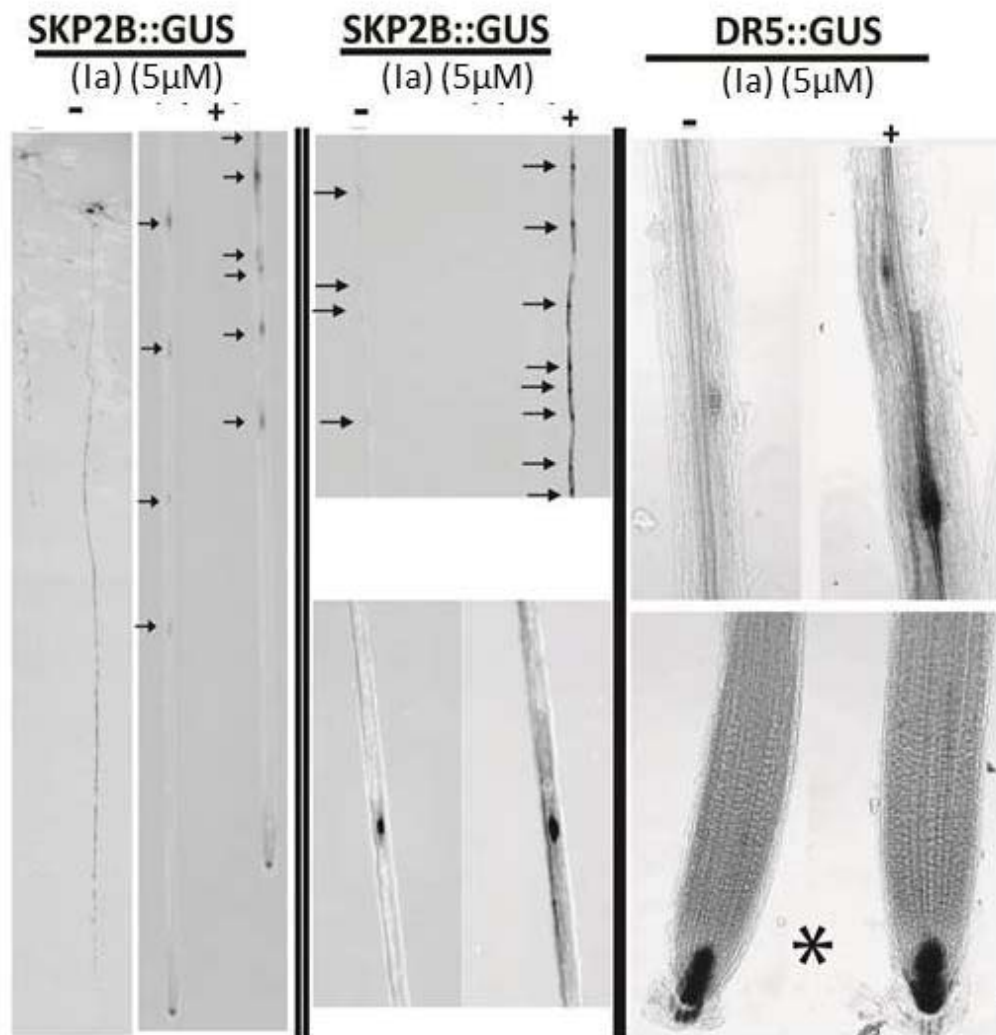


Fig. 1C

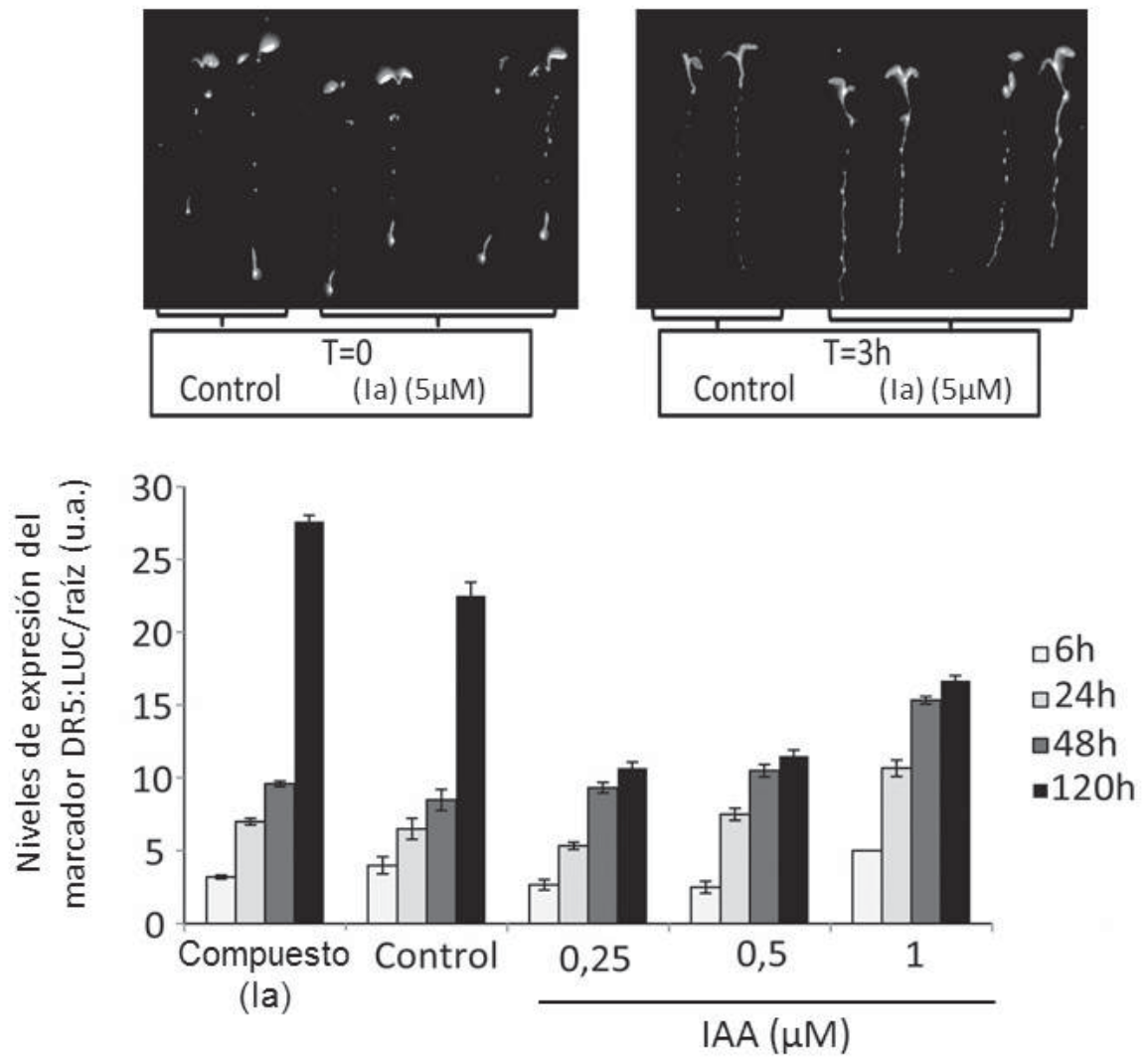


Fig. 2A

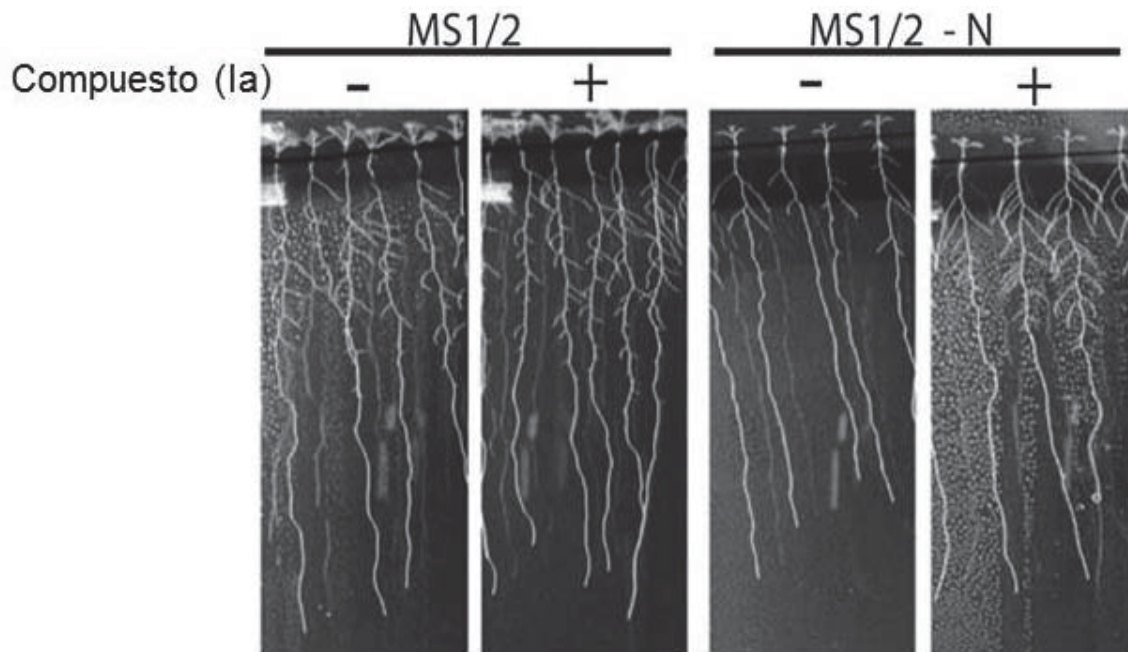


Fig. 2B

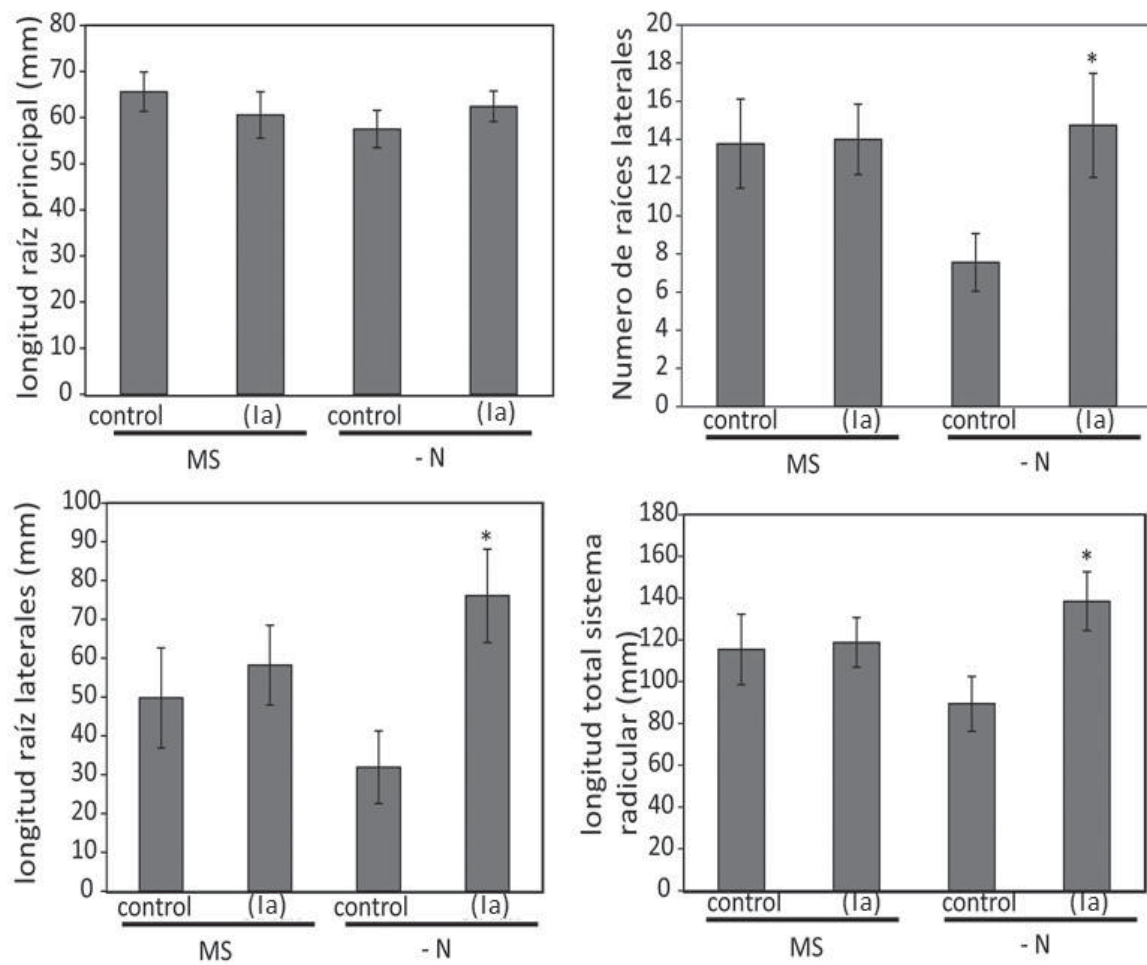


Fig. 2C

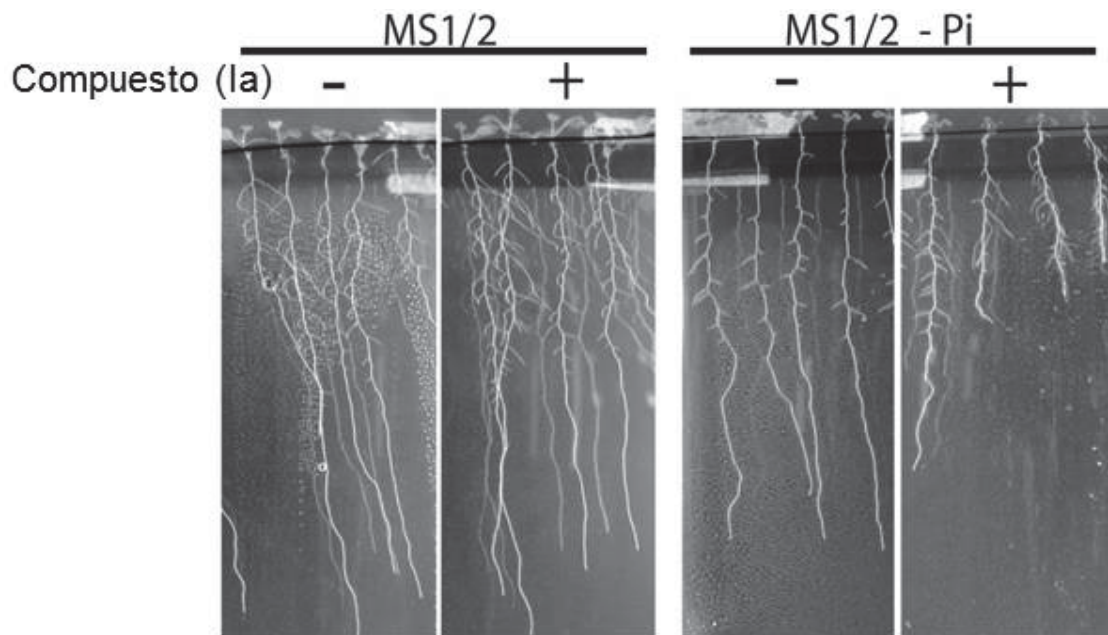


Fig. 2D

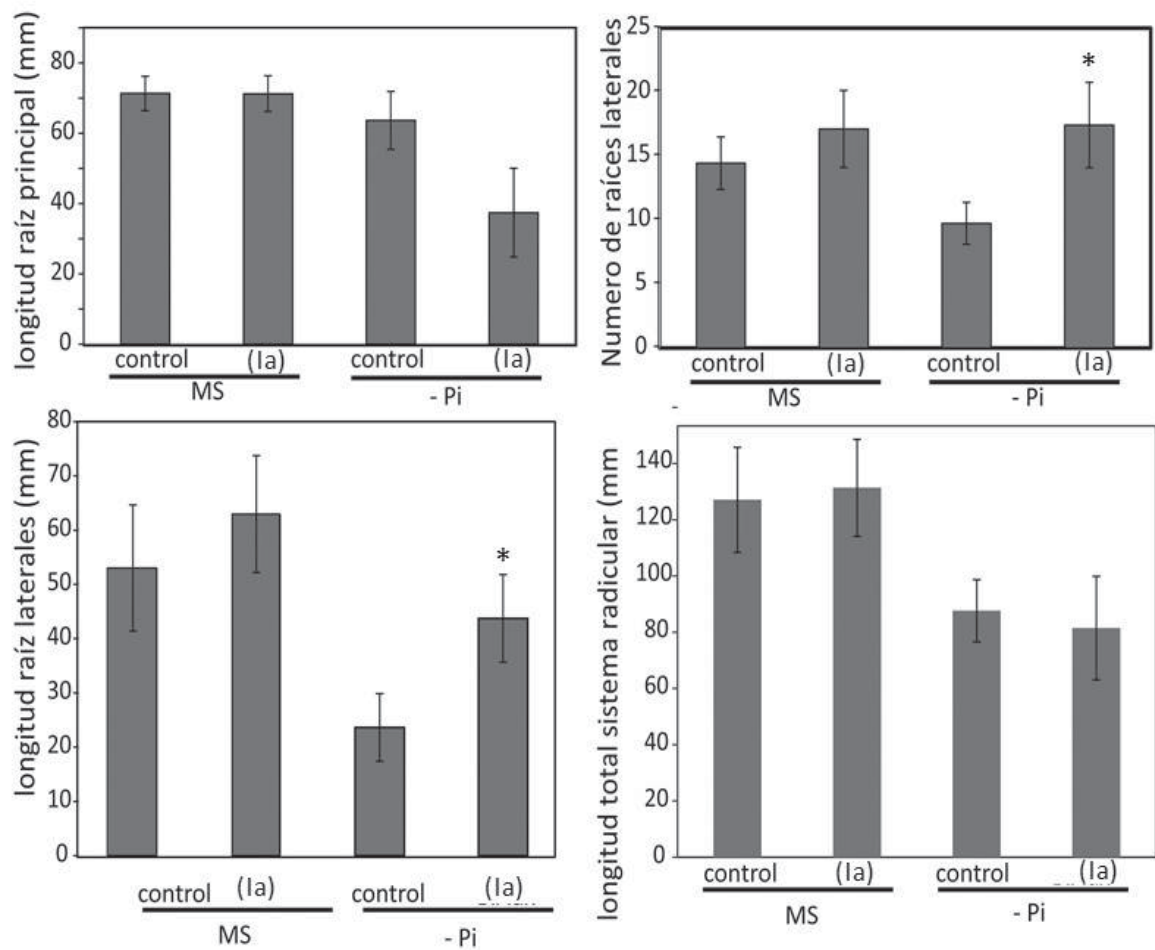


Fig. 2E

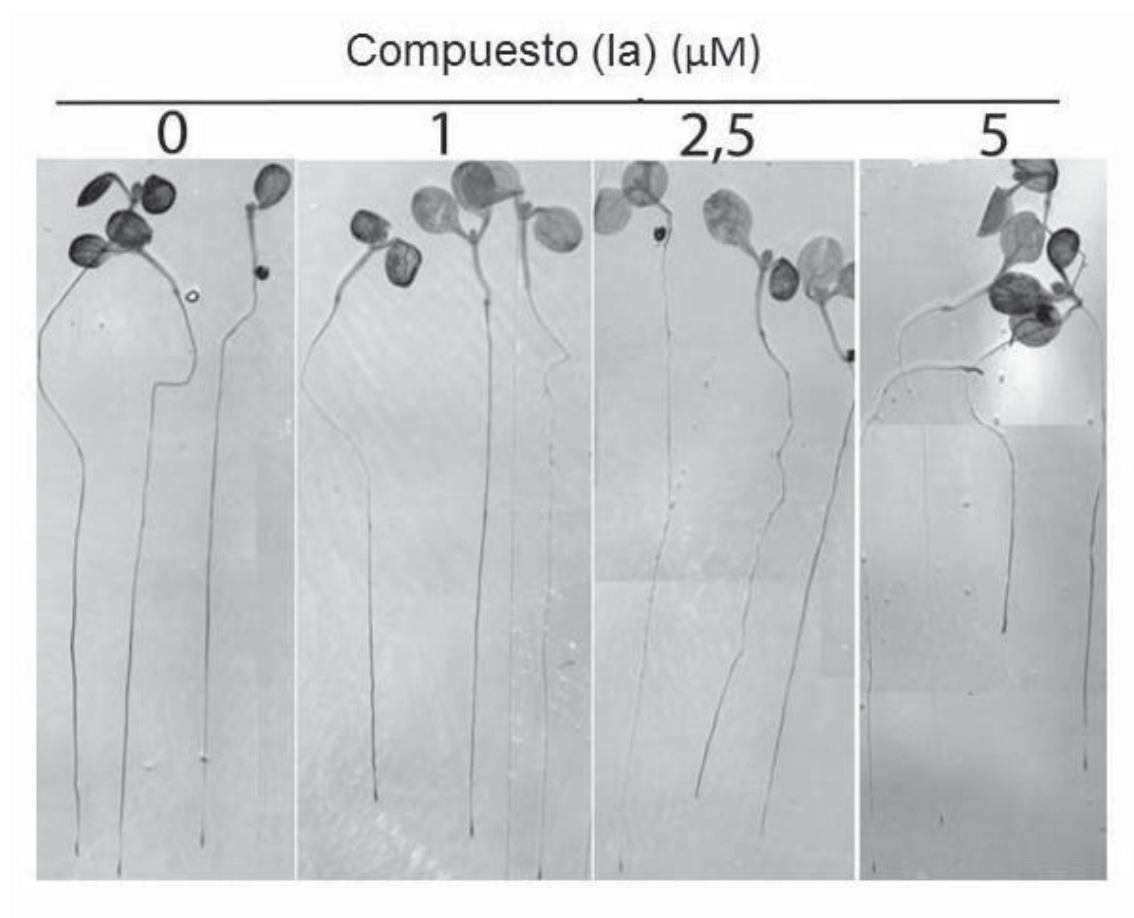
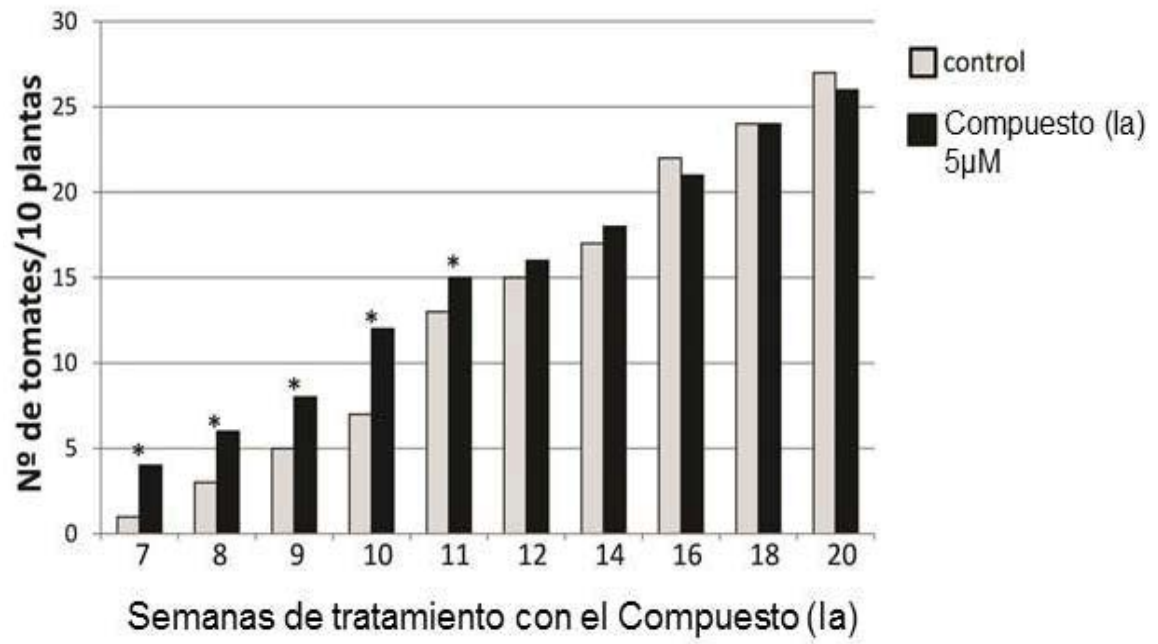


Fig. 3





- ②① N.º solicitud: 201630412
②② Fecha de presentación de la solicitud: 05.04.2016
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	CHISHOLM J D et al. Glycosylation of 2,2'-indolyindolines. Journal of Organic Chemistry 1995 us 00/00/1995 VOL: 60 No: 21 Pags: 6672 - 6673 ISSN 0022-3263 (print)	21
X	CARTER DAVID S et al. Photooxidation of 2,2'-indolyindolines to 2,2'-biindoles: Mild formation of ditryptophan crosslinks. Tetrahedron Letters 1996 00/00/1996 VOL: 37 No: 32 Pags: 5629-5632 ISSN 0040-4039. Página 5631, compuestos 5a y 5b	21
A	US 2008227640 A1 (BASTIAANS HENRICUS M M et al.) 18/09/2008, Todo el documento, en especial, páginas 8 a 9, tablas 2 y 3, compuestos de fórmula Ib y Va.	1-27
A	WO 9720034 A1 (LIFE TECHNOLOGIES INC) 05/06/1997, Todo el documento.	1-27
A	LI LINCHUAN et al. The possible action mechanisms of indole-3-acetic acid methyl ester in Arabidopsis. Plant Cell Reports MAR 2008 00/03/2008 VOL: 27 No: 3 Pags: 575-584 ISSN 0721-7714 Doi: doi:10.1007/s00299-007-0458-9	1-27

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones

☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
16.09.2016

Examinador
E. Albarrán Gómez

Página
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A01N43/38 (2006.01)**C05F11/10** (2006.01)**A01P21/00** (2006.01)

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

A01N, C05F, A01P

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

INVENES, EPODOC

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 16.09.2016

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 1-20, 22-27	SI
	Reivindicaciones 21	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones 1-20, 22-27	SI
	Reivindicaciones 21	NO

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

Base de la Opinión.-

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

1. Documentos considerados.-

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

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	CHISHOLM J D et al. Glycosylation of 2, 2'-indolyindolines. Journal of Organic Chemistry 1995. Vol. 60, Nº 21, páginas 6672 - 6673 ISSN 0022-3263	30.11.1994
D02	CARTER DAVID S et al. Photooxidation of 2,2'-indolyindolines to 2,2'-biindoles: Mild formation of ditryptophan Crosslinks. Tetrahedron Letters 1996, Vol. 37, No: 32, páginas 5629-5632, ISSN 0040-4039.	30.11.1995
D03	US 2008227640 A1 (BASTIAANS HENRICUS M M et al.)	18.09.2008
D04	WO 9720034 A1 (LIFE TECHNOLOGIES INC)	05.06.1997
D05	LI LINCHUAN et al. Plant Cell Reports MAR 2008, Vol. 27, Nº 3, páginas 575-584, ISSN 0721-7714 Doi:10.1007/s00299-007-0458-9	29.02.2008

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

En el documento D01 se describe el compuesto con RN 172323-52-3, que corresponde al compuesto (Ia) de la solicitud (reivindicación 8) y el compuesto con RN 172323-51-2 definido en las reivindicaciones 1 y 3 a 7 de la solicitud.

El documento D02 describe el compuesto con RN 172323-51-2, compuesto recogido en la definición de fórmula Markush de las reivindicaciones 1 y 3 a 7 de la solicitud.

A la vista de los documentos D01 y D02, la composición acuosa de los compuestos con RN 172323-52-3 y RN 172323-51-2 recogida en la reivindicación 21 de la solicitud sería obvia para un experto en la materia. En consecuencia la reivindicación 21 de la presente solicitud carece de actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986).

El documento D03 se refiere al uso de derivados de indolinona útiles en la regulación del crecimiento de plantas. Las tablas 2 y 3 describen compuestos dímeros de indolilinas de fórmula Ib y Va (páginas 8 a 9) relativamente próximos a los compuestos de la invención.

El documento D04 describe análogos auxínicos mono- y multisustituídos del ácido indol-acético que estimulan el crecimiento y regeneración de células y tejidos vegetales. Los derivados comprenden grupos halo-, alquilo-, alcoxi, acilo-, acilamido y aciloxi.

El documento D05 divulga los posibles mecanismos de acción del metil-IAA (MeIAA) en Arabidosis.

Ninguno de los documentos D01 a D05 describe el uso o la composición acuosa de un compuesto de fórmula (I) para la regulación del crecimiento, inducción de la floración y/o formación de frutos en plantas.

Por lo tanto, las reivindicaciones 1 a 20 y 22 a 27 de la solicitud tienen novedad y actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).